

## Über die Ultrastruktur der Antennendrüse von *Polyxenus lagurus* (L.) (Diplopoda)

On the Ultrastructure of the Antennal Gland of *Polyxenus lagurus* (L.) (Diplopoda)

EL-SAYED EL-HIFNAWI

Zoologisches Institut der Universität Köln,  
I. Lehrstuhl für Experimentelle Morphologie

(Z. Naturforsch. 26 b, 486—487 [1971]; eingegangen am 16. Januar 1971;  
revidiert am 17. Februar 1971)

Bisher ist wenig über endokrine Organe der Diplo-poden bekannt. GLASER<sup>1</sup> fand bei *Polydesmus testaceus* ein neurosekretorisches Zentrum im Protocerebrum und sah die mit diesem über einen Nerv verbundene Cerebraldrüse als Neurohämälorgan an. Die Cerebraldrüse der kleinen Penicillaten-Art *Poylxenus lagurus* wurde erst spät erkannt (SEIFERT<sup>5</sup>) und kürzlich eingehender bearbeitet (SEIFERT u. EL-HIFNAWI<sup>7</sup>). NGUYEN DUY-JAQUEMIN<sup>2</sup> beschrieb erstmalig in den Antennen von *Polyxenus lagurus* gelegene Organe als endokrine Drüsen. Die vorliegende Untersuchung soll diese rein histologischen Befunde überprüfen und die Frage klären, ob sich im Kopf neben der Cerebraldrüse tatsächlich ein weiteres endokrines Organ befindet.

### Technik

Ganze Köpfe und auch abgetrennte Antennen wurden in phosphatgepufferter 4-proz. Glutaraldehydlösung 4 Stdn. bei 4 °C vorfixiert und anschließend bis zu 12 Stdn. in gepufferter 10-proz. kalter Zuckerlösung gewaschen. Darauf wurde in eisgekühlter gepufferter Osmiumsäure (2-proz.) nachfixiert, über steigende Alkoholstufen entwässert und in Araldit eingebettet. Das Reichert-Ultramikrotom Om U 2 diente zur Herstellung der Ultradünnschnitte. Als vorteilhaft erwies sich die Kontrastierung am Stück in gesättigter alkoholischer Bleiazetatlösung sowie die am Schnitt mit Uranylazetat (WEINSTEIN et al.<sup>8</sup>) und Bleizitrat (REYNOLDS<sup>4</sup>). Für die Untersuchung stand das Zeiss-Elmiskop EM 9 A zur Verfügung.

### Ergebnisse

Die Antennendrüse von *Polyxenus lagurus* erwähnte erstmalig REINECKE<sup>3</sup> als „schwammige Struktur“ im 5. und 6. Antennenglied. Seine Beschreibung ist jedoch recht ungenau. Lage und Topographie der Antennenorgane sowie ihre Beziehungen zum sensiblen Zweig des Nervus antennalis sind dagegen von NGUYEN DUY-JAQUEMIN<sup>2</sup> im ganzen zutreffend beschrieben worden. In jeder Antenne ziehen zwei getrennte Drüsenstränge nebeneinander nach unseren Beobachtungen sogar bis

ins 7. Glied. Ihre proximalen Enden divergieren im Kopf. Das des ventralen Stranges ist der Cerebraldrüse benachbart. Jeder Drüsenstrang besteht aus einer einzigen Reihe hintereinander gelegener Parenchymzellen, deren Basalmembranen direkt an den Hämolympf-raum grenzen, der die Drüse allseitig umgibt.

Unsere elektronenmikroskopische Untersuchung liefert keinen Hinweis dafür, daß jeder Drüsenstrang in zwei Zonen untergliedert wäre, wie es NGUYEN DUY-JAQUEMIN aufgrund ihrer histologischen Befunde beschreibt. Auch im proximalen Teil („Zone A“) gibt es Zellgrenzen. Die Kerne besitzen in allen Bereichen peripher stark zusammengeballtes Chromatin. Jede Drüse wird in ihrem gesamten Verlauf von weitleumigen Interzellularräumen durchzogen (Abb. 1 \*). Diese bestehen aus einem Hauptkanal, der sich längs durch jeden Drüsenstrang windet, und aus von ihm ausgehenden Seitenkanälen, die womöglich blind enden. Dort, wo sich ein interzellulärer Kanal der Oberfläche der Drüse nähert, kann er oft nur von einem schmalen Cytoplasmasaum der angrenzenden Zelle vom Hämolympsinus getrennt sein. Von NGUYEN DUY-JAQUEMIN beschriebene Faserstrukturen im distalen Drüsenbereich („Zone B“) könnten von elektronenmikroskopisch sichtbaren Membranstapeln in der Nähe der Zellgrenzen (Abb. 3, Mst) herrühren, die eventuell englumige Zisternen des glatten endoplasmatischen Retikulum (ERg) sind. Diese werden aber ebenso im proximalen Abschnitt gefunden. In allen Drüsenbereichen ist auch die übrige Feinstruktur der Zellen einschließlich der in ihnen gebildeten Sekretgrana gleich.

Die Parenchymzellen sind typische Drüsenzellen. Ihre Kerne liegen zentral und sind zumeist gelappt. Das ER ist stark entwickelt (Abb. 2 u. 3). Es kommt sowohl glattes wie auch granuläres (ERr) ER vor. Das glatte ist meist blasig aufgetrieben. Golgikomplexe (Abb. 3, Gk) sind sehr häufig. Das Sekret der Drüsenzellen wird vermutlich in die interzellulären Kanäle abgegeben. Die Sekretgrana liegen nämlich besonders dicht in den Zellbereichen, welche die Interzellularräume begrenzen (Abb. 1). Anscheinend vereinigt sich die Membran einer dort befindlichen Vakuole mit dem Plasmalemm und öffnet die Vakuole distal, so daß deren Inhalt in den Interzellularräumen austreten kann (Abb. 2, Sg). In allen Interzellularräumen befindet sich Material, das etwa die gleiche Elektronendichte aufweist wie das Sekret innerhalb der Vakuolen (Abb. 1). — Mitochondrien (Abb. 3, Mi) sind nur in geringer Zahl vorhanden und zudem recht klein. Ab und zu werden auffällige multivesikuläre Körper in den Parenchymzellen gefunden, die Kerngröße erreichen und den Nuclei benachbart liegen (Abb. 3, mvb).

Sonderdruckanforderungen an EL-SAYED EL-HIFNAWI, I. Lehrstuhl f. Experimentelle Morphologie, Zoolog. Inst. d. Univ., D-5000 Köln 41, Weyertal 119.

\* Abb. 1—3 s. Tabel S. 486 a.

<sup>1</sup> R. GLASER, Histologische Untersuchungen über das neurosekretorische System bei *Polydesmus testaceus* LTZ. (Diplopoda). Diplomarbeit Univ. Jena 1958.

<sup>2</sup> M. NGUYEN DUY-JAQUEMIN, C. R. Acad. Sci. [Paris] **270**, 2470 [1970].

<sup>3</sup> G. REINECKE, Jenaische Z. Med. Naturwiss. **46**, 845 [1910].

<sup>4</sup> E. S. REYNOLDS, J. Cell Biol. **17**, 208 [1963].

<sup>5</sup> G. SEIFERT, Zool. Jb. Anat. **83**, 448 [1966 a].

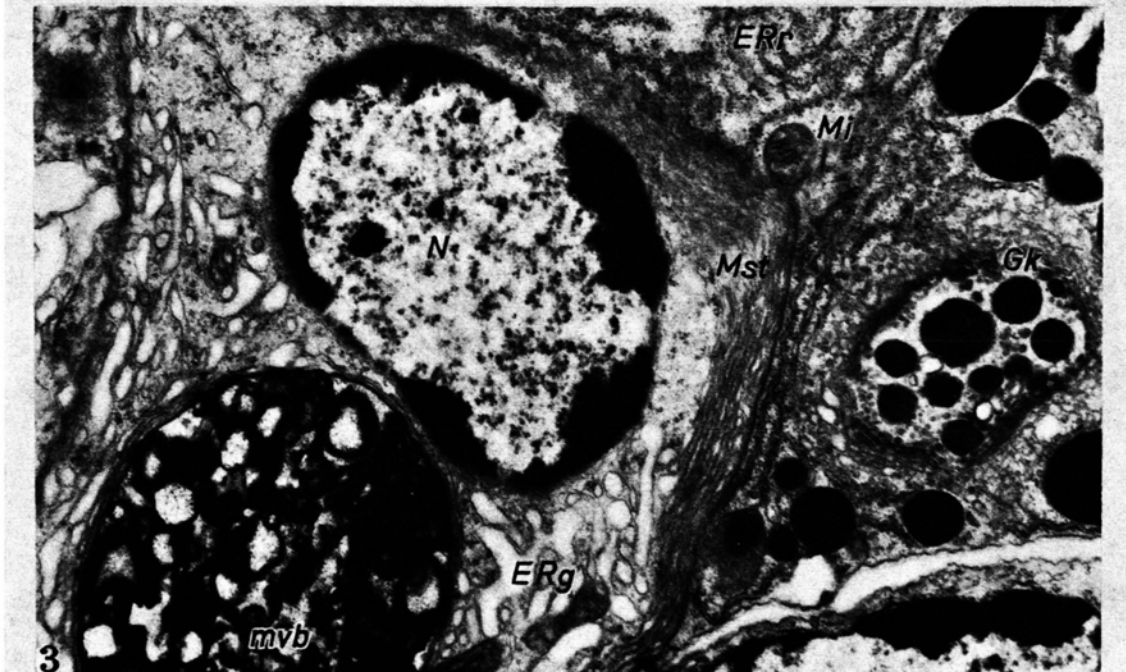
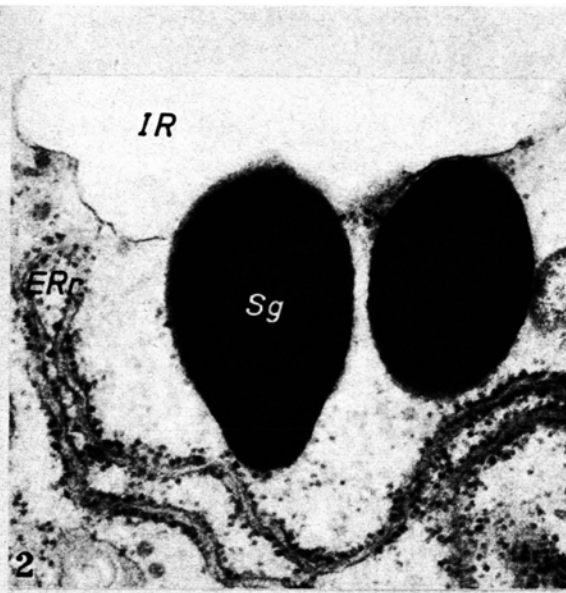
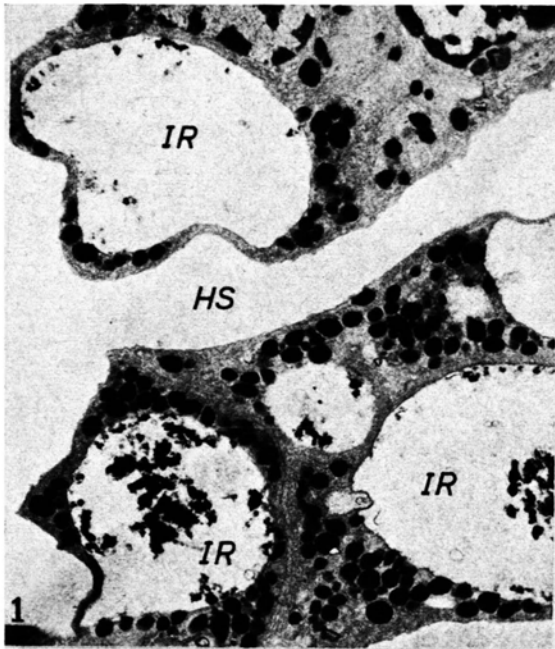
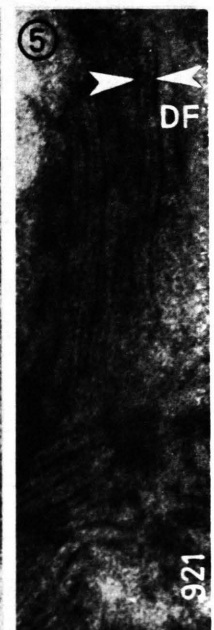
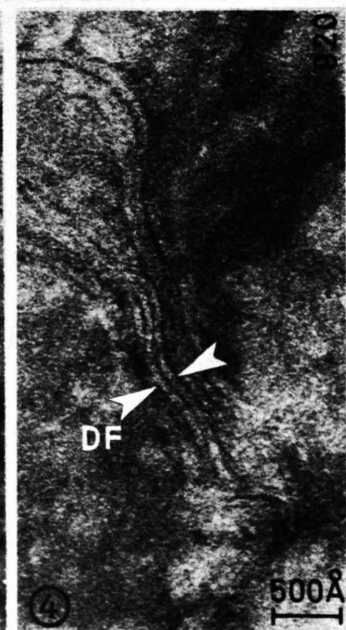
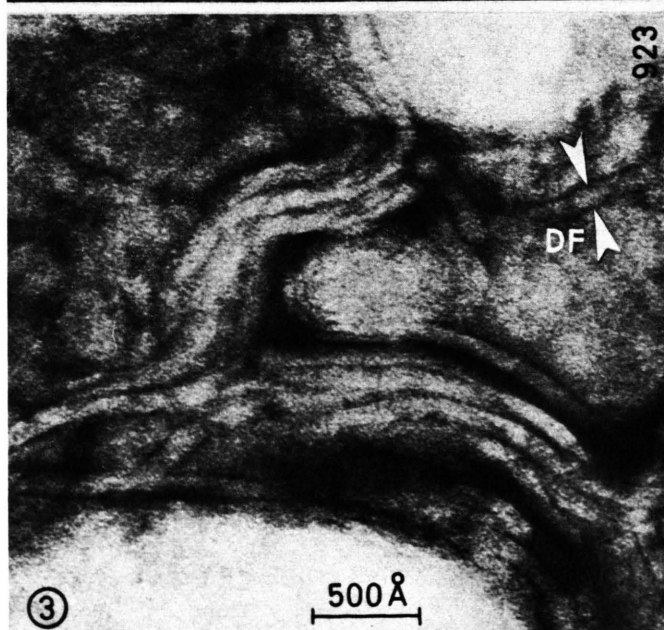
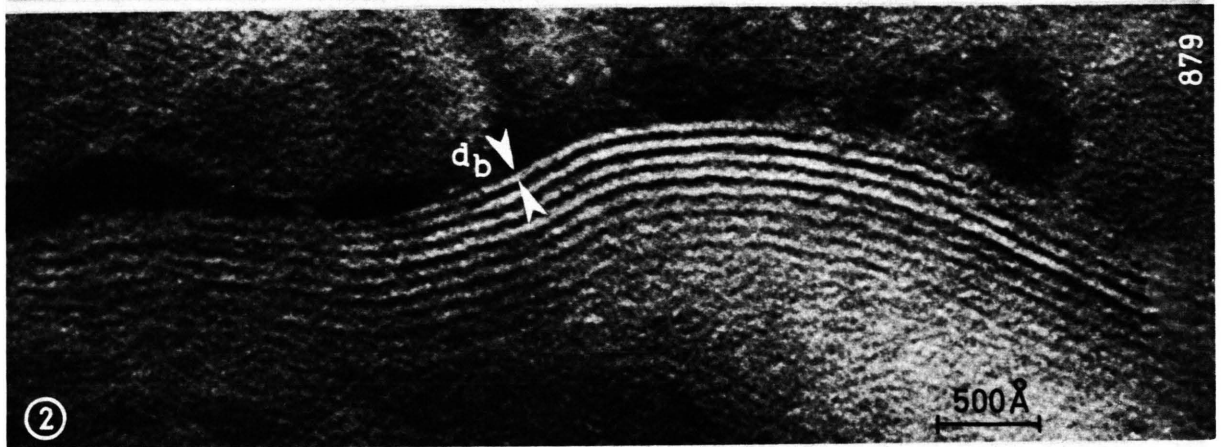
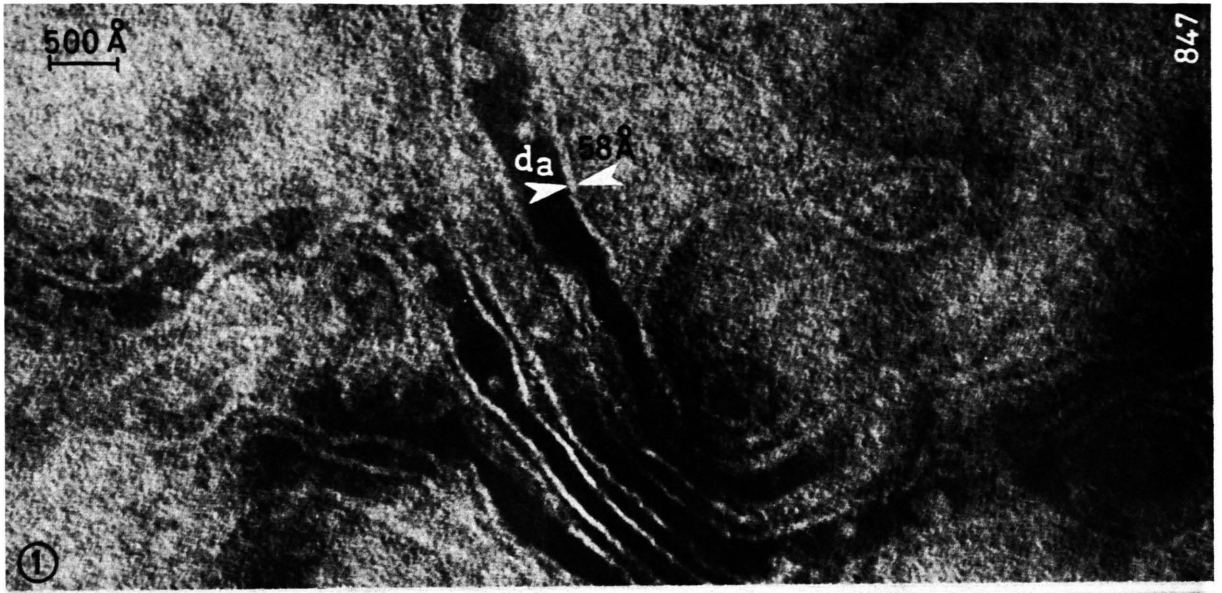


Abb. 1. Längsschnitt durch die Antennendrüsen im 1. Antennensegment. HS Hämolympfsinus zwischen dorsalem (oben) und ventralem Strang; IR Interzellularraum. Vergr. 4800 : 1.

Abb. 2. Sekretabgabe in den Interzellularraum. ERr granuläres ER; IR Interzellularraum; Sg Sekretgranum. Vergr. 52200 : 1.

Abb. 3. Schnitt durch die Antennendrüse. ERg glattes ER; ERr granuläres ER; Gk Golgikomplex; Mi Mitochondrium; Mst Membranstapel; mvb multivesikulärer Körper; N Zellkern. Vergr. 17400 : 1.



Mit der vorliegenden Untersuchung ist der elektronenmikroskopische Beweis dafür erbracht, daß die Antennalorgane von *Polyxenus lagurus* endokrine Drüsen sind. Über ihre Funktion kann keine Aussage gemacht werden. Beim Ingangsetzen einer Häutung durch Antennenamputation (SEIFERT<sup>6</sup>) ist der Grad

der Exstirpation der Antennendrüsen bisher nicht beachtet worden. Es ist daher völlig offen, ob den Antennendrüsen eine Bedeutung für die Häutung zukommt. Weitere Untersuchungen müssen darüber Aufschluß geben.

<sup>6</sup> G. SEIFERT, Zool. Anz. 177, 258 [1966 b].

<sup>7</sup> G. SEIFERT u. E. EL-HIFNAWI, Z. Zellforsch. mikroskop. Anatom., im Druck.

<sup>8</sup> R. WEINSTEIN, T. ABBISS u. S. BULLIVANT, J. Cell Biol. 19, 74 A [1963].

## The Frog's Rod Outer Segment Observed by the Negative Staining Technique

MANFRED HAUSER and JÜRGEN ROSENKRANZ

Lehrstuhl für Zellmorphologie der Ruhr-Universität,  
Bochum, Germany

(Z. Naturforsch. 26 b, 487 [1971]; received Februar 25, 1971;  
revised March 11, 1971)

Rod outer segments of frogs (*Rana esculenta*) were isolated by shaking the retina in Ringer solution. Before spreading each drop was examined by light microscopy and checked for purity. The outer segments were then either spread on the surface of a phosphotungstic acid solution (1.8...2.0%) containing 0.05...0.1% bovine serum albumin (pH 7.3) or negatively stained as drop preparations; instead of bovine serum albumin a 0.07% glycerol solution was also used.

In contrast to micrographs of ultrathin sections (e. g. FERNÁNDEZ-MORÁN<sup>3</sup>; NILSSON<sup>5</sup>) and previous negative staining experiments (BLASIE et al.<sup>2</sup>) which reveal "dense granules", "globular substructures" or "particles ~40 Å in diameter" we found fibrillar elements (Fäden) in the outer segments as already postulated before on the basis of freeze-etching experiments (ROSENKRANZ<sup>6</sup>). In surface-spread and drop preparations we observed fibrils of different structure and diameter as well as partially preserved membranes.

In preparations exposed to surface spreading we found predominantly well-spread, smooth fibrils ( $d_a$ ). Their diameter is  $49 \text{ \AA} \lesssim d_a \lesssim 58 \text{ \AA}$ , see Fig. 1\*. This wide range is due to the fact that several observers in our department made a total of 100 measurements from the same electron micrograph. Some micrographs indicate that each  $d_a$ -fibril might in turn be composed of fibrillar substructures.

In drop preparations two different types of fibrils could regularly be observed; these differ both in structure and — supposedly — in diameter.

Micrographs like Fig. 2 depict a number of densely packed and parallel fibrils named  $d_b$ . Their diameter is  $43 \text{ \AA} \lesssim d_b \lesssim 53 \text{ \AA}$  (120 measurements, several observers as above). In some places, globular substructures could be recognized indicating these fibrils to be built up of such globular particles.

The second type of fibril often seen by us in drop preparations corresponds to the well known picture of spread mitochondria although without the two confining rows of oxisomes. We call them twin fibrils (diameter about 100 Å); they are twisted as in Fig. 3 or parallel as in Figs. 4 and 5. The diameter of the two single fibrils is that of  $d_a$ . Keeping the difference of the two preparation techniques in mind, this would seem to indicate that the  $d_a$ -fibrils tend to form a very stable twin configuration. Again, each  $d_a$ -fibril seems to be composed of twisted fibrillar subunits, probably two.

Fibrils morphologically similar to the  $d_b$ -units have also been demonstrated in lipid suspensions by LUCY et al.<sup>4</sup> and BANGHAM et al.<sup>1</sup> (negatively stained cholesterol and lecithin). Their findings ("tubular" or "elongated structures") are in good agreement with ours. However, the question remains open to discussion as to whether these myelin-like structures (in the sense of Stoeckenius) are formed during preparation by rearrangement, or whether these single layers represent an inherent structural element of the outer segment. The same argument also holds when considering whether membranes are made up of a parallel array of twin fibrils

In a subsequent publication (ROSENKRANZ et al.<sup>7</sup>) we shall describe our results in more detail, also with respect to negatively stained mitochondrial membranes, whose fine structure may be similar to that of the outer segment membranes.

Reprints request to Dr. M. HAUSER, Ruhr-Univ. Bochum, Lehrstuhl f. Zellmorphologie, D-4630 Bochum, Postfach 2148.

<sup>1</sup> A. D. BANGHAM and R. W. HORNE, J. molecular Biol. 8, 660 [1964].

<sup>2</sup> J. K. BLASIE, C. R. WORTHINGTON, and M. M. DEWEY, J. molecular Biol. 39, 407 [1969].

\* Figs. 1—5 see pag. 486 b.

<sup>3</sup> H. FERNÁNDEZ-MORÁN, Circulation 26, 1039 [1962].

<sup>4</sup> J. A. LUCY and A. M. GLAUERT, J. molecular Biol. 8, 727 [1964].

<sup>5</sup> S. E. G. NILSSON, J. Ultrastructure Res. 12, 207 [1965].

<sup>6</sup> J. ROSENKRANZ, Z. Zellforsch. 111, 228 [1970].

<sup>7</sup> J. ROSENKRANZ, M. HAUSER, and A. RUTHMANN, in preparation.