

# Oogenese und Sexualität der Käferschnecke *Lepidochitona cinereus* (Mollusca, Polyplacophora)

H.-P. RICHTER & K. J. GÖTTING

*I. Zoologisches Institut der Universität Gießen;  
Gießen, Bundesrepublik Deutschland*

**ABSTRACT:** Oogenesis and sexuality of the chiton, *Lepidochitona cinereus* (Mollusca, Polyplacophora). The development of the oocytes of *Lepidochitona cinereus* (L.) has been studied by light microscopical techniques. This development comprises 5 stages, which can be characterized by histological features. During development the egg cells protrude gradually from the germ epithelium and, finally, become separated from the epithelium. Preceding main vitellogenesis, the oocyte surface is enlarged by cytoplasmic protrusions, which are later reduced. The oocyte cortex or hull is multilayered and is set with appendages. The volumes of the animal's body and of the ovary are directly correlated. Young females become ripe at a length of 6 mm. Adult females produce about 1300 (maximum 1800) eggs annually. Near List (on the North Frisian Island of Sylt) the main spawning times are from May to June and from September to October. Sex ratio is 1 : 1; sexual dimorphism has not been demonstrable.

## EINLEITUNG

*Lepidochitona cinereus* (L.) ist die im Bereich der deutschen Küste häufigste Käferschnecke. Die Kenntnis der Fortpflanzungs- und Fruchtbarkeitsverhältnisse ist noch sehr ungenügend, obwohl es eine Reihe von Arbeiten gibt, die sich insbesondere mit dem Ablauf der Oogenese und mit bestimmten Teilproblemen derselben beschäftigen. Genannt seien hier vor allem die Publikationen von LOVEN (1856), GARNAULT (1888), SCHWEIKART (1904), LYNNGES (1924), VON KNORRE (1925) sowie – in neuerer Zeit – GABE & PRENANT (1949), COWDEN (1961), ANDERSON (1965) und SELWOOD (1968, 1970).

Wie bei anderen Arten der Polyplacophora zeichnen sich auch die Eizellen und Eier bei *L. cinereus* durch charakteristische Strukturen der Hüllschichten aus, deren Genese ebenfalls weitgehend unbekannt ist. Trotz dieser mangelnden Einsicht in den Bildungsmodus der Hüllschichten wird in der Literatur eine Terminologie (z. B. „Chorion“) angewandt, deren Berechtigung zumindest zweifelhaft ist.

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, den Ablauf der Oogenese und Probleme der Sexualität bei *L. cinereus* im Zusammenhang zu betrachten. Die histologischen, hier

ausschließlich lichtmikroskopisch gewonnenen Ergebnisse sollen die Grundlage für weitere, elektronenmikroskopische Untersuchungen bilden, mit denen wir begonnen haben.

## MATERIAL UND METHODE

Das Material für die vorliegende Untersuchung stammt aus dem Wattengebiet bei List auf Sylt und wurde dort von Mitarbeitern der BAH über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr in Abständen von 2–3 Wochen eingesammelt. Zur, aus technischen Gründen erforderlichen, Entleerung des Verdauungstraktes wurden die Tiere in künstliches Seewasser gebracht und darin 1–2 Tage bei 10–15° C gehältert. Sie wurden vermessen und anschließend in gestrecktem Zustand fixiert. Dazu boten sich säurehaltige Gemische an, um gleichzeitig den Kalk zu entfernen: die Fixierflüssigkeiten nach BOUIN, BOUIN-ALLEN und PETRUNKEWITSCH. Die Einbettung erfolgte in Tissuemat, die Schnittdicke betrug zwischen 7 und 10  $\mu\text{m}$  (Transversal-, Sagittal- und Horizontalschnitte). Als bestgeeignete Färbemethoden erwiesen sich die mit Haematoxylin nach HEIDENHAIN und DELAFIELD, für Übersichtspräparate auch Azan nach HEIDENHAIN und Haemalaun-Eosin. Für histochemische Nachweise wurden Alcianblau-PAS, Azur-II-Eosin nach NOCHT-MAXIMOW, Toluidinblau, die FEULGENSche Nuclearreaktion und die PAS-Reaktion angewandt (ROMEIS 1968).

## BEFUNDE

### Die Oocyten und ihre Entwicklung

Die Entwicklung der Oocyten läßt sich nach cytologischen Gesichtspunkten in fünf Stadien einteilen. In geschlechtsreifen Tieren finden sich in den Sommermonaten alle Stadien gleichzeitig nebeneinander.

#### *Stadium I*

Es umfaßt die Oogonien-Entwicklung bis zur primären Oocyte. Ort der Entwicklung ist das Keimepithel zwischen den Zellen der Gonadenwand und dem von diesen nach innen hin erzeugten, als Follikelepithel fungierenden interstitiellen Gewebe (Abb. 1). Hier entstehen die Oocyten I. Ordnung, die histologisch nicht von den späten Oogonien zu unterscheiden sind. Der Nucleus nimmt den größten Teil der Oocyte ein: bei einem Durchmesser der Eizelle von 20  $\mu\text{m}$  kann der Kern 15  $\mu\text{m}$  breit sein. Das Cytoplasma ist entsprechend auf einen schmalen Saum von etwa 2  $\mu\text{m}$  Breite beschränkt, in dem Golgi-Apparat und Mitochondrien nachzuweisen sind.

Der einzige Nucleolus erscheint bei einem Oocyten-Durchmesser von 10–12  $\mu\text{m}$ . Er ist im frühen Stadium I unregelmäßig geformt, später wird er ellipsoid oder sphärisch. Er enthält vor allem an der Peripherie Chromatin.

Die Oocyten dieses Stadiums I liegen meist in Gruppen dicht gedrängt im Keimepithel, seltener sind sie vereinzelt anzutreffen.

*Stadium II*

Es ist dadurch charakterisiert, daß im Cytoplasma der Oocyte ein kappenförmiger, homogener und stark basophiler Komplex erscheint, wie überhaupt die Basophilie des Plasmas zunimmt. Die Eizellen liegen noch im Keimepithel und werden von einer steigenden Anzahl von interstitiellen Zellen umgeben. Während des weiteren Wachstums strecken sich die jungen Oocyten mehr und mehr aus dem Keimlager heraus. Sie sind unregelmäßig länglich geformt (Länge 30–35  $\mu\text{m}$ ). Ihr Nucleus bleibt im Wachstum relativ zurück ( $\phi$  bis 25  $\mu\text{m}$ ). Der Chromatin-Nachweis fällt weniger intensiv aus. Dafür treten kugelige, 1–3  $\mu\text{m}$  große Korpuskeln auf, die sich in ihrer Reaktion auf Kernfarbstoffe vom Nucleolus unterscheiden. Sie sind überwiegend im peripheren Caryoplasma zu finden. Bis zu 35 solcher Grana wurden nachgewiesen.

Die Oocyte ist in diesem Stadium von einer einschichtigen Lage von 20–30 Follikelzellen umhüllt, die sich aus den interstitiellen Zellen herausdifferenziert haben.

*Stadium III*

Die Oocyten treten fast ganz aus dem Keimepithel heraus, sie bleiben mit diesem nur durch einen verschmälerten Zellabschnitt, den „Oocytenstiel“, in Verbindung. Dadurch erhalten sie birnenförmige Gestalt (bei einem Durchmesser von 40–80  $\mu\text{m}$ ). In dem bisher homogenen Cytoplasma treten an der Peripherie zunächst kleine, aber schnell größer werdende Vakuolen auf, die schließlich das gesamte Plasma mit Ausnahme eines schmalen juxtannucleären Saumes erfüllen. Außerdem erscheint ein großer Körper, der in seiner Form und Färbbarkeit dem Dotterkern anderer Tiergruppen entspricht und daher hier als solcher bezeichnet werden soll. Er tritt meist in Einzahl auf und entwickelt sich aus der oben beschriebenen basophilen Kappe. Stets ist er von einer schmalen Zone homogenen Cytoplasmas umgeben.

Die Anzahl der nucleolus-ähnlichen Grana im Kern steigt bis auf 80. Der Nucleolus wächst auf einen Durchmesser bis zu 15  $\mu\text{m}$  an. In ihm entsteht eine scharf umgrenzte Vakuole, die exzentrisch liegt, und zwar an der Stelle, an welcher der Nucleolus Kontakt mit der Kernhülle hat. Die Vakuole enthält einen stärker färbbaren Bereich. Sie wird gegen Ende des Stadiums III zurückgebildet, ihre Reste zerfallen.

*Stadium IV*

Stadium IV ist gekennzeichnet durch Aufwölbungen des Cytoplasmas der Oocyte. Gleichzeitig verringert sich die Basophilie. Der Dotterkern hat sich in Teilkomplexe aufgelöst. In deren Nähe treten Dotterkörner auf, die zu Dotterschollen weitgehend einheitlicher Größe heranwachsen.

Das auffälligste cytomorphologische Merkmal ist die Zerklüftung der äußeren Plasmabereiche durch tiefe Einschnitte und entsprechende Vorwölbungen. Die Incisionen erstrecken sich bis zum Nucleus und grenzen stempelförmige Plasmabereiche („Höcker“) gegen das intraovariale Lumen ab. Auf der Oberfläche jeder Oocyte ent-

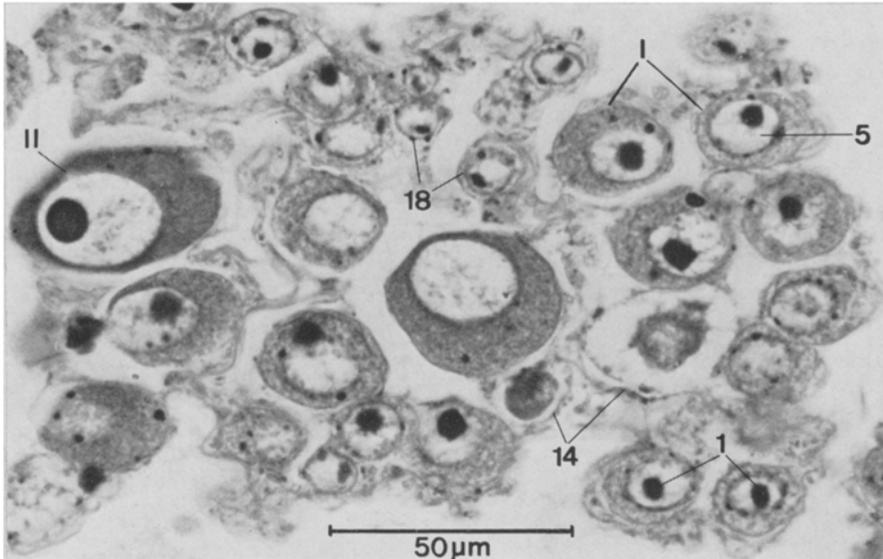


Abb. 1: Oocyten der Stadien I und II im Keimepithel (Horizontalschnitt, 7 μm, Eisenhaematoxylin-Eosin nach HEIDENHAIN)

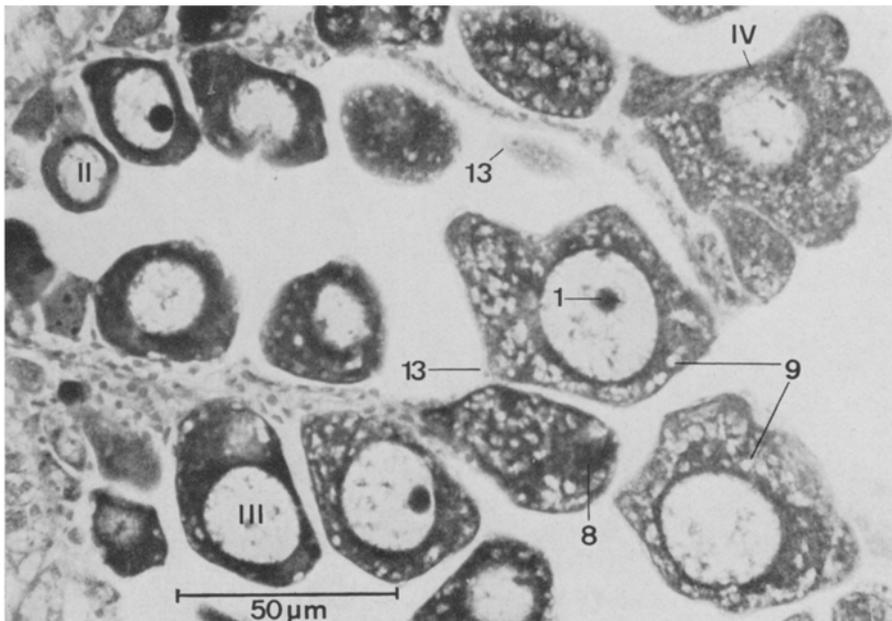


Abb. 2: Zerklüftung und Vakuolisierung des Oocytoplasmas in den Stadien III und IV. Beginn der Dotterbildung (10 μm, Eisenhaematoxylin-Eosin nach HEIDENHAIN)

wickeln sich 7–8 solcher Höcker, die jeweils von 1–2 Follikelzellen überzogen werden. Einer der Follikelzellkerne liegt regelmäßig auf dem Gipfel der Vorsprünge.

Der Nucleus ist in diesem Stadium rund, sein Durchmesser liegt bei ca.  $50\mu\text{m}$ . Die Anzahl der nucleolus-ähnlichen Grana steigt auf 100 an, ihr Durchmesser wächst auf bis zu  $5\mu\text{m}$ . Die bisher so typische Vakuole im Nucleolus löst sich in zahlreiche kleine Vesikeln auf, die nach Anfärbung nicht mehr homogen erscheinen.

Gegen Ende des Stadiums IV werden die Einschnitte der Oocytenmembran von innen her ausgeglichen, die Höcker werden entsprechend flacher. Die dadurch bedingte Volumenvergrößerung der Oocyte erfolgt wahrscheinlich in Zusammenhang mit der verstärkten Dotterbildung. Während die Follikelzellen bisher die Höcker gleichmäßig und glatt überzogen haben (Abb. 8 E), treten jetzt häutig erscheinende Duplikaturen auf, die vor dem Gipfel der Stempel ringförmig angeordnet sind. So wird jeder Höcker von dornenartig aussehenden Anhängen gekrönt (Abb. 3), die sich vergrößern und nach und nach die Oocyte umhüllen. Die Eizelle löst sich in dieser Phase der Entwicklung vom Oocytenstiel und liegt von nun an (Durchmesser  $90\text{--}120\mu\text{m}$ ) frei im Lumen des Ovars (Abb. 8 F).

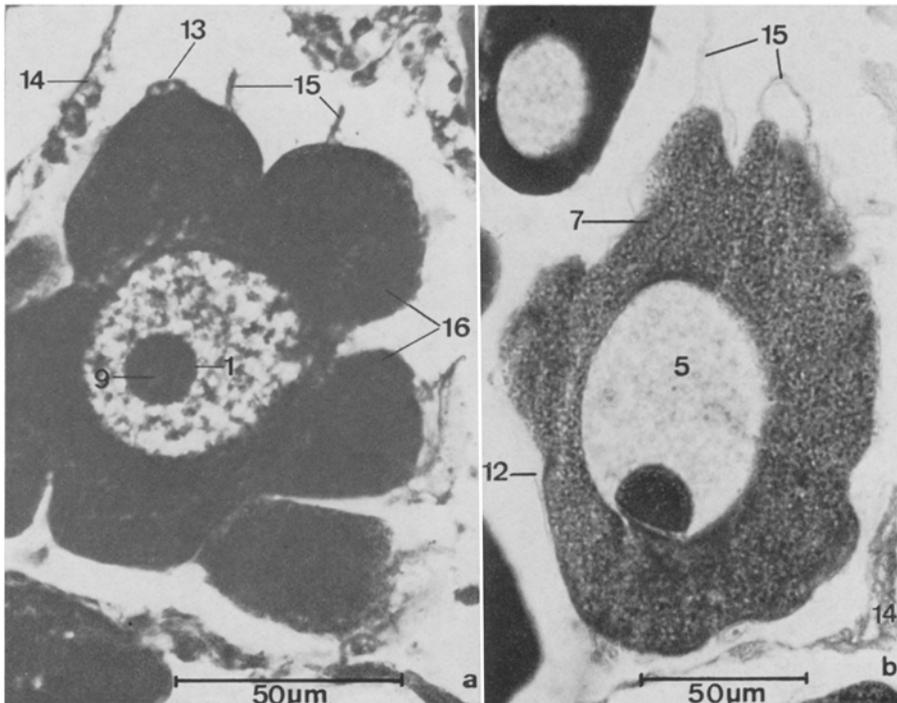


Abb. 3: *a* Oocyte im Stadium IV mit bis in Kernnähe ziehenden Incisionen der Zellmembran und beginnender Anhangsbildung. Ansammlung von Dotterelementen und Vakuolisierung des Nucleolus ( $8\mu\text{m}$ , Eisenhaematoxylin-Eosin nach HEIDENHAIN). *b* Spätes Stadium IV mit Rückbildung der Incisionen und weiterentwickelten Anhängen sowie Ausbildung von Dotterschollen ( $8\mu\text{m}$ , Azur-Eosin nach HEIDENHAIN)

*Stadium V*

Stadium V umfaßt die letzten Entwicklungsschritte der im Ovarlumen liegenden Eizelle, die sich abrundet und den Aufbau der cytoplasmatischen Strukturen und der Hüllschichten vollendet.

Die Kernhülle setzt die bereits im vorhergehenden Stadium begonnene Oberflächenvergrößerung durch Einfaltung fort. Der Durchmesser des Kernes erreicht 70 bis 90  $\mu\text{m}$ , der des meist peripher liegenden Nucleolus 20  $\mu\text{m}$ . Das Oocytoplasma ist erfüllt von acidophilen Dotterschollen, und es enthält einige Dotterkerne in seinem äußeren Bereich. Die Oocyte wird breitoval mit einem Durchmesser von 110 bis 150  $\mu\text{m}$ .

Am Ende dieses Stadiums löst sich außerhalb der Oocytenmembran eine häutig erscheinende Struktur ab, die wir (mit SCHWEIKART 1904) „Dotterhaut“ oder auch „Vitellinmembran“ nennen. Wenn sich später das Follikel­epithel mit seinen Differenzierungen von der Oocyten-Oberfläche löst und durch eine gallertige Schicht von dieser getrennt wird, hebt sich auch die Dotterhaut weiter ab und liegt, wellig verlaufend, in der Gallertmasse.

Unsere Beobachtungen über den weiteren Verlauf der Eizellreifung stimmen mit denen von SCHWEIKART überein. Die laichreifen Oocyten erreichen Durchmesser von 160–200  $\mu\text{m}$ .

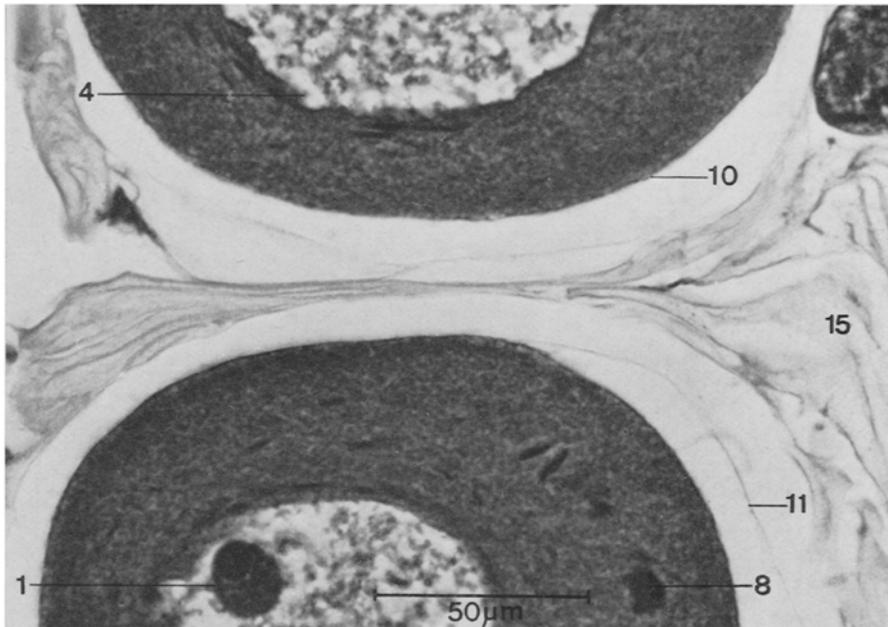


Abb. 4: Laichreife Oocyten mit Gallerthülle zwischen Oocytenmembran und Anhängen. In der Gallerthülle die Vitellinmembran. Kernhülle in charakteristischer Weise gefaltet (10  $\mu\text{m}$ , Eisenhaematoxylin-Eosin)

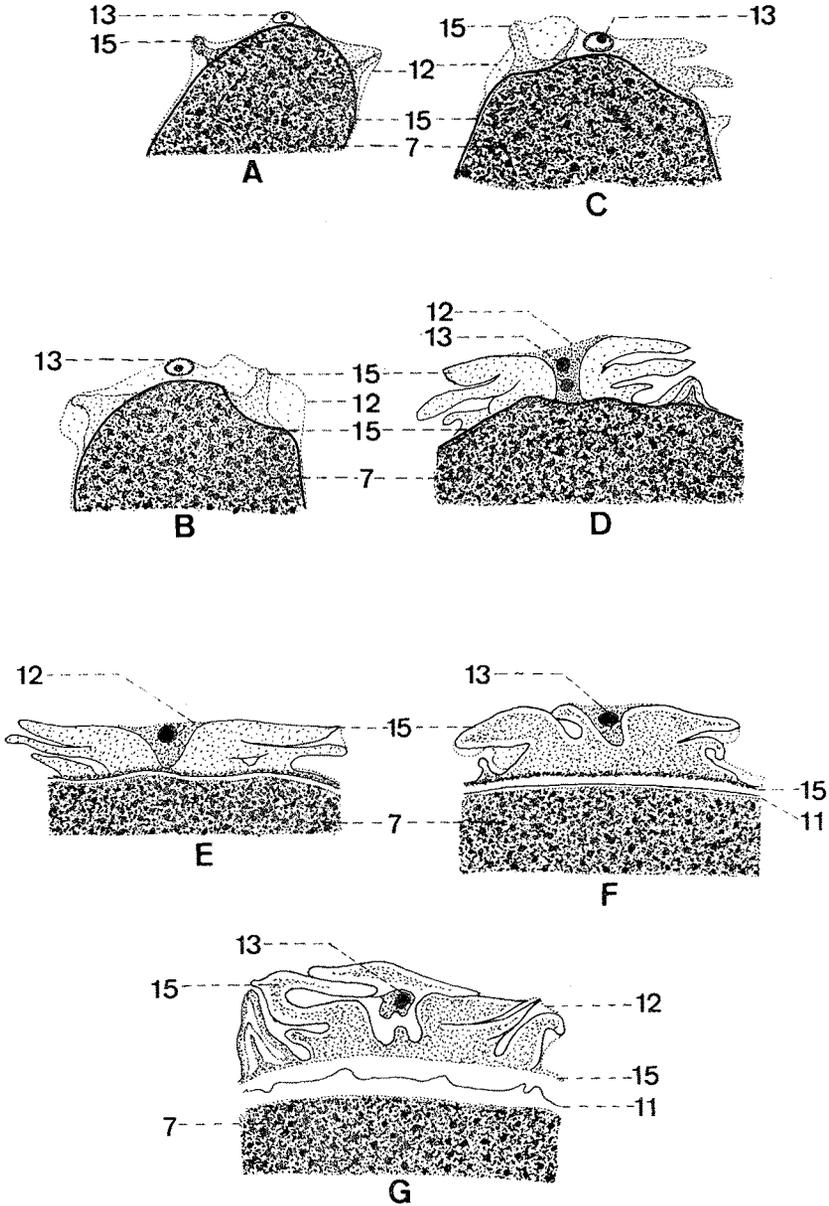


Abb. 5: Bildung der Eizellhüllen und ihrer Anhänge bei *Lepidochitona cinereus* (nach SCHWEIKART 1904, umgezeichnet). A-C Stempelförmiger Plasmabereich einer Oocyte im Stadium IV mit aufliegender Follikelzelle. Seitlich die Anlagen der Anhänge. D-G Fortschreitende Bildung der Anhänge

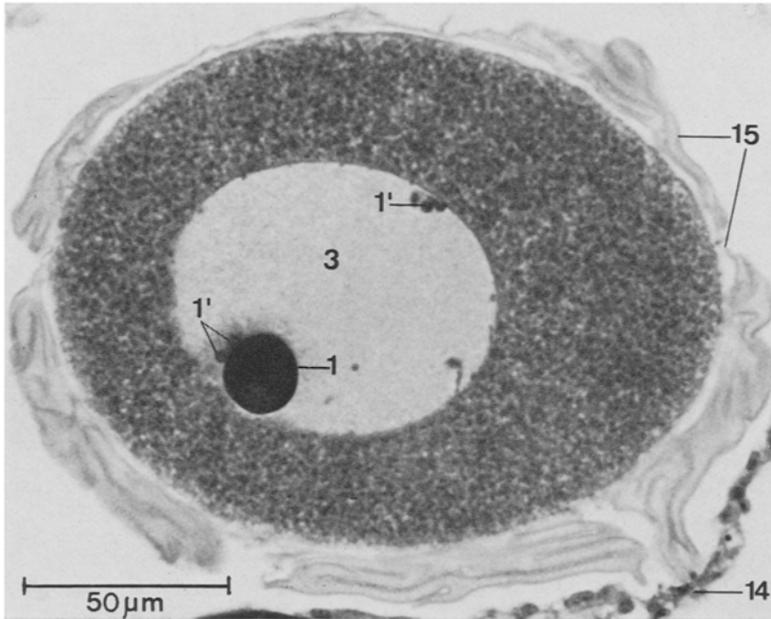


Abb. 6: Oocyte im Stadium V mit vollständig ausgebildeten, stark gefalteten Anhängen und abgeschlossener Vitellogenese (7  $\mu\text{m}$ , Eisenhaematoxylin-Eosin)

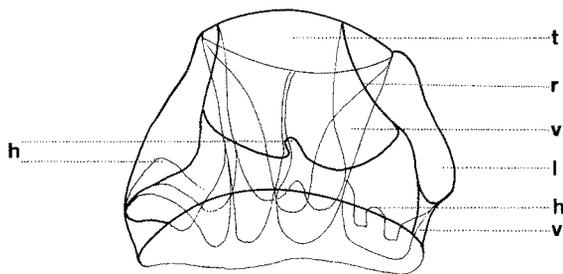


Abb. 7: Becherförmiger Schalenanhang der Eizelle von *Lepidochitona cinereus*, perspektivisch gezeichnet. v: Innenbecher mit trichterförmigem Lumen (t). v': Außenbecher mit Vorsprüngen (h). r: Radiäre Rippen, die taschenförmige Lumina (l) offenhalten (n. LYNGNES 1924, umgezeichnet)

Besonderes Interesse verdient die Entwicklung der kronenförmig angeordneten Höcker. Wir konnten nur eine Eiablage im Labor beobachten, bei der sich die Oocytenanhänge nicht richtig entfaltet haben. Daher geben wir hier die Schilderung von LYNGNES (1924) wieder (Abb. 7): „Diese Anhänge lassen sich als Doppelbecher charakterisieren, deren innerer Becher (V) 3–4mal so hoch ist wie der äußere (V'), während beide Becher durch 4–5 radiäre Septen (r) unter sich in Verbindung stehen. Diese becherförmigen Anhänge, die sich an ihrer Basis gegenseitig berühren, werden um einen

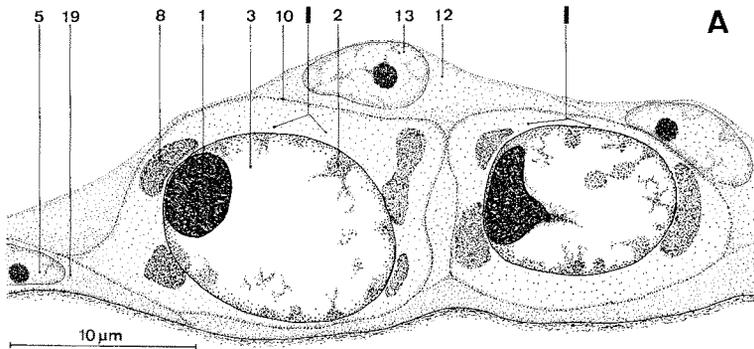


Abb. 8 A

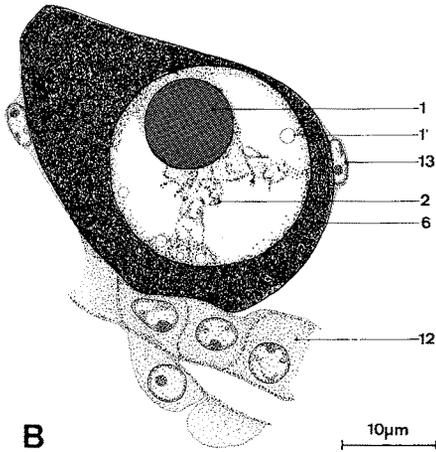


Abb. 8 B

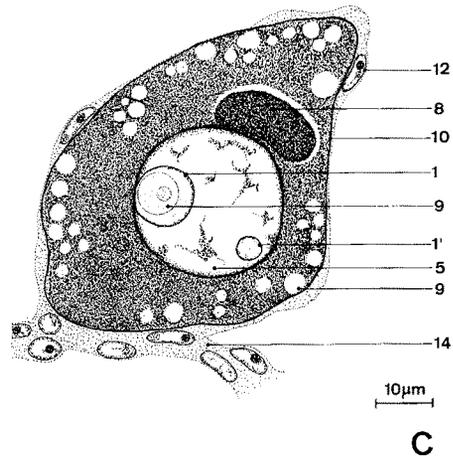


Abb. 8 C

Abb. 8: Schematische Darstellung der Entwicklung der Oocyten von *Lepidochitona cinereus*. *A* Oocyten im Stadium I, in das Keimepithel eingebettet und von Follikelzellen überzogen. *B* Oocyte im Stadium II, aus dem Keimepithel heraustretend. *C* Oocyte im Stadium III. Vakuolen im peripheren Plasma, kappenförmiger Dotterkern, erste erkennbare Anfänge der Dotterbildung. Nucleolus zoniert. Nucleolus-ähnliche Grana im Kern. *D* Oocyte im späten Stadium III, nur noch durch den Oocytenstiel mit dem Keimepithel verbunden. Fortgeschrittene Vitellogenese, Zerfall der Nucleolus-Vakuole. *E* Oocyte im Stadium IV mit den charakteristischen Incisionen, die das Cytoplasma in stempelförmige Bezirke unterteilen. Entstehung von Dotterschollen in den apicalen Bereichen, Auflösung der Vakuolen. *F* Oocyte im späten Stadium IV. Cytoplasma-Einschnitte rückgebildet. Anlagen der Anhängen, Einfaltung der Kernhülle. *G* Oocyte im Stadium V, laichreif. Charakteristische Einfaltungen der Kernhülle. Ausbildung der Anhängen abgeschlossen. Vitellinmembran in der Gallerthülle

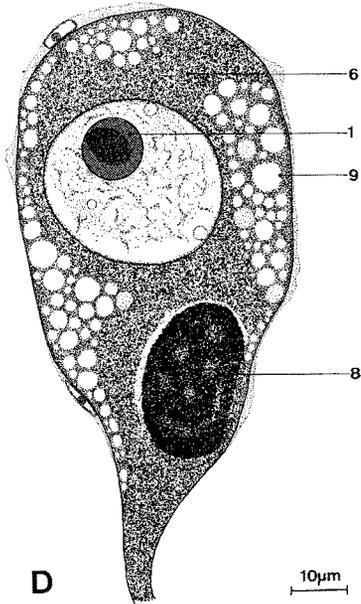


Abb. 8 D

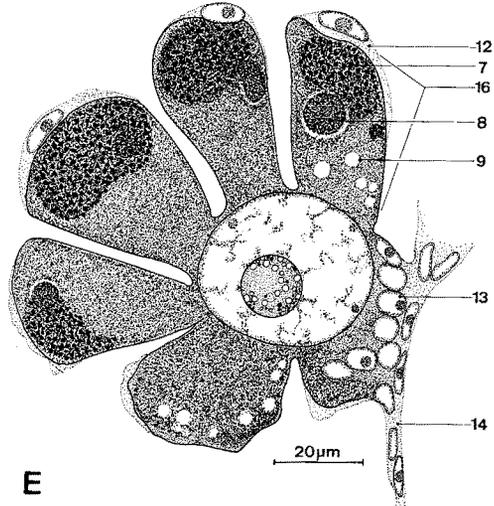


Abb. 8 E

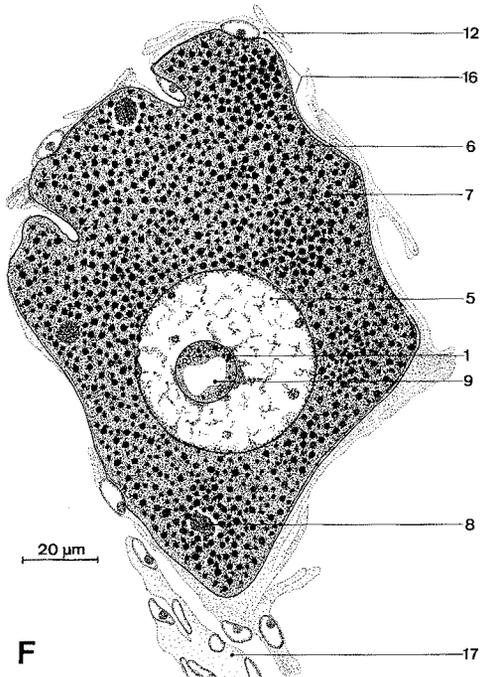


Abb. 8 F

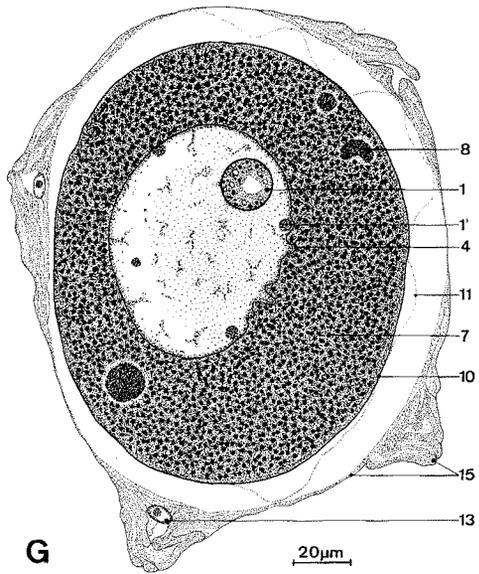


Abb. 8 G

beliebigen Meridian des Eies herum in einer Anzahl von 7–8 vorgefunden. Bei der Ausfaltung der Schalenanhänge, sobald die Eier ins Wasser gelangt sind, wird die jetzt ganz lose anheftende Follikelmembran abgeworfen.“

## Anatomie des Ovars

### Lage und Aufbau des Ovars

Mit einer Ausnahme (HEATH 1907: *Lepidochitona raymondi*) sind die Polyplacophora getrenntgeschlechtlich. Das zunächst anfangs paarige, später zu einem unpaaren Organ verschmelzende Ovarium liegt meist dorsomedian vor und unter dem

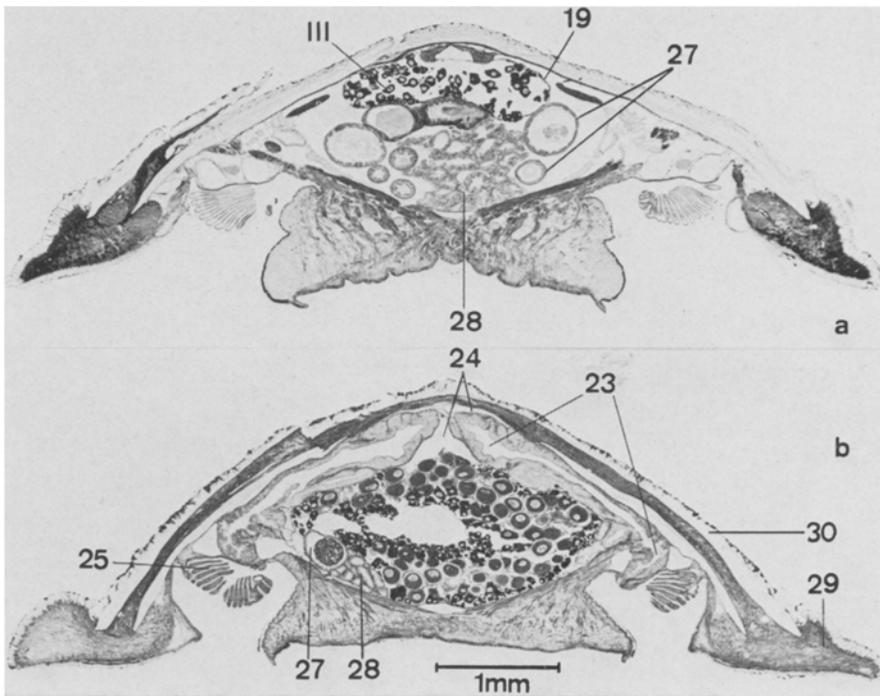


Abb. 9: Querschnitte durch ♀♀ von *Lepidochitona cinereus*. *a* Schnitt durch die Körpermitte. Ovar über dem Verdauungstrakt. Im Ovar Oocyten bis zum Stadium III (10  $\mu$ m). *b* Schnitt durch das hintere Körperdrittel. Oviduct in seiner ganzen Länge bis zur Papille angeschnitten. Ovar mit Oocyten in allen Stadien (8  $\mu$ m, Delafield-Eosin)

Pericard unter den Platten II bis VIII. Es bildet einen lateral an mehreren Stellen eingeschnürten Sack, der sich anterior, posterior und ventral verjüngt. Der Farbe der Oocyten entsprechend ist das gesamte Ovar grünlich-gelb. Die Oviducte entspringen aus der anterodorsalen Wand der Gonade. Sie sind schlauchförmig und bestehen histologisch aus zwei Abschnitten: einem vorderen, kurzen, mit einem Flimmerepithel ausgestatteten, wimpertrichterähnlichen Teil und aus einem langen, stark gewundenen Ab-

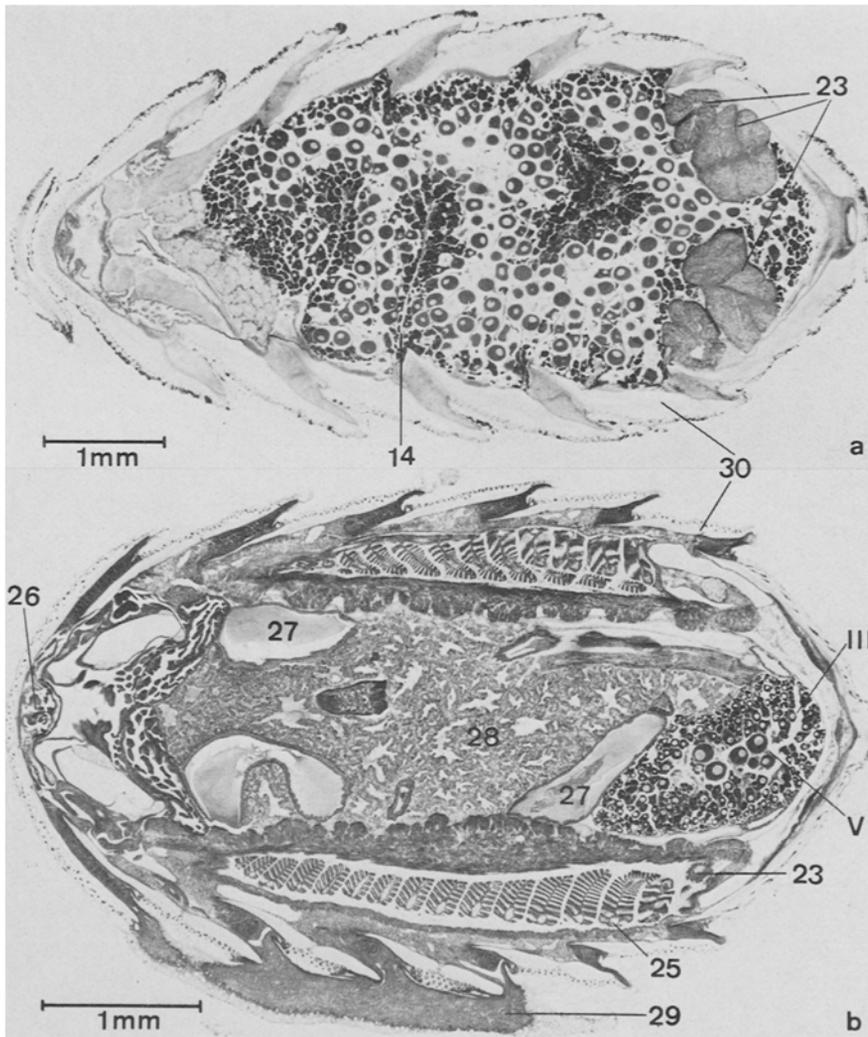


Abb. 10: Horizontalschnitte durch *Lepidochitona cinereus* (♀). *a* Schnitt durch das obere Körperdrittel. Anschnitte der drüsigen und ableitenden Teile der Oviducte. Laterale Keim-epithelfalten mit jungen Oocyten. Im Lumen reife Eizellen ( $8\ \mu\text{m}$ , Azur-Eosin). *b* Schnitt durch das untere Körperdrittel unterhalb der Oviducte. Kiemenregion, mit Anschnitten der Radula, des Magen-Darm-Traktes und der Mitteldarmdrüse ( $10\ \mu\text{m}$ , Eisenhaematoxylin-Eosin)

schnitt, dessen Wand aus hohen Zellen mit basal liegendem Nucleus und granulärem Cytoplasma aufgebaut ist. Letzterer fungiert als Schleimdrüse. Alcianblau-PAS, Azur-II-Eosin, Heidenhains Eisenhämotoxylin-Eosin und Toluidinblau ergeben für den gesamten Eileiter sehr starke Farbreaktionen. Die Oviducte münden außen in die Pallialrinne in Höhe der Platte VII, und zwar auf einer Papille zwischen dem 15. und 16. Kiemenpaar (Abb. 9, 10, 11).

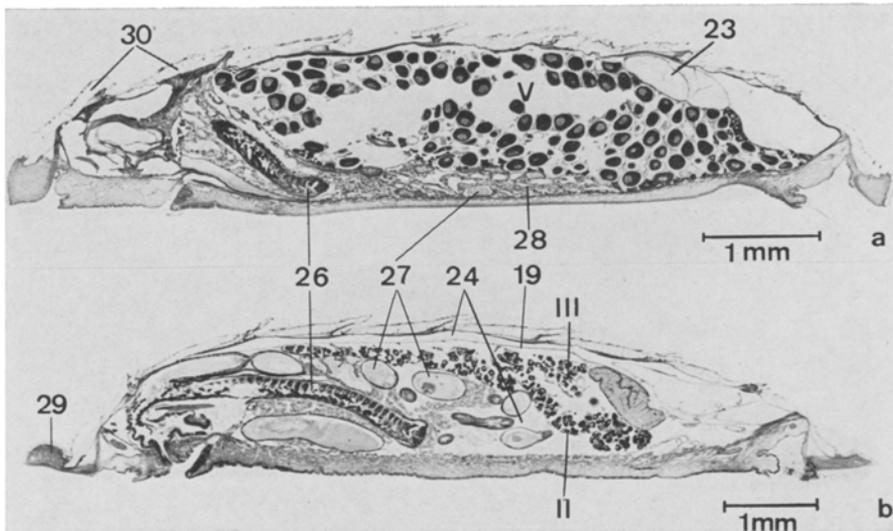


Abb. 11: Mediosagittalschnitte durch ♀♀ von *Lepidochitona cinereus*. *a* Laichreifes ♀ mit Oocyten im Stadium V. Verdauungstrakt zusammengedrückt (8  $\mu$ m, Eisenhaematoxylin-Eosin). *b* ♀ mit Oocyten der Stadien I bis III. Innere Organe liegen locker in großen Lakunen (7  $\mu$ m, Delafield-Eosin)

#### *Größe des Ovars im Verhältnis zur Körpergröße*

Für den Größenvergleich zwischen Tier und Ovar wurden die Meßwerte von 40 ♀♀ ausgewertet. Die Meßwerte wurden aus den Schnittpräparaten entnommen. Eine Auswertung nach dem Verfahren von NIMITZ (1964) und GIESE et al. (1959, 1962) war wegen der geringen Größe von *Lepidochitona cinereus* nicht möglich. Wir benutzten als Bezugsgröße einen Quader, der durch Länge, Breite und Höhe des Tieres bzw. des Ovars umschrieben wird. Ob zwischen beiden Volumina eine Beziehung besteht, wird durch Berechnung des Korrelations-Koeffizienten  $r$  festgestellt, der zwischen 1 und  $-1$  schwanken kann. Für die 40 Wertepaare ergibt sich eine positive Korrelation von  $r = 0,71$ . Körpervolumen und Ovarvolumen stehen also in direkter Beziehung miteinander.

#### *Gonadenwand und Keimzonen*

Die Wand des Ovars ist aus drei Schichten aufgebaut: von außen nach innen folgen membranöse Bindegeweblage, Basalmembran und Keimlager aufeinander. Letzteres ist nicht einheitlich im histologischen Bild, sondern umfaßt zwei verschiedene Bereiche:

(1) Das dorsale Keimepithel setzt sich aus kubischen Zellen von  $9 \times 9 \times 9 \mu$ m Größe zusammen, die mit langen Cilien besetzt sind (Abb. 12). Es entsendet kaum Falten ventrad in das Ovarlumen und trägt entsprechend auch nur selten Oocyten.

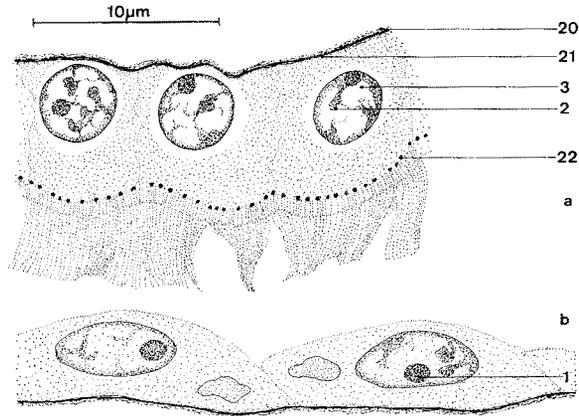


Abb. 12: Ovariepitelien. *a* dorsales Flimmerepithel mit kubischen Zellen und runden Kernen. *b* ventrales und laterales, flaches Keimepithel

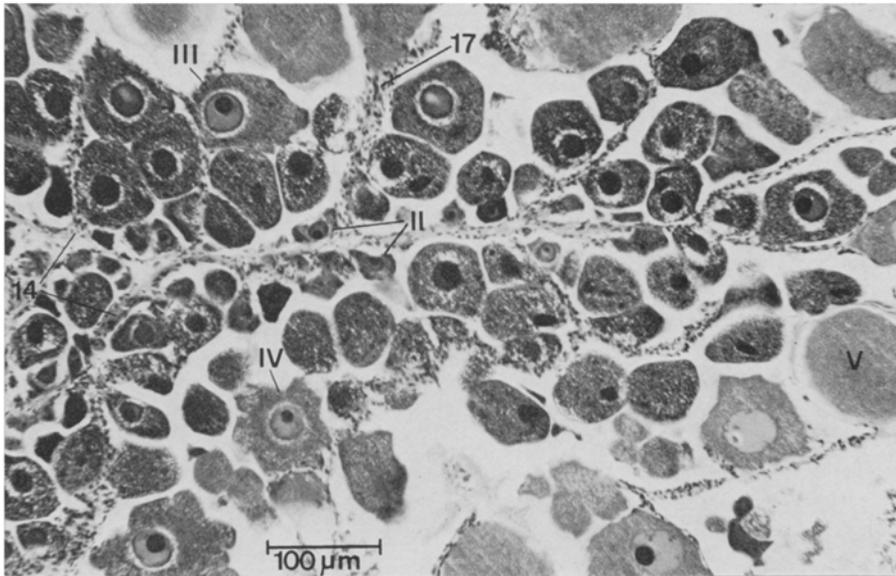


Abb. 13: Zentrale Keimepithelfalte, von lateral (links im Bild) in das Ovarlumen ziehend. Oocyten der Stadien I und II liegen an und in der Hauptfalte. An den Verzweigungen werden die Oocyten III und IV zum Lumen hingeschoben und lösen sich von den Epithelsträngen (vgl. Abb. 10a) (10 µm, Delafield-Eosin)

(2) Lateral schließt sich an diese dorsale Zone ein nach ventrad herumziehendes, flaches und unbewimpertes Epithel an, dessen Zellen etwa  $9 \times 15 \times 4 \mu\text{m}$  messen.

Das Cytoplasma beider Keimepithelzonen ist homogen. Ein Nucleolus in der oben beschriebenen typischen Ausbildung ist nur in den Kernen des ventralen Keimepithels

zu finden. Hier ist auch die eigentliche Bildungszone für Oogonien und Oocyten. Epithelfalten und -stränge schieben sich von ventral in das Ovarlumen hinein. Sie enthalten im Inneren Bindegewebe, Basalmembran und Blutsinus. Auch an ihnen entwickeln sich Oocyten (Abb. 13). Ausgeprägte Zentren der Oocytenbildung wurden nicht beobachtet. Weitgehend frei von Eizellen ist der Bereich des an die Oviducte angrenzenden Ovar epithels.

#### *Das Follikelepithel*

Entsprechend der von ANKEL (1933) gegebenen Definition stellt die Oogenese der Polyplacophora eine folliculäre Eizellbildung dar. Die beschriebenen, in das Ovarlumen hineinziehenden Epithelfalten haben eine Wand aus Follikelzellen. Deren Nuclei liegen apical, also dem Ovarlumen zugewandt. Wenn sich die Oocyten in den Stadien II und III aus dem Keimepithel herauschieben, bleiben sie von Follikelzellen bedeckt. Die meisten dieser mitgenommenen Zellen bleiben an der Oocytenbasis liegen und bilden mit dem oft lang ausgezogenen Basalteil der Eizelle den soliden „Oocytenstiel“. Neben seiner mechanischen Funktion vermittelt dieser wohl vor allem die Nährstoffe, die die Oocyte zu ihrer weiteren Entwicklung braucht. Der apicale Teil der Oocyte wird von durchschnittlich 20 flachen Follikelzellen eingehüllt. Beim Übergang zum Stadium IV umspannt eine einzige Zelle kappenartig je eine der Vorwölbungen des Oocytenplasmas. Ihr Cytoplasma bildet nur eine dünne Schicht, ihr Nucleus ist flach linsenförmig.

#### *Das Ovar und die Oocyten-Anzahl im Jahreszyklus*

Für die Untersuchungen stand Material über einen Zeitraum von 1½ Jahren aus dem Wattengebiet bei List zur Verfügung (von März 1971 bis September 1972). Außer in den beiden Wintermonaten Januar und Februar 1972 konnte in regelmäßigen vierwöchentlichen Abständen das ganze Jahr über Material ausgewertet werden. Ausgezählt wurden nur die Oocyten-Stadien IV und V, weil sie allein einen Anhaltspunkt für die Fruchtbarkeit geben.

Die Größe der reifen Oocyten ist nahezu einheitlich. Nur in extrem kleinen Weibchen konnten Oocyten geringeren Durchmessers gefunden werden. Bereits Weibchen von ungefähr 6 mm Länge mit im Verhältnis zu ihrer Größe ansehnlicher Oocytenzahl haben Eizellen mit den üblichen Maßen. Bei den laichreifen Weibchen ist das Ovar gefüllt mit reifen Oocyten, die einzeln und frei im Ovarlumen liegen. Die übrigen inneren Organe (wie Magen-Darm-Trakt und Mitteldarmdrüse) sind auf engem Raum zusammengedrängt. Bei Weibchen, die abgelacht haben und die nur noch wenige reife Oocyten enthalten, liegen die Organe locker, in weiträumige Blutlakunen eingebettet. Das Ovar ist dann dorsoventral abgeflacht, wird in der Länge jedoch weiterhin durch Muskelstränge in seiner ursprünglichen Ausdehnung gehalten. Im Lumen des abgelachten Ovars sind auch keine Oocyten des Stadiums IV zu finden, die Epithelfalten und Follikelstränge erscheinen leer. Die Oviducte bleiben während des ganzen Zyklus unverändert in Lage, Gestalt und Färbbarkeit.

In den Wintermonaten sind in den Ovarien außer den nicht abgelegten, abortiven Eizellen keine großen Oocyten festzustellen. Das Follikelepithel ist auf die Oocytenstiele der frühen Stadien IV beschränkt. Das Ovarvolumen ist kleiner als das im Sommer untersuchter Tiere. Das Ovar ist also einem jahreszeitlichen Rhythmus unterworfen, der sich auch im Größenindex äußert. Dem entsprechen Schwankungen in der Ausbildung des interstitiellen Gewebes.

Ein Weibchen von *L. cinereus* legt maximal etwa 1800 Eier. Der Durchschnitt dürfte bei ungefähr 1300 Eiern liegen. Das entspricht früheren Beobachtungen (GÖRTING, unveröffentlicht) an Exemplaren von den Abrasionsterrassen Helgolands, in denen 1300–1500 reife Eizellen nachgewiesen wurden.

Die ermittelten Werte sprechen auch dafür, daß zwar jedes ♀ nur einmal im Jahr laicht, daß die Art aber zwei Laichzeiten hat: eine im Mai–Juni, eine weitere im September–Oktober (vgl. nächsten Abschnitt).

## Sexualität

### *Geschlechtsreife in Abhängigkeit von Tiergröße und Jahreszeit*

Die kleinsten untersuchten männlichen Tiere hatten eine Länge von 4 mm. Ihre Gonade enthielt bereits Spermatozoen. In den Ovarien der kleinsten Weibchen (4,5 bis 4,8 mm) fanden sich neben Oogonien Oocyten der Stadien I–III. Erst bei einer Körperlänge von 5,5–6,5 mm erscheinen die Stadien IV und V mit Durchmessern bis zu 160  $\mu$ m. Reife Oocyten (Stadium V) sind vor allem in den Sommermonaten nachzuweisen. Dann werden die Tiere von den oben angegebenen Größen ab legereif. Die Erstlaicher geben ihre Eier frühestens im August, meist im September–Oktober ab. In den anschließenden Monaten bis April enthalten ihre Ovarien weder Oocyten des Stadiums IV noch des Stadiums V. Die älteren Weibchen laichen dagegen früher im Jahr.

### *Eiablage im Aquarium*

Die ab Frühjahr 1971 in künstlichem Seewasser gehälterten Tiere legten im Juli 1971 eine kleine Anzahl Eier, aus denen sich etwa zehn Jungtiere entwickelten. Genauere Zeit- und Laichdaten konnten nicht registriert werden. Im August 1972 wurde ein weiteres Gelege beobachtet. Nach Reinigung des Beckens, geringer Wasserzugabe und Anstieg der Temperatur von 5° auf 10° C legte ein ♀ etwa 500 Eizellen einzeln ab. Die Eier waren nicht durch eine gemeinsame Schleimhülle verbunden. 60 Oocyten des Stadiums V verblieben im Ovar, sieben in den Oviducten. Auch im natürlichen Lebensraum bleibt regelmäßig eine Anzahl ablagereifer Oocyten im Ovar zurück und wird resorbiert.

Brutpflege konnte nicht beobachtet werden. Weder Eier noch Larvalstadien verblieben in den Kiemenrinnen, wie das von bestimmten Standorten an der englischen, norwegischen und deutschen Küste beschrieben worden ist.

*Geschlechtsdimorphismus*

Die Geschlechter lassen sich bei den Polyplacophora nur in zwei Ausnahmefällen äußerlich voneinander unterscheiden (HYMAN 1967). In diesen Fällen schimmert die Färbung der reifen Gonade auf der Ventralseite durch. Im übrigen gibt es weder Kopulationsorgane noch Farbunterschiede im Periostracum und Perinotum.

Die Fußfläche von *L. cinereus* ist nicht einheitlich fleischfarben, sondern es hebt sich ein langelliptischer, zentraler Bereich von gelblich- bis dunkelgrüner Farbe mehr oder weniger deutlich ab. Das ist jedoch auf die Art der Nahrung (Diatomeen, Chlorophyceen) im Magen-Darm-Trakt und in der Mitteldarmdrüse zurückzuführen und nicht auf eine Eigenfarbe der Testes oder Ovarien.

Frühere Beobachtungen an Tieren von Helgoland (GÖTTING, unveröffentlicht) hatten die Vermutung nahegelegt, daß die ♂♂ im Durchschnitt höher gewölbte Schalenplatten haben als die ♀♀. Die Messungen an 63 ♀♀ und 64 ♂♂ aus dem Lister Gebiet, deren Längen zwischen 4,0 und 14,0 mm lagen, ergaben folgende Mittelwerte: Länge: 8,0 mm; Breite: 5,0 mm (bei beiden Geschlechtern); Höhe der ♂♂: 1,73 mm; Höhe der ♀♀: 1,66 mm.

Die geringfügigen Unterschiede der Höhen sind statistisch nicht signifikant. Bei Betrachtung der Gesamtpopulation läßt sich also kein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Form nachweisen. Auch wenn man nur die Tiere ab 8,0 mm oder ab 12,0 mm Körperlänge berücksichtigt und als Maß für die Form das Verhältnis der Höhe zur Länge zugrunde legt, ergibt sich keine signifikante Differenz.

*Sexualindex*

Angaben über das Geschlechterverhältnis von *L. cinereus* fehlen in der Literatur. Die Auszählung des Lister Materials von insgesamt 135 Individuen ergab 67 ♀♀ und 68 ♂♂, also etwa ein Verhältnis 1:1. Das gleiche Verhältnis hat GÖTTING (unveröffentlicht) an Tieren der Insel Helgoland festgestellt. Es ist also anzunehmen, daß in den Populationen von *L. cinereus* die Anzahlen von ♂♂ und ♀♀ gleichgroß sind.

## DISKUSSION

Die Reifungsvorgänge in den Oocyten von *Lepidochitona cinereus* entsprechen im wesentlichen denen bei anderen Tiergruppen. Sie lassen sich nach cytologischen Merkmalen in fünf Stadien einteilen. Das stimmt mit den Verhältnissen bei *Acanthochitona fascicularis* und *Chiton olivaceus* überein (GABE & PRENANT 1949). Etwas andere Abgrenzungen nehmen ANDERSON (1965) bei *Mopalia mucosa* und *Chaetopleura apiculata* (4 Stadien) sowie COWDEN (1961) bei *Chiton tuberculatus* (3 Stadien) vor. Uns scheinen die cytologischen Differenzen in der Entwicklung der Oocyten so gewichtig, daß sie die Unterteilung in fünf Stadien rechtfertigen.

Besondere Aufmerksamkeit verdient das Auftreten eines Dotterkerns. Die hier so bezeichnete Plasmastruktur entspricht den von GÖTTING (1969) aufgestellten Kriterien

bezüglich Färbereaktionen, Entstehung im juxtannucleären Plasma, Wanderung zur Peripherie und schließlicher Auflösung. Eine unmittelbare Beziehung zwischen dem Dotterkern und der Bildung des Dotters hat sich – wie in anderen Fällen – auch bei *L. cinereus* nicht nachweisen lassen. Der Dotterkern entsteht an der Stelle im kernnahen Plasma, an der vorher basophiles Material in kappenförmiger Anordnung gelegen hat. Während GABE & PRENANT (1949) bei *Chiton olivaceus* dieses Material als an der vom Oocytenstiel abgewandten Seite des Kernes liegend beschreiben, konnte bei *L. cinereus* keine regelmäßige Lagebeziehung nachgewiesen werden. Mit dem Dotterkern erscheinen im peripheren Oocytenplasma kleine, noch im Stadium III sich vergrößernde Vakuolen, die schließlich das Cytoplasma erfüllen. Diese „Areolae“ im Sinne von GABE & PRENANT sind durch SELWOOD (1970) auch von *Sypharochiton septentriones* bekanntgeworden. Das Auftreten dieser Areolae kann als lichtmikroskopisch erkennbarer Hinweis auf die fortschreitende Dotterbildung gedeutet werden.

Entwicklung und Aussehen des Nucleolus stimmen mit den Verhältnissen bei verschiedenen Gastropoden überein, insbesondere bei *Lymnaea stagnalis* (RAVEN 1948). Auch GABE & PRENANT (1949) machten entsprechende Beobachtungen an den von ihnen untersuchten Polyplacophora. Der von ihnen beschriebene feulgen-positive Saum und eine Kondensation pyroninophiler Substanzen in Form eines Discus zur Zeit der Dotterbildung ließen sich bei *L. cinereus* nicht nachweisen. Die Veränderungen am Nucleolus bezüglich Struktur und Position, besonders auffällig während der Vitellogenese, lassen einen Einfluß auf intrazelluläre Syntheseleistungen vermuten.

Ungeklärt ist der Zusammenhang zwischen dem relativ großen Nucleolus und den zahlreichen (bis zu 200) kleinen, nucleolusähnlichen Grana. Im Gegensatz zum Nucleolus sind diese nur schwach basophil und umgeben sich meist mit Chromatin, das als basophiler Saum erscheint. ANDERSON (1965) faßt diese Grana als echte Nucleoli auf. Ihre Anzahl vergrößert sich mit der fortschreitenden Reifung der Eizelle.

Die beschriebenen – und auch von anderen Arten bekannten – Vorwölbungen des Oocytoplasmas sind ein besonders auffälliges Charakteristikum im Verlauf der vorliegenden Oogenese. Es ist bisher weder über die ursächlichen Zusammenhänge ihrer Entstehung noch über ihre Funktion Zuverlässiges bekannt. Der wesentliche Effekt ist vermutlich in der Vergrößerung der Oberfläche der Zelle zu sehen, und das dürfte wiederum mit besonders intensiven Stoffaufnahmeprozessen während einer bestimmten Entwicklungsphase zusammenhängen. Ein Hinweis darauf ist darin zu sehen, daß die Incisionen nach Auftreten von Dottermaterial in der Oocyte zurückgebildet werden und im späten Stadium IV verschwinden.

Die Genese der komplizierten Anhänge der Oocyten-Hülle läßt sich befriedigend nur durch weitere, elektronenmikroskopische Untersuchungen klären. Mit Sicherheit läßt sich über die Schichtenfolge nur sagen, daß die Hülle außerhalb der Oocytenmembran aus Gallerte, der Vitellinmembran, Gallerte, den Anhängen und den aufliegenden Follikelzellen aufgebaut ist. IHERING (1878) vertrat die Auffassung, daß die Hülle „von der Follikelmembran gebildet“ werde und daher als Chorion zu bezeichnen sei. GARNAULT (1888) nahm an, daß das Follikelepithel in die Eihülle direkt umgebildet werde, während PELSENEER (1898) kein Follikelepithel erkennen konnte und daher vermutete, die Hülle werde von der Eioberfläche ausgeschieden. PLATE (1901) kam nach Untersuchungen an mehreren Arten zu keinem einheitlichen und eindeutigen Resultat.

SCHWEIKART (1904) hielt die Anhänge für Ausscheidungsprodukte der Follikelzellen. SELWOOD (1970) beschrieb für *Sypharochiton septentriones* ein dorniges, aus drei Schichten bestehendes „Chorion“: Eine innere Schicht aus sauren Mucopolysacchariden, eine mittlere aus Proteiden und eine äußere aus Lipiden. Die mittlere und äußere Schicht seien Produkte der Follikelzellen, die innere werde von der Oocyte gebildet. Eine entsprechende Aussage ist zur Zeit bei *L. cinereus* noch nicht möglich.

Eine bevorzugte Keimzone innerhalb des ventralen Keimepithels ist bei *L. cinereus* nicht festzustellen. Frei von Oogonien und Oocyten sind das an die Oviducte angrenzende und das dorsale Ovar-Epithel. Demgegenüber haben GABE & PRENANT (1949) bei *Acanthochitona fascicularis* je eine Hauptkeimzone unter der IV. und VI. Schalenplatte beschrieben. Entgegen den Befunden bei *A. fascicularis* bleibt bei *L. cinereus* auch die Bewimperung des kubischen, dorsalen Ovar epithels das ganze Jahr hindurch in typischer Ausprägung erhalten und läßt sich nach der Fixierung gut darstellen. Dieses bewimperte Epithel transportiert wahrscheinlich die frei im Ovarlumen liegenden, reifen Oocyten zum Oviduct, dessen bewimperte Zellen dann die weitere Ausfuhr übernehmen.

Die Follikelzellen differenzieren sich zu zwei Formen: (1) Es gibt strang- oder lagerbildende flache Zellen mit im allgemeinen runden Kernen, oft ohne deutlich erkennbaren Nucleolus. Dieser Follikelzelltyp findet sich vom Ovar epithel bis zum Oocytenstiel. (2) Ferner treten extrem flache, ausgebreitete Zellen mit großem, linsenförmigem Kern und deutlichem Nucleolus auf. Sie umhüllen die Oocyten.

Jahreszeitlich bedingte, unterschiedliche Aspekte der Follikelzellen, wie sie von GABE & PRENANT für die drei von ihnen untersuchten Arten beschrieben wurden, waren bei *L. cinereus* nicht nachzuweisen.

Über die Laichzeit von *L. cinereus* liegen verschiedene Angaben vor (vgl. auch JAECKEL 1954): CLARK (1855): Ende Juli (engl. Küste); JEFFREYS (1865): Anfang Juni (engl. Küste); MEYER & MÖBIUS (1872): Ende Juni (Kieler Bucht); LYNGNES (1924): Sommer (Kristiania-Fjord); VON KNORRE (1925): Oktober/November (Helgoland); HOFFMANN (1931): August–Oktober (Helgoland); VAN BENTHEM-JUTTING (1936): Juli bis Oktober (holl. Küste), Juli–September (nordfriesische Inseln und Küste); THORSON (1946): Sommer (Oslo-Fjord), August–November (Helgoland).

Die Laichzeit erstreckt sich danach über 5–6 Monate. Sie ist – wie bei anderen marinen Evertebraten – sicher von ökologischen Faktoren abhängig. Darüber liegen für *L. cinereus* jedoch keine konkreten Angaben vor. Der Laichzeitraum ist sicher auch deshalb so ausgedehnt, weil die Erstlaicher – wie unsere histologischen Untersuchungen ergeben haben – relativ spät im Jahre ablegen, die älteren Tiere dagegen in der Regel früher.

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Entwicklung der Oocyten von *Lepidochitona cinereus* (L.) wurde lichtmikroskopisch untersucht und nach histologischen Merkmalen in fünf Stadien eingeteilt.
2. Während der Reifung wachsen die Oocyten aus dem Keimepithel heraus, bleiben mit ihm zunächst durch einen Gewebsstiel verbunden und lösen sich schließlich völlig.

3. Vor Eintritt in die Hauptphase der Vitellogenese wird die Oberfläche durch Vorwölbungen des Cytoplasma wesentlich vergrößert. Diese Vorwölbungen bilden sich später zurück.
4. Die Oocytenhülle ist mehrschichtig und trägt charakteristische Anhänge.
5. Körpervolumen und Ovarvolumen stehen in direkter Korrelation. Die ♀♀ werden bei einer Länge von etwa 6 mm legereif.
6. Erwachsene ♀♀ legen durchschnittlich 1300, maximal 1800 Eier pro Jahr. Höhepunkte der Eiablage sind im Lister Wattenmeer die Monate Mai–Juni und September–Oktober.
7. Die Geschlechter treten im Verhältnis 1:1 auf.
8. Sexualdimorphismus ließ sich nicht nachweisen.

*Danksagung.* Für die Materialbeschaffung danken wir den Herren Dr. E. ZIEGELMEIER, M. SÖHL und M. STURM von der Litoralstation der Biologischen Anstalt Helgoland in List/Sylt.

#### Erläuterungen zu den Abbildungen

I, II, III, IV, V: Oocyten-Stadien	15: Hüllschicht mit Anhängen
1: Nucleolus	16: Aufwölbungen der Oocyte
1': nucleolusähnliche Grana	17: Oocytenstiel
2: Chromatin	18: Oogonie
3: Caryoplasma	19: Keimepithel
4: Kernhülle und deren Einfaltungen	20: Bindegewebe
5: Nucleus	21: Basalmembran
6: Oocytoplasma	22: Basalkorn
7: Dotter	23: Oviduct
8: Dotterkern	24: Blutlakunen
9: Vakuole	25: Kieme
10: Oocytenmembran	26: Radula
11: Vitellinmembran	27: Magen-Darm-Trakt
12: Follikelzelle	28: Mitteldarmdrüse
13: Kern der Follikelzelle	29: Perinotum
14: Follikelepithel	30: Schalenplatte

#### ZITIERTE LITERATUR

- ANDERSON, A., 1965. Oocyte-follicle cell differentiation in two species of amphineurans (Mollusca), *Mopalia mucosa* and *Chaetopleura apiculata*. J. Cell Biol. (A) **27**, 89–96.
- ANKEL, W. E., 1933. Ei und Eibildung. In: Handwörterbuch der Naturwissenschaften. Fischer, Jena, **3**, 7–36.
- BENTHEM-JUTTING, T. VAN, 1936. Amphineura. Fauna Ned. **1**, T. B, 77–87.
- CLARK, W., 1855. On the phenomena of the reproduction of the chitons. Ann. Mag. nat. Hist. (Ser. 2) **16**, 446–449.
- COWDEN, R. R., 1961. A cytochemical investigation of oogenesis and développement to the swimming larval stage in the chiton, *Chiton tuberculatum* L. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole **120**, 313–325.
- GABE, M. & PRENANT, M., 1949. Contribution a l'histologie de l'ovogénèse chez les polyplacophores. Cellule **53**, 99–116.

- GARNAULT, P., 1888. Recherches sur la structure et le développement de l'oeuf et de son follicule chez les chitonides. Archs. Zool. exp. gén. (Ser. 2), **6**, 82–116.
- GIESE, A. C. & ARAKI, G., 1962. Chemical changes with reproductive activity of the chitons *Katherina tunicata* and *Mopalia hindii*. J. exp. Zool. **151**, 259–267.
- TUCKER, J. S. & BOOLOOTIAN, R. A., 1959. Annual reproductive cycles of the chitons *Katherina tunicata* and *Mopalia hindii*. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole **117**, 81–88.
- GÖTTING, K. J., 1969. Zur Feinstruktur der Dotterkerne in den Oocyten mariner Teleosteer. Verh. dt. zool. Ges. **62**, 339–349.
- HEATH, H., 1907. The gonad in certain species of chitons. Zool. Anz. **32**, 10–12.
- HOFFMANN, H., 1931. Über die Fortpflanzung und Entwicklung von *Trachydermon cinereus*. Z. Morph. Ökol. Tiere **20**, 719–732.
- HYMAN, L. H., 1967. The Invertebrates. McGraw-Hill, New York, **6**, 1–792.
- HERING, H. VON, 1878. Beiträge zur Kenntnis der Anatomie der Chitonen. Morph. Jb. **4**, 128–146.
- JAECKEL, S. G. A., 1954. Aculifera Aplacophora und Aculifera Placophora im Gebiet der Nord- und Ostsee. Kieler Meeresforsch. **10**, 261–271.
- JEFFREYS, J. G., 1865. British Conchology. Van Vorst, London, **3**, 203–229.
- KNORRE, H. v., 1925. Die Schale und die Rückensinnesorgane von *Chiton cinereus* und die ceylonischen Chitonen der Sammlung Plate. Jena. Z. Naturw. **54**, 469–632.
- LOVEN, S., 1856. Über die Entwicklung von Chitonen. Ann. Mag. nat. Hist. **17**, 413–416.
- LYNGNES, R., 1924. Zur Kenntnis der Eihüllen der Chitonen. Skrift. vidensk. Selsk. (Oslo) **20**, 1–19.
- MEYER, H. A. & MÖBIUS, K., 1872. Die Prosobranchia und Lamellibranchia. In: Fauna Kieler Bucht 2, 1–5.
- NIMITZ, M. A., 1964. The histology and histochemistry of the chiton *Katherina* in relation to the reproductive cycle. Diss. Abstr. **25**, 768.
- PELSENER, P., 1898. Recherches morphologiques et phylogénétiques sur les mollusques archaïques. Mém. cour. Acad. r. Sci. Belg. **57**, 1–105.
- PLATE, L., 1901. Die Anatomie und Phylogenie der Chitonen. Zool. Jb. (Suppl.) **5**, 281–592.
- RAVEN, C. P., 1948. The chemical and experimental embryology of *Limnaea*. Biol. Rev. **23**, 333–369.
- ROMEIS, B., 1968. Mikroskopische Technik. Oldenbourg, München. 757 S.
- SCHWEIKART, A., 1904. Beiträge zur Morphologie und Genese der Eihüllen der Cephalopoden und Chitonen. Zool. Jb. (Suppl.) **6**, 353–406.
- SELWOOD, L., 1968. Interrelationships between developing oocytes and ovarian tissues in the chiton *Sypharochiton septentriones*. J. Morph. **125**, 71–103.
- 1970. The role of the follicle cells during oogenesis in the chiton, *Sypharochiton septentriones*. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **104**, 178–192.
- THORSON, G., 1946. Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates, with special references to the planktonic larvae in the Sound. Medd. Kommn Danm. Fisk. og Havunders. (Plankton) **4**, 1–523.

Anschrift des erstgenannten Autors: Dipl.-Biol. H.-P. RICHTER  
 I. Zoologisches Institut  
 63 Gießen  
 Stephanstr. 24  
 Bundesrepublik Deutschland