

Untersuchungen zum Körperbau von Meeresschwämmen.

II. Das Wasserleitungssystem von *Halichondria panicea*

P -F. Langenbruch

*Entwicklungsgeschichtliche Abteilung, Zoologisches Institut der Universität Bonn;
Poppelsdorfer Schloß, D-5300 Bonn 1, Bundesrepublik Deutschland*

ABSTRACT: Body structure of marine sponges. II. The water-conducting system of *Halichondria panicea*. The water-conducting system of *Halichondria panicea* (Pallas) shows the classical eurypylous type. The excurrent system consists of a multiple anastomosing network of channels, within which numerous flagellated chambers are embedded in such a way that their apopyles open into the excurrent canals. Each flagellated chamber communicates with the incurrent system by way of several prosopyles.

EINLEITUNG

Das Wasserleitungssystem der Schwämme des Leucon-Typs wird nach einer von Sollas (1888) vorgenommenen Einteilung traditionell (Minchin, 1900; Hyman, 1940; Brien, 1973) in die drei Typen eurypyl, aphodal und diplodal unterteilt. Da neuere mikroskopische Analysen dieser Organisationstypen fehlen, soll in der vorliegenden Arbeit das Wasserleitungssystem von *Halichondria panicea* (Pallas) einem Vertreter des eurypylen Typs, exemplarisch untersucht werden. Die Kombination der bisher bei Meeresschwämmen noch nicht angewandten Sandwich-Methode (Ankel & Eigenbrodt, 1950) mit der Phasenkontrast- und Elektronenmikroskopie verspricht neue Erkenntnisse zur Grundorganisation dieses Schwammes.

MATERIAL UND METHODEN

Die für die Untersuchung verwendeten Schwämme wurden im Sommer 1981 von der Biologischen Anstalt Helgoland geliefert und anschließend etwa ein halbes Jahr in einem 240-l-Seewasseraquarium bei 14 °C und regelmäßiger Fütterung mit Liquify marine (Liquify Co. Ltd. Dorking, England), Liquizell (Dohse Aquaristik Bonn) und diversem Trockenplankton gehalten.

Als Kulturgefäße für das Sandwich-Verfahren (Ankel & Eigenbrodt, 1950) zur Lebendbeobachtung dienten Polystyrolschalen von 5 cm Durchmesser, auf deren Boden 6 × 20 mm große Deckglasstreifen an den Ecken punktförmig angeklebt wurden. Ein dünner, als Abstandhalter zwischen Schalenboden und Deckgläsern eingefügter Papierstreifen wurde vor Kulturbeginn entfernt. Die Schalen gelangten anschließend auf den

Boden eines mit Seewasser (14–16 °C) gefüllten 4-l-Vollglasaquariums. Mit einer Schere zerteilte etwa 1 mm³ große Schwammstücke wurden seitlich der Deckgläser auf den Schalenboden aufgebracht. Sie bildeten innerhalb weniger Tage durch Reorganisation kleine Schwämme, die bei ihrer Ausbreitung auf dem Schalenboden in den Spaltraum zwischen Schalenboden und Deckglas einwuchsen.

Die Präparation von Schwammstücken für die Licht- und Elektronenmikroskopie verlief folgendermaßen: (1) Fixierung: 1 % Glutaraldehyd und 1 % OSO₄ in 0,1 M Na-Cacodylatpufferlösung, pH 7,0, 4 °C, 1 h. (2) Wässerung: 6,9 % Rohrzucker in 0,1 M Na-Cacodylatpufferlösung, pH 7,3, 6 × 10 min. (3) Entkieselung: 5%ige Flußsäure in Wässerungslösung (2), 2 h. (4) Wässerung: Wässerungslösung (2), 3 × 10 min. (5) Entwässerung: Äthylalkoholreihe vom 15%igen bis zum abs. Alkohol in 7 Stufen, 20 °C, insgesamt 3½ h. (6) Nachkontrastierung: 1 % Phosphorwolframsäure und 1 % Uranylacetat im 70%igen Äthylalkohol der Entwässerungsreihe, 2 h bei 4 °C. (7) Einbettung: Styrol-Methacrylat.

Semi- und Ultramikrotomie: LKB-Ultratome III. Stereomikroskopie: Zeiss-Stereomikroskop mit Fotozubehör. Hellfeld- und Phasenkontrastmikroskopie: Leitz-Dialux mit Wild-MPS-51-Fotoautomatik. Negativmaterial: Ilford PAN F. Elektronenmikroskopie: Zeiss EM 9 S-2. Negativmaterial: Agfa Ortho 25 Professional.

ERGEBNISSE

Lebendbeobachtungen

Die stereomikroskopische Aufnahme in Abb. 1 stellt eine 7 Wochen alte, in einer Polystrolschale gewachsene Sandwich-Kultur dar.

Nach der Reorganisation aus einem kleinen Gewebestück ist ein Teil des Schwammes von der am linken Bildrand gelegenen Deckglaskante (DK) her scheibenförmig in den Spaltraum zwischen Schalenboden und Deckglas eingewachsen. Oben rechts bildet das zwischen Schalenboden und Deckglasunterseite senkrecht ausgespannte Pinacoderm (PD) in der Aufsicht eine deutliche Begrenzungslinie. Im übrigen Randbereich tritt der auf dem Schalenboden voranwachsende Pinacocytenaum (PCS) als äußere Begrenzung des Schwammes in Erscheinung. Das Pinacoderm steht in diesem Bereich schräg zur Betrachtungsebene und ist daher in der Aufsicht nicht zu erkennen.

Von dem seitlich des Deckglases gelegenen Gewebebereich strahlen dichte Gewebszüge (GZ) in den Flachschwamm ein. Die stereomikroskopisch schlecht erkennbaren Nadeln (N) liegen überwiegend in der Wachstumsrichtung des Schwammes.

Im Innern des Schwammes erkennt man ein dreidimensionales Netzwerk verzweigter Kanäle (K). Die stereomikroskopische Aufnahme läßt bereits vermuten, daß es sich hierbei um ein kommunizierendes Kanalsystem handelt.

Zusätzliche Informationen bietet die mikroskopische Lebendbeobachtung bei stärkerer Vergrößerung. Die eine Woche später entstandene Ausschnittsaufnahme der selben Sandwich-Kultur in Abb. 2 wurde nach Absaugen des Wassers aus der Kulturschale bei Hellfeld-Einstellung gemacht. Der auf dem Schalenboden verbliebene Wasserfilm reichte kurzfristig aus, um das Austrocknen der Kultur zu verhindern.

Am oberen Bildrand verläuft als unscharfe, dunkle Linie das zwischen Deckglas und Kulturschalenboden ausgespannte Pinacoderm (PD). Die Focusebene liegt im

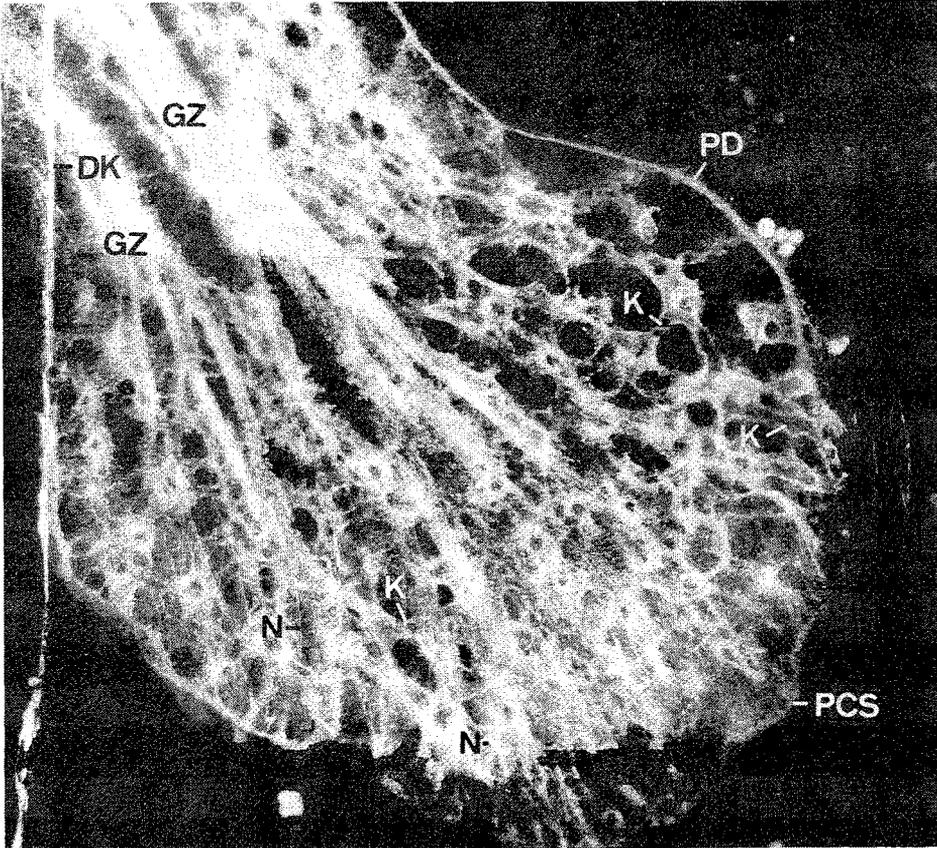
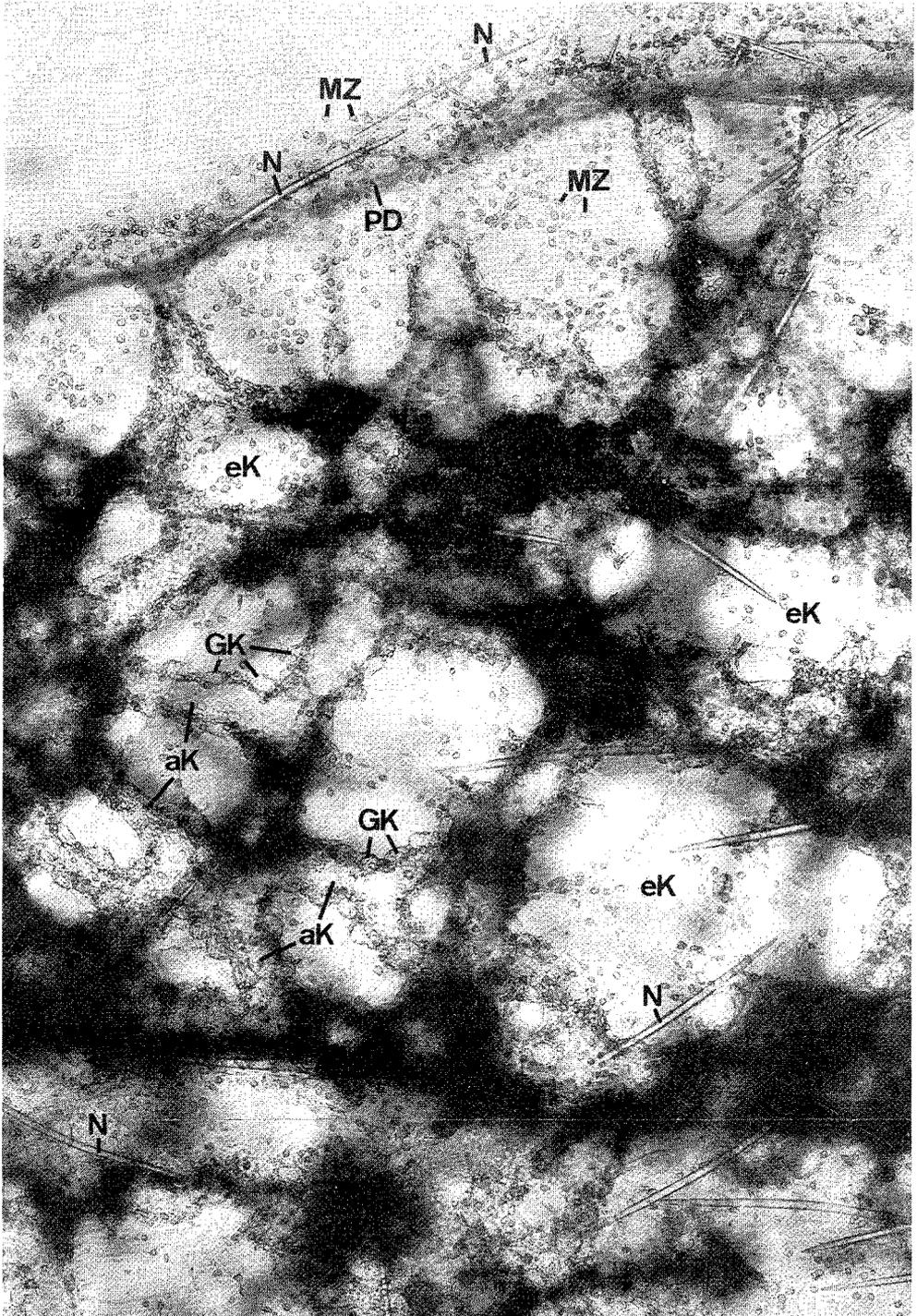


Abb. 1. Stereomikroskopische Lebendaufnahme einer 7 Wochen alten Sandwich-Kultur von *Halichondria panicea*. Von dem links der Deckglaskante (DK) gelegenen dreidimensionalen Schwammteil führen dichte Gewebezüge (GZ) in den Flachschwamm. Der Spaltraum zwischen Deckglas und Kulturschalenboden ermöglicht die Ausbildung eines flachen, dreidimensionalen Kanal (K)-Systems. PD Pinacoderm, PCS Pinacocytenaum, N Nadeln. 20 ×

Bereich der unteren Deckglasfläche, so daß Mesenchymzellen (MZ) und Nadeln (N) in den flachen, der Deckglasunterseite aufliegenden Gewebebereichen zu erkennen sind. Das Bild wird im übrigen von dem verzweigten, vielfach kommunizierenden ausführenden Kanalsystem (aK) beherrscht. Außerhalb der Focusebene gelegene Kanäle zeichnen sich nun schattenhaft ab. Die ausführenden Kanäle in der unteren Bildhälfte sind dicht mit Kragengeißelkammern (GK) besetzt, deren zum Kanallumen gerichteter Geißelschlag bei der Lebendbeobachtung gut zu erkennen ist. Zur Schwammpерipherie hin nimmt in den Kanalwandungen die Anzahl der Kragengeißelkammern ab. Einzelne kragengeißelkammerfreie Kanalabschnitte erreichen das am oberen Bildrand gelegene Pinacoderm. Bietet man einer Sandwich-Kultur partikuläre Nahrung, z. B. Hefezellen, an, so treten diese durch die Dermalporen in den Schwamm ein und gelangen mit dem Wasserstrom durch die zwischen den ausführenden Kanälen (aK) gelegenen Räume zu



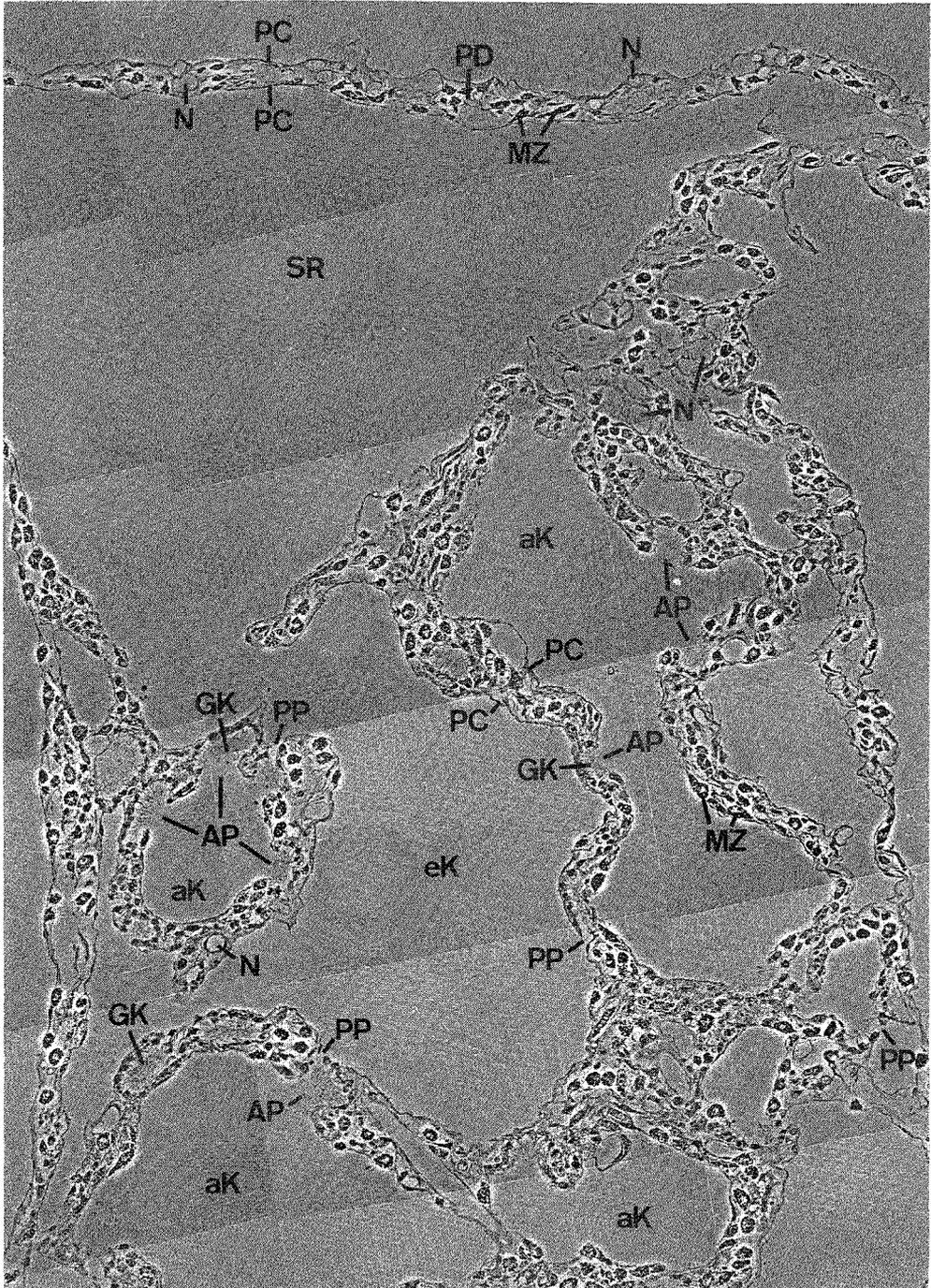
den Kragengeißelkammern, an denen sie sich festsetzen. Diese hell erscheinenden Areale stellen folglich Anteile des einführenden (eK) Systems dar.

Licht- und Elektronenmikroskopie

Abbildung 3 stellt einen senkrecht zur Oberfläche geführten Semidünnschnitt durch den Randbereich von *Halichondria panicea* in einer phasenkontrastmikroskopischen Aufnahme dar. Der Schwamm wird nach außen durch ein relativ derbes Pinacoderm (PD) begrenzt. Es besteht aus zwei Pinacocytenepithelien (PC), die einen flachen mesenchymatischen Raum begrenzen, der Mesenchymzellen (MZ), Nadeln (N) und eine dichte Interzellulärsubstanz enthält. Unter dem Pinacoderm (PD) liegt der Subdermalraum (SR), von dem aus ein einführender Kanal (eK) in das Schwamminnere verläuft. Das übrige Gewebe bildet schmale Streifen. Diese Gewebstreifen sind von Pinacocytenepithelien (PC) begrenzt und dichter mit Mesenchymzellen (MZ) besetzt als das Pinacoderm. Kragengeißelkammern (GK) fehlen im Pinacoderm und dem peripheren Schwammgewebe, sind jedoch in den proximalen Gewebebereichen zahlreich. Im Semidünnschnitt (Abb. 3) erscheinen sie schnittabhängig als geschlossener Choanocytenring im Mesenchym oder sie stehen mit den angrenzenden Kanälen in offener Verbindung. Die 15–20 µm messenden Apopylen (AP) fallen wegen ihrer Größe besonders ins Auge. Sie stellen die Verbindung zwischen den Kragengeißelkammern und den ausführenden Kanälen her und sind in unterschiedlicher Ausprägung ein Charakteristikum aller Kragengeißelkammern leuconoider Schwämme. In Abb. 3 erkennt man hier und da außerdem 3–5 µm große Lücken im Choanocytenverband der Kragengeißelkammern. Es handelt sich hierbei um Prosopylen (PP), die den Wasserstrom der einführenden Kanäle (eK) in die Kragengeißelkammern einlassen. In Schnittserien konnten bis zu drei Prosopylen je Kragengeißelkammer nachgewiesen werden.

Die Anordnung der Kragengeißelkammern zwischen Anteilen des ein- und ausführenden Kanalsystems zeigt Abb. 4 in einer elektronenmikroskopischen Aufnahme. Bei der dargestellten Kragengeißelkammer (GK) sind die Apopyle (AP) und eine Prosopyle (PP) getroffen. Die Wandung des einführenden Kanals (eK) besteht aus einem geschlossenen Pinacocytenepithel (PC). Letzteres liegt den Choanocyten seitlich der Prosopyle (PP) an. Ob die Prosopyle von einer Porocyte begrenzt wird, also eine "perzelluläre" Durchbrechung einer Poruszelle darstellt, oder ob mehrere Zellen eine interzelluläre Öffnung bilden, konnte bisher nicht festgestellt werden. Die Choanocytenkrägen (Kr) berühren sich apikal. Sie sind dort durch feinfilamentöses Material (→) miteinander verklebt. An der Basis weisen die Krägen dagegen Zwischenräume (★) auf. Alle Choanocyten der Kragengeißelkammer grenzen mit ihrer Basis an das in den Interzellularräumen dicht von Kollagen (K) durchzogene Mesenchym.

Abb. 2. Mikroskopische Hellfeldaufnahme der Randzone einer lebenden Sandwich-Kultur von *Halichondria panicea*. Im Durchlicht heben sich die netzartig verbundenen und z.T. dicht mit Kragengeißelkammern (GK) besetzten ausführenden Kanäle (aK) von den etwas heller erscheinenden Räumen des einführenden Systems (eK) ab. PD Pinacoderm, MZ Mesenchymzellen, N Nadeln. 95 ×



DISKUSSION

Das von Ankel & Eigenbrodt (1950) entwickelte Sandwich-Verfahren hat sich in der Süßwasserschwamm-Forschung als hilfreich erwiesen und wurde seither in vielen Untersuchungen angewandt (Wintermann, 1951; Kilian, 1952; Rasmont & De Vos, 1974; Weissenfels & Landschoff, 1977). In der Meeresschwamm-Forschung hat dieses Verfahren bisher keine Verwendung gefunden. Es war deshalb naheliegend, die Sandwich-Methode auch für die Untersuchung von Meeresschwämmen einzusetzen.

Zur Herstellung von Sandwich-Kulturen verwendet man bei Süßwasserschwämmen aus Gemmulae auskeimende Jungschwämme. Bei Meeresschwämmen, die zumeist keine Gemmulae bilden, bietet sich die Anzucht kleiner Schwämme aus Gewebstücken oder dissoziiertem Zellmaterial an. Versuche, funktionstüchtige Schwämme aus mechanisch dissoziiertem Gewebe- und Zellenmaterial (Korotkova, 1970) oder aus abgezapften Schwammstücken zu erhalten, scheiterten unter den gegebenen Kulturbedingungen, was vermutlich mit der relativ geringen Reorganisationsbereitschaft von *Halichondria panicea* zusammenhängt (Yazykov, 1965). Mit einer scharfen Schere zerteilte Schwammstücke regenerierten dagegen in der Regel problemlos.

Während man bei Sandwich-Kulturen von Süßwasserschwämmen im Idealfall sehr dünne, fast zweidimensional gewachsene Organismen erhält, ist das in diesem Maße bei *Halichondria panicea* nicht der Fall. Etwas breitere Spalträume werden jedoch gerne angenommen. Der Schwamm bildet darin eine dreidimensionale Scheibe, was große Vorteile beim Erkennen und der Zuordnung der Kanalsysteme mit sich bringt.

Das ausführende System von *Halichondria panicea* besteht aus einem vielfach anastomosierenden Kanalnetz. Diese Tatsache ist bemerkenswert, weil bei den Spongilliden die ausführenden Kanäle einem "Flußsystem" (Kilian, 1952) entsprechen und auch in der Sandwich-Kultur keine Anastomosen aufweisen. Bei *Halichondria panicea* wird in der Sandwich-Kultur das Netz der ausführenden Kanäle lakunenartig vom einführenden Kanalsystem umgeben. Letzteres tritt nur schwach in Erscheinung. Das ausführende System bildet offenbar wie bei den Spongilliden (Wintermann, 1951) das formative Element, während die einführenden Kanäle sich aus den Lakunen zwischen den ausführenden Kanälen entwickeln.

Die Kragengeißelkammern befinden sich bei *Halichondria panicea* im Mesenchym. Sie liegen in großer Zahl den Wänden der ausführenden Kanäle an, in die sie im Bereich ihrer weiten Apopylen integriert sind. Jede Kragengeißelkammer ist über einige Prosopylen mit den Hohlräumen des einführenden Kanalsystems verbunden. *Halichondria panicea* entspricht damit dem klassischen eurypylen Typ (Sollas, 1888; Minchin, 1900; Hyman, 1940; Brien, 1973). Nach den bisherigen Erkenntnissen sind die einführenden Kanäle zum Mesenchym hin überall von einem dicht geschlossenen Pinacocytenepithel begrenzt, so daß nicht wie bei *Ephydatia fluviatilis* (Weissenfels, 1975, 1976, 1980, 1982b) mit einer Wasserpassage durch das Mesenchym zu rechnen ist.

Abb. 3. Phasenkontrastmikroskopische Aufnahme eines Semidünnschnitts durch die Randzone von *Halichondria panicea*. Am oberen Bildrand verläuft das den Subdermalraum (SR) nach außen begrenzende Pinacoderm (PD). In den Mesenchymbereichen, die ein- (eK) und ausführende Kanäle (aK) gegeneinander abgrenzen, liegen zahlreiche Kragengeißelkammern (GK), deren Apopylen (AP) und Prosopylen (PP) z. T. getroffen sind. PC Pinacocytenepithel, MZ Mesenchymzellen, N Nadeln. 270 ×

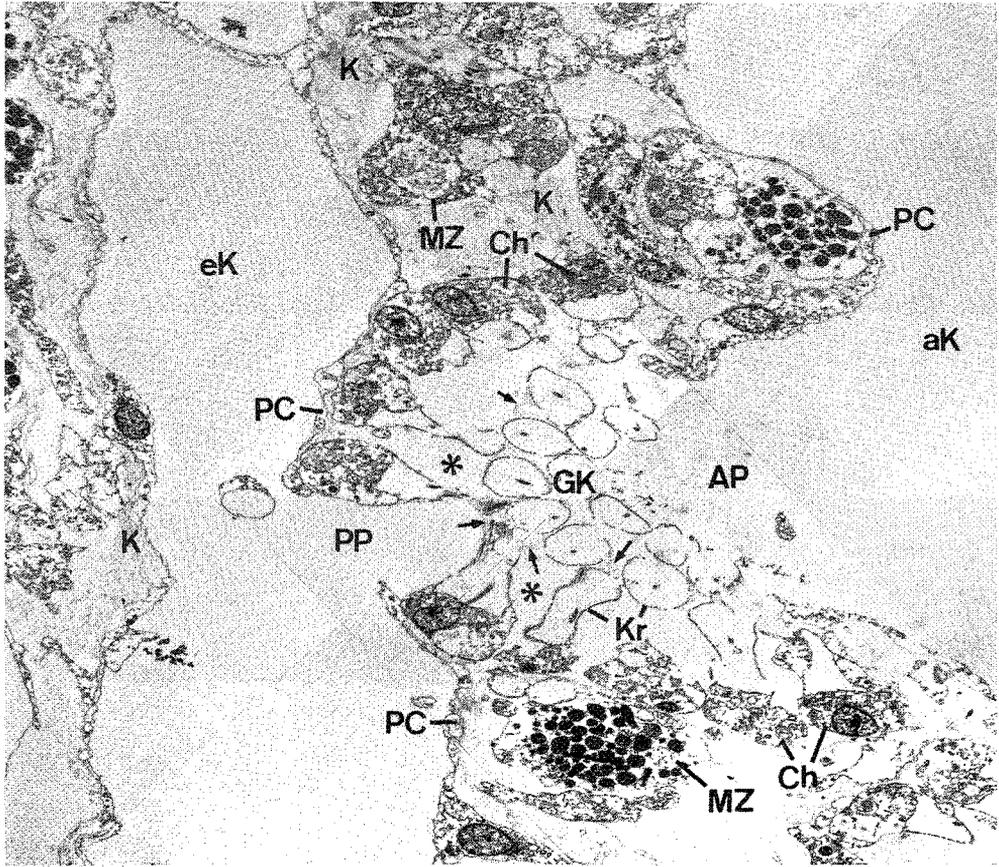


Abb. 4. Elektronenmikroskopische Aufnahme einer aus Choanocyten (Ch) bestehenden Kragengeißelkammer (GK) im Mesenchym zwischen einem ein- (eK) und einem ausführenden Kanal (aK) von *Halichondria panicea*. Die Kragengeißelkammer steht über eine Prosopyle (PP) in direkter Verbindung zum einführenden und über die ebenfalls getroffene Apopyle (AP) in Verbindung zum ausführenden Kanalsystem. Die Choanocytenkrägen (Kr) berühren sich apikal und sind durch feinfilamentöses Material (→) miteinander verklebt, weisen jedoch basal weite Zwischenräume (★) auf. PC Pinacocyten, MZ Mesenchymzellen, K Kollagen, 2700 ×

Zur Frage, wie bei *Halichondria panicea* die Wasserströmung und -filtration innerhalb der Kragengeißelkammern erfolgt, bietet das vorliegende elektronenmikroskopische Bildmaterial einige Anhaltspunkte. Die im Apexbereich sich berührenden, verklebten Choanocytenkrägen verhindern einen direkten Durchtritt des partikelbeladenen Wassers von den Prosopylen zur Apopyle. Das Wasser durchfließt vielmehr zunächst die Zwischenräume im Basalbereich der Krägen (★ in Abb. 4).

Die Choanocytenkrägen bestehen bekanntlich aus Mikrovilli (Rasmont et al., 1958; Rasmont, 1959; Fjerdingsstad, 1961; Lévi, 1962; Brill, 1973; Weissenfels, 1975, 1976). Das Wasser wird durch Spalten zwischen den Mikrovilli (Weissenfels, 1982a, b) hindurch ins Kragennere gesaugt, durch den Geißelschlag in Richtung Kragenapex befördert und schließlich aus der apikalen Kragenöffnung ausgestoßen (Fjerdingsstad, 1961; Reiwig,

1975). Da die Krägen im Apexbereich sich berühren und miteinander verklebt sind, muß das durch die Prosopylen eingetretene Wasser die Schlitze zwischen den Mikrovilli passieren, die wie ein Feinfilter hinsichtlich der Nahrungspartikel wirken.

Danksagungen. Die Arbeit wurde durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. Herrn Prof. Dr. N. Weissenfels danke ich für die freundliche Unterstützung und Förderung der Arbeit. Für technische Assistenz danke ich Frau M. Geis, Frau I. Nüssele, Frau U. Müller und Frau B. Zarbock.

ZITIERTE LITERATUR

- Ankel, W. E. & Eigenbrodt, H., 1950. Über die Wuchsform von *Spongilla* in sehr flachen Räumen. – Zool. Anz. 145, 195–204.
- Brien, P., 1973. Les démosponges. In: Traité de zoologie. 3. Spongiaires. Ed. by P.-P. Grassé. Masson, Paris, 136–461.
- Brill, B., 1973. Untersuchungen zur Ultrastruktur der Choanocyte von *Ephydatia fluviatilis* L. – Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 144, 231–245.
- Fjerdingstad, E. J., 1961. The ultrastructure of choanocyte collars in *Spongilla lacustris* (L.). – Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 53, 645–657.
- Hyman, L. H., 1940. The invertebrates. 1. Protozoa through Ctenophora. McGraw-Hill, New York, 726 pp.
- Kilian, E. F., 1952. Wasserströmung und Nahrungsaufnahme beim Süßwasserschwamm *Ephydatia fluviatilis*. – Z. vergl. Physiol. 34, 407–447.
- Korotkova, G. P., 1970. Etude Morphologique comparée du développement des éponges à partir de cellules dissociées. – Cah. Biol. mar. 11, 325–354.
- Lévi, C., 1962. Etude au microscope électronique de l'éponge *Oscarella lobularis* Schmidt et de sa larve amphiblastula. – Cah. Biol. mar. 3, 307–315.
- Minchin, E. A., 1900. Sponges. In: A treatise on zoology. 2. The Porifera and Coelenterata. Ed. by E. R. Lankester. Black, London, 178 pp.
- Rasmont, R., 1959. L'ultrastructure des choanocytes d'éponges. – Anns Sci. nat. (Zool.) 12, 253–262.
- Rasmont, R., Bouillon, J., Castiaux, P. & Vandermeersche, G., 1958. Ultrastructure of the choanocyte collar cells in freshwater sponges. – Nature, Lond. 181, 58–59.
- Rasmont, R. & de Vos, L., 1974. Etude cinématographique de la gemmulation d'une éponge d'eau douce: *Ephydatia fluviatilis*. – Archs. Biol., Paris 85, 329–341.
- Reiswig, H. M., 1975. The aquiferous systems of three marine Démospongiae. – J. Morph. 145, 493–502.
- Sollas, W. J., 1888. Report on the Tetractinellida collected by H. M. S. "Challenger", during the years 1873–1876. – Rep. scient. Results Voyage HMS Challenger. (Zool.) 25, 1–458.
- Weissenfels, N., 1975. Bau und Funktion des Süßwasserschwamms *Ephydatia fluviatilis* L. (Porifera). II. Anmerkungen zum Körperbau. – Z. Morph. Tiere 81, 241–256.
- Weissenfels, N., 1976. Bau und Funktion des Süßwasserschwamms *Ephydatia fluviatilis* L. (Porifera). III. Nahrungsaufnahme, Verdauung und Defäkation. – Zoomorphologie 85, 73–88.
- Weissenfels, N., 1980. Bau und Funktion des Süßwasserschwamms *Ephydatia fluviatilis* L. (Porifera). VII. Die Porocyten. – Zoomorphologie 95, 27–40.
- Weissenfels, N., 1982a. Rasterelektronenmikroskopische Histologie von spongiösem Material. – Microsc. Acta 85, 345–350.
- Weissenfels, N., 1982b. Bau und Funktion des Süßwasserschwamms *Ephydatia fluviatilis* L. (Porifera). IX. Rasterelektronenmikroskopische Histologie und Cytologie. – Zoomorphologie 100, 75–87.
- Weissenfels, N. & Landschoff, H. W., 1977. Bau und Funktion des Süßwasserschwamms *Ephydatia fluviatilis* L. (Porifera). IV. Die Entwicklung der monaxialen SiO₂-Nadeln in Sandwich-Kulturen. – Zool. Jb. (Anat. Ontogenie Tiere) 98, 355–371.
- Wintermann, G., 1951. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an Süßwasserschwämmen. – Zool. Jb. (Anat. Ontogenie Tiere) 71, 427–486.

Yazykov, A. A., 1965. Aggregation of dissociated cells in Sponges *Reniera cinerea* (Grant), *Halichondria panicea* (Pallas) and *Ephydatia fluviatilis* (Lamarck) and the ability of the multi-cellular complexes formed to restitution into an intact organism. – Zh. obshch. Biol. 26, 690–695.