

Eberhard Karls Universität Tübingen

TESE DE DOUTORADO

Vergleichende Anatomie, Histologie und Ultrastruktur des Verdauungssystems Limacoider und Milacoider Nacktschnecken (GASTROPODA, PULMONATA: AGRIOLIMACIDAE, LIMACIDAE, BOETTGERILLIDAE, MILACIDAE)

AUTOR: ANA MARIA LEAL ZANCHET

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verdauungstrakt von drei Arten der Agriolimacidae, zwei Arten der Limacidae, eine Art der Boettgerillidae sowie eine Art der Milacidae wurde vergleichend untersucht. Die anatomischen, histologischen und ultrastrukturellen Aspekte dieses Systems werden beschrieben. Ferner wurden Glykogen, Mukosubstanzen und Eiweißprodukte histochemisch identifiziert. Die Ergebnisse wurden, soweit möglich, funktionell und phylogenetisch interpretiert.

Der Verdauungstrakt der Limacoidea besteht aus folgenden Organbereichen: Buccalmasse, Oesophagus, Kropf, Magen und Darm, sowie zwei Anhangsdrüsen, Speicheldrüse und Mitteldarmdrüse. Am Darmkanal sind vier histologisch unterschiedliche Regionen und das Rectum zu erkennen. Bei *Lehmannia marginata*, *Deroceras reticulatum* und *Deroceras rodnae* ist darüber hinaus ein Blinddarm ausgebildet.

Das innere Relief des Darmtraktes ist im Oesophagus, im dritten Darmabschnitt und im Rectum durch Längswülsten gebildet. Der Magen weist zwei Typhlosolen und eine Querfalte auf. Bei den untersuchten Agriolimacidae und Limacidae tritt in der vierten Darmregion eine Leitfalte auf. Ferner kommen bei *Boettgerilla pallens* und *Tandonia budapestensis* sowie bei den *Deroceras*-Arten Leitfalten im Rectum vor.

In der Buccalmasse sind vier Regionen zu erkennen: Mundhöhle, Kieferregion, Odontophorregion und Radulatasche. Die Buccalmasse wird von einem prismatischen, mit Kutikula überzogen Epithel ausgekleidet. Unter dem Epithel befinden sich eine

Bindegewebeschicht und quer-, längs- und radial verlaufende Muskelfibern. Die Radulatasche ist ein für die Herstellung der Radula differenziertes Organ.

Vom Oesophagus bis zur dritten Darmregion sowie im Rectum wird das Lumen des Verdauungskanal von einem prismatischen Epithel ausgekleidet. Das Epithel besteht aus bewimperten sowie unbewimperten Zylinderzellen. Beide tragen Mikrovilli. Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß Speicherung von Lipiden und Glykogen, Resorption und intrazelluläre Verdauung Funktionen der bewimperten sowie der unbewimperten Zylinderzellen darstellen. Ferner haben die bewimperten Zellen die zusätzliche Funktion, den Transport von Nahrungspartikeln und Faeces zu unterstützen. In der vierten Darmregion und im Blinddarm ist das Epithel plattenförmig. Ihre Zellen tragen Mikrovilli und zeigen ein basales Labyrinth. Diese Merkmale lassen die Vermutung zu, daß sie beim Wassertransport mitwirken.

Was die Sekretzellen angeht, wurden fünf verschiedenen Schleimzelltypen (Schleimzellen I-V) und drei serösen Zelltypen (Darmsekretzellen I und II und Zystenzellen) zum ersten Mal für den Verdauungskanal der Limacoidea beschrieben. Die Schleimzelltypen I und II sind intraepithelial eingelagert. Die Schleimzellen des Typs III, IV und V haben dagegen eine subepitheliale Lage. Der Schleimzelltyp I befindet sich im Oesophagus, im Kropf, im zweiten Darmabschnitt und z.T. im Magen. Die Schleimzellen des Typs II kommen im ersten Darmabschnitt und in den Typhlosolen des Magens vor. Die Schleimzelltypen III, IV und V sind in der dritten und vierten Darmregion sowie im Blinddarm und Rectum zu finden. Der Darmsekretzelltyp I tritt im zweiten Darmabschnitt, der Darmsekretzelltyp II im dritten Darmabschnitt auf. Beide Darmsekretzelltypen sind intraepithelial anzutreffen. Die subepithelial gelegene Zystenzellen kommen in der dritten und vierten Darmregion, im Blinddarm und im Rectum vor. Die Schleimzellen sezernieren im ganzen Verdauungstrakt saure Mukosubstanzen. Bei den hinteren Bereichen des Darmkanals (dritte und vierte Darmregion, Blinddarm und Rectum) werden außerdem neutrale Mukosubstanzen sezerniert. Bei den drei serösen Zelltypen wurde Protein identifiziert.

Die subepithelialen Schichten im ganzen Verdauungskanal bestehen aus Bindegewebe und zwei Muskelschichten, nämlich eine innere Längsmuskelschicht und eine äußere Ringmuskelschicht.

In der Speicheldrüse finden sich fünf verschiedene Sekretzelltypen: Schleimzellen A und B und seröse Zellen A, B und C. Ferner sind in der Speicheldrüse undifferenzierten

Zellen, als basophile Zellen genannt, zu erkennen. Die Mitteldarmdrüse besteht aus drei Sekretzelltypen: Verdauungszellen, Exkretionszellen und Kalkzellen. Auch undifferenzierte Zellen kommen in der Mitteldarmdrüse vor.

In der phylogenetischen Analyse wurden die anatomischen und histologischen Unterschiede in 14 Merkmalszuständen festgelegt. Für die Annahme der Monophylie der Limaciden, Agriolimaciden, Boettgerilliden und Milaciden wurden vier apomorphe Merkmale herausgestellt. Die Familien Agriolimacidae und Limacidae sind wegen der Zahl von fünf apomorphen Merkmalen als Schwestergruppen zu vereinigen. Die Boettgerilliden scheinen mit den Milaciden näher verwandt zu sein als mit den Agriolimaciden und Limaciden.

#### ABSTRACT

The digestive system of three species of the Agriolimacidae, two species of the Limacidae, a species of the Boettgerillidae and Milacidae was studied comparatively. An anatomical, histological and ultrastructural description of the alimentary system is given. Moreover glycogen, mucosubstances and protein were histochemically detected. The results were discussed, so far as possible, functional and phylogenetical.

The digestive system of the Limacoidea is composed of: buccal mass, oesophagus, crop, stomach and intestine, and two accessory glands, the salivary gland and the digestive gland. The intestine is divisible into four histological distinct regions and rectum. Moreover an intestinal caecum is distinguished in *Lehmannia marginata*, *Deroceras reticulatum* and *Deroceras rodnae*.

The inner relief of the alimentary canal consists of longitudinal folds in the oesophagus, in the third intestinal region and in the rectum. The stomach shows two typhlosoles and a transversal fold. In the studied Agriolimacidae and Limacidae occur in the fourth intestinal region a **Leit** fold. In *Boettgerilla pallens*, *Tandonia budapestensis* and the species of *Deroceras* **Leit** folds are present.

The buccal mass is subdivided in four different regions: buccal vestibule, mandibular region, odontophoral region and radular sac. The buccal mass is lined by a columnar cuticularized epithelium. It is surrounded by a layer of connective tissue and

longitudinal, circular and **radial** muscle fibers. The radular sac is specialized to form the radula.

From oesophagus to the third intestinal region the lining of the alimentary canal is a columnar epithelium. Ciliated and unciliated cells are found in the epithelium. Both cell types have microvilli. The results indicate that, storage of lipid and glycogen, absorption and intracellular digestion are functions of the ciliated and unciliated columnar cells. The ciliated cells have moreover the additional function to assist the transport of food and faeces. The epithelium of the fourth intestinal region and the caecum is low. Its cells have microvilli and an extensive basal labyrinth. These morphological features are common to water- and ion-transporting epithelia.

About the secretory cells, five mucous cell types ( mucocytes I-V) and three serous cell types (intestinal secretory cells I and II and cystic cells) were described at the first time for the digestive canal. The mucous cells of type I and II are intra-epithelial, while the mucous cells of type III, IV and V lie subepithelial. The mucocytes of type I occur in the oesophagus, in the crop, in the second intestinal region and in parts of the stomach. The mucocytes of type II are found in the first intestinal region and at the typhlosoles of the stomach. The mucous cells of type III, IV and V are present in the third and fourth intestinal regions, in the caecum and in the rectum. The intestine secretory cells of type I occur in the second intestinal region, and the intestine secretory cells of type II are found in the third intestinal region. Both intestine secretory cells lie intra-epithelial. The cystic cells, that are subepithelial, occur in the third and fourth intestinal regions, in the caecum and in the rectum. The mucous cells secrete in all the digestive tract acid mucopolysaccharide. In the posterior intestinal regions (in the third and fourth intestinal regions, in the caecum and in the rectum) were secreted besides neutral mucopolysaccharide. At the three serous cell types protein are identified.

The alimentary canal is surrounded by a connective tissue and two muscle layers, an inner longitudinal and an outer circular one.

In the salivary gland five distinct cell types were found: the mucous cell types A and B and the serous cell types A, B and C. Moreover undifferentiated cells are found at the salivary glands, that are named basophile cells. The digestive gland consists of three secretory cell types: the digestive cells, the excretory cells and the calcium cells. Also undifferentiated cells are present at the digestive glands.

In the phylogenetic analysis 14 anatomical and histological characters were used. The monophyly of the Limacidae, Agriolimacidae, Boettgerillidae and Milacidae was implied by four apomorphic characters. The families Agriolimacidae and Limacidae are placed together as sister groups based on five synapomorphies. The Boettgerillidae seem to be related closer to the Milacidae as to the Agriolimacidae and Limacidae.

## RESUMO

Descreve-se comparativamente a anatomia, histologia e ultraestrutura do sistema digestivo de três espécies da família Agriolimacidae, duas espécies da família Limacidae, uma espécie da família Boettgerillidae e uma espécie da família Milacidae. Além disso, foram identificados histoquimicamente glicogênio, mucosubstâncias e proteína no epitélio de revestimento do sistema digestivo. Os resultados obtidos foram discutidos do ponto de vista funcional e filogenético.

O sistema digestivo dos Limacoidea é formado pelos seguintes órgãos: bulbo bucal, esôfago, papo, estômago e intestino. Neste último distinguem-se, além do reto, quatro regiões histologicamente distintas. Em *Lehmannia marginata*, *Deroceras reticulatum* and *Deroceras rodnae* está presente ainda um ceco intestinal. Anexas ao trato digestivo encontram-se as glândulas salivar e digestiva.

O relevo interno do tubo digestivo é representado no esôfago, na terceira região intestinal e no reto por dobras longitudinais. O estômago apresenta duas tiflosoles e uma dobra transversal. Na quarta região intestinal dos Agriolimacidae e Limacidae estudados ocorre uma dobra condutora. Além disso, o reto de *Boettgerilla pallens*, *Tandonia budapestensis* e das espécies estudadas do gênero *Deroceras* possui dobras condutoras.

No bulbo bucal ocorrem quatro regiões: vestibulo bucal, região mandibular, região do odontóforo e saco radular. O bulbo bucal é revestido por um epitélio cilíndrico

cuticularizado. Subjacente ao epitélio encontram-se uma camada de tecido conjuntivo e fibras musculares longitudinais, circulares e radiais. O saco radular é um órgão diferenciado para a formação da rádula.

Do esôfago à terceira região intestinal, assim como no reto, o tubo digestivo é revestido por um epitélio de revestimento cilíndrico, no qual ocorrem células cilíndricas ciliadas e não ciliadas. Ambas apresentam microvilos. Os resultados obtidos indicam que, reserva de lípidos e glicogênio, absorção e digestão intracelular representam funções das células cilíndricas. As células cilíndricas ciliadas apresentam ainda a função adicional de transportar partículas alimentares e fezes. O epitélio da quarta região intestinal é do tipo pavimentoso. Suas células apresentam microvilos e um labirinto basal, o que indica sua participação no controle do equilíbrio osmótico.

Com relação às células secretoras são descritas pela primeira vez para o sistema digestivo dos Limacoidea cinco tipos de células mucosas (mucócitos I- V) e três tipos de células serosas (células secretoras intestinais I e II e células císticas). Os mucócitos I e II apresentam uma posição intraepitelial, enquanto os mucócitos dos tipos III, IV e V situam-se subepitelialmente. Os mucócitos do tipo I ocorrem no esôfago, no papo, na segunda região intestinal e em partes do estômago. Já os mucócitos II estão presentes na primeira região intestinal e nas tiflosoles do estômago. Os mucócitos III, IV e V ocorrem, por sua vez, na terceira e na quarta regiões intestinais, no ceco e no reto. As células secretoras intestinais localizam-se intraepitelialmente; as células secretoras intestinais do tipo I estão presentes na segunda região intestinal e as células secretoras intestinais do tipo II, na terceira região intestinal. As células císticas, cuja localização é subepitelial, são encontradas na terceira e na quarta regiões intestinais, no ceco e no reto. As células mucosas secretam em todo o tubo digestivo mucopolissacarídeos ácidos. Nas regiões mais posteriores do trato alimentar (terceira e quarta regiões intestinais, ceco e reto) são secretados também mucopolissacarídeos neutros. Nos três tipos de células serosas foram identificadas substâncias de natureza protéica.

As camadas subjacentes ao epitélio do tubo digestivo compreendem tecido conjuntivo e duas camadas musculares, uma camada muscular longitudinal interna e uma camada muscular circular externa.

A glândula salivar é constituída por cinco tipos celulares secretores, as células mucosas A e B e as células serosas A, B e C. Células indiferenciadas, denominadas células basófilas, também estão presentes nesta glândula. Na glândula digestiva ocorrem três tipos

celulares secretores, as células digestivas, as células excretoras e as células cálcicas, bem como células indiferenciadas.

Na análise filogenética dos dados anatômicos e histológicos, 14 caracteres foram considerados de importância filogenética. A monofilia dos limacídeos, agriolimacídeos, boettgerilídeos e milacídeos é indicada pela presença de quatro caracteres apomórficos. As famílias Agriolimacidae e Limacidae são consideradas grupos-irmão devido à presença de cinco sinapomorfias. O parentesco mais próximo dos boettgerilídeos parece ser com os milacídeos, do que com os agriolimacídeos e limacídeos.