

Untersuchungen zum Harnsäuremetabolismus von *Littorina littorea* (Gastropoda)*

K. P. Heil & D. Eichelberg

*Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie der Justus-Liebig-Universität,
Stephanstr. 24, D-6300 Gießen, Bundesrepublik Deutschland*

ABSTRACT: Studies of uric acid metabolism in *Littorina littorea* (Gastropoda). Periwinkles, as typical inhabitants of sea-shores, are subjected to extreme changes of environmental conditions, which affect their excretion. In *Littorina littorea* uric acid, urea and ammonium were detected particularly in the kidney, but the only metabolite excreted was ammonium. Only the concentration of uric acid was dependent on the availability of water; decreasing periods of submersion during low tide and raised salinities caused a higher concentration of uric acid, while increasing periods of submersion and lowered salinities effected the opposite. Transfer of periwinkles within their intertidal habitat and laboratory experiments to test the effect of salinity showed that the concentration of uric acid in the kidney is adaptable. The dependence of uric acid concentration in the kidney on environmental conditions and the ammoniotelic excretion of *L. littorea* are discussed with regard to its particular living conditions. It is suggested that uric acid serves as nitrogen depot and has a particular function in osmoregulation.

EINLEITUNG

Im Wattenmeergebiet der deutschen Bucht zählen die *Littorina*-Arten zu den verbreitetsten Gastropoden. Hierbei handelt es sich im wesentlichen um *Littorina neritoides*, *L. saxatilis*, *L. littorea* und *L. obtusata*, deren Lebensbereiche sich zwar gegenseitig z. T. überlappen, die aber doch in der angegebenen Reihung eine deutliche Zonierung ihres Vorkommens vom Supralitoral zum Sublitoral zeigen (vgl. Ziegelmeier, 1966). Bekannt ist ebenfalls, daß eine Parallelität zwischen den Harnsäurekonzentrationen des Weichkörpers und auch der Nieren der verschiedenen *Littorina*-Arten und ihrem Vorkommen in unterschiedlichen Zonen des Litorals besteht (Needham, 1935, 1938; Nicol, 1960). Die Arten des Supralitorals weisen höhere Harnsäurewerte auf als Arten des übrigen Litorals. Diese Tatsache wird damit erklärt, daß die Strandschnecken entsprechend der geringeren Wasserverfügbarkeit von der Ammoniotelie aquatisch lebender Gastropoden zur Uricotelie terrestrischer Formen übergegangen sind, wobei die geringsten Wasserbedeckungszeiten die höchsten Harnsäurekonzentrationen bedingen (*L. neritoides*).

Sollte die unterschiedliche Wasserverfügbarkeit der wahre Grund für die unterschiedlichen Harnsäurewerte verschiedener *Littorina*-Arten sein, so müßte dies auch für

* Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Populationen einer Art aus unterschiedlichen Litoralbereichen zutreffen. Zur Klärung dieser Frage haben wir Populationen von *Littorina littorea* aus verschiedenen Gezeitenbereichen vergleichend untersucht sowie die Veränderungen der Harnsäurekonzentrationen bei verschiedenen Wasserbedeckungszeiten und unterschiedlichen Meerwasserkonzentrationen geprüft. Darüber hinaus wurden der gesamte Exkretstoffwechsel untersucht und die stickstoffhaltigen Exkretionsprodukte bestimmt.

MATERIAL UND METHODEN

Die untersuchten *L. littorea* wurden im Wattengebiet des Königshafens, List/Sylt, gesammelt. Sie wurden sofort tiefgefroren und kurz vor der Analyse wieder aufgetaut. Bei den Umsetzungsexperimenten wurden die Tiere durch Siebe so am Meeresboden fixiert, daß die Nahrungsaufnahme nicht beeinträchtigt wurde. Für die Salinitätsversuche wurde Meerwasser zu 17 ‰, 34 ‰ und 68 ‰ angesetzt (Tropicmarin, Buchschlag). Zur Analyse der ausgeschiedenen Metabolite wurde dem umgebenden Wasser Antibiotika (Penicillin G, Sigma, München und Eusaprim, Wellcome, London) zugesetzt, um eine bakterielle Beeinflussung möglichst auszuschließen. Zur Bestimmung von Harnsäure, Harnstoff und Ammonium im Gewebe wurden die Weichkörper oder die Nieren im 10fachen Volumen 0,5 % Li_2CO_3 -Lösung homogenisiert und bei 20 ° C mit 3000 g für 5 min zentrifugiert (Eppendorf-Zentrifuge). Im Überstand wurden die Konzentrationen der Stoffe ermittelt. Die Harnsäure wurde mit dem Peridochrom-Harnsäuretest (Boehringer, 1981; Mannheim) bestimmt, einem Test, der auf einer enzymatischen Aufspaltung der Harnsäure durch Uricase und anschließender Bildung eines blauen Azino-Farbstoffs beruht. Die Intensität der Farblösung wurde spektralphotometrisch bestimmt (PMQ II, Zeiss, Oberkochen).

Harnstoff und Ammoniumionen wurden mit dem Merckotest-Harnstoff bestimmt (Merck, 1980; Darmstadt). Dabei wird der Harnstoff zunächst enzymatisch in Ammonium umgewandelt und nach der Berthelot-Reaktion die Farbintensität photometrisch gemessen.

Chromatographiert wurden Homogenate, nachdem sie mit 10 % Trichloressigsäure enteiweißt wurden, auf Kieselgel-Dünnschichtplatten (Merck, Darmstadt). Als Laufmittel dienten Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1, 0,5 % NH_4Cl und 0,5 % Li_2CO_3 .

Zur statistischen Absicherung der Ergebnisse wurden die Meßwerte mit dem t-Test geprüft. In den Tabellen werden die Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern angegeben.

ERGEBNISSE

Stickstoffmetabolite im Tierkörper

Im Weichkörper von *Littorina littorea* konnten neben Harnsäure auch Harnstoff und Ammonium nachgewiesen werden. Typische Stickstoffmetabolite, wie z. B. Guanin, Xanthin und Allantoin, ließen sich dagegen chromatographisch nicht nachweisen. Die Konzentrationen der untersuchten Metabolite sind in der Niere am größten. Die Harnsäurekonzentration der Niere ist ca. zehnmal größer als die im restlichen Körper (Tab. 1).

Unter den Stickstoffprodukten der Niere bildet die Harnsäure den größten Anteil (Tab. 2).

Tab. 1. Harnsäurekonzentrationen im Weichkörper und in der Niere von *Littorina littorea* aus dem oberen Eulitoral; TG = Trockengewicht, N = Anzahl der Messungen

Objekt	Harnsäure (mg/g TG)	N
<i>L. littorea</i> , Weichkörper (oberes Eulitoral)	0,21 ± 0,02	14
<i>L. littorea</i> , Niere (oberes Eulitoral)	2,16 ± 0,14	63

Vergleich zweier Populationen unterschiedlicher Bereiche des Eulitorals

Es wurden die Harnsäure-, Harnstoff- und Ammoniumkonzentrationen der Nieren verschiedener *L. littorea* – Populationen bestimmt; eine Population aus dem oberen Eulitoral zwischen Springtidenhochwasserlinie (STHWL) und Mitteltidenhochwasserlinie (MTHWL), die andere aus dem unteren Eulitoral um die Springtidenniedrigwasserlinie (STNWL). Die Ergebnisse der einzelnen Bestimmungen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tab. 2. Harnsäure-, Harnstoff- und Ammoniumkonzentration in der Niere verschiedener *Littorina littorea*-Populationen

Objekt	Harnsäure (mg/g TG)	N	Harnstoff (mg/g TG)	N	NH ₄ ⁺ (mg/g TG)	N
<i>L. littorea</i> (oberes Eulitoral)	2,16 ± 0,14	63	0,21 ± 0,04	16	0,32 ± 0,03	16
<i>L. littorea</i> (unteres Eulitoral)	1,65 ± 0,11	63	0,24 ± 0,05	16	0,35 ± 0,04	16

Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Harnsäurekonzentration der Nieren beider Populationen ($0,01 > p > 0,001$). Die Nieren von Tieren aus dem oberen Bereich des Eulitorals zeigen eine um ca. 30 % höhere Harnsäurekonzentration. Für die entsprechenden Harnstoff- und Ammoniumkonzentrationen trifft dies allerdings nicht zu; sie sind bei beiden Populationen statistisch gleich ($p > 0,05$, $p > 0,05$). Unterschiedliche Wasserbedeckungszeiten beeinflussen nur die Harnsäurekonzentration der Schnecken.

Umsetzungsexperimente

Um den Einfluß der unterschiedlichen Wasserverfügbarkeit auf die Nieren abzuschern, wurden Strandschnecken aus dem oberen Eulitoral in den Bereich der STNWL bzw. aus letzterem Bereich in das obere Eulitoral gebracht. Nach 48stündigem Aufenthalt im neuen Biotop wurden die Harnsäurekonzentrationen der Nieren gemessen. Die Meßergebnisse lassen deutlich erkennen, daß sich die Harnsäurekonzentrationen der Nieren recht schnell der neuen Wasserbedeckungszeit bzw. -verfügbarkeit anpassen, sie gehen sogar – zumindest nach 48 Std – noch etwas über die für Tiere dieser Region typischen Werte hinaus (Tab. 3).

Tab. 3. Harnsäurekonzentration in der Niere verschiedener *Littorina littorea*-Populationen

Objekt	Harnsäure (mg/g TG)	N
<i>L. littorea</i> , umgesetzt aus oberem Eulitoral in unteres Eulitoral	1,34 ± 0,14	14
<i>L. littorea</i> , umgesetzt aus unterem Eulitoral in oberes Eulitoral	2,24 ± 0,26	14

Die unterschiedlichen Harnsäurekonzentrationen der Nieren werden also nachweislich von der täglichen Wasserbedeckungszeit beeinflusst.

Einfluß der Salinität

Wenn die Wasserverfügbarkeit offensichtlich die Harnsäurekonzentration der Nieren verändert, so wäre zu erwarten, daß auch unterschiedliche Salinitäten des umgebenden Wassers einen ähnlichen Effekt auf die Harnsäurekonzentration haben sollten. Um dies zu prüfen, wurden die Tiere im Labor bei Salinitäten von 17 ‰, 34 ‰ und 68 ‰ gehalten. Die Ergebnisse zeigen zunächst, daß bei einer Laborhaltung in künstlichem Seewasser normaler Salinität sich die Harnsäurekonzentrationen in den Nieren kontinuierlich erhöhen. Dieser Anstieg bleibt zunächst noch unverständlich. Hält man die Gastropoden dagegen in verdünntem oder konzentriertem Seewasser, so verändert sich die Akkumulationsrate für Harnsäure deutlich.

Eine Erhöhung der Seewasserkonzentration (68 ‰) wird von den Tieren mit einer enormen Akkumulationssteigerung von Harnsäure beantwortet, eine Verminderung der Salinität (17 ‰) führt dagegen zu einem Abfall der Harnsäureanhäufung in der Niere (Tab. 4).

Hyperosmotisches Seewasser bewirkt in gleicher Weise wie geringere Wasserbedeckungszeiten bei Littorinen des oberen Eulitorals eine höhere Harnsäurekonzentration.

Abgegebene Exkretstoffe

An stickstoffhaltigen Exkretstoffen konnte im Verlauf der Untersuchung nur Ammonium nachgewiesen werden. Die tägliche NH_4^+ Exkretionsrate von *L. littorea* beträgt $23,1 \pm 2,8 \mu\text{g/g}$ Totalgewicht. Harnstoff und Harnsäure konnten dagegen trotz mehrfacher Messungen über einen Zeitraum von 3 Wochen hinaus im umgebenden Wasser

Tab. 4. Harnsäurekonzentration in der Niere von *Littorina littorea* bei unterschiedlichen Salinitäten

Zeit / Salinität	Harnsäure (mg/g TG)	N
28 Tage, 34 ‰	4,1 ± 0,33	12
28 Tage, 34 ‰ + 18 Tage, 17 ‰	2,1 ± 0,21	12
28 Tage, 34 ‰ + 18 Tage, 34 ‰	5,7 ± 0,30	12
28 Tage, 34 ‰ + 18 Tage, 68 ‰	16,8 ± 1,48	12

nicht nachgewiesen werden, wobei eine eventuelle sofortige bakterielle Zersetzung dieser beiden Substanzen durch Hinzufügen von Antibiotika verhindert wurde. Nach diesem Ergebnis wird die akkumulierte Harnsäure (und auch Harnstoff) offensichtlich vor ihrer Elimination aus der Niere abgebaut, wodurch sich *L. littorea* als ein prinzipiell ammoniotielisches Tier zu erkennen gibt.

DISKUSSION

Aquatische Gastropoden sind in der Regel ammoniotielisch, terrestrische Vertreter dagegen uricotelisch (Campbell & Bishop, 1970). Für die marinen Strandschnecken ist bekannt, daß sie Harnsäure bilden und auch speichern können (Needham, 1935, 1938; Potts, 1967). Hierbei korrespondieren bei den in verschiedenen Zonen des Litorals lebenden Arten die Harnsäurekonzentrationen mit den unterschiedlichen Wasserbedeckungszeiten. Auch unsere Untersuchungen zeigen, daß lange Wasserverfügbarkeit einen geringeren Harnsäuregehalt bedingt, kurze Wasserbedeckung dagegen zu höheren Harnsäurekonzentrationen führt. So konnten wir bei der hauptsächlich im Epilitoral vorkommenden pseudoterrestrischen *L. neritoides* eine vierfach höhere Harnsäurekonzentration im Weichkörper feststellen als bei der eulitoralischen *L. littorea* (Heil, unveröff.). Die Abhängigkeit der Harnsäureakkumulation von der Wasserverfügbarkeit geht aber für die Art *L. littorea* auch aus unseren Versuchen bezüglich der Veränderung der Wasserbedeckungszeiten und der veränderten Salinitäten des umgebenden Wassers deutlich hervor.

Die Orte verstärkter Harnsäureablagerung sind bei *L. littorea* nachweislich die Nieren, die eine 10fach höhere Harnsäurekonzentration als der Weichkörper haben. Dies scheint auch für andere Gastropoden zuzutreffen. Den gleichen Akkumulationsort bestätigen für *Littorina* die Untersuchungen von Needham (1935) und Spitzer (1937) sowie Raghupathiramireddy & Swami (1963) für die amphibische Schnecke *Pila* und Jezewska et al. (1963) für die Weinbergschnecke.

Die von uns an *L. littorea* gemessenen Harnsäurekonzentrationen entsprechen den von Needham (1935) ermittelten Werten weitgehend (1,3–1,6 mg/g TG), liegen allerdings etwas unter den von Spitzer (1937) bestimmten Werten (2,3–4,9 mg/g TG). Eine Erklärung für diese Diskrepanz dürfte die Tatsache sein, daß Spitzer die *Littorinen* vor der biochemischen Analyse für eine längere Zeit im Labor gehältert hatte. Nach unseren Ergebnissen (Tab. 4) führt eine Aquarienhaltung jedoch zu einem kontinuierlichen Harnsäureanstieg in den Nieren. Möglicherweise ist diese Harnsäureakkumulation ein Zeichen der verminderten Nahrungsaufnahme. Interessant ist in diesem Zusammenhang der Befund von Emerson & Duerr (1967), die bei *L. planaxis* unter Hungerbedingungen eine Abnahme an freien Aminosäuren und eine signifikante Zunahme der Harnsäurekonzentration feststellen konnten. Auch von *Pila* und *Helix* sind Harnsäureakkumulationen zu Zeiten verminderten Nahrungsangebots beschrieben worden (Raghupathiramireddy & Swami, 1963; Jezewska et al., 1963). Die von Daguzan (1975) erwähnte Altersabhängigkeit der Harnsäurekonzentrationen bei *Littorinen* dürfte bei unseren relativ kurzfristig laufenden Experimenten (46 Tage) nicht für eine Erklärung des Harnsäureanstiegs von Bedeutung sein.

Nach unseren Ergebnissen ist die Harnsäurekonzentration der Nieren offensichtlich adaptativ (Tab. 2 und 3), wobei die Anpassungen der Harnsäuremenge relativ kurzfri-

stig erfolgen. Diese Tatsache und insbesondere der Befund einer schnellen Zunahme der Harnsäurewerte unter veränderten osmotischen Bedingungen (Tab. 4) und Hunger läßt die Vermutung zu, daß die Harnsäure nicht nur aus den Purinen der Nahrung stammt. Vielmehr scheint die meiste Harnsäure aus dem vom Eiweißstoffwechsel anfallenden Ammonium unter Energieaufwand synthetisiert zu werden. Nach unseren Ergebnissen scheint es berechtigt, die Frage nach der Bedeutung der Harnsäure für *Littorina* erneut zu stellen. Needham (1935, 1938) sah in der Harnsäurekonzentration in den Nieren auch ein Maß für die Harnsäureelimination. Für die Parallelität zwischen abnehmender Wasserbedeckungszeit und steigender Harnsäurekonzentration bot sich die Erklärung der Notwendigkeit eines konzentrierteren Harns bei verminderter Wasserverfügbarkeit geradezu an. Die Elimination von toxischen Stickstoffendprodukten als Harnsäure bei den zwar marinen, aber am Übergang zu terrestrischer Lebensweise stehenden *Littorinen* fügte sich auch gut in das Modell der Uricotelie landlebender Gastropoden ein. Diese Deutung wird auch in mehreren zusammenfassenden Arbeiten übernommen und als biochemische Anpassungen von Tieren an das Leben in der Litoralregion gewertet (Potts, 1967; Barrington, 1979).

Da es uns bisher nie gelungen ist, Harnsäure als Exkretionsprodukt von *L. littorea* nachzuweisen, sind wir der Meinung, daß eine direkte Ausscheidung von Harnsäure für *L. littorea* nicht zutrifft. Eine Harnsäureelimination ist erst nach Abbau dieser Substanz zu Ammonium möglich, das in meßbaren Mengen tatsächlich von den Tieren abgegeben wird. Überflüssiger Stickstoff wird von *L. littorea* in Form von Ammonium ausgeschieden, *L. littorea* zeigt also ammoniotielisches Exkretionsverhalten. Auch nach den Untersuchungen von Spitzer (1937) ist das Ammonium Hauptexkretionsprodukt bei *L. littorea*. Nach diesem Autor sollen noch geringe Mengen Harnstoff, Purine (6 %) und kaum Harnsäure ausgeschieden werden (Spitzer, 1937). Harnstoff und Purine ließen sich von uns unter den Exkretionsprodukten bei *L. littorea* nicht nachweisen, und auch Duerr (1968) konnte bei der Untersuchung von sieben marinen Prosobranchiern, darunter auch *L. sitkana*, nie Harnstoff in den Exkretstoffen feststellen, wohl aber Ammonium. Eine Abgabe von Harnsäure und geringen Mengen Harnstoff bei *L. littorea* wird allerdings von Daguzan (1975) erwähnt. Da Spitzer und Daguzan – im Gegensatz zu den Untersuchungen von Duerr und uns – dem umgebenden Wasser keine Antibiotika zugesetzt haben, könnte die insbesondere von Daguzan gefundene Harnsäure bakteriellen Ursprungs sein, d. h. Bakterien könnten aus Exkrementen der Tiere bzw. Pflanzenresten Harnstoff oder Harnsäure als Zwischenprodukte bilden. Auf die Notwendigkeit, durch Antibiotika bakterielle Beeinflussungen zu verhindern, weisen auch Campbell & Bishop (1970) hin, insbesondere bei der Untersuchung der abgegebenen Stoffwechselendprodukte mariner Gastropoden.

Wenn also in der Niere akkumulierte Harnsäure nicht direkt, sondern erst nach Abbau zu Ammonium ausgeschieden werden kann, so kommt der Harnsäure offensichtlich eine Speicherfunktion zu. Wir denken hier etwa an ein Stickstoffdepot; eine ähnliche Bedeutung für die Harnsäure vermutet auch Duerr (1967, 1968). Den physiologischen Sinn eines N-Depots sehen wir in folgendem: Bei Wassermangel könnte *L. littorea* den im Stoffwechsel anfallenden Stickstoff zu Harnsäure synthetisieren und ihn in relativ ungiftiger Form in der Niere speichern. Bei ausreichender Wasserverfügbarkeit wird dann das Harnsäuredepot über die Uricolyse zu Ammonium abgebaut und ausgeschieden (Abb. 1). In der Trockenphase verhält sich *L. littorea* also wie ein

terrestrischer Pulmonat während seiner Ruheperiode, in der kein Harn produziert wird. Daß eine Uricolyse bei *L. littorea* prinzipiell möglich sein sollte, ist nach den Untersuchungen von Daguzan (1975) anzunehmen, der alle Enzyme der Uricolyse in *L. littorea* nachweisen konnte.

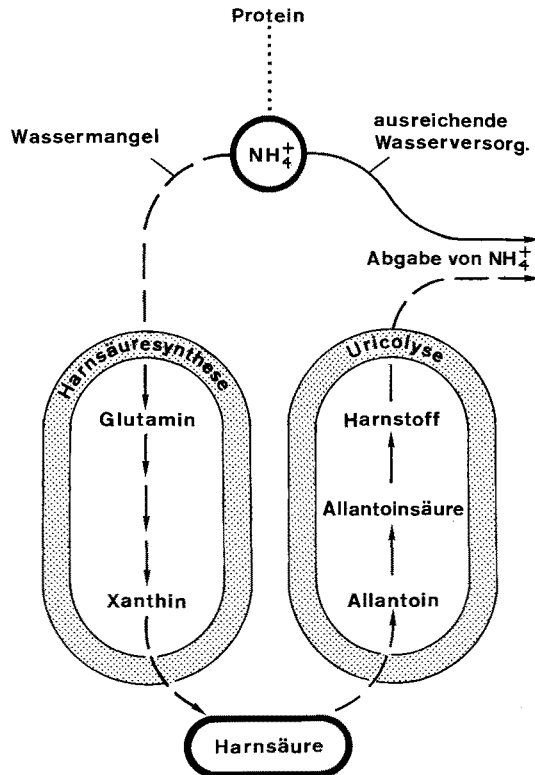


Abb. 1. Harnsäure als Stickstoffdepot. Beseitigung des aus dem Proteinstoffwechsel anfallenden Stickstoffes bei unterschiedlicher Wasserverfügbarkeit. (1) Ausreichende Wasserverfügbarkeit; Uricolyse und Abgabe von NH_4^+ . (2) Wassermangel; Fixierung des anfallenden NH_4^+ als Harnsäure

Unsere Ergebnisse zur Wirkung unterschiedlicher Salinitäten auf die Bildung und das Akkumulationsvermögen an Harnsäure in der Niere von *L. littorea* zeigen auch deren Abhängigkeit von unterschiedlichen osmotischen Belastungen. Erhöhte Osmolarität des umgebenden Wassers wird von den Tieren deutlich mit einer gesteigerten Harnsäurebildung beantwortet (Tab. 4). Bei der Gezeitenschnecke *Tegula funebris* konnten Peterson & Duerr (1969) ebenfalls gesteigerte Harnsäurewerte messen, wenn die Tiere einem Salzstreß ausgesetzt wurden. Wir vermuten deshalb, daß die Harnsäure neben der Bedeutung als N-Depot auch noch eine Rolle bei der Osmoregulation erfüllt.

Mayes (1960, 1962) beschreibt für vier *Littorina*-Arten eine unterschiedliche Toleranz gegenüber Hydratation und Dehydratation. *L. neritoides* verträgt nach dieser Untersuchung eine Austrocknung wesentlich besser als *L. littorea*. Möglicherweise steht diese

größere Widerstandsfähigkeit von *L. neritoides* gegenüber dem Austrocknen im Zusammenhang mit dem festgestellten höheren Harnsäuregehalt.

Sollte also aus osmoregulatorischen Gründen der Harnsäuregehalt von *L. littorea* bei steigender Außensalinität erhöht werden, so müßte bei anschließender Erniedrigung der Salinität des Außenmediums – entsprechend der jetzt einsetzenden Uricolyse – die Ammoniumabgabe meßbar gesteigert sein. Wir haben dies bisher bei *L. littorea* noch nicht überprüft. Ergebnisse von Emerson (1969) scheinen diese Vermutung zu rechtfertigen. Er beschreibt – allerdings für *L. sitkana* – unterschiedliche Ammonium-Exkretionsraten in Abhängigkeit von der Salinität des Außenmediums. Die Ammonium-Exkretionsrate ist in 50 % Seewasser größer und in 150 % Seewasser geringer als in normalem Meerwasser.

Danksagung. Für technische Hilfe danken wir Frau M. Robeck und Frau H. Schmidt.

ZITIERTE LITERATUR

- Barrington, E. T. W., 1979. Invertebrate structure and function. Nelson, Middlesex, 765 pp.
- Boehringer Mannheim Diagnostica, 1981. Testfibel zur Harnsäurebestimmung. Boehringer, Mannheim, 17 pp.
- Campbell, J. W. & Bishop, S. H., 1970. Nitrogen metabolism in molluscs. In: Comparative biochemistry of nitrogen metabolism, 1. The invertebrates. Ed. by J. W. Campbell. Acad. Press, London, 493 pp.
- Daguzan, J., 1975. Recherches sur les Littorinidae. – Thèse Doct. Sci. nat., Rennes, 400 pp.
- Duerr, F. G., 1967. The uric acid content of several species of prosobranch and pulmonate snails as related to nitrogen excretion. – Comp. Biochem. Physiol. 22, 333–340.
- Duerr, F. G., 1968. Excretion of ammonia and urea in seven species of marine prosobranch snails. – Comp. Biochem. Physiol. 26, 1051–1059.
- Emerson, D. N. & Duerr, F. G., 1967. Some physiological effects of starvation in the intertidal prosobranch *Littorina planaxis*. – Comp. Biochem. Physiol. 20, 45–53.
- Emerson, D. N., 1969. Influence of salinity on ammonia excretion rates and tissue constituents of euryhaline invertebrates. – Comp. Biochem. Physiol. 29, 1115–1133.
- Jezewska, M., Gorzkowski, B. & Heller, J., 1963. Nitrogen compounds in snail *Helix pomatia* excretion. – Acta biochim. pol. 10, 55–65.
- Mayes, P. A., 1960. Physiological adaptation to environment in the Littorinidae. – J. Physiol. 151, 17–18.
- Mayes, P. A., 1962. Comparative investigations of the euryhaline character of *Littorina* and the possible relationship to intertidal zonation. – Nature, Lond. 195, 1269–1270.
- Merck Diagnostica, 1980. Anleitung zur Harnstoffbestimmung. – Merck, Darmstadt, 4 pp.
- Needham, J., 1935. Problems of nitrogen catabolism in invertebrates, II. Correlation between uricotelic metabolism and habit in the phylum mollusca. – Biochem. J. 29, 238–251.
- Needham, J., 1938. Contributions of chemical physiology to the problem of reversibility in evolution. – Biol. Rev. 13, 225–251.
- Nicol, J. A. C., 1960. The biology of marine animals. Pitman, London, 468 pp.
- Peterson, M. B. & Duerr, F. G., 1969. Studies on osmotic adjustment in *Tegula funebris*. – Comp. Biochem. Physiol. 28, 633–644.
- Potts, W. T. W., 1967. Excretion in the molluscs. – Biol. Rev. 42, 1–41.
- Raghupathiramireddy, S. & Swami, K. S., 1963. Distribution of uric acid in the soft parts of the amphibious snail, *Pila*. – J. Anim. Morph. Physiol. 10, 154–157.
- Spitzer, J. M., 1937. Physiologisch-ökologische Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel der Mollusken. – Zool. Jb. (Allg. Zool. Physiol. Tiere) 57, 457–496.
- Ziegelmeier, E., 1966. Die Schnecken (Gastropoda, Prosobranchia) der deutschen Meeresgebiete und brackigen Küstengewässer. – Helgoländer wiss. Meeresunters. 13, 1–61.