

Die Feinstruktur der Ästheten von *Chiton olivaceus* (Mollusca, Polyplacophora)

F. P. FISCHER & M. RENNER

Zoologisches Institut der Ludwig-Maximilians-Universität;
Luisenstraße 14, D-8000 München 2, Bundesrepublik Deutschland

ABSTRACT: Fine structure of the aesthete organs in *Chiton olivaceus* (Mollusca, Polyplacophora). The aesthete organs in the shell of the polyplacophoran *Chiton olivaceus* (Spengler) were studied by scanning and transmission electron microscopy. Compared to previously described species they reveal marked differences. In the upper third of the aesthete, photoreceptor cells have been found. The granula of the club-shaped cells, which fill most of the aesthete, are formed in the proximal part of young aesthetes. The secretory cells located in this part increase in size and become gradually club-shaped. The central cells, hitherto the only known sensory cells in this organ, are very variable in their appearance. The apical as well as the subsidiary caps have pores which penetrate the whole cap in the former, whereas the subsidiary caps are proximally and distally covered by a continuous envelope. In contrast, an exchange of substances with the surrounding environment cannot be excluded in the apical cap: there are some indications of secretory processes occurring through the shell surface.

EINLEITUNG

Die Polyplacophoren besitzen in der oberen Schicht ihrer Schalenplatten, dem Tegmentum, eine große Anzahl kleiner Organe, denen man allgemein eine Sinnesfunktion zuschreibt. Die Struktur dieser Ästheten ist bei einigen Arten lichtmikroskopisch (Plate, 1898/1902; Nowikoff, 1907; Knorre, 1925) und bei *Lepidochitona cinereus* elektronenmikroskopisch (Boyle, 1974) genauer untersucht worden. Darüber hinaus sind Studien über die Schalenoberfläche bei vier Polyplacophoren-Arten durchgeführt worden (Boyle, 1976).

Die biologische Bedeutung der Ästheten ist unbekannt. Bei den meisten Sinnesorganen, deren Funktion strittig ist, kann man den Kreis ihrer möglichen Aufgaben aufgrund ihrer Struktur mehr oder weniger stark einengen. Das ist bei den Ästheten der Chitononen nur in begrenztem Umfang möglich. Die Tatsache, daß manche Arten Augen unterschiedlicher Komplexität neben den Ästheten in der Schale besitzen (Mosley, 1885; Nowikoff, 1909), die wohl alle von Ästheten abzuleiten sind, als auch Ergebnisse von Verhaltensversuchen (Arey & Crozier, 1919; Omelich, 1967; Boyle, 1972) führen zu der Vermutung, daß diese Organe der Photorezeption dienen. Das

ist jedoch vermutlich nicht ihre einzige Funktion. Die Bedeutung der vom Hauptstamm der Ästheten entspringenden Mikrästheten und der den größten Teil der Ästheten ausfüllenden keulenförmigen Zellen ist noch völlig unklar. Eine vergleichende morphologische Untersuchung verschiedener Arten, durch die die grundlegenden Strukturen in ihrer Variationsbreite erfaßt werden, könnte hier weiterhelfen.

MATERIAL UND METHODE

Exemplare von ausgewachsenen *Chiton olivaceus* (Spengler) aus Rovinj (Jugoslawien) wurden im Seewasseraquarium bei etwa 20° C einige Monate lang gehalten.

Für die Transmissionselektronenmikroskopie erfolgte die Fixierung von abgespaltenen Teilen des Tegmentums in 5 % Glutaraldehyd bei pH 7,4 bei 3° C für zwei Stunden (Phosphatpuffer). Danach wurde in gekühlter 3%iger EDTA in Phosphatpuffer für etwa 14 Std. entkalkt. Nach zweistündiger Nachfixierung in 2%iger Osmiumsäure bei 3° C und der Entwässerung wurden die Stücke in Durcupan eingebettet. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und mit einem Zeiss 9 S-2 Elektronenmikroskop untersucht.

Um eine genaue Kenntnis von der gegenseitigen Lage der einzelnen Zellen zu gewinnen, wurden parallel zu den EM-Untersuchungen Semidünnschnitte angefertigt. Sowohl aus älteren als auch aus jüngeren Schalenbezirken stand reichliches Material zur Verfügung.

Für die REM-Untersuchungen wurden einerseits Schalenstücke mit konzentrierter heißer Kalilauge behandelt, um das organische Material zu entfernen, andere Schalenstücke wurden lediglich getrocknet. Weitere Schalteile wurden in 6%iger EDTA entkalkt, in Paraplast eingebettet und geschnitten. Nach Entfernung des Paraplasts mit Xylol wurden die Schnitte getrocknet. Alle Präparate wurden mit Gold bedampft und in einem Cambridge Stereoscan Elektronenmikroskop betrachtet.

ERGEBNISSE

Die Schalenoberfläche

Die Schalenoberfläche von *Chiton olivaceus* zeigt im Gegensatz zu anderen untersuchten Arten (Fischer & Renner, im Druck) keine auffälligen Strukturen: Die mittleren Schalenplatten sind in drei Bezirke unterteilt: in ein medianes und zwei laterale Felder; der ersten Platte fehlt das Medianfeld. Das mediane Feld zeigt eine Strukturierung in Furchen und Rippen; ein derartiges Muster ist auf den Lateralfeldern der Schale meist nur schwach ausgebildet. Alle Bezirke des Tegmentums werden von den Ästhetenporen durchbrochen; ihre Verteilung variiert etwas. In den Lateralfeldern gruppieren sich um eine Hauptöffnung 7–12 Porenkanäle, in denen die vom Hauptstamm abzweigenden Mikrästheten nach oben streben; im Medianfeld sind es 10–15, die dort zum Teil nur durch ganz schmale Aragonitbrücken voneinander getrennt werden. Bei nicht mit Kalilauge behandelten Platten findet man in

den Poren die von den Haupt- und Nebenästen der Ästheten distal gebildeten Kappen. Sie sind im allgemeinen erheblich weniger von Diatomeen und Detritus bedeckt als die dazwischen liegenden Schalenpartien.

Die Ästheten

Die Grobstruktur

Die Ästheten von *Chiton olivaceus* sind wie bei allen anderen untersuchten Arten keulenförmig und leicht zur Schalenoberfläche hin gebogen. Sie verbreitern sich von der etwa 10 μm messenden Basis rasch auf einen Durchmesser von etwa 35 μm und nehmen dann mehr oder weniger kontinuierlich in der Breite nach oben hin ab, bis auf ungefähr 10 μm . Ihre Länge beträgt circa 200 μm . Insgesamt besteht ein Ästhet aus 45 bis 50 Zellen verschiedenen Typs.

Die Benennung der einzelnen Zelltypen in der Literatur ist uneinheitlich. Da ihre Funktion zumindest strittig ist, sollen meist neutrale Namen verwendet werden.

Am distalen Ende, an der Schalenoberfläche, wird der Hauptstamm des Ästheten von einer innen konkaven Kappe, der sogenannten Hauptkappe, begrenzt (Abb. 15, g). Auf einer Höhe von etwa $\frac{3}{4}$ bis $\frac{4}{5}$ der Ästhetenlänge zweigen seitlich sieben bis fünfzehn Mikrästheten ab (h). Sie besitzen ebenfalls jeweils eine Kappe (i), die erheblich flacher und meist kleiner ist als die Hauptkappe. Der größte Teil des Ästheten wird von etwa vier keulenförmigen Zellen ausgefüllt (a), die fast völlig mit schollenartig verteiltem Material angefüllt sind. Daneben kommen, vor allem im distalen Bereich, auch kleinere Zellen mit granulärem bis grobscholligem Inhalt vor. Zwischen den keulenförmigen Zellen liegen einige dünne Zellen unterschiedlicher Struktur, die distal unter der Kappe Mikrovilli ausbilden können (f): die Zentralzellen. Sie haben vermutlich eine Sinnesfunktion. An der dem Mantel zugewandten Seite des Ästheten liegen die Sehzellen (e). Sie tragen distal eine dichte Packung von Mikrovilli. Etwas unterhalb davon findet man einige peripher gelegene Zellen mit ausgeprägtem endoplasmatischem Retikulum und deutlich granulärem Zytoplasma, die Lateralzellen (l). An die keulenförmigen Zellen schließen sich bei jüngeren Ästheten etwa vier Sekretionszellen an (d); sie weisen distal helle Granula auf und zeigen in ihrem proximalen Teil die strukturellen Charakteristika eines aktiven Sekretionsstoffwechsels. Im proximalen Teil der Ästheten verlaufen verschieden strukturierte Fasern (o). Gegen die Schalensubstanz hin wird der Ästhet, von ganz wenigen Stellen abgesehen, von meist recht flachen Wandungszellen (m, n) umgeben. Mit einer deutlichen Einschnürung mündet der Ästhet in den Faserstrang (p).

Die Hauptkappe

Die Hauptkappe – ihr Durchmesser beträgt zwischen 10 und 17 μm – ist von regelmäßig verteilten, 150–250 nm weiten Poren durchsetzt, zwischen denen Stege von etwa 100 nm Dicke ausgespart sind (Abb. 1). Bei älteren Ästheten sind die

Kappenporen offen, bei jungen dagegen noch vom Perioststratum überzogen. Die Kappe besteht ausschließlich aus organischem Material. Sowohl die Kappen in Bruchstücken unbehandelter Schalen als auch Schnitte durch entkalkte Präparate ergeben im REM das gleiche Bild: Die Poren durchdringen die Kappe bis $0,5\text{--}2\ \mu\text{m}$ vor ihrer proximalen Fläche. Dort enden sie in einem Netzwerk von Filamenten. Darunter findet man in vielen Fällen ein bis drei $30\text{--}60\ \text{nm}$ dicke Schichten, die aber in sich nicht kontinuierlich, sondern an vielen Stellen durchbrochen sind (Abb. 2).

In allen untersuchten Fällen war die Kappenstruktur die gleiche, auch wenn das Gebiet unterhalb der Kappe stark variiert. Bei vielen Ästheten enthalten die Poren, und zwar in konzentriertem Maß auf der proximalen Seite, granuliertes Material, manchmal auch kleine Vesikel. In REM-Aufnahmen sind sie nicht zu sehen; wahrscheinlich werden sie durch die Präparation entfernt. Bei anderen Ästheten sind die Kappenporen leer.

Die keulenförmigen Zellen

Die keulenförmigen Zellen, die auf Aufnahmen von Ästheten sofort ins Auge fallen, sind bis zu $120\ \mu\text{m}$ lang und haben proximal einen maximalen Durchmesser von $15\ \mu\text{m}$. Sie sind dicht mit ein bis fünf μm messenden, meist rundlichen elektronendichten Schollen ausgefüllt (Abb. 3). Diese bestehen aus einer gleichmäßig granulierten Matrix und sind von einer einfachen oder doppelten Membran umgeben. Oft findet man zwischen diesen Schollen im Plasma stark granuliertes ER und freie Ribosomen; im proximalen Teil liegt, von einem relativ homogenen Plasmabezirk umgeben, der ovale bis tropfenförmige, etwa $4,5\ \mu\text{m}$ große Kern mit deutlich ausgeprägtem, meist peripher konzentriertem Chromatin. Im distalen Teil der Zelle beobachtet man ein Zusammenfließen der Schollen zu größeren Einheiten; Zwischenformen sind häufig. Seitlich ist die keulenförmige Zelle durch Mikrotubuli verstärkt, die zum Teil winkelförmig verlaufen. Am apikalen Ende der Zelle ziehen häufig lange, dicht gedrängte Mikrotubuli nach distal. Proximal bildet die Zelle eine deutlich erkennbare Faser aus, die in den Faserstrang mündet.

Regelmäßig findet man im distalen Teil des Ästheten eine keulenförmige Zelle, die besonders elektronendichte Schollen von $0,8$ bis $2\ \mu\text{m}$ Durchmesser enthält, die von hell erscheinenden Höfen umgeben sind (Hofschollen). Die Höfe, nicht aber die Schollen, werden von einer Membran begrenzt (Abb. 4; 15, b). Der Querschnitt der Zelle beträgt etwa $6\ \mu\text{m}$ im basalen und $2,5\ \mu\text{m}$ im distalen Bereich, ihre Länge

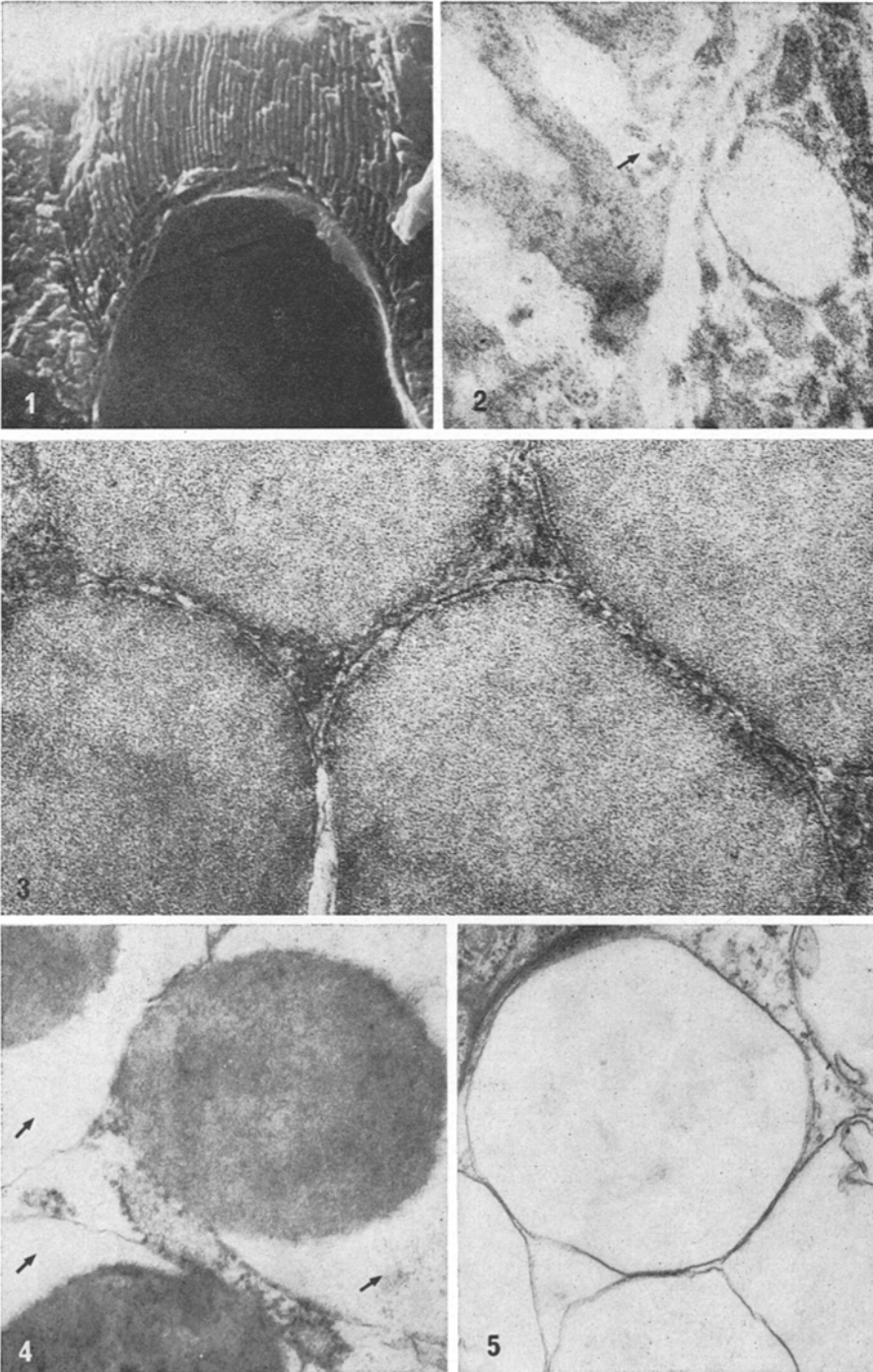
Abb. 1: REM-Aufnahme eines Bruches durch die Hauptkappe. Luftgetrocknetes Präparat. Deutlich sind die Poren zu sehen. (4500:1)

Abb. 2: Längsschnitt durch den medianen Teil der Hauptkappe. Kleine Poren (Pfeil) ermöglichen einen Stoffaustausch mit der Umwelt. (64 300:1)

Abb. 3: Längsschnitt durch den mittleren Ästhetenbereich. Schollen innerhalb einer keulenförmigen Zelle (51 000:1)

Abb. 4: Keulenförmige Zelle mit Schollen, die jeweils von einem hellen Hof (Pfeil) umgeben sind. (36 600:1)

Abb. 5: Distaler Ästhetenabschnitt. Längsschnitt. Zelle, die nur helle Bezirke ohne Schollen aufweist. (28 500:1)



liegt bei ungefähr $53 \mu\text{m}$; sie reicht distal fast bis an die Kappe. In diesem Abschnitt des Ästheten findet man häufig auch kleinere Zellen, die anstelle der Schollen nur helle Bezirke besitzen (Abb. 5; 15, c). Zwischenformen kommen vor. Ganz junge Ästheten haben keine keulenförmige Zellen; diese erscheinen aber sehr bald, erst danach die Hofschollenzellen.

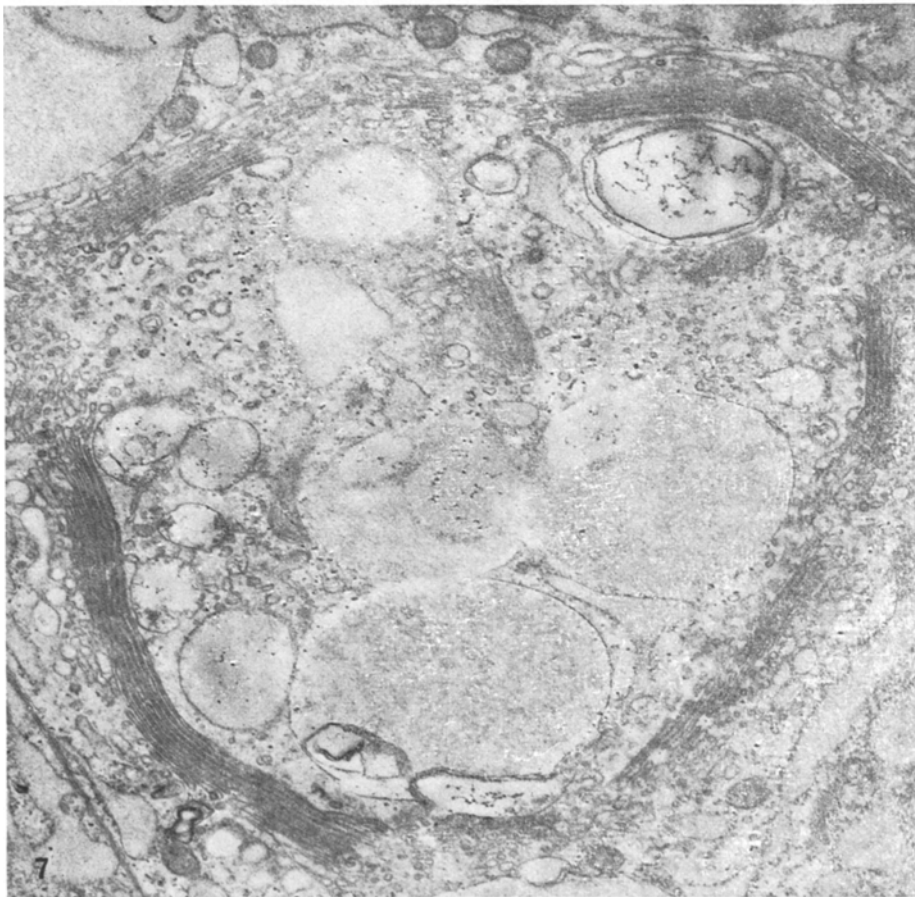
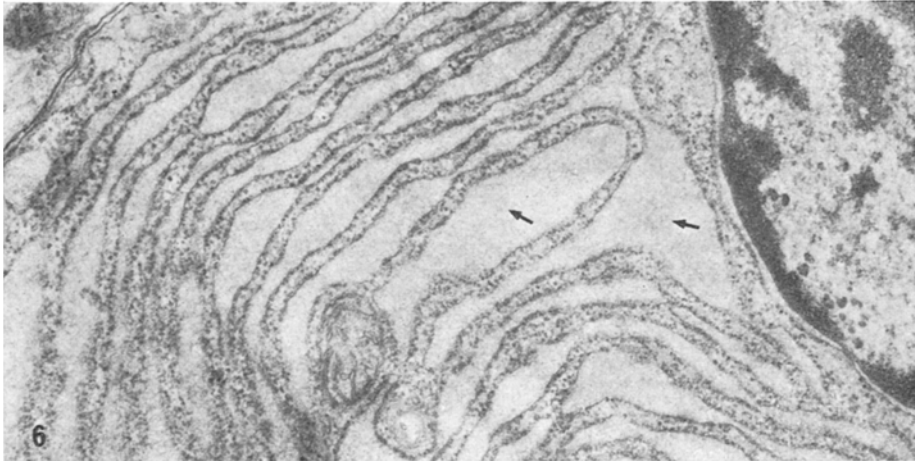
Daneben gibt es, mit unterschiedlicher Häufigkeit, eine Reihe weiterer Typen von Zellen, die mit schollenartigem Material angefüllt sind. In Semidünnschnitten lassen sich etwa sieben Typen nachweisen. Da sie aber nicht in jedem Ästheten anzutreffen sind, wird hier auf ihre Beschreibung verzichtet.

Die Sekretionszellen

Die Sekretionszellen fallen in Querschnitten durch den mittleren und unteren Teil eines Ästheten auf; bei jungen Ästheten füllen sie diese zum größten Teil aus, bei älteren sind sie immer mehr im unteren Ästhetenbereich zu finden. Proximal verbreitern sich die Zellen auf 7 bis $8 \mu\text{m}$. Sie beherbergen zusammengesetzte Schollen von mäßiger Elektronendichte. Der größere Teil einer Scholle besteht in diesem Bereich aus granuliertem Material ähnlich dem der keulenförmigen Zellen; daneben findet man in vielen Fällen helle Bezirke von ungefähr $1 \mu\text{m}$ Durchmesser, die mit locker verstreuten Granula gefüllt sind und zunächst von einer eigenen Membran umgeben werden. Nach distal verschwindet die Zwischenmembran, wahrscheinlich vermischen sich die Inhalte, und es bilden sich Schollen ähnlich denen der keulenförmigen Zellen. Der proximale Teil dieser Zellen variiert je nach dem Alter des Ästheten; bei jüngeren Ästheten beobachten wir die Merkmale eines ausgeprägten sekretorischen Stoffwechsels. Der circa $5 \mu\text{m}$ große Kern mit seinem auffallenden Nukleolus wird von dichtem granulärem endoplasmatischem Retikulum umgeben (Abb. 6), das zum Teil sehr große, bis $2 \mu\text{m}$ messende Zisternen aufweist, die in manchen Fällen das zwischen ihnen liegende Plasma bis auf Reste zurückdrängen. Im Plasma liegen, meist längsorientiert, zahlreiche Mitochondrien und freie Ribosomen. In einem Bereich oberhalb dieser ER-Region bilden sich in der Regel ein bis einige komplexe Golgiapparate von $1,5$ bis $7 \mu\text{m}$ Durchmesser. Jeder dieser Golgikomplexe besteht aus einer kugelförmigen Ansammlung von Dictyosomen aus jeweils etwa sieben übereinanderliegenden Zisternen (Abb. 7). Diese sind, von den ersten beiden auf der Bildungsseite (Kugelaußenseite) abgesehen, von relativ elektronendichtem, granulärem bis flockigem Material ausgefüllt. Zwischen dem ER-Bereich – auch um die Golgiregion liegt noch gut ausgeprägtes granuläres ER – und der Bildungsseite der Dictyosomen findet man zunächst kleine (50 nm), in Golginähe größere (80 nm) transition vesicles, die am Golgiapparat flacher werden, miteinander verschmelzen und sich dann an den Stapel anlagern. Die kleineren transition vesicles haben einen

Abb. 6: Stark entwickeltes granuläres ER in Kernnähe einer Sekretionszelle mit aufgeblähten Zisternen (Pfeile). (30 000:1)

Abb. 7: Querschnitt durch den Golgibereich einer Sekretionszelle. (23 300:1)



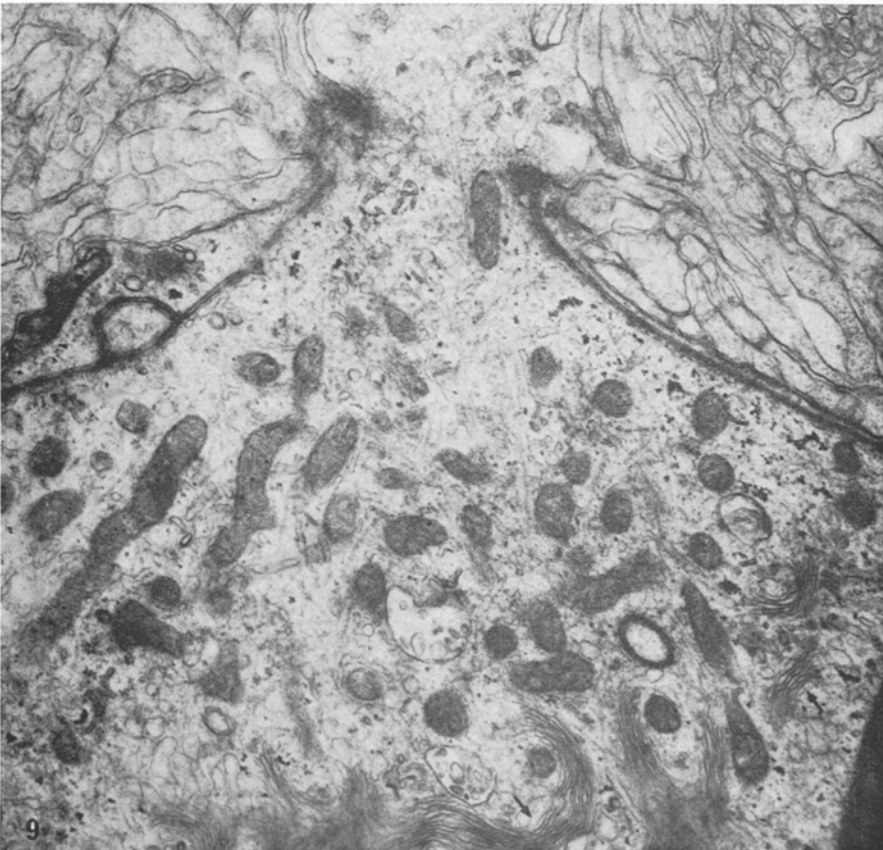
elektronendichteren Inhalt als die größeren. Im Inneren der Golgi-Kugel liegen membran-begrenzte Bezirke, die von den auf gleicher Höhe gelegenen Schollen nicht unterschieden werden können. Die seitlich von den Dictyosomen abgegebenen circa 70 nm großen Golgivesikel verschmelzen mit diesen Bezirken. Bei älteren Ästheten sind ER- und Golgiregion stark eingeschränkt. Gelegentlich findet man bei ihnen Zwischenformen zu keulenförmigen Zellen. Hier gleichen die am distalen Zellende gelegenen Schollen denen der keulenförmigen Zellen, die proximalen Schollen den im oberen Bereich der Sekretionszellen zu findenden.

Die Sehzellen

Unterhalb der Ansatzstelle der Mikrästheten liegen auf der der Schalenkante zugewandten Seite des Ästheten ein bis vier Sehzellen. Sie lassen häufig den Ästheten dort wie ausgebuchtet erscheinen. In anderen Fällen füllen diese dann sehr stark entwickelten Zellen einen Großteil des Raumes im mittel-distalen Ästhetabschnitt aus. Die keulenförmigen Zellen sind dort an die Peripherie gedrängt. Daneben gibt es Ästheten, deren Sehzellen nur wenig Platz einnehmen. Auf der Ästheteninnenseite grenzen die Sehzellen an keulenförmige Zellen; nach außen zu werden sie, bis auf den Mikrovillibezirk, von einer meist zweischichtigen Lage von Wandungszellen umgeben. Eine Sehzelle ist bis zu 11 μm breit und bis zu 48 μm lang. Sie zeigt von distal nach proximal eine Gliederung in drei Zonen: Mikrovilli, das Zwischenstück und das Perikarium. Das Zwischenstück verengt sich distal zu einem zentralen, baumstumpfförmigen Bezirk, von dem ein Schopf dichtgepackter Mikrovilli entspringt. Außer an einigen Stellen, wo 10–40 Mikrovilli parallel verlaufen, zeigen sie keine bevorzugte Ausrichtung (Abb. 8). Der verengte Teil des Zwischenstücks wird irisblendenartig von nur 700 nm dicken, aber Mitochondrien und Granula enthaltenden Fortsätzen der Wandungszellen umgeben. Im proximal folgenden, breiten Teil des Zwischenstücks findet man neben vielen Mitochondrien flache, gewellte, sich gelegentlich auch verzweigende Stapel von membranumhüllten Bezirken, die ein ausgedehntes Zisternensystem bildend einen Großteil des Zwischenstücks ausfüllen (Abb. 9). Sieben bis siebzehn solcher Zisternen liegen übereinander. Ihr Lumen beträgt in der Stapelmitte etwa 20 nm. Häufig besteht eine enge Verbindung dieser Membranstrukturen mit dem granulären ER. Es geht gelegentlich direkt in dieses über. Man kann daher annehmen, daß die Membranbezirke einen Typ von agranulärem ER darstellen. Zwischen diesen Bezirken findet man zahlreiche Vesikel, daneben multivesikuläre Körper; außerdem verlaufen dort in der Längsrichtung der Zelle Mikrotubuli bis nahe zu den Mikrovilli.

Der Kern liegt im unteren Abschnitt der Zelle. Sein Durchmesser beträgt zwischen 3,5 und 5 μm . Das Chromatin konzentriert sich vorwiegend auf die Peripherie,

Abb. 8: Längsschnitt durch eine Sehzelle. Bereich des Rhabdomers. (24 200:1)
 Abb. 9: Zwischenstück einer Sehzelle mit Mikrotubuli, Membrangebilden (Pfeil) und zahlreichen Mitochondrien. Oben im Bild beginnt das Rhabdomer. (25 000:1)



auffällig ist der große Nukleolus. In Kernnähe finden sich Mitochondrien, freie Ribosomen, etwas granuläres ER und ein Golgiapparat, der sich von den Membrangebilden deutlich unterscheidet. Außerdem enthält das Plasma unregelmäßig geformte, von Membranen umgrenzte Bezirke, zahlreiche Vesikel und Granula. Basal bildet die Sehzelle eine Faser aus, die zweifellos ein Neurit ist.

Die Zentralzellen

Die Struktur der Ästheten von *Chiton olivaceus* ist recht variabel. Das gilt besonders für die meist zwischen den keulenförmigen Zellen gelegenen Zentralzellen. Ihre Anzahl beträgt zwei bis acht pro Ästhet.

Die Zentralzellen sind im Normalfall sehr dünn, ihr Durchmesser liegt meist unter $2\ \mu\text{m}$ und beträgt auf manchen Querschnitten nur $0,5\ \mu\text{m}$. Im Elektronenmikroskop erscheint das Plasma hell und enthält eine größere Anzahl von Mikrotubuli und einige Mitochondrien, die mehr im distalen Teil konzentriert sind. Relativ weit distal im Ästhet liegt der langgestreckte Kern; auch sein Chromatin konzentriert sich auf die Peripherie, sein Nukleolus ist deutlich ausgeprägt. Oft verbreitern sich die Zellen distal und enden unter der Kappe in zahlreichen, unregelmäßig verteilten Mikrovilli. In anderen Fällen fehlen diese. Dann findet man im Bereich unter der Kappe Mitochondrien, granuläres ER und elektronenarme Vesikel unterschiedlicher Größe. Proximal bildet jede Zentralzelle eine Faser aus.

Die Lateralzellen

Im mittleren Ästhetenabschnitt kommen regelmäßig Zellen vor, die in Querschnitten – auf einem sind etwa zwei bis drei solcher Zellen zu sehen – durch konzentrisch verlaufende Ringe von granulärem ER auffallen. Das Zytoplasma enthält Mitochondrien, freie Ribosomen und Glycogengranula; der Kern liegt im distalen Abschnitt der Zelle (Abb. 15, l).

Die Wandungszellen

Die Wandungszellen (Abb. 15, m) umgeben, von einigen wenigen Bezirken, etwa dem Mikrovillibereich der Sehzellen, abgesehen, den gesamten Hauptstamm als dünne, $60\ \text{nm}$ bis $3,5\ \mu\text{m}$ messende Schicht. Sie ist im mittleren Abschnitt des Ästheten besonders schwach ausgebildet, obwohl sie auch hier oft aus zwei Zellagen besteht. Häufig sind starke Einfaltungen in andere Zellen hinein zu beobachten. An vielen Stellen bilden die Wandungszellen gegen die Schalensubstanz hin mikrovilli-ähnliche Fortsätze aus. Der Kern ist flach, seine Dicke liegt meist unter $1\ \mu\text{m}$. Das Zytoplasma enthält verstreut gut ausgebildete Mitochondrien, oft auch zusammengesetzte Glycogengranula, außerdem gelegentlich membranbegrenzte, circa $300\ \text{nm}$ große, elektronendichte Granula.

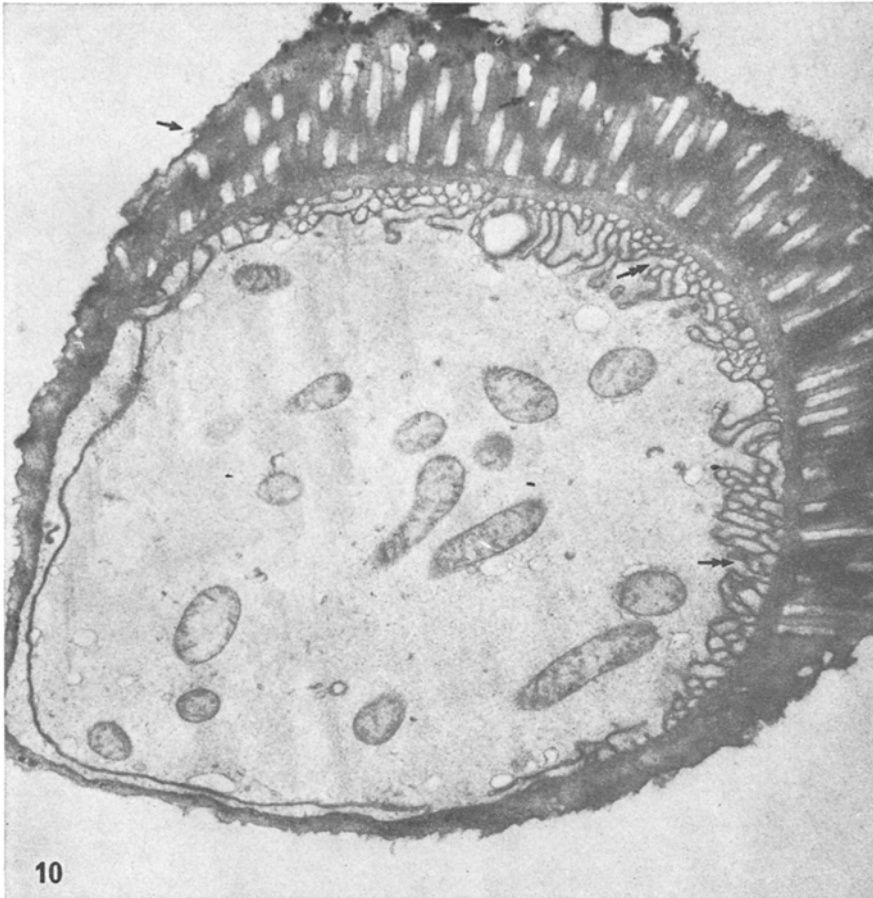


Abb. 10: Kopfteil eines Mikrästheten. Längsschnitt. Unterhalb der Kappe (Pfeil) werden Mikrovilli (Doppelpfeil) ausgebildet. (15 000:1)

Abb. 11: Längsschnitt durch den proximalen Ästhetenabschnitt. Faser einer Wandungszelle. Sie wird von einem extrazellulären Hohlraum umgeben (Pfeile) (25 400:1)

Da die Wandungszellen des proximalen Ästhetenbereichs unterschiedlich gestaltet sind, sollen diese Varianten erst dort besprochen werden.

Die Mikrästheten

Die seitlich an den Ästheten entspringenden und wie Armleuchter abstehenden Mikrästheten (Abb. 15, h) enden distal mit Kappen, den sog. Nebenkappen. Der etwa 20 μm lange und etwa 4 μm breite Arm wird von einer Zelle gebildet, die von ein oder zwei sehr flachen Hüllzellen von nur 0,1 bis 1 μm Dicke umgeben ist (Abb. 15, k). Unter der Kappe schwillt die Zelle kopfartig an, mit ihrer verbreiterten Basis ist sie im Ästheten verankert. Abgesehen von dieser Grundstruktur ist das Erscheinungsbild der Mikrästheten ausgesprochen variabel; es gibt zwei Extreme, die aber nebeneinander am gleichen Ästheten vorkommen können.

In einem Fall enthält das Plasma recht gleichmäßig in allen Bereichen verteilt eine große Anzahl von Mitochondrien; das Grundplasma ist granuliert und von mittlerer Elektronendichte. Basal liegt der Kern (Durchmesser etwa 10 μm) mit einem deutlich ausgeprägten Nukleolus. In der Umgebung des Kerns fallen Vesikel von etwa 1,5 μm Durchmesser auf, die verschieden große, meist membranumhüllte Partikel sehr unterschiedlicher Elektronendichte einschließen. Wahrscheinlich sind es Lyosomen zweiter Ordnung. Proximal bildet der Mikrästhet eine Faser aus. Im Armteil verlaufen zwischen den Mitochondrien zahlreiche Mikrotubuli bis in den Kopfteil hinein. Nahe der Basis liegen meist mehrere Golgiapparate, die 100 bis 200 nm große Vesikel mit elektronenarmem Inhalt abgeben. Der Kopfteil zeigt ein sehr ähnliches Erscheinungsbild. Unter der Nebenkappe werden kurze Mikrovilli ausgebildet (Abb. 10).

Die Kappe ist innen und außen konvex und weist eine ausgeprägte Strukturierung auf. Die mittlere Lage der Kappe, ein Bereich von circa 1 μm Dicke, ist in regelmäßigen Abständen von vertikal verlaufenden, etwa 130 nm starken Poren durchsetzt, deren Abstand untereinander ungefähr 70 nm beträgt. Sie enthalten nie irgendwelche Partikel. Sowohl auf der proximalen als auch auf der distalen Seite wird die Kappe von einer kontinuierlichen homogenen Schicht abgeschlossen; diese ist an der Außenseite der Kappe etwa 0,4 μm , an der dem Zellkörper zugewandten Seite 0,1 μm dick.

Bei anderen Mikrästheten beobachtet man eine mehr oder weniger starke Vakuolisierung des Kopfteils und im Extremfall selbst des Arms und des Basalteils. Gelegentlich findet man an einem Ästheten neben normal ausgebildeten auch Mikrästheten mit sehr elektronendichtem Plasma, das dicht mit Mitochondrien und verschiedenen Vesikeln gefüllt ist.

Die Hüllzellen, die wahrscheinlich abgewandelte Wandungszellen sind, reichen distal bis zum Kappenansatz. Offenbar findet ein reger Stoffaustausch zwischen ihnen und den Mikrästheten statt. Denn man findet häufig kleine Vorwölbungen der Membran sowohl der Hüllzelle in die Mikrästhetenzellen hinein als auch umgekehrt. Nahe der Zellgrenzen findet man von einer Doppelmembran umhüllte Vesikel, deren Inhalt von dem der Extrusionen nicht zu unterscheiden ist. Offenbar werden Plasma-

bezirke in die jeweils andere Zelle abgeschnürt. Oft beobachtet man auch ausgedehnte Einfaltungen der Hüllzellmembran in die Mikrästhetenzelle hinein. Proximal besitzt die Hüllzelle einen mittelgroßen Kern mit gut ausgebildetem Nukleolus.

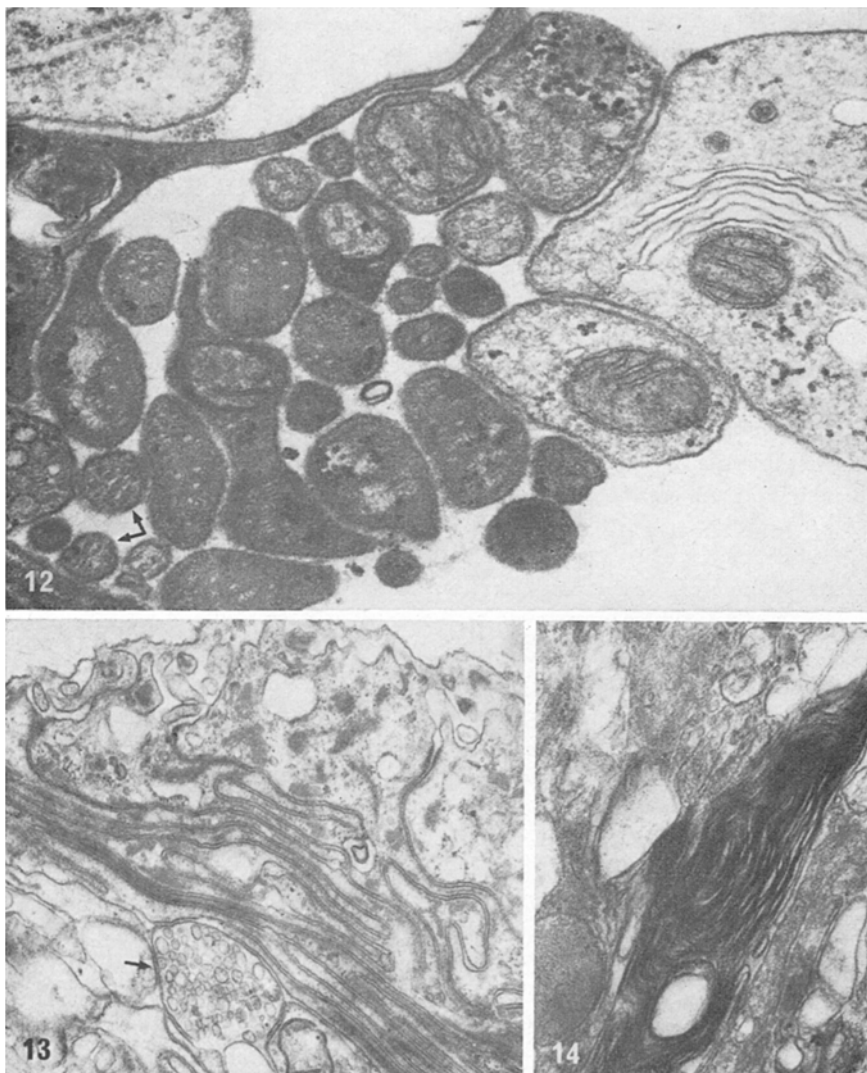


Abb. 12: Neuriten, die zwischen die Fortsätze weiterer Zellen eingelagert sind. Einige kleinere Neuriten besitzen sehr dicht gedrängte Mikrotubuli (Pfeil). Rechts eine Faser einer keulen-förmigen Zelle (53 400:1)

Abb. 13: Längsschnitt durch den proximalen Ästhetenbereich. Stark gefaltete Wandungszellen kurz vor dem Übergang in den Faserstrang. Häufig findet man hier Fortsätze, die Vesikel einschließen (Pfeil). (23 500:1)

Abb. 14: Lamellenkörper im proximalen Ästhetenbereich (42 600:1)

Die Strukturen im proximalen Bereich der Ästheten

Recht unübersichtlich werden die Verhältnisse, wenn wir aus dem Bereich der keulenförmigen Zellen und der Sekretionszellen nach proximal kommen und den 30 bis 40 μm langen basalen Teil des Ästheten bis hin zum Übergang in den Faserstrang untersuchen. Dieser Abschnitt ist sehr variabel. Generell überwiegen in der Nähe der Basis der Sekretionszellen regelmäßig geformte Zellen, in deren relativ elektronenarmem Plasma verstreut Glycogengranula eingelagert sind.

Im weiteren Verlauf zum Faserstrang hin wird der Inhalt der verschiedenen Zellen immer elektronendichter.

Mehr oder weniger zentral verlaufen Fasern unterschiedlichen Aussehens. Ihre eindeutige Zuordnung zu den einzelnen Zelltypen ist oft schwierig, zum Teil unmöglich. Zunächst bilden viele (aber sicher nicht alle) Wandungszellen in diesem Bereich proximale Fortsätze aus (Abb. 11). Diese enthalten zahlreiche Mikrotubuli, aber auch Mitochondrien und Lysosomen zweiter Ordnung. Die Fasern der keulenförmigen Zellen zeigen ein ähnliches Erscheinungsbild: Auch sie weisen Mikrotubuli auf, daneben Mitochondrien und granuläres ER. Der Faserquerschnitt liegt zwischen 0,7 und 3 μm . Anschwellungen sind nicht selten. In manchen Fällen mündeten keulenförmige Zellen in eine relativ dunkel erscheinende Faser; in Längsschnitten durch den Faserstrang sieht man im TEM öfters, daß die Fasern sich in ihrem Verlauf unterschiedlich kontrastiert darstellen.

Auf Querschnitten durch den proximalen Ästhetenabschnitt sind 13 bis 15 Fasern getroffen, die jeweils einen Querschnitt von 100 bis 400 nm haben und häufig dicht gedrängte Mikrotubuli in einem Plasma mittlerer Elektronendichte aufweisen. Zwei bis drei von ihnen sind relativ dünn und dichter von Mikrotubuli erfüllt als die anderen. Fortsätze verschiedener Zellen umgeben einzelne Fasern teilweise (Abb. 12). Auf Längsschnitten sieht man diese Fasern manchmal seitlich von den keulenförmigen Zellen oder zwischen ihnen. Eine eindeutige Zuordnung zu den Schzellen und/oder den Mikrästheten war nicht möglich.

Im Bereich der Fasern findet man außerdem immer noch Zellfortsätze, die Vesikel von circa 170 nm Durchmesser und verstreut Mitochondrien enthalten (Abb. 13).

Besonders variabel sind die Wandungszellen. Meist sind sie sehr stark zerlappt und gefaltet. Ihr Kern ist langgestreckt und sehr flach. Das Zytoplasma enthält neben Mitochondrien granuläres ER, Lysosomen und zusammengesetzte Glycogengranula.

Jeder untersuchte Ästhet hatte in diesem basalen Bereich außerdem eine Reihe von Strukturen, die nicht regelmäßig gefunden wurden. Im folgenden werden noch einige häufiger vorkommende Gebilde erwähnt.

Ein Teil der Wandungszellen besitzt ein sehr elektronendichtes Zytoplasma, aus dem die Mitochondrien und verschiedene Vesikel hell herausleuchten. Diese Zellen sind ebenfalls stark gelappt und gefaltet. An einigen Stellen weisen sie dichte Ansammlungen von Glycogengranula auf. In anderen, etwa 3,5 μm breiten Zellen findet man von mehreren Doppelmembranen umhüllte Vesikel mit sehr stark variierendem Inhalt. Der etwas gelappte Kern füllt den größten Teil dieser Zellen aus, er weist einen deutlichen Nukleolus auf.

Von der großen Zahl der beobachteten Lamellengebilden und Vesikeln in den

sehr unterschiedlich gestalteten Wandungszellen sei hier nur noch eine häufiger vorkommende Struktur angeführt, ein länglicher, zirka $3,5 \times 0,8 \mu\text{m}$ messender Lamellenkörper, der asymmetrisch eine kleine Vakuole umgibt (Abb. 14). Von einfachen Vakuolen bis zu derartigen Erscheinungsformen gibt es alle Übergangsstadien.

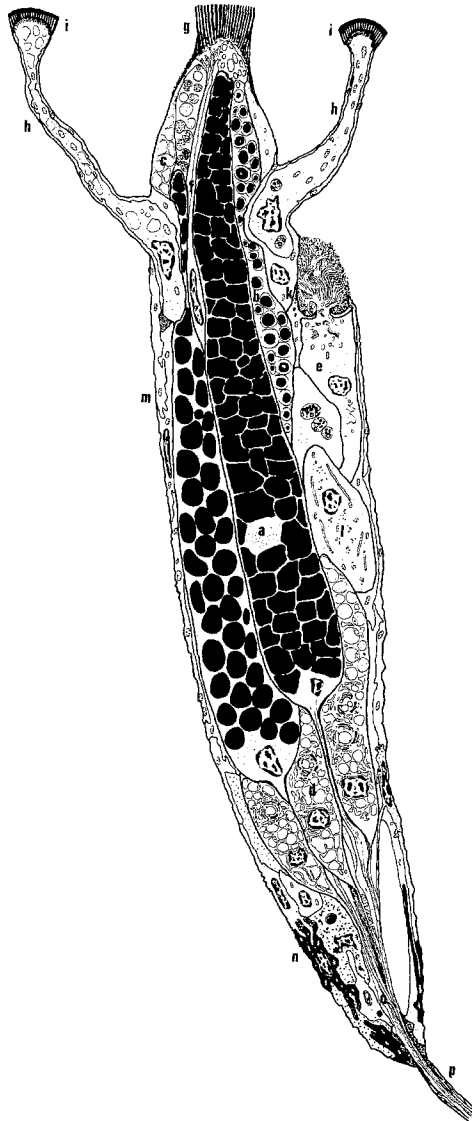


Abb. 15: Schematischer Längsschnitt durch einen Ästheten von *Chiton olivaceus*. a keulenförmige Zelle, b keulenförmige Zelle mit "Hofschollen", c Zelle mit "Höfen" ohne Schollen, d Sekretionszelle, e Schzelle, f Zentralzelle, g Hauptkappe, h Mikrästhet, i Nebenkappe, k Hüllzelle, l Lateralzelle, m Wandungszelle, n Wandungszelle im proximalen Abschnitt, o Fasern, p Faserstrang. (Etwa 1500:1)

DISKUSSION

Von der Struktur auf die Funktion der Ästheten zu schließen, ist nicht eindeutig möglich. Eine Möglichkeit, weiterzukommen, liegt im Vergleich der Feinstruktur verschiedener Arten. Vorliegende Arbeit ist der erste Teil einer solchen Untersuchung. Bisher ist nur *Lepidochitona cinereus* (L.) licht- und elektronenmikroskopisch befriedigend bearbeitet worden (Knorre, 1925; Boyle, 1974). Die in dieselbe Ordnung gehörige Art *Chiton olivaceus* zeigt bedeutende Unterschiede im Ästhetenbau. Hier sind in erster Linie die Schzellen zu nennen, die bei der von Boyle bearbeiteten Art fehlen. Boyle hat zwar gelegentlich Mikrovilli-Gebiete gefunden, konnte sie aber nicht klar in den Ästheten einordnen. Haas & Kriesten (1978) haben kürzlich nachgewiesen, daß in manchen Ästheten von *Lepidochiton cinereus* ebenfalls Schzellen vorkommen, wie sie *Chiton olivaceus* aufweist. Auch die Ästheten von *Lepidopleurus cajetanus* und die median gelegenen von *Acantochiton fascicularis* besitzen Schzellen (Fischer, 1978), während sie den kleinen lateralen Ästheten der letztgenannten Art fehlen.

Die Funktionsmöglichkeiten der Zentralzellen einzuengen, ist sehr schwierig. Der Besitz von distalen Mikrovilli und das häufige Vorkommen von Mikrotubuli sprechen für eine Sinnesfunktion. Allgemein werden sie als Sinneszellen interpretiert (Knorre, 1925; Boyle, 1974). Ihre Lage am distalen Ende der Ästheten spricht ebenfalls dafür. Was die keulenförmigen Zellen betrifft, so sind die verschiedenen Erscheinungsformen unterschiedliche Phasen eines Zelltyps. Auch Boyle (1974) vermutet das, setzt sie allerdings nicht zueinander in Beziehung.

Die früher erwähnten Zwischenformen lassen vermuten, daß die Sekretionszellen zu keulenförmigen Zellen auswachsen. Auch gibt es in ganz jungen Ästheten noch keine keulenförmigen Zellen, sondern nur Sekretionszellen; deutlich kann man anhand von Semidünnschnitten zeigen, daß die Sekretionszellen sich mit Schollen füllen, die allmählich zu den für die keulenförmigen Zellen typischen Schollen heranreifen. Nach unseren Untersuchungen erfolgt die Bildung der Schollen folgendermaßen: Das Primärprodukt wird in anschwellenden ER-Zisternen gespeichert, um die sich ein Golgiapparat bildet, der über die Golgivesikel eine weitere Komponente zugibt. (Da sich die ER-Zisternen strukturell nicht von den innerhalb der Golgiregionen gelegenen Bezirken unterscheiden, ist es wahrscheinlich, daß sie direkt ineinander übergehen). Sowohl außerhalb als auch in der Golgizone findet man membranbegrenzte Bezirke mit verstreuten Granula, die sich im weiteren Verlauf mit dem Primärprodukt vereinigen. Mit zunehmendem Alter wird die Zelle distal immer mehr mit Sekretionsprodukten angefüllt, der Golgi- und der ER-Bereich zurückgedrängt. Gleichzeitig erfolgt in den Schollen eine Volumenzunahme; außerdem erscheinen sie in elektronenmikroskopischen Aufnahmen zunehmend elektronendichter. Der Kern verbleibt im proximalen Bereich, von einem Plasmarest umgeben.

Wozu dienen nun diese Schollen? Hier sind wir noch weitgehend auf Spekulationen angewiesen. Jedenfalls ist es unwahrscheinlich, daß Sekrete nach proximal durch den Faserstrang dem Tier zugeführt werden; die Sekrete werden proximal gebildet und wandern im weiteren Verlauf immer mehr nach distal. Dafür spricht auch, daß man in den Fasern der keulenförmigen Zellen nur selten Granula findet,

jedenfalls nicht häufiger als z. B. in den Wandungszellen. Es bleiben damit zwei prinzipielle Möglichkeiten übrig: einmal könnte die Substanz nach außen abgegeben werden, andererseits könnten im Ästheten Substanzen gespeichert werden. Um zwischen diesen Alternativen zu unterscheiden, sind weitere Untersuchungen nötig.

Einige Beobachtungen sprechen sehr für die erste Möglichkeit: Zwischen den normalen keulenförmigen Zellen und denjenigen, deren Schollen geschrumpft und von hellen Höfen umgeben sind, gibt es Übergangsstadien, ebenso zwischen diesen Formen und distal gelegenen Zellen, die in den Höfen keine Schollen aufweisen. Gelegentlich findet man unterhalb der Kappe Vesikel, die große Ähnlichkeit mit im distalen Teil der "Hofschollenzelle" vorkommenden Vesikeln zeigen. Auch die Tatsache, daß man oft in den Kappenporen vor allem proximal granuläres Material findet, ist ein Indiz dafür. Bei den anderen beiden von uns untersuchten Arten *Acanthochiton fascicularis* und *Lepidopleurus cajetanus* konnte die Sekretionstätigkeit am distalen Ästhetenende noch deutlicher nachgewiesen werden. Hier findet man häufig, wie sich die distalen Schollen der keulenförmigen Zellen auflösen und eine helle Zelle mit Plasmaresten zurückbeibt, die distal offen ist.

Die distal vorkommenden kleinen keulenförmigen Zellen und die hellen, schollenlosen Zellen machen folgende Entwicklung der keulenförmigen Zelle wahrscheinlich: Sie entstehen, wie schon skizziert, proximal aus den Sekretionszellen. Infolge einer Sekretionsabgabe, die allmählich erfolgt, entstehen Hofschollenzellen. Es kann aber auch eine schnelle Sekretabgabe distal erfolgen; dann werden sie von den nachdrängenden neuen keulenförmigen Zellen nach oben verschoben: sie werden zu kleinen keulenförmigen Zellen. Sowohl diese als auch die Hofschollenzelle kann durch weitere Sekretabgabe zu einer Zelle werden, die nur noch Plasmareste enthält.

Wenn nun die keulenförmigen Zellen Sekrete nach außen abgeben, so sollte dies auch in der Kappenstruktur zum Ausdruck kommen. Omelich (1967) und Boyle (1974, 1976) zeigten, daß die Hauptkappe aller von ihnen untersuchter Arten im Elektronenmikroskop perforiert erscheint. Haas (1972) beschreibt ein Aragonitskelett in der Hauptkappe von *Chiton marmoratus*, und Boyle (1976) interpretiert die Poren, die er auf seinen TEM-Aufnahmen nachwies, als Gebiete, wo dieses Skelett durch die Entkalkung entfernt wurde. Er vermutet auch, daß die Poren, die er in REM-Aufnahmen unbehandelter Schalenstücke von *Sypharochiton pelliserpentis* fand, durch einen Verlust von organischem Material zustandekommen.

Weder *Chiton olivaceus* noch die anderen beiden von uns untersuchten Arten *Lepidopleurus cajetanus* und *Acanthochiton fascicularis* (Fischer & Renner, 1978) besitzen ein Aragonitskelett in ihren Hauptkappen. Brüche unbehandelter Kappen als auch Schnitte durch entkalkte Ästheten zeigen die gleichen Poren im REM- wie in TEM-Aufnahmen. Somit sind die Poren essentielle Bestandteile der Hauptkappen. Da gezeigt werden konnte (p. 428), daß die Hauptkappe auch an ihrer proximalen Seite in begrenztem Umfang durchlässig ist, ist eine Abgabe der Sekrete nach außen möglich.

Die Kappen der Mikrästheten weisen bei *Chiton olivaceus* und der von Boyle (1976) bearbeiteten Art *Onithochiton neglectus* innere Poren auf, im Gegensatz zu denen von *Lepidochitona cinereus* (Boyle, 1974). Auch die anderen beiden in unserem Labor untersuchten Arten haben, bis auf die besonders kleinen Ästheten auf

den Lateralfeldern von *Acanthochiton fascicularis*, Poren in ihren Nebenkappen. Diese uneinheitlichen Befunde machen eine Aussage über die funktionelle Bedeutung der Nebenkappenhypostomen unmöglich.

Bei den Mikrästheten ist eine Einengung der möglichen Funktionen nicht leicht. Entscheidend wäre festzustellen, ob sie innerviert sind oder nicht. Diese Frage ist noch nicht endgültig gelöst. Von ihrer Lage her betrachtet wäre eine Sinnesfunktion möglich. Ihre Feinstruktur (distale Mikrovilli, Mikrotubuli im Zytoplasma, Hüllzelle) und der Besitz einer komplizierten Struktur an der Grenzfläche zur Umwelt sprechen sicher nicht dagegen. Einige Funktionen können ausgeschlossen werden: Da aufgrund der Kappenstruktur ein direkter Stoffaustausch mit der Umwelt sehr unwahrscheinlich ist, sind es weder Chemorezeptoren noch geben sie irgendwelche Stoffe nach außen ab. Die deutlich verschiedenen physiologischen Zustände der Mikrästhetenzellen sind derzeit nicht zu erklären.

Zum Schluß soll noch das Problem der Innervierung behandelt werden. Daß die Ästheteten mit dem Nervensystem in Verbindung stehen, hat Knorre (1925) gezeigt. Im proximalen Teil der Ästheteten findet man 13 bis 25 Zellfortsätze, bei denen es sich auf Grund ihrer Struktur wohl um Neuriten handelt. Boyle (1974) fand bei *Lepidochitona cinereus* 10 bis 20 derartiger Fasern; er stuft sie ebenfalls als "nerve cell processes" ein und vermutet, daß sie zu Knorres Sinneszellen (entspricht unseren Zentralzellen) gehören. *Lepidochitona cinereus* hat etwa fünf Zentralzellen, bei *Chiton olivaceus* sind es zwischen zwei und acht, dazu kommen ein bis vier Sehzellen. Da nie beobachtet wurde, daß sich die Neuriten vor ihrem Eintritt in den Faserstrang verzweigen, ist es sehr wahrscheinlich, daß weitere Zellen im Ästheteten innerviert sind. Die Anzahl der Neuriten spricht für die Möglichkeit einer Innervierung der Mikrästheten. Weitere Untersuchungen müssen hier Klarheit bringen.

ZITIERTE LITERATUR

- Arey, L. B. & Crozier, W. J., 1919. The sensory responses of Chiton. J. exp. Zool. **29**, 157–260.
- Boyle, P. R., 1969. Fine structure of the eyes of *Onithochiton neglectus*. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **102**, 313–332.
- 1972. The aesthetes of chitons. 1. Role in the light response of the whole animals. Mar. Behav. Physiol. **1**, 171–184.
- 1974. The aesthetes of chitons. 2. Fine structure in *Lepidochitona cinereus* (L.). Cell Tiss. Res. **153**, 383–398.
- 1976. The aesthetes of chitons. 3. Shell surface observations. Cell Tiss. Res. **172**, 379–388.
- Fischer, F. P., 1975. Die Rückensinnesorgane der Polyplacophoren. Staatsexamensarbeit, München, 64 pp.
- 1978. Photoreceptor cells in chiton aesthetes. Spixiana (im Druck).
- & Renner, M., 1978. SEM-Observations on the shell plates of three polyplacophorans. Spixiana (im Druck).
- Haas, W., 1972. Untersuchungen über die Mikro- und Ultrastruktur der Polyplacophorenschale. Biomin. **5**, 3–52.
- & Kriesten, K., 1978. Die Ästheteten mit intrapigmentärem Schalenauge von *Chiton marmoratus* L. (Mollusca, Placophora). Zoomorphologie **90**, 253–268.
- Knorre, H. von, 1925. Die Schale und die Rückensinnesorgane von *Trachydermon* (*Chiton*) *cinereus* L. und die ceylonischen Chitonen der Sammlung Plate. Jena. Z. Med. Naturw. **61**, 469–632.

- Moseley, H. N., 1886. On the presence of eyes in the shells of certain chitonidae, and on the structure of these organs. *Q. Jl. microsc. Sci.* **25**, 37–60.
- Nowikoff, M., 1907. Über die Rückensinnesorgane der Placophoren nebst einigen Bemerkungen über die Schale derselben. *Z. wiss. Zool.* **88**, 154–186.
- 1909. Über die intrapigmentären Augen der Placophoren. *Z. wiss. Zool.* **93**, 668–680.
- Omelich, P., 1967. The behavioural role and the structure of the aesthetes of chitons. *Veliger* **10**, 77–82.
- Plate, L. H., 1899. Die Anatomie und die Phylogenie der Chitoniden. *Zool. Jb. Anat. Ontogenie Tiere (Suppl.)* **5**, 15–216.