

VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL
FACULTEIT VAN DE WETENSCHAPPEN
DEPARTEMENT BIOLOGIE

**VERGELIJKENDE STUDIE VAN DE ULTRASTRUKTUUR
VAN HET KOPULTIEORGAAN BIJ PROSERIATA
(PLATHELMINTHES)**

DEEL I

Proefschrift ingediend door **Els E. Martens**
tot het bekomen van de graad van Doctor in de
Wetenschappen (Dierkunde) aan de
Vrije Universiteit te Brussel

Promotor **Prof. P. Polk**

Co-promotor **Prof. E. Schockaert**

1985

VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL
FACULTEIT VAN DE WETENSCHAPPEN
DEPARTEMENT BIOLOGIE

VLIZ (vzw)
VLAAMS INSTITUUT VOOR DE ZEE
FLANDERS MARINE INSTITUTE
Oostende - Belgium

35323

**VERGELIJKENDE STUDIE VAN DE ULTRASTRUKTUUR
VAN HET KOPULTIEORGAAN BIJ PROSERIATA
(PLATHELMINTHES)**

DEEL I

Proefschrift ingediend door **Els E. Martens**
tot het bekomen van de graad van Doctor in de
Wetenschappen (Dierkunde) aan de
Vrije Universiteit te Brussel

1985

*Ter nagedachtenis van Prof. Dr. Frans Evens
een vriend des huizes, die mijn interesse
in de Biologie heeft opgewekt.*

WOORD VOORAF

Bij het voltooiën van dit proefschrift houd ik eraan mijn oprechte dank te betuigen aan iedereen die hierin op één of andere wijze heeft bijgedragen.

Op de eerste plaats dank ik Prof. P. Polk en Prof. E. Schockaert die bereid waren het promotorschap van dit proefschrift op zich te nemen, en in het bijzonder Prof. E. Schockaert voor zijn begeleiding in het onderzoek, de discussies en de raadgevingen.

Els Plaum dank ik van ganser harte zowel voor het zeer verzorgde coupe-materiaal en haar onmisbare technische hulp, als voor haar morele steun.

Mijn dank gaat ook naar Hilde Zurings voor haar nauwgezetheid in het typwerk, en Marc Withofs voor zijn hulp bij de fotografie.

Tevens dank ik Paul Martens, voor de ontlending van een aantal foto's en tekeningen, en alle mensen van de groep Biologie voor de aangename werksfeer en allerhande hulp.

Het Limburgs Universitair Centrum dank ik voor de mogelijkheden die ik kreeg om dit onderzoek te volbrengen tijdens mijn mandaat als assistente in de Biologie.

Hierbij dank ik ook Prof. M.D.B. Burt voor zijn gastvrijheid tijdens mijn studieverblijf in de Universiteit van New Brunswick te Fredericton (Canada), en Dr. Bay voor zijn onthaal tijdens de verblijven in het Marien Station Stareso te Calvi (Corsica).

Tenslotte ben ik mijn ouders innig dankbaar voor de mogelijkheden die zij mij hebben gegeven voor mijn opleiding in de Biologie en voor de aanmoedigingen en steun gedurende al de jaren die dit proefschrift voorafgingen. Mijn dank gaat hierbij ook uit naar mijn broers en zussen, en in het bijzonder Anne voor haar steun op moeilijker momenten.

INHOUDSTAFEL

INHOUDSTAFEL	1
TER VERANTWOORDING	4
INLEIDING	6
1. De Proseriata	6
2. Het kopulatieorgaan	7
3. Genitaal stelsel bij de beschouwde families van de Proseriata	10
3.1. Monocelididae	10
3.2. Archimonocelididae	14
3.3. Coelogynoporidae	15
4. Huidige stand van het elektronenmikroskopisch onderzoek	16
MATERIAAL EN HERKOMST	17
METHODES	19
OBSERVATIES	21
I. MONOCELIDIDAE	
1. Simplex-type	21
1.1. Omstulpbare penis	21
1.1.1. <u>Ectocotyla hirudo</u> en <u>E. multitesticulata</u>	21
1.1.2. <u>Peraclistus oofagus</u>	23
1.2. Penisapil : <u>Monocelis lineata</u>	24
1.3. Stilet : <u>Monocelis fusca</u>	25
Bespreking	28

2. Duplex-type	30
2.1. Het kopulatieorgaan in <u>Archilopsis unipunctata</u>	30
2.2. De cirrus bij andere Monocelididae	33
2.3. Cirrus gekombineerd met stiletstructuur	35
2.3.1. <u>Archilopsis arenaria</u>	35
2.3.2. <u>Archilina</u> sp.	37
2.4. Structuur van de prostaat	39
Bespreking	41
3. Stilet van het accessorisch prostatoid orgaan bij Minoninae	43
3.1. <u>Ectocotyla multitesticulata</u>	44
3.2. <u>Dupliminona corsicana</u>	44
Bespreking	46
II. ARCHIMONOCOLIDIDAE	
Stilet gekombineerd met naalden :	
<u>Archimonocelis oostendensis</u> en <u>Archimonocelis</u> sp.	47
Bespreking	50
III. COELOGYNOPORIDAE	
1. Cirrus : <u>Cirrifera aculeata</u> en <u>Cirrifera</u> n.sp.	52
Bespreking	56
2. Stilet gekombineerd met naalden :	
<u>Carenscoilia biforamen</u>	58
Bespreking	61
IV. DIFFERENTIATIE EN SAMENSTELLING VAN HARDE STRUKTUREN	
1. Differentiatie	
1.1. Monocelididae	62
1.2. Coelogynoporidae	63
2. Samenstelling	
2.1. Monocelididae	65
2.2. Coelogynoporidae	67
Bespreking	69

DISCUSSIE	75
CONCLUSIES	82
SAMENVATTING	84
SUMMARY	88
BIBLIOGRAFIE	92

Fotografische afbeeldingen (Afb.) en tekeningen (Fig.)
in Deel II

TER VERANTWOORDING

Voor de Plathelminthen vormt het genitaal stelsel een belangrijk taxonomisch kenmerk.

Een eerste indeling van de Plathelminthen is namelijk gebaseerd op de bouw van de vrouwelijke gonaden : de "Archoophora" met homocellulaire gonaden en entolecitale eieren, de Neoophora met heterocellulaire gonaden en ektolecitale eieren.

Daarnaast vormt het mannelijk kopulatieorgaan een belangrijk kenmerk op het niveau Ordo, Familie, Genus en Soort. De bouw van het kopulatieorgaan vertoont een grote variabiliteit en is uit lichtmikroskopische observaties niet altijd duidelijk te begrijpen.

Ondanks het belang van het genitaal stelsel voor de taxonomie waren bij de aanvang van deze studie slechts enkele gegevens over de ultrastructuur ervan gekend : het kopulatieorgaan bij Paratomella rubra Rieger & Ott, 1971 (Acoela) (Mainitz 1977) en bij Parotoplana macrostyla Lanfranchi, 1978 (Otoplanidae) (Lanfranchi 1978), en de eicellen en eischaaiglobulen bij Polycladida, Tricladida en Rhabdocoela (Gremigni 1979).

Voor vergelijkende studies op elektronenmikroskopisch vlak ging de belangstelling tot dan naar de rhabdieten (Reisinger & Kelbetz 1964), epidermis (Bedini & Papi 1974), spermatozoïden (Hendelberg 1969, 1974, 1975, 1977; Tyler & Rieger 1975), kleeorganen (Rieger & Tyler 1979; Tyler 1976, 1977) en receptoren (Bedini & Lanfranchi 1974; Bedini et al 1973a,b, 1975; Ehlers U. 1977; B. Ehlers & U. Ehlers 1977; U. Ehlers & B. Ehlers 1977). Daarnaast bestonden ook nog geïsoleerde

studies over de ultrastructuur van de proboscis bij Kalyptorhynchia (Doe 1976, Rieger & Doe 1975 (Reuter 1975), Schockaert & Bedini 1977); de statocyst bij Acoela (Ferrero 1973); het zenuwstelsel bij Polycladida (Chien & Koopowitz 1972; Koopowitz & Chien 1974, 1975), bij Catenulida (Moraczewski et al 1977a,b) en bij Rhabdocoela (Reuter & Lindroos 1979a,b); receptoren bij Tricladida (Mac Rae 1967); de spieren bij Polycladida (Mac Rae 1965) en Rhabdocoela (Reuter 1977); en beschrijvingen van de larvale stadia bij Catenulida en Polycladida (Ruppert 1978).

Vergelijkende studies van deze nieuwe kenmerken leverden een aanzienlijke bijdrage tot de taxonomie van de Turbellaria doordat bepaalde verwantschappen bevestigd werden terwijl ook andere verwantschapsbetrekkingen tot uiting kwamen (Rieger 1981, Rieger & Tyler 1979). Intussen breidde het elektronenmikroskopisch onderzoek bij Plathelminthen verder uit, voornamelijk in verband met bovenvermelde organen (zie punt 4).

Als doel van deze studie werd een vergelijking van de bouw van het kopulatieorgaan bij Proseriata op elektronenmikroskopisch vlak vooropgesteld. Binnen de Proseriata vertoont het kopulatieorgaan een grote variatie : penis, penispapil, stilet, cirrus, stilet gekombineerd met naalden, cirrus gekombineerd met stilet Vooral de verscheidenheid van de harde kopulatiestructuren valt op.

Voor deze studie werd de ultrastructuur van het kopulatieorgaan behandeld bij Monocelididae, Archimonocelididae en Coelogynoporidae om een beter inzicht te verkrijgen over de verschillende types van kopulatieorganen en kopulatorische harde structuren. Daarnaast werden ook subadulte vormen bestudeerd om te trachten een inzicht te bekomen over het ontstaan van de harde delen. Een histochemische benadering van de harde delen werd eveneens uitgevoerd om een idee te krijgen over de samenstelling. Tenslotte werd het belang van deze ultrastructurele kenmerken voor de taxonomie geëvalueerd.

INLEIDING

1. DE PROSERIATA

Proseriata worden naast de typerende eigenschappen van het genitaal stelsel ook gekenmerkt door de statocyst voor de hersenen (in Nematoplanidae en Polystyliphoridae is geen statocyst aanwezig), de rechte onvertakte darm, de farynx plicatus gelegen in de achterste helft van het lichaam met een caudaal gerichte opening en het meestal uniform gecilieerd slank tot filiform lichaam.

De Proseriata zijn, zoals bijna alle Plathelminthes, hermafrodit : eenzelfde individu bezit zowel een volledig mannelijk als een volledig vrouwelijk genitaal stelsel. De gonaden hebben een typische follikulaire bouw met een seriële schikking. De vrouwelijke gonaden zijn heterocellulair en vormen ektolecitale eieren (Neoophora). Zij zijn namelijk samengesteld uit een ovarium of germarium, over het algemeen als één paar kompakte follikels nabij de farynxbasis gesitueerd, en een vitellarium bestaande uit talrijke follikels die in twee laterale longitudinale rijen gerangschikt liggen. De testes bestaan eveneens uit serieel geschikte follikels die ventraal tot ventrolateraal gelegen zijn tussen de hersenen en de farynx. Het kopulatieorgaan ligt in de achterste helft van het lichaam achter de farynx. De genitale porus is gescheiden of gemeenschappelijk. Meestal komt proterandrie voor waardoor het mannelijk stelsel eerst tot ontwikkeling komt.

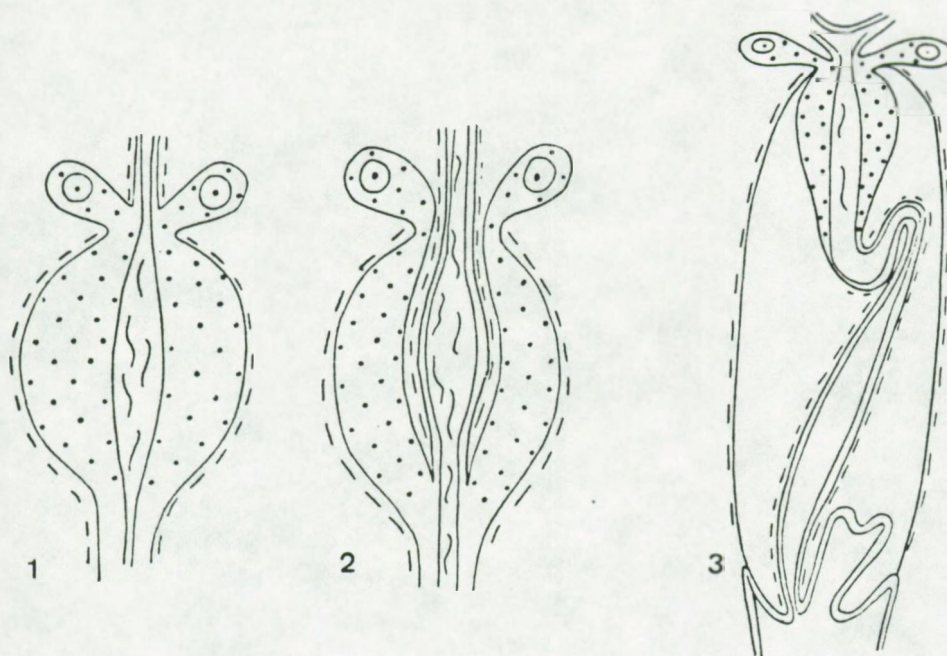
De bevruchting gebeurt inwendig en hiervoor treffen we gediversifieerde en complexe organen aan, enerzijds een vaginale ductus en anderzijds kopulatiestructuren. De harde structuren dienen voor de versteviging van het mannelijk kanaal zodat directe overdracht van spermatozoïden bewerkstelligd wordt. Zij vertonen een grote verscheidenheid in bouw binnen elke familie maar vormen een soortspecifiek kenmerk. De variatie in bouw zou kunnen in verband staan met het behoud van reproductieve barrières tussen de soorten (Karling 1963).

De proterandische ontwikkeling van de gonaden heeft ook voor gevolg dat er zich organen ontwikkelden om de ontvangen spermatozoïden te stockeren en te bewaren tot de eicellen rijp zijn of de overtollige spermatozoïden te resorberen, namelijk de bursale organen. Door de verscheidenheid in hun topografie, en hun bouw, afhankelijk van de functie, vormen deze organen eveneens belangrijke kenmerken voor de systematiek (Ball & Hay 1977; Fleming & Burt 1978a,b; Karling 1966, 1978; Tajika 1982).

2. HET KOPULATIEORGAAN

In de bouw van het kopulatieorgaan onderscheidt Karling (1956, 1966, 1978, 1980) twee algemene types : een simplex- en een duplex-type. Een kopulatieorgaan van een **simplex**-type bevat een enkelvoudige spiermantel die direkt af te leiden is van de gespierde wand van het mannelijk genitaal kanaal.

In een kopulatieorgaan van een **duplex**-type zijn twee spiermantels aanwezig : een inwendige spiermantel onmiddellijk rond het mannelijk genitaal kanaal en een uitwendige spiermantel die de bulbus vormt ("septum" : Karling 1956). De uitwendige spiermantel is afgeleid uit de spiermantel rond het mannelijk genitaal kanaal in een simplex orgaan. De holte tussen beide spiermantels wordt opgevuld door mesenchymweefsel en "perivisceraal vocht" (Karling, 1956, 1963) (zie schema's).



Schematische voorstelling van een kopulatieorgaan van het simplex-type (1), een mogelijke overgangsvorm naar het duplex-type (2) en het duplex-type (3) (Karling 1956).

Uit lichtmikroskopische observaties is echter het onderscheid tussen de twee types van kopulatieorganen niet steeds duidelijk. Ook de bouw van het mannelijk kanaal binnen de kopulatorische bulbus en van de prostaat wordt niet altijd goed begrepen op lichtmikroskopisch vlak. In lichtmikroskopische beschrijvingen ging veel aandacht uit naar de harde kopulatiestructuren, die gebruikt worden als soortspecifiek kenmerk en die bewaard blijven in toto-preparaten. Wegens beperking van het oplossend vermogen van de lichtmikroscopie is in vele gevallen de structuur van deze harde delen en hun relatie met het omliggend weefsel niet duidelijk. Een elektronenmikroskopische studie was bijgevolg vereist om een beter inzicht te bekomen in de bouw van de verschillende types van kopulatieorganen en voornamelijk in de structuur van de harde delen, en om de bestaande beschrijvingen aan te vullen.

De nomenklatuur van de verschillende organen wordt in de literatuur vaak verwarrend gebruikt. Daarom geven we hier de konventies die in deze studie toegepast worden :

- vas deferens** : ductus voor transport van spermatozoïden van de testes naar de vesicula seminalis.
- ductus seminalis** : mannelijk kanaal voor transport van spermatozoïden vanaf de vesicula seminalis.
- ductus ejaculatorius** : gespierd deel van mannelijk kanaal volgend op de ductus seminalis na de prostaat, distaal eind voorzien van gespecialiseerde kopulatiestructuren.
- cirrus** : distaal eind van ductus ejaculatorius dat naar buiten omstulpbaar is en omgeven is door een eigen spiermantel; is gelegen in een cirrusbuidel die gevormd wordt door de bulbusspieren. Een cirrus, aldus beschouwd, komt dan alleen voor in een duplex-type.
- omstulpbare penis** : buisvormig distaal eind van het mannelijk kanaal dat naar buiten omstulpbaar is en waarvan de spiermantel niet door een septum afgescheiden is van de bulbusspieren (= "eversible penis" in Karling 1966).
- penispapil** : papilvormig eind van het mannelijk kanaal dat uitstulpbaar is maar niet naar buiten omstulpt.
- basale lamina** : hele extracellulaire laag van fibrillair tot granulair materiaal, die voorkomt onder de epithelia (cfr. Rieger & Doe 1975).

3. GENITAAL STELSEL BIJ DE BESCHOUWDE FAMILIES VAN DE PROSERIATA

3.1. MONOCELIDIDAE Hofsten 1907

Kenmerken van het genitaal stelsel volgens diagnosen van Meixner 1938 en Karling 1966. Mannelijke en vrouwelijke gonoporus gescheiden. Gemeenschappelijke ovidukt mondt uit caudaal van de mannelijke gonoporus. Met of zonder ductus vaginalis. Gepaarde ovaria juist voor farynxbasis (uitzonderingen hierop zijn Ectocotyla Hyman, 1944 waarbij de farynx vooraan in het lichaam ligt en de ovaria achter de farynx, Digenobothrium Palombi, 1926 waarbij de ovaria verder voor de farynx liggen ongeveer in het midden van de vitellaria, Pseudomonocelis Meixner, 1943 en Pseudominona Karling, 1978 waar de ovaria achter de farynxbasis ligt).

Mannelijk kopulatieorgaan met onpare vesicula seminalis binnen de kopulatorische bulbus.

In zijn revisie van de Monocelididae herenigt Karling (1966) de soorten met een kopulatie-orgaan van het simplex-type met externe vagina* onder het genus Monocelis Ehrenberg, 1831 naast Necia Marcus, 1950 met een interne vagina* en Sabazius Marcus, 1954 waar de vagina opent in de kopulatorische bulbus. De soorten met een duplex-type en vaginale ductus met externe of interne vagina* worden herenigd onder het genus Archiloa Beauchamp, 1910, en zonder vaginale ductus in het genus Promonotus Beklemishev, 1927. In Paramonotus Meixner, 1938 is de gemeenschappelijke oviduct gedifferentieerd tot een postpeniale bursa met een ductus genito-intestinalis.

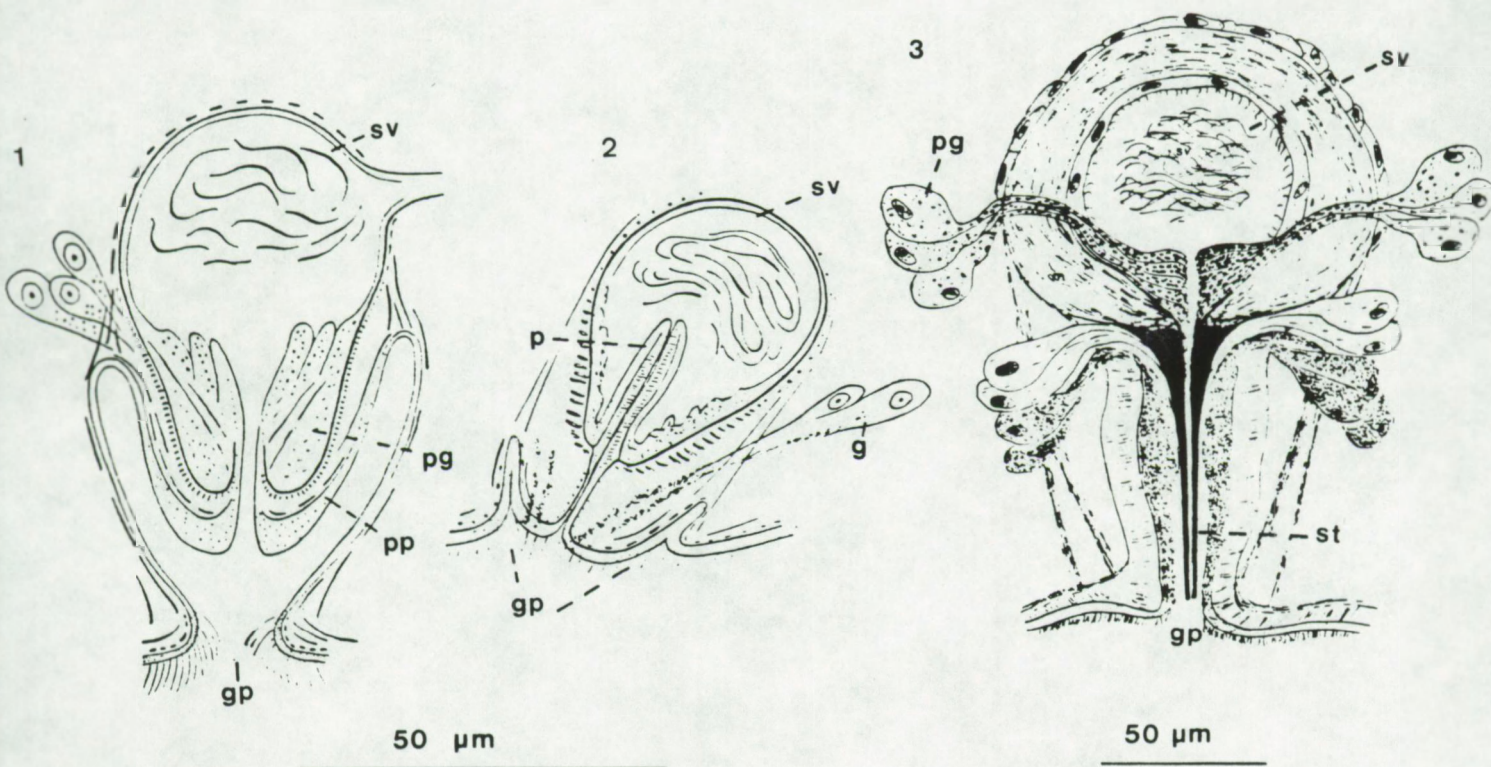
De genera gekenmerkt door de aanwezigheid van een accessorisch prostatoid orgaan (Minona Marcus, 1946, Premionona Karling, 1966, Dupliminona Karling, 1966, Pseudominona Karling, 1978, Peraclistus Steinböck, 1932 en Ectocotyla Hyman, 1944) verenigt Karling later (1978) in de subfamilie Minoninae, waarbinnen ook simplex- en duplex-kopulatieorganen voorkomen.

* externe vagina : afzonderlijk uitmondend.

interne vagina : uitmondend in genitaal atrium gemeenschappelijk met het mannelijk kopulatieorgaan.

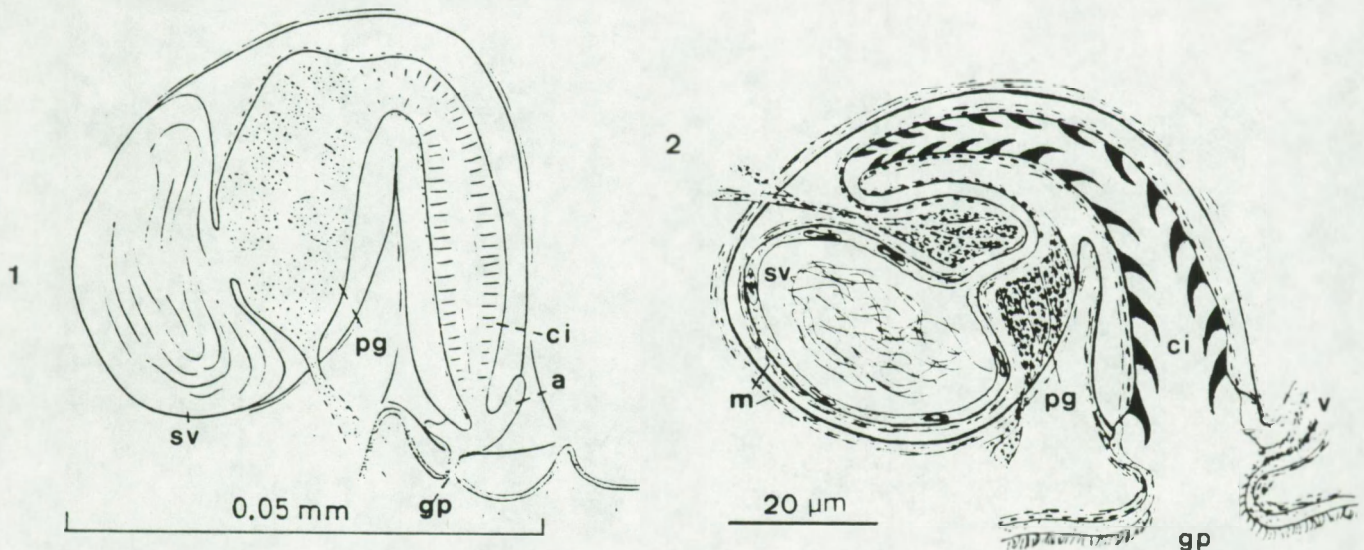
Afwijkingen van het basisplan van voorvernoemde Monocelididae komen voor in Meidiama Marcus, 1946 en Asilomaria Karling, 1966 met gepaarde vesiculae seminales en met een kopulatiestructuur bestaande uit lange naalden. Deze genera zijn wellicht te beschouwen als Archimonocelididae (zie verder). Boreocelis Westblad, 1952 onderscheidt zich eveneens door de aanwezigheid van accessorische harde structuren in het mannelijk atrium.

Het kopulatieorgaan van het **simplex**-type bestaat uit een enkelvoudige gespierde vesikel waarvan het proximale gedeelte funktioneert als vesicula seminalis en in het distale gedeelte prostaatklieren kunnen uitmonden, en is voorzien van een penispapil, een tubulaire penis of een stilet (zie figuren).



Kopulatieorgaan bij Monocelis-soorten: (1) met penispapil (M. tenella Karling, 1966), (2) met omstulpbare penis (M. cincta Karling, 1966), (3) met stilet (M. fusca Oersted, 1843).

De kopulatorische bulbus van het **duplex**-type omvat een vesicula seminalis, een "prostaatvesikel", ductus seminalis en ductus ejaculatorius waarvan het distaal eind gedifferentieerd is tot een cirrus meestal bezet met stekels (zie figuren).



Kopulatieorgaan voorzien van een cirrus:(1) met eosinofiele papillen bij Promonotus orthocirrus Karling, 1966, (2) met stekels bij Archilopsis unipunctata (Fabricius, 1826).

Diagnose van de genera

Alleen de genera waartoe de soorten die in dit onderzoek bestudeerd werden behoren, worden hier beschouwd.

MONOCELIDINAE

Monocelididae zonder accessorisch prostatoïd orgaan

Monocelis Ehrenberg, 1831 :

Kopulatieorgaan van het simplex-type, voorzien van een penis-papil, een tubulaire penis of een stilet.

Meestal met prepeniale bursa en externe vagina.

Promonotus Beklemishev, 1927 :

Kopulatieorgaan van het duplex-type met een cirrus meestal bezet met stekels.

Geen vaginale ductus aanwezig, oviduct soms met prepeniale bursa.

Archiloa Beauchamp, 1910 :

Kopulatieorgaan van het duplex-type met cirrus bezet met stekels.

Vaginale ductus met externe vagina of met interne vagina vóór de cirrus. Meestal met prepeniale bursa.

Archilina Ax, 1959 :

Kopulatieorgaan van duplex-type voorzien van een stilet in de cirrus met stekels. Externe vagina juist voor mannelijk kopulatieorgaan, prepeniale bursa.

Monocelopsis Ax, 1951 :

Kopulatieorgaan van duplex-type met een cirrus bezet met stekels. Externe vagina juist voor het kopulatieorgaan, postpeniale bursa.

Archilopsis Meixner, 1938 :

Kopulatieorgaan van duplex-type, met of zonder stilet in de be-stekelde cirrus

Vaginale ductus met interne vagina vóór de cirrus, postpeniale en prepeniale bursa.

MINONINAE

Monocelididae met accessorisch prostatoïd orgaan gescheiden van het kopulatieorgaan.

Ectocotyla Hyman, 1944 :

Farynx vooraan in lichaam, ovaria achter farynx.

Kopulatieorgaan van simplex-type met tubulaire penis, vaginale ductus met externe vagina achter kopulatieorgaan.

Accessorisch prostatoïd orgaan met stilet achter de postpeniale vagina.

Peraclistus Steinböck, 1932 :

Farynx achteraan, ovaria juist voor farynx.

Kopulatieorgaan van simplex-type met tubulaire penis.

Accessorisch prostatoïd orgaan met stilet achter de postpeniale vagina.

Dupliminona Karling, 1966 :

Kopulatieorgaan van duplex-type

Vaginale ductus met externe vagina voor kopulatieorgaan, accessorisch prostatoid orgaan met stilet achter kopulatieorgaan.

3.2. ARCHIMONOCOLIDIDAE Meixner, 1938 (nov. grad.)

Meixner (1938) beschouwde dit taxon als een subfamilie van de Monocelididae, op basis van de gescheiden mannelijke en vrouwelijke porus en de uniform gecilieerde epidermis. Karling (1966) rangschikte ze als een genus onder de Monocelididae o.a. op basis van het gemeenschappelijk vrouwelijk kanaal. Op basis van de structuur van de harde delen in het kopulatieorgaan werd het taxon uit de Monocelididae gehaald en verheven tot familie (E. Martens 1984b). Andere kenmerken waarin de Archimonocelididae ook verschillen van de Monocelididae zijn : het hersenkapsel, het precerebrale darmdivertikel, de meestal intraepitheliale kernen van de epidermis; kenmerken die ook in de andere Proseriata-families voorkomen, maar afwezig zijn in de Monocelididae.

Ovaria gepaard en gelegen in voorste lichaamshelft, testes en vitellaria achter ovaria. Prepeniale bursa, met of zonder externe vagina. Pare of onpare vesicula(e) seminali(e)s caudaal van de kopulatorische bulbus. De bulbus omvat de prostaat en een stilet of een stilet gekombineerd met naalden, en meestal ook een accessoirische prostaatvesikel.

Archimonocelis oostendensis P. Martens & Schockaert, 1981 :

Accessoirische prostaatvesikel omgeven door een afzonderlijke reeks naalden, gescheiden van deze rond het stilet.

Archimonocelis sp :

Accessoirische prostaatvesikel en stilet omgeven door één enkele reeks naalden.

3.3. COELOGYNOPORIDAE Karling, 1966

Bresslau (1933) beschouwde dit taxon als een subfamilie van de Monocelididae, Karling (1966) verhief het tot familie op basis van het gemeenschappelijk genitaal atrium en gonoporus, en de afwezigheid van een gemeenschappelijk vrouwelijk genitaal kanaal. De gepaarde germovitelloducten openen achteraan in het atrium. Vrouwelijk genitaal kanaal met of zonder bursa. Gepaarde ovaria voor de farynx, testes follikels in een onpare mediane streng gerangschikt. Vesicula(e) seminali(e)s onpaar of gepaard (naar Karling 1966).

Carenscoilia Sopott, 1972 :

Mannelijk kopulatieorgaan met stilet. Gepaarde vesiculae seminales caudaal van de gonoporus. Vrouwelijk genitaal kanaal zonder bursale organen (naar Sopott 1972).

Cirrifera Sopott, 1972 :

Mannelijk kopulatieorgaan met cirrus bezet met stekels. Gepaarde of onpare vesicula(e) seminali(e)s caudaal van de gonoporus. Gepaarde germovitteloducten monden uit in een uitzakking van het atrium (caudaal van kopulatieorgaan). Vrouwelijk genitaal kanaal zonder bursale organen (naar Sopott 1972).

Bij C. aculeata werd in deze studie echter wel een gemeenschappelijke oviduct waargenomen, terwijl bij Cirrifera n.sp. een ductus genito-intestinalis als bursaal orgaan aanwezig is zodat de diagnose van Sopott 1972 moet aangepast worden (beschrijving in voorbereiding).

4. HUIDIGE STAND VAN HET ELEKTRONENMIKROSKOPISCH ONDERZOEK

Het steeds uitbreidend elektronenmikroskopisch onderzoek op Plathelminthen bracht nieuwe kenmerken aan het licht, die een belangrijke bijdrage hebben geleverd voor de taxonomie van dit phylum. De voornaamste kenmerken die worden aangewend zijn deze van de epidermis (Tyler 1984), receptoren (Sopott-Ehlers 1982, 1984b,c), spermatozoa (Hendelberg 1983), farynx (Doe 1981), rhabdieten (Smith et al. 1982), statocyst (Sopott-Ehlers 1984a), protonephridia (U. Ehlers 1984). Op basis van deze ultrastructurele kenmerken, gekombineerd met andere eigenschappen, werden nieuwe verwantschappen aangetoond tussen verschillende taxa, wat aanleiding heeft gegeven tot het uitwerken van nieuwe fylogenetische schema's : voor de Plathelminthen (Ax 1984, U. Ehlers 1984) en voor de Seriata (Schockaert 1985, Sopott-Ehlers 1984a) en voor de Plathelminthen (Ax 1984, U. Ehlers 1984).

Over de ultrastructuur van het kopulatieorgaan bij Proseriata zijn tot nu toe slechts beschrijvingen gekend voor de Coelogynoporidae bij Carenscoilia biforamen (Ehlers & Ehlers 1980), de Otoplanidae bij Parotoplana macrostyla (Lanfranchi 1978) en de Polystyliphoridae bij Polystyliphora filum Ax, 1958 (Brüggemann 1984), buiten de gegevens van ons onderzoek op Monocelididae, Archimonocelididae en Coelogynoporidae (E. Martens 1984b, 1985: E. Martens & Schockaert 1981, 1985).

Van de andere taxa verschenen beschrijvingen van kopulatieorganen van Brüggemann (1985) bij Acoela, Macrostomida en Rhabdocoela, Doe (1984, 1985) bij Macrostomida en Haplopharyngida, Mainitz (1977) bij Acoela en een aantal gegevens over de kopulatiestructuren van Keller (1984) bij Tricladida en Threadgold (1975) bij Trematoda.

De elektronenmikroskopische studies tonen aan dat de harde kopulatiestructuren intracellulair of sub-epitheliaal gelegen zijn en niet de "kutikulaire" eigenschap vertonen die hen vroeger werd toegeschreven. Gegevens over de vorming van de harde structuren toonden aan dat er verschillende differentiatiewijzen bestaan (Brüggemann 1985, Ehlers & Ehlers 1980, E. Martens 1984a).

MATERIAAL EN

HERKOMST

1. MONOCELIDIDAE

Monocelidinae

Archilopsis unipunctata (Fabricius, 1826); Slack-estuarium,
Ambleteuse (N. Frankrijk).

Archilopsis arenaria P. Martens, 1984; Zwin.

Archiloa petiti Ax, 1956; Zwin.

Archiloa westbladi Ax, 1954; Slack-estuarium (N. Frankrijk).

Monocelopsis otoplanoides Ax, 1951; strand De Panne.

Promonotus marci Ax, 1954; strand De Panne.

Promonotus schultzei Meixner, 1943; Dievegat, vijver met brak
water in N. België.

Promonotus sp. ; baai van Calvi (Corsica).

Archilina sp. ; baai van Calvi (Corsica).

Monocelis fusca Oersted, 1843; baai van St. Andrews (Canada).

Monocelis lineata (Müller, 1774); Dievegat (N. België).

Minoninae

Ectocotyla multitesticulata Fleming & Burt, 1978; kieuwen van
de krab, Chionoecetes opilio van de oostkust van Canada
(Newfoundland).

Ectocotyla hirudo Fleming & Burt, 1978; idem.

Peraclistus oofagus Fleming & Burt, 1978; op eieren en abdomen
van vrouwelijke krabben Chionoecetes opilio en Hyas araneus
(O. Canada).

Dupliminona corsicana P. Martens, 1984; baai van Calvi (Corsica).

2. ARCHIMONOCELIDIDAE

Archimonocelis oostendensis P. Martens & Schockaert, 1981;
strand Oostende.

Archimonocelis sp. : baai van Calvi (Corsica).

3. COELOGYNOPORIDAE

Cirrifera aculeata (Ax, 1951); strand eiland Sylt (Duitsland),
leg. Dr. B. Sopott, en strand Mariakerke.

Cirrifera n.sp.; strand Mariakerke.

Carenscoilia biforamen Sopott, 1972; strand Oostende.

METHODES

De dieren werden uit het zand getrieerd volgens een decantatietechniek met een MgCl_2 -oplossing isotonisch met het zeewater (Boaden 1963, Sterrer 1968) of volgens de Uhlig-methode met "zeewater-ijs" (Uhlig 1964, 1966). Toto-preparaten werden gemonteerd in lactofenol.

Na relaxatie in MgCl_2 -oplossing werden de dieren gefixeerd in 2% glutaraaldehyde in 0,1 M fosfaat-buffer met 10% sucrose (pH 7,3), 2 tot 3 uur bij 4°C. Postfixatie gebeurde in 1% osmiumtetroxyde in dezelfde buffer, 2 uur bij 4°C, en dehydratatie in een alcoholreeks. Soms werd blokkontrastering toegepast in 2% uranylacetaat in 10% aceton, gevolgd door dehydratatie in een acetonreeks. Inbedding gebeurde in Epon of Araldite. De ultradunne coupes werden opgevangen op kopergrids met Pioloform-vlies; gekontrasteerd met 2% uranylacetaat en 1,2% loodcitraat (Reynolds 1963) en bestudeerd met een Philips EM 400 elektronenmikroskoop.

Voor lichtmikroskopische studie werden semi-dunne coupes gekleurd met methyleenblauw-thionine oplossing.

Histochemische kleuringen werden toegepast op paraffine-coupes van dieren gefixeerd in 4% paraformaldehyde-calcium oplossing, en op semi-dunne coupes na behandeling met ethoxide (verzadigde NaOH-oplossing in 100% watervrije ethanol).

Toegepaste kleuringen :

- Performic Acid-Schiff methode (PAS) (Pearse 1961) voor polysacchariden.
- Ferric Ferricyanide methode (FFC) volgens Chèvremont & Frédéric (1943) (in Pearse 1961) voor sulfhydryl-groepen.
- Performic Acid-Alcian Blue methode (PAAB) volgens Adams & Sloper (1965) (in Pearse 1961) voor disulfide-bindingen.
- Picro-Acid Fuchsine methode (PAF) volgens Van Gieson (1945) (in Lillie 1976) voor collageen en keratine.

Cytochemische testen werden toegepast op ultradunne coupes op goudgrids zonder bevliezing, en voor kontrastering.

- Collagenase 0,4% (type VII; 1.500 units/1,8 mg, Sigma).
- Pronase 1% en 2% (type XIV; 5,4 units/mg, Sigma).

Voor beide enzymen werden verschillende behandelingstijden toegepast gaande van 30 min. tot 8 uren (Monneron 1966, Monneron & Bernhard 1966, Anderson & André 1968).

- Periodic Acid-Thiocarbohydrazide-Zilverproteïnaat methode (PATCS) volgens Thiéry (1967) voor polysacchariden.

OBSERVATIES

I. MONOCELIDIDAE

1. SIMPLEX-TYPE

1.1. Omstulpbare penis : bij de Minoninae Ectocotyla hirudo, E. multitesticulata en Peraclistus oofagus.

Het mannelijk kopulatieorgaan bestaat uit één vesikel en een tubulaire ingestulpte penis. Caudaal van het kopulatieorgaan ligt tevens een afzonderlijk accessorisch orgaan voorzien van een stilet (Afb. 1, Fig. 1). In dit hoofdstuk beschouwen we alleen het kopulatieorgaan, het accessorisch orgaan wordt behandeld in hoofdstuk I.3.

1.1.1. Ectocotyla hirudo en E. multitesticulata

De vesikel is omgeven door een groot aantal spierlagen waarvan de spieren spiralig geschikt zijn (Afb. 2 en 3, Fig. 2). Een aantal spieren lopen door tot aan de wand van het atrium en de epidermis. De meest inwendig gelegen spierlaag bestaat uit cirkulaire spieren en loopt verder door in de tubulaire penis (Afb. 4). De kerndragende cellichamen van de spieren liggen rondom de bulbus tussen de parenchymcellen.

De vesikel funktioneert alleen als opslagplaats voor spermatozoïden. Er wordt geen prostaatsekreet afgescheiden. Het lumen is bekleed met een gecilieerd cellulair epitheel (Afb. 5). De epitheelcellen bevatten een onregelmatige gelobde kern, mitochondria en verspreide ribosomen. In het proximale deel van de vesicula zijn de cellen vrij afgeplat, terwijl zij distaal lange vertakte strengen vormen rondom de ingestulpte penis. De laterale celmembranen vertonen een kronkelend verloop, wat distaal in de vesicula sterk uitgesproken is.

De buisvormige penis wordt aan weerszijden bekleed met een epitheel bestaande uit langgerekte celstrengen.

Aan de vesicula-zijde is het basale gedeelte van de ingestulpte penis bekleed met de celstrengen van het epitheel van de vesikel. Zij bevatten verscheidene elektronenlucente tot elektronendense granula met een diameter van 0,15 tot 0,26 μm . Verder distaalwaarts is de penis alleen nog omgeven door sarcoplasmatische celdelen van de penispiers (Afb. 6).

Aan de lumenzijde is de penis bekleed door talrijke aaneensluitende celstrengen, die apikaal lange microvillaire uitstulpingen vormen (Afb. 6, 7 en 8). De celstrengen zijn aan elkaar gehecht door middel van een zonula adherens en diepreikende gesepteerde desmosomen. De invaginaties van het vrije celoppervlak zijn vaak opgevuld met bacteriën (0,3 - 0,4 μm diameter, ongeveer 1 μm lang) (Afb. 6 en 8). Basaal vertoont het epitheel eveneens invaginaties welke opgevuld zijn met materiaal van de basale lamina (Afb. 6 en 9). Het cytoplasma bevat talrijke microtubuli, meestal gerangschikt in de lengterichting van de penisstructuur (Afb. 9 en 10). Verder vindt men ook mitochondria, talrijke elektronendense granula, van 40 tot 200 nm diameter, en verscheidene vesikels. Kernen werden niet waargenomen en liggen vermoedelijk ingezakt buiten de gespierde bulbus. Aan hun basale zijde zijn de epitheelcellen met hemidesmosomen vastgehecht aan de basale lamina (Afb. 11). Deze basale lamina vormt een elektronendense laag, tot 0,6 μm dik, die doorloopt tussen de spieren. Ze is opgebouwd uit grof granulair materiaal naar de epitheelzijde toe, tot fijn granulair materiaal naar de spieren toe (Afb. 6). De spieren zijn aan deze fijn granulaire matrix vastgehecht met hemidesmosomen.

Naar de top van de penis toe verdwijnt de epitheliale bekleding van het lumen en wordt de spierlaag veel dunner (Afb. 12). De top van de penis bestaat nog enkel uit een verdikte basale lamina en spieren. Het lumen is hier gevuld met grote vesikels die grof granulair materiaal of stapelingen van membranaire structuren bevatten (Afb. 13). Volledig distaal van de vesikel lopen het epitheel en de basale lamina van de penis verder door in de bekleding van het atrium. In het atrium monden kliercellen uit die gematigd tot zeer elektronendense sekreetgranula bevatten.

1.1.2. Peraclistus oofagus

Het kopulatieorgaan bij P. oofagus bestaat eveneens uit één vesikel en een tubulaire omstulpbare penis.

De bouw van de vesikel is gelijkaardig aan deze bij Ectocotyla. Bij Peraclistus monden daarentegen wel prostaatklieren uit in de vesicula seminalis (Afb. 14 en 15). De celnekken van de prostaatklieren komen de vesicula in het distale deel binnen, ter hoogte van de basis van de penis. Verder naar de top van de penis toe dringen zij doorheen de spierlaag en het epitheel van de penis om het lumen te bereiken (Afb. 16). De celnekken bevatten elektronendense granula, 0,2 tot 0,6 μm diameter, en zijn verstevigd met een perifere rij microtubuli. Apikaal zijn zij aan de epitheelcellen van de penis vastgehecht door diepe zonulae adherentes (Afb. 16 en 17).

Zoals bij Ectocotyla werd aangetoond, wordt ook hier de ingestulpte penis aan de vesicula-zijde bekleed door langgerekte celstrengen van het epitheel in het distale deel van de vesicula. Aan de lumen-zijde is de penis daarentegen bekleed met bredere epitheelcellen die kortere microvillaire uitstulpingen vormen. Basaal vertonen de cellen diepe invaginaties (Afb. 17). De laterale celmembranen verlopen kronkelend en zijn apikaal aan elkaar gehecht door middel van een uitgesproken zonula adherens. Het cytoplasma van de epitheelcellen bevat een aantal mitochondriën, talrijke ribosomen en vesikels. Kernen werden niet waargenomen en liggen wellicht ingezakt buiten de spierlaag van de bulbus. De basale lamina is slechts 85 tot 120 nm dik en samengesteld uit zeer fijn granulair elektronendens materiaal. De laag

loopt kontinu door in de basale celinvaginaties van het epitheel aan de ene zijde en tussen de onderliggende spieren aan de andere zijde.

1.2. Penisapil : Monocelis lineata

Het kopulatieorgaan bij M. lineata bestaat uit een gespierde vesikel die distaal overgaat in een gespierde papil. Het distale deel van de vesikel is opgevuld met prostaatsekreet. De penisapil is een eenvoudig konisch gespierd orgaan, dat niet binnenste-buiten omgestulpt maar verlengt door kontraktie van de sterke cirkulaire spieren (Afb. 18).

De enkelvoudige vesikel is omgeven door verschillende spierlagen. De spieren aan de oppervlakte van de bulbus zijn longitudinaal gericht en lopen door tot aan het atrium en de epidermis. De onderliggende spierlagen zijn spiralig tot cirkulair geschikt. Distaal van de vesikel worden deze lagen veel talrijker en vormen de gespierde penisapil (Afb. 19, Fig. 3.).

De vesikel is bekleed met een gecilieerd afgeplat epitheel. Naast de kern bevatten de epitheelcellen talrijke mitochondriën, ribosomen, verspreide Golgi-complexen en dense sekreetgranula. De ciliën zijn zeer talrijk en bezitten een duidelijke ciliaire wortel die bijna parallel loopt met de apikale celmembraan (Afb. 20). De laterale celmembranen hebben een kronkelend verloop en zijn apikaal aan elkaar gehecht door middel van een zonula adherens.

In het proximale deel is de vesikel funktioneel als opslagplaats van spermatozoïden, terwijl in het distale deel de celnekken van de prostaatklieren uitmonden (Afb. 19). De nekken bevatten talrijke elektronendense sekretorische granula met een diameter van 0,4 tot 1,2 μm . De kernhoudende celdelen van de prostaatklieren liggen buiten de bulbus. Het zijn vrij grote cellen gekenmerkt door een uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum (Afb. 22). De sekretorische celnekken vullen het distale deel van de vesikel volledig op en vormen aldus de begrenzing van het lumen van de penisapil.

De basale lamina is slechts 60 tot 85 nm dik. Ze is samengesteld uit zeer fijn gekorrelde materiaal met een gematigde elektronendensiteit en loopt verder door tussen de onderliggende spieren. De penisapil zelf steekt een weinig uit in het atrium. Juist distaal ervan monden in het atrium klieren uit (Afb. 19). Deze sekreetgranula hebben een diameter van 160-180 nm en bevatten elektronendens materiaal.

1.3. Penisapil met stilet : Monocelis fusca

Het kopulatieorgaan omvat een enkelvoudige gespierde vesikel waarvan het distale einde voorzien is van een recht fijn stilet dat uitsteekt in een smal atrium (Afb. 22, Fig. 4).

Het stilet heeft een licht konische vorm met een terminale opening. Het is 70-85 μm lang en heeft een breedte van 6-8 μm proximaal en 1-1,5 μm distaal.

De vesikel is omgeven door talrijke spieren die spiralig tot circulair georiënteerd zijn. Een aantal spierbundels lopen van de spiermantel schuinweg naar de wand van het atrium en de epidermis (Afb. 22 en 23).

De vasa deferentia treden de vesicula binnen langs weerszijden ongeveer in het midden van de bulbus. De ducten zijn bekleed met een gecilieerd epitheel. Het fijn gekorrelde cytoplasma bevat slechts weinig celorganellen : een gelobde kern, een aantal mitochondriën en verspreide kleine vesikels (Afb. 24 en 25).

In de vesikel funktioneert het proximale deel als vesicula seminalis, terwijl in het distale deel het prostaatsekreet terecht komt. In de proximale zone is de vesicula begrensd met een vrij afgeplat gecilieerd epitheel, dat distaalwaarts hoger wordt (Afb. 23). Het granulaire cytoplasma bevat naast een gelobde kern ook talrijke mitochondria, ribosomen, en verspreide glycogeenpartikels. Laterale celmembranen verlopen zeer kronkelend, vooral in de basale celgedeelten (Afb. 26). Celkontakten worden gevormd door een zonula occludens,

zonula adherens en gesepteerde desmosomen. Onder het epitheel ligt een dunne basale lamina van fijn fibrillair materiaal dat doorloopt tussen de spieren.

Distaalwaarts versmalt de vesikel tot een trechtervormige structuur die opgevuld wordt door de talrijke celnekken van de prostaatklieren (Afb. 23 en 27). Hun kernhoudende cellichamen liggen buiten de bulbus (Afb. 28). De celnekken treden de vesicula binnen ter hoogte van de vasa deferentia. Zij bevatten dense ovaalvormige sekreetgranula en zijn aan apikale zijde verstevigd met een perifere laag microtubuli (Afb. 26). De celnekken reiken tot in het distale deel van het stilet waarin zij de bekleding van het lumen vormen.

Aan de buitenkant wordt de basis van het stilet bekleed door een beperkt aantal cellen die gekenmerkt worden door een vrij elektronen-lucent cytoplasma en sterk kronkelende celmembranen. Vooral tegen het stilet aan is het kronkelend verloop van de celmembranen zeer sterk uitgesproken, wat een harmonika-achtige opgevouwde structuur vormt (Afb. 29 tot 32). De cellen bevatten talrijke microtubuli, ribosomen en vesikels (Afb. 31 en 32). Hun kernhoudende cellichamen liggen ingezakt onder de spierlaag die het atrium omgeeft (Afb. 25 en 34). Nabij de celmembranen aangrenzend aan het epitheel van het atrium ligt een condensatie van dens materiaal.

Het stilet zelf bestaat uit cirkulaire spieren die voortlopen uit de spiermantel van de vesikel. Zij zijn ingebed in een elektronendense fijn fibrillaire matrix die continu is met de basale lamina van het epitheel van de vesikel (Afb. 31 en 32). De spieren zijn in deze matrix vastgehecht door talrijke hemidesmosomen. Distiaalwaarts vermindert het aantal spierlagen om tenslotte te verdwijnen. Vanaf hier bestaat het stilet alleen nog uit elektronendens materiaal van de basale lamina (Afb. 32 en 33). Op deze hoogte verdwijnt ook de epitheliale bedekking aan de buitenzijde van het stilet terwijl de bekleding aan de lumenzijde, de celnekken van de prostaatklieren, iets verder distaalwaarts stopt. In dwarse doorsnede heeft het stilet de vorm van een gesloten buis (Afb. 30) waarvan de wand proximaal 1,2 μm dik is en distaalwaarts versmalt tot 0,15 μm .

In het atrium wordt het stilet omgeven door dens gekorrelde epitheel-

cellen (Afb. 30 en 33). Hun cytoplasma bevat talrijke elektronendense granula, verspreide mitochondriën, en een groot aantal microtubuli georiënteerd in de lengteas van het stilet. De kerndragende celdelen van deze epitheelcellen liggen ingezakt onder de basale lamina en de spieren van het atrium (Afb. 34).

BESPREKING

De verschillende vormen van een kopulatieorgaan van het simplex-type hebben globaal gezien een gelijkaardige bouw (zie Fig. 2, 3 en 4).

De gespierde bulbus bestaat uit een enkelvoudige vesikel die distaal overgaat in een penispapil, een omstulpbare penis of een stilet. Het cellulaire epitheel met intraepitheliale kernen en cilia dat de vesikel bekleedt is gelijkaardig aan het epitheel van de vasa deferentia en wellicht een voortzetting daarvan.

Een eenvoudig kopulatieorgaan vinden we bij Monocelis lineata waar de vesikel distaal een konische vorm aanneemt en sterk gespierd is. Deze papil heeft geen specifieke versteviging. Door kontraktie van de spieren wordt de papil bij kopulatie verlengd tot een meer tubulaire structuur.

Ectocotyla hirudo, E. multitesticulata en Peraclistus oofagus bezitten een tubulaire penis die ingestulpt ligt in de vesicula. Bij beide Ectocotyla-soorten is de penis verstevigd door de sterk verdikte basale lamina. De penisstructuur bij P. oofagus bestaat uit meerdere lagen cirkulaire spieren maar er is geen verstevigende basale lamina aanwezig.

Bij Monocelis fusca is de gespierde vesikel voorzien van een stilet dat opgebouwd is uit basale lamina-materiaal en sub-epitheliaal gelegen is. De stiletstructuren die tot nu toe beschreven werden bij de Proseriata, nl. Coelogynoporidae (Ehlers & Ehlers 1980) en Polystyliphoridae (Brüggemann 1984) zijn daarentegen intracellulaire specialisaties in het epitheel van het distale eind van het mannelijk kanaal (zie Discussie).

De penis in beide Ectocotyla-soorten en het stilet in M. fusca zijn op gelijkaardige wijze opgebouwd. Beide structuren bestaan uit spieren omgeven door de verstevigende matrix van de basale lamina en aan weerszijden bekleed met een epitheel, dat verder distaalwaarts verdwijnt. De gelijkaardige bouw van beide structuren valt des te meer op als de vergelijking gemaakt wordt met een uitgestulpte penis.

Het epitheel dat dan aan de buitenkant van de penis ligt is vergelijkbaar met de uitwendige bekleding van het proximale gedeelte van het stilet voornamelijk door de aanwezigheid van de talrijke microtubuli in de cellen.

2. DUPLEX-TYPE

2.1. Het kopulatieorgaan in Archilopsis unipunctata

Het kopulatieorgaan van A. unipunctata behoort tot het duplex-type waarbij de vesicula seminalis, de prostaat en de cirrus binnen één-zelfde gespierde bulbus liggen (Afb. 35, 37 en 39, Fig. 5). De ductus seminalis wordt voorbij de prostaatklieren een sterk gespierde ductus ejaculatorius. Hiervan is het distale deel gespecialiseerd tot een bestekelde cirrus die rostraalwaarts gericht is (Afb. 37, 38 en 39). De cirrus is 85-100 μm lang en bezet met haakvormige stekels die 3-5 μm breed en 6-19 μm lang zijn. De stekels staan zo geschikt dat ze bij uitstulping van de cirrus functioneren als weerhaken (Afb. 36).

De bulbus zelf bestaat uit een septum waarrond een enkelvoudige laag spiralig geschikte spieren ligt (Afb. 39). Het septum is 0,13-0,30 μm dik en bestaat uit fijn fibrillair materiaal dat naar de spieren toe minder dicht gepakt is. Aan de distale top van de cirrus is het septum continu met de basale lamina van de cirrus en met de basale lamina onder het epitheel van het atrium (Afb. 39 en 55). De spieren van de bulbus gaan over in de spieren van het atrium. De kernhoudende cellichamen van de spieren liggen geschikt rondom de bulbus.

De vasa deferentia monden in het distale deel van de vesicula seminalis uit (Afb. 38). Zij zijn bekleed met een afgeplat epitheel dat in dwarse doorsnede samengesteld is uit vier cellen (Afb. 40 en 41). Celkontakten bestaan uit een zonula adherens en dieper gelegen desmosomen. De cellen dragen verspreide cilia en bevatten slechts weinig celorganellen : ribosomen, Golgi-complexen en enkele mitochondria. Slechts in enkele doorsneden werd een kern waargenomen, wat aanwijst dat de cellen een langgerekte vorm hebben.

De vesicula seminalis is bekleed met een afgeplat gecilieerd epitheel (Afb. 42). Laterale celmembranen vertonen een kronkelend verloop en zijn aan elkaar gehecht met een zonula adherens en gesepteerde desmosomen. Goed ontwikkelde Golgi-complexen, ruw endoplasmatisch re-

ticulum en dense granula duiden op een sekretorische activiteit van de cellen.

Het epitheel van de ductus seminalis bestaat in dwarse doorsnede uit vier langgerekte cellen. De kernen van deze cellen liggen ter hoogte van de transitie vesicula seminalis in ductus seminalis (Afb. 43 en 44). In het proximale deel van de ductus zijn de epitheelcellen vergelijkbaar met het epitheel van de vesicula seminalis. Verder distaalwaarts worden de cellen hoger. De celorganellen liggen basaal in de cel, terwijl apikaal de cytoplasmatische matrix zeer fijn dicht gekorrelt is en vrij van organellen (Afb. 44).

De vesicula en ductus seminalis zijn omgeven met een enkelvoudige laag spiralig geschikte spieren. Deze liggen ingebed in een fijn fibrillaire matrix die kontinu is met de basale lamina onder de epithelen.

De prostaat wordt gevormd door de talrijke celnekken van de prostaatklieren waarvan de kerndragende cellichamen buiten de bulbus zijn gelegen (Afb. 39). Deze celnekken monden uit in twee zogenaamde prostaatducten die gesitueerd zijn ter hoogte van de transitie ductus seminalis in ductus ejaculatorius (Afb. 44 en 45) (Beschrijving in hfdst. Prostaatvesikel 2.4).

Vanaf de ductus ejaculatorius wordt het mannelijk kanaal omgeven door twee spierlagen : inwendige cirkulaire en uitwendige longitudinale spieren (Afb. 46 en 47). Het epitheel vertoont een sekretorische activiteit en is afgeboord met microvilli zoals in de prostaatducten. Verder distaal verdwijnen de microvilli en vertonen de epitheelcellen aan de lumenzijde talrijke onregelmatige invaginaties (Afb. 44 en 46). De kernhoudende cellichamen van deze epitheelcellen liggen ingezakt onder de basale lamina en de spieren van de ductus. De cellen vormen talrijke vertakte celnekken die gegroepeerd, net voorbij de prostaatducten, de spierlagen en de basale lamina doordringen om het lumen te bereiken. Laterale celkontakten gebeuren door diepe gesepteerde desmosomen waartussen intercellulaire sferische expanties optreden.

Naar de cirrus toe wordt het epitheel van de ductus ejaculatorius sterk gevakuoliseerd om tenslotte in de cirrus te verdwijnen. De basale lamina wordt naar de cirrus toe eveneens veel dener en ver-

dikt van 60 nm tot 150 nm (Afb. 46, 47 en 48).

De cirrus bestaat uit een inwendige laag cirkulaire en een uitwendige laag longitudinale spieren, en een verdikte basale lamina die zelf de bekleding van het lumen vormt. De kernhoudende cellichamen van de spieren liggen perifeer en vrij proximaal in de cirrus (Afb. 49). Voor de hele spiermantel van de cirrus komen slechts vier kernen in aanmerking.

De cirrusstekels zijn holle kegelvormige structuren die vrij in het lumen uitsteken. De stekelstructuur wordt gevormd door een plaatselijke sterke verdikking van de elektronendense basale lamina (Afb. 50 en 56). De basale lamina zelf vertoont een trilaminaire structuur (Afb. 56 en 57) :

1. Inwendige laag aan de spierzijde : fijn fibrillair materiaal met een gematigde elektronendensiteit. Deze laag is continu met de matrix waarin de cirrusspieren ingebed liggen. Naargelang de kontraktietoestand van de inwendige spieren kan de dikte van deze laag sterk variëren.
Gemiddelde dikte van 0,2 tot 0,4 μm .
2. Middenlaag : zeer fijn granulair materiaal dat een elektronendense vrij homogene laag vormt. Deze laag vertoont een uitgesproken verdikking in de stekelstructuren.
Gemiddelde dikte varieert van 0,02-0,10 μm tussen de stekels; tot 0,8-1,4 μm in de stekels.
3. Uitwendige laag die de begrenzing aan de lumenzijde vormt : zeer elektronendens materiaal met een homogene amorfe samenstelling.
Gemiddelde dikte : 8 nm.

De stekels worden dus gevormd door een plaatselijke verdikking van de elektronendense middenlaag van de basale lamina (Afb. 50 en 56).

Het materiaal dat de stekelstructuren opvult bestaat uit spierweefsel. Van de inwendige cirkulaire spieren van de cirrus reiken zowel myofibrillaire delen als sarcoplasmatische celuitlopers tot in de stekels. De spierfibrillen zelf zitten met hemidesmosomen vastgehecht aan de inwendige fibrillaire laag van de basale lamina. In de spiercellen vindt men naast talrijke mitochondriën, glycogeenkorrels en ribosomen ook membraangebonden granula met eenzelfde elektronendensiteit als de dense middenlaag van de basale lamina. Ge-

lijkaardige granula treft men ook aan in de basale lamina tot tegen de middenlaag waar hun inhoud openspreidt en fusioneert met het dense materiaal (Afb. 56, 58, 59 en 60).

Het materiaal dat in het lumen van de cirrus voorkomt, vertoont in het algemeen een beeld van gedegenereerd of degenererend weefsel (Afb. 50). Er kunnen verschillende zones onderscheiden worden. In de meest proximale zone van de cirrus liggen onherkenbare cellulaire resten, zgn. celdebris (Afb. 51). Verder distaalwaarts zijn tussen de celresten talrijke bacteriën zichtbaar (Afb. 52 en 53). De volgende zone wordt gekenmerkt door opeengestapelde cytoplasmastrengen gevuld met een sterk gekorrelt materiaal. Hier en daar sluiten de strengen nog aan tegen de basale lamina (Afb. 54). Soms zijn er echter alleen nog resterende stukjes celmembraan zichtbaar tegen de basale lamina. De meest distale zone van de cirrus is opgevuld met een soort prop van cellulair materiaal dat eveneens karakteristieken van degenererend weefsel vertoont : gezwollen microvilli-achtige structuren of endoplasmatisch reticulum, talrijke lysosoom-achtige vesikels, glycogenosomen, stapelingen van cytoplasmastrengen en membranaire structuren en zgn. "apoptic bodies" (cfr. Kerr et al. 1972). Dit zijn grote vesikels gevuld met afstervend celmateriaal waarvan cytoplasma en kernen gekondenseerd zijn tot bolvormige dense structuren (Afb. 55).

2.2. De cirrus van andere Monocelididae

In vergelijking met Archilopsis unipunctata wordt in dit hoofdstuk de bouw van de cirrus besproken bij vier anderen genera van de Monocelididae waarvan het kopulatieorgaan eveneens tot het conjuncta-duplex type behoort.

Beschouwde soorten : Promonotus schultzei (Afb. 61 en 62), P. marci (Afb. 68 en 69), Promonotus sp. (Afb. 94), Archiloa petiti (Afb. 79 en 80), A. westbladi (Afb. 83 en 84), Monocelopsis otoplanoides (Afb. 89 en 90), Dupliminona corsicana (Afb. 74 en 75) (Fig. 10, 11 en 12).

Bij elk van deze soorten bestaat de cirrus uit inwendige cirkulaire spieren, uitwendige longitudinale spieren en een verdikte elektronen-

dense basale lamina. In de cirrus wordt geen epitheel aangetroffen zodat de basale lamina zelf de begrenzing van het lumen vormt. De stekels zijn holle kegelvormige structuren gevormd door een plaatselijke verdikking van de basale lamina. Zij steken vrij in het lumen uit (Afb. 63, 71, 77,, 81, 86, 91 en 96).

Zoals bij Archilopsis unipunctata werd beschreven, vertoont ook hier de basale lamina een trilaminaire structuur (Afb. 67, 73, 78, 82, 87, 93 en 97). De variatie in de dikte van de respektievelijke lagen zijn weergegeven in Tabel 1 p. 34.

De plaatselijke verdikking van de dense middenlaag van de basale lamina - waardoor dus de stekels gevormd worden - gebeurt vrij abrupt aan de basis van de stekels bij Promonotus schultzei (Afb. 65), P. marci (Afb. 72) en in Archiloa westbladi (Afb. 86). In de stekels bij Dupliminona corsicana (Afb. 77), A. petiti (Afb. 81), Monocelopsis otoplanoides (Afb. 91) en Promonotus sp. (Afb. 96) neemt de middenlaag van de basale lamina geleidelijk toe.

De stekelstructuren worden opgevuld door de cirkulaire spieren van de cirrus. Bij Promonotus schultzei en Dupliminona corsicana reiken de myofibrillen tot in de top van de stekels waar zij aan de inwendige laag van de basale lamina vastgehecht zijn met hemidesmosomen (Afb. 65 en 77). In de Archiloa-soorten, Monocelopsis otoplanoides en Promonotus sp. reiken alleen de sarcoplasmatische celdelen tot in de top terwijl de myofibrillen zelf aan de basis van de stekel gesitueerd zijn (Afb. 81, 86, 91 en 96). In Promonotus marci daarentegen zijn de stekels opgevuld met celuitlopers van het parenchym dat de bulbus opvult. Deze celstrengen bevatten een losmazig en vesiculair cytoplasma (Afb. 72 en 73). De spieren van de cirrus zijn bij deze soort slechts zwak ontwikkeld : een beperkt aantal ligt verspreid tussen het parenchym rond de cirrus. De spieren van de bulbus zijn daarentegen veel sterker ontwikkeld en talrijker dan bij de andere soorten (Afb. 68 en 69).

In het lumen van de cirrus komen verscheidene cytoplasmatische elementen voor die het aspect hebben van degenererend weefsel. Deze cytoplasmatische elementen zijn verschillend naargelang de zone in de cirrus, proximaal tegenover distaal.

In de meest proximale zone van de cirrus vindt men verspreide cel-

debris en stapelingen van membranaire structuren. Vaak worden ook talrijke bacteriën aangetroffen (Afb. 86). Verder distaalwaarts liggen verscheidene lysosoom-achtige vesikels (Afb. 63 en 96) of stapelingen van cytoplasmastrengen. Distaal in de cirrus liggen soms nog herkenbare celstructuren met een zeer vesikulair cytoplasma (Afb. 71, 90 en 91). In andere gevallen is het lumen voornamelijk gevuld met grof granulair materiaal (Afb. 66, 72, 92 en 93) of prostaatsekreet (Afb. 64, 77 en 81), of is er in bepaalde zone helemaal geen cellulair materiaal aanwezig (Afb. 62).

2.3. Cirrus gekombineerd met stilet-structuur

Uit de beschrijvingen in hoofdstuk 2.1. en 2.2. blijkt dat de cirrusstekels opgebouwd zijn in de basale lamina en bijgevolg een sub-epitheliale ligging hebben. In dit hoofdstuk worden twee soorten behandeld die in de cirrus ook een stilet bevatten.

2.3.1. Archilopsis arenaria

Het kopulatieorgaan van A. arenaria behoort eveneens tot het duplex-type en heeft een gelijkaardige algemene morfologie als beschreven werd voor A. unipunctata. Kenmerkend voor A. arenaria is de aanwezigheid van een recht konisch stilet dat in de bestekelde cirrus ligt (Afb. 98 en 99, Fig. 6 en 7).

De cirrus is ongeveer 74 μm lang, de licht haakvormig gebogen stekels hebben een lengte van 4 tot 7 μm en het stilet is 29-38 μm en 10-12 μm breed.

Zoals bij A. unipunctata beschreven werd, zijn de vesicula seminalis en ductus seminalis begrensd door een afgeplat gecilieerd epitheel, een basale lamina en een enkelvoudige spierlaag (Afb. 99). De celnekken van de prostaatklieren monden eveneens uit in twee prostaatducten die gesitueerd zijn ter hoogte van de transitie ductus seminalis in ductus ejaculatorius (Afb. 100 en 101) (Beschrijving in hoofdstuk 2.4.).

De korte ductus ejaculatorius, omgeven door een inwendige laag cirku-

laire en een uitwendige laag longitudinale spieren, mondt uit in het stilet (Afb. 101). Het epitheel van de ductus reikt tot in het proximale deel van het stilet terwijl de spieren verder doorlopen en de wand van het stilet opvullen (Afb. 102). De epitheelcellen bevatten weinig celorganellen : verspreide ribosomen en mitochondriën en talrijke microfilamenten, ongeveer 10 nm dik. Verder distaals is geen epitheel meer aanwezig in het stilet en vormt de basale lamina de begrenzing van het lumen (Afb. 103 en 104). Aan de buitenzijde is het stilet eveneens begrensd door een basale lamina die verder doorloopt en het lumen van de cirrus bekleedt (Afb. 102).

De stiletstructuur bestaat dus uit spieren die aan weerszijden begrensd zijn door een elektronendense basale lamina. Aan de distale top van het stilet zijn beide basale lamina's continu met elkaar (Afb. 105).

De inwendige basale lamina verdikt van 80 nm aan de basis van het stilet tot 200 nm naar de top toe en vertoont een gelaagdheid : naar lumenzijde een dense vrij homogene laag en naar de spieren toe een minder dense fijn fibrillaire laag (Afb. 103). De uitwendige basale lamina, die verder doorloopt in de cirrus, vertoont een trilaminaire structuur zoals reeds beschreven werd voor de cirrus bij de andere Monocelididae (Afb. 106 en 107). In het stilet is de dikte van de inwendige fijn fibrillaire laag gemiddeld 100 nm, van de homogene elektronendense middenlaag 50 nm aan de basis van het stilet tot 200 nm aan de top, en van de dense oppervlaktelaag 7 nm.

Zoals bij de andere Monoceliden zijn de cirrusstekels holle structuren gevormd door plaatselijke verdikkingen van de middenlaag van de basale lamina, en opgevuld met spierweefsel (Afb. 106). De dikte van de respektievelijke lagen in de basale lamina staat vermeld in Tabel 1.

Eveneens gelijkaardig is het materiaal dat in het lumen van de cirrus aangetroffen wordt. Rond het stilet liggen bacteriën (Afb. 104), terwijl verder distaal in de cirrus stapelingen van cytoplasmastrengen en membranaire structuren, en lysosoom-achtige vesikels voorkomen (Afb. 106).

2.3.2. Archilina sp.

De gespierde kopulatorische bulbus van Archilina sp. behoort eveneens tot het duplex-type, maar bevat in de bestekelde cirrus ook nog een stiletstructuur, die 30-35 μm lang en 10-12 μm breed is (Afb. 108, Fig. 8 en 9).

In lichtmikroskopische observaties heeft het stilet de vorm van een konische buis (Afb. 109 en 110), zoals beschreven werd bij Archilina endostyla (Ax, 1959). Uit de elektronenmikroskopische studie hier blijkt echter dat het stilet samengesteld is uit vier lange stekels die volledig proximaal in de cirrus staan (Afb. 111 en 112). Deze stekels zijn zo aaneensluitend gerangschikt, met hun licht gebogen toppen naar elkaar toe, zodat zij samen een buisvormige structuur vormen (zie Fig. 9 van uitgestulpte cirrus bij sterk platgedrukt specimen).

De stekels zelf zijn, zoals de cirrusstekels, holle kegelvormige structuren gevormd door een plaatselijke verdikking van de basale lamina. In de stiletstructuur en in de cirrus is geen epitheel aanwezig zodat de stekels vrij uitsteken in het lumen. De basale lamina vertoont ook hier de trilaminare structuur (zie Tabel 1) (Afb. 113 en 114).

Zowel in het stilet als in de cirrus worden de stekels aan de basis opgevuld door de cirkulaire spieren van de cirrus. Alleen sarcoplasmatische celstrengen dringen verder door tot in de top van de stekels (Afb. 114).

Het lumen in de cirrus is voornamelijk opgevuld met prostaatsekreet en verscheidene lysosoom-achtige vesikels (Afb. 112).

Tabel : Gemiddelde dikte van de drie lagen in de basale lamina in de cirrus.

Soort	Lengte van de stekels (gemeten op toto-prepara- raten, in μm) en vorm	Inwendige laag (in nm)	Middenlaag		Oppervlakte- laag (in nm)	Aantal metingen (aantal specimen)
			Tussen de stekels (in nm)	In de stekels (in μm)		
<u>Archilopsis unipunctata</u>	10-15, haakvormig	200-450	17	0,85-1,40	6	200 (20)
<u>Archilopsis arenaria</u>	6-10, haakvormig	100-300	18	0,40-0,80	7	75 (2)
<u>Promonotus schultzei</u>	4- 6, haakvormig	60-500	15	0,50-0,60	3	200 (16)
<u>Promonotus marci</u>	3- 5, licht haakvormig	25-300	16	0,25-0,30	4	100 (4)
<u>Promonotus</u> sp.	3- 6, haakvormig	20-100	17	0,10-0,35	6	50 (1)
<u>Archiloa westbladi</u>	6- 8, haakvormig	30-250	16	0,75-1	5	100 (4)
<u>Archiloa petiti</u>	4-11, haakvormig	20-160	17	0,45-0,85	3	100 (3)
<u>Monocelopsis otoplanoides</u>	3- 5, gelobd	50- 70	14	0,08-0,30	4	100 (6)
<u>Archilina</u> sp.	4-10, haakvormig	80-400	18	0,15-0,70	10	50 (1)
<u>Dupliminona corsicana</u>	1-1,5, haakvormig	80-170	13	0,08-0,10	4	50 (1)

2.4. Structuur van de prostaat

De algemene morfologie van de kopulatorische bulbus van het duplex-type is bij de beschouwde Monocelididae vrij gelijkaardig. In de bouw van de prostaat treden echter enkele vermeldenswaardige verschillen op naargelang de soort.

De prostaatvesikel zoals beschreven in lichtmikroskopische observaties, wordt eigenlijk gevormd door de talrijke celnekken van de prostaatklieren waarvan de kerndragende cellichamen buiten de bulbus liggen. Deze cellichamen worden gekenmerkt door de talrijke ribosomen, uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum, Golgi-complexen en membraangebonden sekreetgranula (Afb. 67). De celnekken doordringen de epitheelcellen om in het lumen van het mannelijk kanaal uit te monden. Apikaal zijn ze verstevigd met een perifere rij microtubuli en worden ze aan de epitheelcellen vastgehecht met een zonula adherens en gesepteerde desmosomen. Doordat de celnekken opgevuld zijn met talrijke sekreetgranula functioneren ze ook als een soort reservoir.

Bij Dupliminona corsicana (Afb. 76), Promonotus sp. (Afb. 95) en Archilina sp. (Afb. 111) monden de sekretorische celnekken uit in het distale deel van de vesicula seminalis. In dit distale deel is het epitheel van de vesicula veel hoger dan in het proximaal gedeelte. Onmiddellijk distaal van deze ophoping van sekretorische celnekken versmalt de vesicula seminalis en begint de cirrus. In Promonotus marci treffen we een gelijkaardige situatie aan, maar het epitheel van de vesicula seminalis is zowel in het distale als in het proximale deel zeer sterk afgeplat (zie ook Fig. 8,10,11 en 12).

Bij beide Archiloa-soorten (Afb. 80 en 84) en Monocelopsis otoplanoides (Afb. 90) monden de celnekken in het mannelijk kanaal uit voorbij de vesicula seminalis. Hierdoor is de ductus seminalis plaatselijk sterk verbreed zodat er twee vesiculae gevormd worden die van elkaar te onderscheiden zijn. De zogenaamde prostaatvesikel is begrensd met hoge epitheelcellen en vertoont zelf ook een sekretorische activiteit. Door de talrijke celnekken van de prostaatklieren worden de kerndragende celdelen van het epitheel perifeer teruggedrongen. Distaal van de prostaatvesikel versmalt de ductus en volgt de transitie in de cirrus (Afb. 88).

Bij A. westbladi is naast de prostaatvesikel binnen de kopulatorische bulbus ook nog een tweede cirrus aanwezig, gevuld met een eigen prostaatsekreet en verbonden met een eigen vesikel (Afb. 83 en 84). De relatie van deze accessorische prostaatorganen met de eigenlijke prostaatvesikel is uit onze reeks coupes echter moeilijk te achterhalen.

In beide Archilopsis-soorten (Afb. 43 en 99, Fig. 5 en 6) monden de prostaat-celnekkens uit in twee prostaatducten. Deze twee ducten zijn tubulaire divertikels van het mannelijk kanaal gesitueerd ter hoogte van de transitie ductus seminalis in ductus ejaculatorius. Zij worden begrensd met hoge epitheelcellen die afgeboord zijn met microvilli en zelf ook een sekretorische aktiviteit vertonen. De kerndragende celdelen van het epitheel worden door de talrijke prostaat-celnekkens perifeer teruggedrongen. Bij A. unipunctata bevatten de sekretgranula een twee-delige inhoud : een elektronenlucente en een elektronendense zone (Afb. 45). Het prostaatsekreet in A. arenaria bevat daarentegen homogeen elektronendens materiaal (Afb. 100).

Een aparte situatie treffen we aan bij Promonotus schultzei. Binnen de kopulatorische bulbus is geen prostaatvesikel aanwezig terwijl het lumen van de cirrus vaak opgevuld is met sekretgranula. Klier-cellen met dezelfde granula liggen ter hoogte van het distale eind van de cirrus en blijken hier in het lumen uit te monden (Afb. 64).

BESPREKING

Bij al de beschouwde soorten vertoont het kopulatieorgaan duidelijk de bouw van een duplex-type : een vesicula seminalis omgeven door één spierlaag, een prostaat en een gespierde cirrus bezet met stekels. Het geheel is omgeven door een septum en één of meerdere spierlagen. De spieren van de bulbus zijn buiten het basale lamina-achtig septum gelegen.

In de bouw van de prostaat treden op elektronenmikroskopisch vlak verschillen op. Bij Dupliminona corsicana, Promonotus marci, Promonotus sp. en Archilina sp. monden de klieren uit in het distale deel van de vesicula seminalis en is de prostaat dus niet afgescheiden van de vesicula. In beide Archilopsis-soorten monden de klieren uit in twee prostaatducten en is de vesicula seminalis afgescheiden van het prostaatgedeelte in de bulbus. In beide Archiloa-soorten en in Monocelopsis otoplanoides is een afzonderlijke vesicula seminalis en prostaatvesikel aanwezig. Een complexere vorm van een duplex-orgaan treft men aan in A. westbladi door de aanwezigheid van een accessorische prostaatcirrus. Bij Promonotus schultzei daarentegen is binnen de bulbus geen prostaat aanwezig. Ook bij P. ponticus Ax, 1959 werd geen prostaat binnen de bulbus waargenomen, hoewel sekreetgranula de cirrus opvullen (Ax 1959).

Bij al deze soorten zijn de cirrusstekels holle kegelvormige structuren die gevormd worden door plaatselijke verdikking van de basale lamina van de cirrus en bijgevolg sub-epitheliaal gelegen zijn. De stekels zijn opgevuld met spierweefsel uitgezonderd bij Promonotus marci waar praktisch geen cirkulaire spieren rond de cirrus aanwezig zijn. De spieren van de bulbus zelf zijn hier echter sterk ontwikkeld. Ook de stiletstructuren, in Archilopsis arenaria en Archilina sp., zijn opgebouwd uit spierweefsel afgelijnd met een verdikte basale lamina.

De basale lamina in de cirrus vertoont bij alle soorten een gelijkwaardige trilaminare structuur. De variatie in dikte en elektrendensiteit van de respektievelijke lagen zijn te beschouwen als soortspecifieke verschillen.

Door een plaatselijke verdikking van de elektronendense middenlaag van de basale lamina worden de stekels gevormd. Harde structuren opgebouwd in de basale lamina werden tot nu enkel beschreven voor de proboscisstekels bij *Kalyptorhynchia* (Rieger & Doe 1975, Doe 1976). Rieger & Doe (1975) postuleerden voor de vorming van de proboscisstekels een sekretorische activiteit van het epitheel dat elektronendens materiaal afzet in de onderliggende basale lamina en dan geleidelijk verdwijnt. Bij de Monoceliden daarentegen geeft de aanwezigheid van dense granula in de cirrusspieren en de inwendige laag van de basale lamina een aanwijzing dat het stekelmateriaal door de spieren gesekreteerd wordt in de bovenliggende basale lamina. Het degenererend weefsel aanwezig in het lumen van de cirrus is afkomstig van het epitheel dat in het juveniel stadium de cirrus bekleedt en daarna verdwijnt (zie hfdst. Differentiatie). De weefselresten kunnen echter ook afkomstig zijn van de bekleding van de vaginale ductus die na kopulatie door de stekels meegetrokken werd. In verscheidene specimens wijst de aanwezigheid van spermatozoïden in het vrouwelijk kanaal of in de bursa aan dat er reeds een kopulatie was gebeurd.

3. STILET VAN ACCESSORISCH PROSTATOID ORGAAN BIJ MINONINAE.

Ectocotyla multitesticulata en Dupliminonae corsicana

Naast het mannelijk kopulatieorgaan bezitten deze soorten ook nog een afzonderlijk accessorisch prostatoid orgaan. Dit orgaan vormt een kenmerkende eigenschap voor de subfamilie Minoninae.

Het accessorisch orgaan ligt caudaal van het kopulatieorgaan (Afb. 115 en 124, Fig. 1 en 13). Het bestaat uit een gespierde vesikel gevuld met sekreet en voorzien van een haakvormig stilet, waarvan de punt rostraal gericht is.

De vesikel is begrensd met een zeer afgeplat epitheel en een basale lamina van 45-80 nm dikte. Rond het opgehoopte sekreet is het epitheel slechts zichtbaar als dunne celnek-achtige cytoplasmastrengen (Afb. 117 en 125). Tegen de basale lamina aan vertonen deze cytoplasmastrengen diepe invaginaties. Deze cytoplasmastrengen zijn de celnekken van de kliercellen, waarvan de kernhoudende cellichamen buiten de bulbus liggen. Deze cellichamen worden gekenmerkt door een grote kern, uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum en sekreetgranula.

Aan het distale einde van de vesicula is een stilet geïnsereerd dat in een klein atrium uitsteekt (Afb. 117 en 124). Het stilet heeft een konische vorm met een haakvormig gebogen punt. Het is opgebouwd als een gootvormige structuur die distaalwaarts geleidelijk meer gesloten wordt, zodat aan de top de twee zijranden elkaar gaan raken. De wand van het stilet wordt van de basis naar de top toe geleidelijk dikker.

De ultrastructuur van het stilet wordt voor elke soort afzonderlijk besproken.

3.1. Ectocotyla multitesticulata

Het stilet is ongeveer 70 μm lang, 10 μm breed aan de basis en 3 μm aan de top.

Het stiletmateriaal bestaat uit een vlokkige elektronendense matrix omgeven door een homogene oppervlaktelaag van 50 nm dikte.

Aan de basis is het materiaal samengesteld uit hoopjes vlokkig elektronendens materiaal verspreid in een elektronenlucente matrix (Afb. 116). In deze matrix liggen ook talrijke kleine vesikels van gematigde elektronendensiteit (30 nm diameter) en korte microtubuli (Afb. 121). In het sarcoplasma van de spieren aan de basale zijde van de vesicula worden soms hoopjes van gelijkaardige vesikels waargenomen, terwijl vlokkige dense condensaties, tot 130 nm diameter, ook aangetroffen worden in de extracellulaire matrix tussen de spieren (Afb. 118 en 119). Deze condensaties akkumuleren naar de stiletbasis toe. In het stilet worden zij naar de top en de randen toe geleidelijk denser gepakt tot vrij homogene vesikels. Aan de buitenranden blijken deze te versmelten met de dense oppervlaktelaag van het stilet (Afb. 122 en 123). Distaalwaarts versmelt het materiaal eveneens en vormt tenslotte in de top van het stilet een homogene massa (Afb. 120).

De oppervlaktelaag van het stilet is continu met de basale lamina onder het epitheel van de vesikel, terwijl het stiletmateriaal aan de basis continu is met de matrix tussen de spieren (Afb. 116 en 118).

Het sekreet in de vesikel bestaat uit granula van 0,5 tot 1 μm diameter, die een gematigd elektronendens, fijn granulair materiaal bevatten (Afb. 117 en 118).

3.2. Dupliminona corsicana

Het stilet is ongeveer 20 μm lang, 6 μm breed aan de basis en ongeveer 3 μm aan de top.

De structuur bestaat uit grof fibrillair materiaal dat omgeven is door een homogene oppervlaktelaag van 0,10-0,15 μm dik. De fibrillaire matrix en de oppervlaktelaag van het stilet zijn zeer elektronendens.

Aan de basis is het stiletmateriaal samengesteld uit een verstrengeling van zeer fijne onregelmatige dense fibrillen, 10 nm diameter en tot 0,1 μm lang (Afb. 125, 126 en 127). Verder distaalwaarts zijn deze fibrillen dichter gepakt (Afb. 128). In de top van het stilet is het materiaal tot een vrij homogene massa versmolten (Afb. 129). Het fibrillaire materiaal aan de basis is continu met de matrix tussen de spieren van de vesikel. Deze extracellulaire matrix bestaat uit fijn granulair materiaal.

De oppervlaktelaag van het stilet is continu met de basale lamina onder het epitheel van de vesicula (Afb. 126, 127 en 128).

De sekreetgranula, 0,4-0,8 μm diameter, bevatten een grof tot fijn granulair materiaal met een gematigde elektronendensiteit (Afb. 125 en 126).

BESPREKING

Zoals reeds aangetoond voor de kopulatorische harde structuren bij de Monocelididae, is ook het stilet van het accessorische prostatoid orgaan opgebouwd in de basale lamina.

Globaal gezien kan men de bouw van het stilet van het accessorisch orgaan in Ectocotyla multitesticulata en Dupliminona corsicana als vergelijkbaar beschouwen. In beide soorten heeft het haakvormige stilet de vorm van een goot die zich naar de top toe verder sluit. Het stiletmateriaal is aan de basis continu met de matrix tussen de spieren, terwijl de omgevende oppervlaktelaag continu is met de basale lamina van de vesikel. Deze bouw verzekert een stevig vastzitten van het stilet zodat er geen specifieke hechtstructuren nodig zijn. Voortgaande op deze gelijkaardige ultrastructuur van het stilet kan het accessorisch orgaan beschouwd worden als een homoloog orgaan binnen de Minoninae.

De ligging in de basale lamina en de nauwe associatie met het onderliggend spierweefsel bij het stilet van de Minoninae wijzen op een structurele similariteit met het stilet en de cirrusstekels bij de andere Monocelididae.

II. ARCHIMONOCOLIDIDAE

STILET GEKOMBINEERD MET NAALDEN

Archimonocelis oostendensis en Archimonocelis sp.

Zowel in Archimonocelis oostendensis als in Archimonocelis sp. bestaat het kopulatieorgaan uit gepaarde vesiculae seminales, een tussengeschakelde prostaatvesikel en een stilet omringd met naalden (Afb. 130 en 131, Fig. 14,16 en 17). Binnen de gespierde bulbus, die prostaat en stilet met naalden omgeeft, ligt ook nog een accessorische prostaatvesikel. De vesiculae seminales liggen caudaal in de bulbus.

Bij A. oostendensis is de accessorische prostaatvesikel omgeven door een eigen spierlaag en voorzien van een afzonderlijke reeks fijne naalden, 14 in totaal. Naast het stilet liggen twee dikkere naalden en eveneens een kring van 14 fijne naalden (Afb. 131, Fig. 15). Het stilet is 50-53 μm lang, de naalden 35-40 μm .

Bij Archimonocelis sp. daarentegen is er slechts één reeks naalden aanwezig, 9 in totaal, die zowel het stilet als het distale einde van de gespierde accessorische vesikel omgeven (Afb. 132). Het stilet is 55-58 μm lang, de naalden 45-47 μm .

De vesiculae en de ductus seminalis zijn begrensd door een cellulair gecilieerd epitheel, een basale lamina en een laag spiralig geschikte spieren (Afb. 134 en 135). De basale lamina bestaat uit een fijn granulair materiaal en is 200-250 nm dik.

Binnengekomen in de gespierde bulbus wordt de ductus seminalis omgeven met talrijke celnekken van de prostaatklieren. De kerndragende gedeelten van de kliercellen liggen buiten de bulbus en worden gekenmerkt door het uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum, Golgi-complexen en sekreetgranula (Afb. 136).

Bij Archimonocelis sp. monden de celnekken uit in het distale eind van de ductus seminalis die hierdoor sterk verbreed is (Afb. 133). De celnekken zijn aan de epitheelcellen vastgehecht met een zonula adherens en gesepteerde desmosomen, en verstevigd met een perifere rij microtubuli. De sekreetgranula zijn 0,1 tot 0,70 μm in diameter en hebben een homogene elektronendense inhoud. Voorbij de prostaat versmalt de ductus seminalis om uit te monden in het stilet (Fig. 16).

Bij A. oostendensis blijken de prostaatcelnekken tot aan het atrium te reiken en niet via het stilet uit te monden (Afb. 137). Het stilet is aan de basis omgeven door een epitheel en een spierlaag welke voortzettingen zijn van de ductus seminalis en waarrond de brede celnekken van de prostaat geschikt liggen (Afb. 132 en 137, Fig. 17). De sekreetgranula zijn 0,2 tot 0,8 μm in diameter, en bevatten een fijn granulair materiaal en vertonen een variërende elektronendensiteit.

De accessorische prostaatvesikel is bij beide Archimonocelis-soorten bekleed en gevuld door de sekretorische celnekken, en omgeven door een eigen spiermantel (Afb. 132 en 133). De kernhoudende celdelen van de klieren liggen buiten de gespierde bulbus. De vesikel mondt in het atrium naast het stilet uit. De granula, 0,4 tot 1 μm in diameter, bevatten fijn granulair materiaal en zijn gematigd tot zeer elektronendens.

Het stilet is in beide Archimonocelis-soorten een rechte konische structuur met een subterminale opening. Dwarse doorsneden tonen aan dat het stilet de vorm heeft van een goot waarvan de laterale randen elkaar overlappen en passend ineensluiten zodat een gesloten buis gevormd wordt (Afb. 137, 140 en 141). De subterminale opening is aan de rostraal gerichte zijde van het stilet gesitueerd, tegenover de sluiting van de goot. Vanaf deze opening bestaat het stilet uit twee helften die nauw in elkaar passen.

De stiletstructuur is een intracellulaire specialisatie waarvan de basis omgeven is door de matrixcel. Onder de basis van het stilet is de cel aan de basale lamina vastgehecht door talrijke hemidesmosomen waarmee stiletmateriaal zelf ook nauw verbonden is (Afb. 138). De matrixcel is afgeboord met microvilli en bevat naast de kern, ribosomen en talrijke dense granula ook condensaties van dens fibril-

lair materiaal die naar de stiletbasis toe akkumuleren (Afb. 138 en 139).

Aan de basis bestaat het stilet uit fibrillair materiaal dat naar de buitenranden toe diffuser gespreid ligt (Afb. 138). Verder distaal waar het stilet buiten de cel uitsteekt, is het materiaal meer homogeen gepakt (Afb. 139 en 140). Het stilet bestaat hier uit een fijn fibrillaire matrix omgeven door een dense oppervlaktelaag van 70-110 nm dik. In de matrix liggen kleine dense condensaties verspreid (Afb. 141-142).

De naalden zijn eveneens intracellulaire differentiaties (Afb. 144 en 146). Elke naald wordt gevormd in een eigen matrixcel gekenmerkt door een grote langgerekte kern (Afb. 137 en 144). Het cytoplasma bevat tevens uitgebreid glad endoplasmatisch reticulum, Golgi-complexen, talrijke dense granula en minder dense condensaties vaak nauw geassocieerd met het materiaal van de naald. De basale celmembranen is aan de basale lamina vastgehecht met hemidesmosomen waarmee materiaal van de naaldstructuur zelf ook nauw geassocieerd is (Afb. 144 en 146).

De naalden bestaan uit een centrale fijn fibrillaire matrix waarin een bundel dikke fibrillen ingebed ligt, en een uitwendige laag van grof fibrillair materiaal. De dikke fibrillen, met een diameter van 60-70 nm, liggen in de lengterichting van de naalden geschikt en vertonen een dwarsbanding met een periodiciteit van ongeveer 73 nm (Afb. 145 en 147). Aan de basis en de buitenranden van de naalden is het materiaal meer diffuus en continu met het fibrillaire netwerk in het cytoplasma. Verder distaalwaarts verdwijnen de dwarsgestreepte fibrillen en bestaan de naalden uit meer homogeen fijn fibrillair materiaal waarin dense substructuren verspreid liggen. Wanneer de naalden boven de matrixcel uitsteken worden ze afgelijnd met een homogene elektronendense laag, ongeveer 70 nm dik (Afb. 143 en 146).

BESPREKING

De vergelijking van het kopulatieorgaan bij deze twee Archimonocelis-soorten toont verschillen aan in de positie en de bouw van de prostaatvesikel. Bij Archimonocelis sp. mondt het prostaatsekreet distaal in de ductus seminalis uit, in A. oostendensis monden de prostaatcelnekken afzonderlijk naast het stilet uit in het atrium.

Bij beide soorten is binnen de gespierde bulbus ook nog een accessoirische prostaatvesikel aanwezig die afzonderlijk uitmondt in het atrium.

Het stilet en de naalden vertonen bij beide soorten eenzelfde ultrastructuur en zijn intracellulair gelegen. Zij worden in een eigen matrixcel opgebouwd waarin het materiaal aan de basis van de structuur continu is met het fibrillaire netwerk van het cytoplasma. Op basis van deze intracellulaire ligging van de kopulatorische harde structuren werd het genus Archimonocelis uit de Monocelididae gehaald en in een afzonderlijke familie van de Proseriata gerangschikt (Martens E. 1985, zie ook Discussie). Bij de Monocelididae zijn de harde structuren namelijk differentiaties van de basale lamina en sub-epitheliaal gelegen.

Eenzelfde intracellulaire ligging werd ook aangetoond voor de stiletstructuur bij Carenscoilia (Coelogynoporidae) (Ehlers & Ehlers 1980; eigen waarnemingen, hoofdstuk III) en voor het stilet en de naalden van Parotoplanea macrostyla (Otoplanidae) (Lanfranchi 1978).

Het stilet bij Carenscoilia is buisvormig en opgebouwd in een syncytium.

Bij P. macrostyla bestaat het stilet uit twee naalden, elk in een eigen matrixcel, die in elkaar sluiten tot een open gootvormige structuur.

Bij beide Archimonocelis-soorten daarentegen bestaat het stilet uit één structuur die de vorm heeft van een gesloten goot. De naalden in Parotoplanea bezitten ook niet de centrale bundel dwarsgestreepte fibrillen zoals in Archimonocelis en Carenscoilia.

Binnen de Proseriata werd ook in Polystyliphora filum (Polystyliphora

ridae) (Brüggeman 1984) een intracellulair stilet aangetoond. Het buisvormige stilet in Polystyliphora is eveneens in één enkele matrixcel opgebouwd maar vertoont een verschillende ultrastructuur (zie ook Discussie).

III. COELOGYNOPORIDAE

1. CIRRUS :

Cirrifera aculeata en Cirrifera n.sp.

Bij C. aculeata omvat de gespierde kopulatorische bulbus de ductus seminalis verbreed tot prostaat, een korte ductus ejaculatorius en een cirrus met stekels (Afb. 149 en 150, Fig. 18). De gepaarde vesiculae seminales liggen caudaal van de bulbus.

De cirrus is 120-130 μm lang en bevat proximaal een grote stekel, 25-30 μm lang, met een gevorkte basis (Afb. 148). De andere stekels hebben een lengte van 9 μm proximaal tot 20 μm distaal. De cirrus opent in een langgerekt genitaal atrium, dat in het caudale einde een dorsale evaginatie vertoont voorzien van stekels, het zogenaamde "Zonne-orgaan" (Ax, 1951, Karling, 1958) (Afb. 150). Deze stekels zijn gemiddeld 4 μm lang.

In Cirrifera n.sp. bevat de kopulatorische bulbus alleen de ductus ejaculatorius en de cirrus (Fig. 19). De prostaatvesikel ligt tussen de bulbus en de caudaal gesitueerde vesicula seminalis (Afb. 172). Een tweede reeks prostaatklieren mondt uit in de ductus seminalis net vóór de bulbus.

De cirrus is ongeveer 130 μm lang en bezet met zeer talrijke stekels met een lengte van 6 μm proximaal tot 9 μm distaal (Afb. 173). De cirrus mondt uit in een smal gemeenschappelijk atrium.

De vasa deferentia, vesicula seminalis en ductus seminalis zijn bekleed met een cellulair gecilieerd epitheel.

De gepaarde vasa deferentia lopen ventrolateraal, parallel aan de ovidukten (Afb. 151 en 174). De begrenzing van het lumen bestaat in dwarse doorsnede uit twee cellen. Het fijn granulaire cytoplasma bevat weinig celorganellen : verspreide ribosomen en mitochondriën,

en een aantal kleine vesikels. Slechts in een beperkt aantal doorsneden werd een kern aangetroffen wat suggereert dat de cellen vrij langgerekt zijn. De cilia staan schuin ingeplant op de cellen en zijn gericht naar de vesicula seminalis. De vasa deferentia treden de vesiculae binnen in hun vooreinde (Afb. 152). Bij Cirrifera n.sp. versmelten zij eerst tot een gemeenschappelijke vas deferens (Afb. 177 en 178).

De vesicula seminalis en de ductus seminalis worden begrensd door een afgeplat gecilieerd epitheel en omgeven door één laag longitudinaal tot spiralig geschikte spieren (Afb. 153, 154, 175 en 176). De epitheelcellen bevatten een afgeplatte kern, mitochondriën, Golgi-complexen, ribosomen en dense granula.

In de ductus seminalis zijn de cilia veel talrijker. Zij zijn schuin ingeplant op de cellen en gericht naar de cirrus (Afb. 178).

In C. aculeata is de ductus seminalis, onmiddellijk na het binnentreden in de bulbus, plaatselijk verbreed om de prostaatvesikel te vormen (Afb. 155 en 156). De epitheelcellen zijn hier veel hoger en bezet met microvilli en talrijke ciliën. Zij worden doordrongen door talrijke celnekken van de prostaatklieren, waarvan de kerndragende cellichamen buiten de bulbus liggen (Afb. 158 en 159). De celnekken zijn verstevigd met een perifere rij microtubuli, en aan de epitheelcellen vastgehecht met een zonula adherens en gesepteerde desmosomen. Dezelfde celkontakten zijn ook tussen de epitheelcellen onderling aanwezig. De sekreetgranula bevatten een vrij diverse inhoud : homogeen elektronendens, fibrillair van gematigd tot zeer dens, of tweedelig met een lucente en een densere zone (Afb. 157). Per celnek wordt slechts één type van granula waargenomen.

De prostaatvesikel bij Cirrifera n.sp. vertoont dezelfde bouw maar is hier extracapsulair gelegen (Afb. 179). De sekreetgranula bevatten dens fijn granulair materiaal omgeven door een "halo". Net vóór het binnentreden in de bulbus mondt een tweede stel prostaatklieren uit in de ductus seminalis (Afb. 181 en 182). De weinig talrijke celnekken veroorzaken hier echter geen verbreding van de ductus. De sekreetgranula van deze klieren bevatten grof tot fijn granulair dens materiaal omgeven door een minder dense zone.

De ductus ejaculatorius is omgeven door een inwendige laag cirkulaire

en een uitwendige laag longitudinale spieren (Afb. 160, 183 en 184). De epitheelcellen van de ductus zijn kubisch en bezet met talrijke ciliën die schuin ingeplant naar de cirrus gericht zijn.

De overgang in de cirrus is duidelijk merkbaar door het uitzicht van het epitheel en door de aanwezigheid van de stekels. De ciliën zijn vervangen door dens gepakte lange microvilli, en de kubische epitheelcellen hebben een centrale depressie wat hen een kuipvormig uitzicht geeft (Afb. 161, 162, 183 en 185). Vanuit de centrale depressie steekt bij elke cel een stekel uit in het lumen.

De stekels zijn volle structuren met een konische vorm en een licht haakvormig gebogen punt. De basis van de stekels is vrij breed en wordt omgeven door de matrixcel (Afb. 163, 185 en 186). Het materiaal aan de basis bestaat uit elektronendense vlokkige condensaties die aan de buitenranden meer diffuus gespreid liggen en continu zijn met het fibrillaire netwerk in het cytoplasma. Naar het centrum en de top van de stekel wordt het vlokkige materiaal geleidelijk denser gepakt tot een homogene matrix (Afb. 166, 167, 186 en 187). In deze matrix liggen onregelmatige kleine dense condensaties verspreid. Het deel van de stekel dat zich boven het celoppervlak verheft wordt omgeven door een zeer dense oppervlaktelaag. De celmembraan van de matrixcel blijft de structuur, zeker in de proximale zone, bedekken (Afb. 166).

Onder de basis van de stekel is de matrixcel aan de basale lamina vastgehecht met talrijke hemidesmosomen. Hieraan blijkt ook fibrillair materiaal van de stekel zelf te hechten (Afb. 163, 164, 165 en 187). De grote celkern ligt in een hoefijzervorm rond de basis van de stekel (Afb. 165, 166 en 187). Het cytoplasma bevat ook nog talrijke mitochondriën, vooral nabij de kern gelegen, Golgi complexen, vrije ribosomen, verspreid ruw endoplasmatisch reticulum en talrijke dense granula. Deze granula liggen voornamelijk apikaal in de cel en bevatten homogeen elektronendens materiaal omgeven door een "halo" (Afb. 164, 165, 167, 185 en 186). Basaal in de cel liggen dense condensaties die vooral nabij de basis van de stekel geakkumuleerd zijn (Afb. 164 en 167). Laterale celmembranen hebben een zeer kronkelend verloop, vooral in de basale celdelen. Celkontakten worden gevormd door een zonula adherens, gesepteerde desmosomen en verschei-

dene maculae adherentes (Afb. 163, 164 en 167).

De spieren en de basale lamina van de cirrus zijn continu met deze van de bulbus, waarbij de basale lamina-achtig septum nu aan de buitenkant van de spiermantel ligt. De kernhoudende cellichamen van de spieren liggen binnen de bulbus (Afb. 168).

De cirrus steekt distaal een eind uit in het atrium en wordt aan de buitenzijde begrensd met een epitheel dat vergelijkbaar is met het epitheel in de cirrus. De epitheelcellen zijn hier wel sterker afgeplat en de microvilli korter en minder talrijk (Afb. 168 en 183).

Bij C. aculeata is in de dorsale wand achteraan in het atrium een evaginatie aanwezig, het zgn. "zonneorgaan". Deze evaginatie is begrensd met vrij hoge epitheelcellen die aan luminale zijde talrijke diepe invaginaties vertonen, en een verdikte basale lamina (Afb. 169). Tussen deze epitheelcellen liggen kubische tot bolvormige cellen die een stekel bevatten. Het aantal stekelcellen varieert van nul tot zeven. Deze cellen worden bedekt door onregelmatige celstrengen van omliggende epitheelcellen. Celkontakten tussen de stekelcellen en de epitheelcellen worden gevormd door een zonula adherens en gesepteerde desmosomen.

De stekelcellen vertonen dezelfde ultrastructuur als deze in de cirrus. Het cytoplasma bevat talrijke mitochondriën, Golgi-complexen, ruw endoplasmatisch reticulum, vrije ribosomen, granula met een elektronendense inhoud omgeven door een "halo" en dense condensaties die naar de stekel toe akkumulieren. De kern ligt als een hoefijzer rond de basis van de stekel. Onder de stekel is de celmembraan aan de basale lamina gehecht door hemidesmosomen waarmee het stekelmateriaal zelf nauw geassocieerd is (Afb. 170 en 171).

Aan de basis bestaan de stekels uit vlokkige condensaties die continu zijn met het fibrillair netwerk in het cytoplasma. Naar de top van de stekel versmelt het vlokkige materiaal tot een homogene matrix waarin dense substructuren voorkomen (Afb. 170 en 171).

BESPREKING

De beschrijving van het kopulatieorgaan bij deze Cirrifera-soorten toont aan dat de ultrastructuur in beide soorten zeer gelijkaardig is. Soortspecifieke verschillen treden op in het al of niet gepaard zijn van de vesicula seminalis, het voorkomen van een gemeenschappelijke vas deferens en de prostaat.

In beide Cirrifera-soorten is het mannelijk kanaal over de hele lengte gecilieerd : vas deferens, vesicula seminalis, ductus seminalis en ductus ejaculatorius. Volgens de lichtmikroskopische beschrijvingen van de andere Cirrifera-soorten (Sopott 1972) is het epitheel van het mannelijk kanaal echter alleen net vóór de cirrus gecilieerd. Tevens worden de vas deferens en vesicula seminalis bij de Coelogynoporidae in het algemeen, als niet gecilieerd beschouwd (Tajika 1982).

De spiermantel van de bulbus is in Cirrifera samengesteld uit inwendige longitudinale en uitwendige cirkulaire spieren, **omgeven** door een basale lamina-achtig septum. Deze spieren zijn continu met deze van de cirrus maar vertonen geen verband met de spieren van de lichaamswand. De kerndragende celdelen van de spieren liggen binnen de spiermantel van de bulbus. Bij de Monoceliden ligt het basale lamina-achtig septum **binnen** de spieren, die continu zijn met de spieren rond het atrium en de spieren van de lichaamswand. Hun sarcoplasmatische celdelen zijn daarentegen buiten de bulbus gesitueerd.

De cirrus en de stekels vertonen in beide Cirrifera-soorten eenzelfde structuur. De stekels zijn intracellulaire specialisaties en vertonen een heterogene samenstelling.

Ook de stekels in het atriaal orgaan bij C. aculeata zijn op dezelfde wijze opgebouwd, hoewel de stekelcellen zelf een verschillend uitzicht hebben. De stekelcellen in het atriaal orgaan hebben niet die kuipvorm en de dense microvilli-boord als deze in de cirrus. Zij blijven ook de stekels omgeven over heel de lengte terwijl in de cirrus de stekels uitsteken in het lumen.

Een vergelijkbaar atriaal orgaan is eveneens aanwezig bij Coelogynopora schulzii Meixner, 1938 en C. solifer Sopott, 1972 en

kunnen bij deze drie soorten vermoedelijk als een homoloog orgaan beschouwd worden (Karling 1958, E. Martens & Schockaert 1985). Een vergelijkbaarheid tussen dit "zonneorgaan" en het gespierde sfincter-vormig orgaan ("Muskelwulst") bij C. gynocotyla Steinböck, 1924 en de plaatselijk sterk verdikte basale lamina bij C. nodosa Ax & Sopott-Ehlers, 1979, zoals Sopott (1972) suggereerde, is echter minder waarschijnlijk. Hoewel deze organen een gelijkaardige ligging hebben (achteraan in het genitaal atrium) vertonen zij een sterk verschillende bouw.

Eenzelfde intracellulaire ligging van de harde structuren werd eveneens aangetroffen bij de naalden in Archimonocelis. Elke naald is, zoals elke stekel bij Cirrifera, aan de basis omgeven door een eigen matrixcel die gekenmerkt wordt door een grote kern en talrijke dense granula. De naalden zijn eveneens samengesteld uit heterogeen materiaal. Zij bestaan uit een centrale bundel dwarsgestreepte fibrillen die ingebed zijn in een fibrillaire matrix, en een dense oppervlaktelaag. Bij Cirrifera daarentegen bestaan de stekels uit een homogene matrix waarin kleine dense fibrillen verspreid liggen, en een dense oppervlaktelaag.

Aan de basis van de structuren is het materiaal zowel bij de cirrusstekels in Cirrifera als bij de naalden in Archimonocelis meer diffuus verspreid en continu met het cytoplasmatisch netwerk in de matrixcel. Fijn fibrillair materiaal aan de basis van de harde structuren hecht aan de hemidesmosomen die de basale celmembraan aan de basale lamina binden. Hierdoor hangen de structuren vast in de cel.

2. STILET GEKOMBINEERD MET NAALDEN :

Carenscoilia biformis

Het kopulatieorgaan in C. biformis is voorzien van een stilet en vier naalden omgeven door een dikke spiermantel (Afb. 188, 189 en 190, Fig. 20 en 21). De gepaarde vesiculae seminales liggen caudaal van het kopulatieorgaan en komen samen in een korte ductus seminalis. De stiletstructuur heeft de vorm van een buis waarvan een eind voorbij de basis de vier naalden ontspringen. Ongeveer halfweg distaalwaarts komen in het stilet twee gaten voor langswaars de celnekken van de prostaatklieren uitmonden in het mannelijk kanaal.

De opening van het stilet is lateraal aan de licht gebogen top gesitueerd. Het stilet is ongeveer 70 μm lang, 6-7 μm breed aan de basis en 2-3 μm naar de top toe. De naalden zijn ongeveer 60 μm lang en hebben een subterminale gebogen stekel. Lateraal van het kopulatieorgaan liggen twee fijne accessorische naalden. Deze zijn ongeveer 45 μm lang en caudaalwaarts gericht. Het stilet en de naalden zijn rostraalwaarts gericht.

De vesiculae seminales zijn begrensd door een gecilieerd epitheel, een basale lamina en een laag van spiralig geschikte spieren. De epitheelcellen bevatten een gelobde kern, talrijke mitochondriën, Golgi-complexen, ruw endoplasmatisch reticulum en een groot aantal ribosomen. Het vrije celoppervlak vertoont een onregelmatig verloop met diepe invaginaties die opgevuld zijn met spermatozoïden. De laterale celmembranen verlopen zeer kronkelend en zijn aan elkaar gehecht met een diepreikende zonula adherens.

De ductus seminalis is bekleed met een gelijkaardig epitheel (Afb. 191). Nabij de uitmonding in het stilet verdwijnen de cilia en is het nu meer afgeplat epitheel in de ductus afgeboord met microvilli (Afb. 192).

De stiletstructuur is aan de basis omgeven door een matrixsyncytium dat de bekleding vormt van het proximaal deel van het atrium (Afb. 193). Apikaal vormt het epitheel talrijke cytoplasmastrengen met microvilli (Afb. 195). Het dens gekorrelde cytoplasma bevat een groot aantal dense granula en verspreide mitochondriën, Golgi-com-

plexen en kleine dense condensaties (Afb. 197 en 198). De kernhoudende celdelen liggen onder de dikke spiermantel die de stiletstructuur omgeeft. Deze cellichamen worden eveneens gekenmerkt door het dens gekorrelde cytoplasma, talrijke mitochondriën en ribosomen, en dense granula. De celmembranen hebben een sterk kronkelend verloop. In totaal werden vijf kernen waargenomen (Afb. 193 en 194).

Aan de basis bestaat de stiletstructuur uit elektronendens flocculent materiaal dat continu is met het netwerk in het cytoplasma (Afb. 197 en 198). Verder distaalwaarts zijn het buisvormig stilet en de volle naalden samengesteld uit een centrale bundel fibrillen ingebed in een homogene dense matrix, en een zeer dense oppervlaktelaag, 8-10 nm dik (Afb. 195, 199, 200 en 201). De fibrillen zijn 100-120 nm dik en vertonen een dwarsbanding met een periodiciteit van ongeveer 73 nm.

Onder de basis van het stilet is de celmembraan van het matrixsyncytium aan de basale lamina gehecht met hemidesmosomen. Hiermede vertoont het fibrillaire stiletmateriaal zelf ook een nauwe associatie. Aan de andere zijde van de basale lamina zijn de spieren eveneens met hemidesmosomen vastgehecht (Afb. 197 en 198).

Het lumen van het stilet wordt bekleed door een dunne laag cytoplasma van het matrixsyncytium waarop het epitheel ligt van de ductus seminalis dat tot in het stilet reikt (Afb. 196 en 197). Beide epitheel-lagen zijn van elkaar gescheiden door een basale lamina, 100-140 nm dik, van fijn granulair materiaal. De afgeplatte epitheelcellen van de ductus bevatten slechts weinig celorganellen : mitochondriën, Golgi-complexen en verspreide vesikels (Afb. 197). Verder distaalwaarts gaat deze epitheellaag verdwijnen (Afb. 195).

Het stilet steekt boven de cytoplasmatische matrix uit op de hoogte waar de gaten voor de prostaatklieren in de stiletwand voorkomen (Afb. 193 en 196). Via deze gaten monden de celnekken van de prostaatklieren uit in het lumen van het stilet, terwijl de kerndragende cellichamen buiten de spiermantel liggen. De nekken zijn verstevigd met een perifere rij microtubuli en bevatten elektronendense sekreetgranula.

De twee accessorische naalden zijn eveneens intracellulaire specia-

lisaties en vertonen een gelijkaardige samenstelling als het stilet (Afb. 202 en 205). Aan de basis worden de naalden omgeven door een matrixcel die talrijke dense granula bevat en microvilli draagt. Het kernhoudend cellichaam ligt onder de omgevende basale lamina en spieren (Afb. 202). In het lumen rond de naalden monden klieren uit gelijkaardig aan de prostaatklieren bij het stilet. De naalden bestaan uit een bundel dwarsgestreepte fibrillen ingebed in een dense homogene matrix die omgeven is door een zeer dense oppervlaktelaag. Aan de basis van de naalden is het dense materiaal meer diffuus en kontinu met het netwerk in het cytoplasma. Dense condensaties in de cel liggen geakkumuleerd rond de naaldstructuur (Afb. 203). In dwarse doorsnede vertonen de naalden de vorm van een goot die naar de top toe meer gesloten wordt terwijl de wand zelf ook dunner wordt (Afb. 202, 204 en 205). Aan de top van de naalden is in de wand nog slechts één rij fibrillen aanwezig (Afb. 205). De naaldstructuren reiken eveneens tot in het genitaal atrium, caudaal van de kopulatiestructuur.

BESPREKING

De bouw van de stiletstructuur van Carenscoilia biformis is zeer gelijkaardig met de beschrijving van het kopulatieorgaan van C. bidentata Sopott, 1972 bij een sub-adult (Ehlers & Ehlers 1980). In beide soorten is de stiletstructuur een intracellulaire specialisatie in een matrixsyncytium. Bij C. bidentata liggen de kernen van het syncytium echter binnen de spiermantel die de kopulatiestructuur omgeeft, terwijl bij C. biformis, zowel in de adult als in de sub-adult, de kerndragende celdelen erbuiten zijn gelegen (zie ook hoofdstuk IV Differentiatie).

Het stilet en de naalden zijn bij beide Carenscoilia-soorten op dezelfde wijze samengesteld uit dwarsgestreepte fibrillen ingebed in een homogene matrix, en een elektronendense homogene oppervlaktelaag. Het stilet is in beide soorten buisvormig.

De stiletstructuur en de accessorische naalden bij Carenscoilia vertonen eveneens dezelfde ultrastructuur als de naalden van Archimonocelis bestaande uit een centrale bundel dwarsgestreepte fibrillen ingebed in een homogene tot fijn fibrillaire matrix, en een dense oppervlaktelaag. In Archimonocelis worden de naalden elk afzonderlijk opgebouwd in een eigen matrixcel. De accessorische naalden in Carenscoilia zijn eveneens in een afzonderlijke matrixcel gelegen. De stiletstructuur daarentegen is opgebouwd in een matrixsyncytium.

Een intracellulair stilet gelegen in een matrixsyncytium werd ook bij Macrostomida aangetoond (Doe 1982), terwijl het bij de ander Turbellaria tot nu toe beschreven, in één enkele cel ligt (zie ook Discussie).

IV. DIFFERENTIATIE EN SAMENSTELLING VAN HARDE STRUKTUREN

1. DIFFERENTIATIE

1.1. MONOCELIDIDAE

Cirrus bij Promonotus schultzei en Archilopsis unipunctata

In de kopulatorische bulbus van een sub-adult specimen van P. schultzei is de aanleg van de cirrusstekels merkbaar als een elektronendense basale lamina met een gelobd verloop (Afb. 207). De basale lamina zelf vertoont wel reeds een gelaagdheid zoals bij de adulte vormen werd waargenomen : een dense oppervlaktelaag, ongeveer 4 nm dik; een vrij homogene dense middenlaag, 20-25 nm dik; en een inwendige minder dense laag van granulair materiaal naar de spieren toe, tot 18 nm dik (Afb. 206, 208 en 209).

Het lumen van de cirrus is opgevuld met een epitheel waarin weinig celmembranen merkbaar zijn (Afb. 207). Vermoedelijk bestaat het epitheel uit slechts een beperkt aantal cellen. Het cytoplasma bevat mitochondriën, verscheidene hoopjes glycogeenkorrels en een groot aantal vesikels waarvan de inhoud varieert van multivesiculair, grof granulair tot homogeen materiaal. In een verder ontwikkelingsstadium, bij A. unipunctata, zijn de meeste vesikels echter leeg (Afb. 210). Kernën werden niet waargenomen en liggen vermoedelijk buiten het kopulatieorgaan.

De konische projekties die de stekels van de cirrus vormen zijn opgevuld met spieren waarvan de myofibrillen de lobben opvullen tot tegen de basale lamina (Afb. 208, 209 en 210). De kernhoudende cellichamen van de spieren liggen volledig proximaal aan de basis

van de cirrus (Afb. 207). Naar de korreling van het plasma en de talrijke glycogeenpartikels, is het sarcoplasma vergelijkbaar met het cytoplasma in het lumen van de cirrus, maar het bevat bovendien talrijke ribosomen, enkele Golgi-complexen en verschillende sekreetgranula. Deze sekreetgranula bevatten een homogeen materiaal met dezelfde elektronendensiteit als de middenlaag van de basale lamina (Afb. 208 en 210). De granula worden afgezet in de basale lamina waar hun inhoud gespreid wordt en fusioneert met de dense middenlaag die de stekels vormt (Afb. 211, 212 en 213).

1.2. COELOGYNOPORIDAE

1.2.1. Cirrus bij Cirrifera aculeata en Cirrifera sp.

Bij sub-adulte exemplaren wordt de cirrus begrensd door hoge kubische cellen die slechts een klein lumen vrijlaten (Afb. 213 en 214). De epitheelcellen bezitten een zeer grote kern waarin vaak een duidelijke nucleolus zichtbaar is. Het cytoplasma bevat talrijke ribosomen en mitochondriën, verschillende Golgi-complexen, ruw endoplasmatisch reticulum en lege of multilamellaire vesikels. Apikaal in de cel liggen ook een aantal elektronendense granula en talrijke dense condensaties (Afb. 215, 216 en 217).

De aanleg van de stekels begint met een bundel microtubuli die parallel aan elkaar geschikt liggen volgens de longitudinale as van de cel. De bundel ligt centraal in de cel in een invaginatie van de kern (Afb. 216 en 217). Tegen de laterale celmembranen worden soms ook microtubuli aangetroffen (Afb. 217).

De elektronendense condensaties apikaal in de cel liggen geconcentreerd aan de top van de bundel. Geleidelijk aan worden de microtubuli met het elektronendense materiaal omgeven dat eerst vrij diffuus is en dan tot een meer homogene matrix fusioneert (Afb. 217 en 218). In deze matrix zijn de microtubuli zelf echter niet meer zichtbaar, maar er zijn nu wel kleine fibrillaire condensaties aanwezig.

De afzetting van het elektronendense materiaal rond de microtubuli begint aan de top van de bundel en gaat geleidelijk verder naar de basis toe (Afb. 218 en 219).

In de top van een verder ontwikkelde stekel vertoont de structuur reeds dezelfde samenstelling zoals waargenomen werd bij adulte exemplaren : een homogene matrix waarin kleine dense condensaties liggen en een zeer dense oppervlaktelaag (Afb. 218).

1.2.2. Stilet bij Carenscoilia biforamen

De stiletstructuur wordt opgebouwd in een matrix-syncytium. De differentiatie begint met de aanleg van fibrillen die een dwarsbanding vertonen met een periodiciteit van 71-73 nm. De fibrillen zijn 60-90 nm dik en liggen vrij in het cytoplasma verzameld in bundels (Afb. 220 en 222). Een dens fijn granulair materiaal omgeeft de fibrillen simultaan over de hele lengte van de bundels (Afb. 221). Het cytoplasma van het matrix-syncytium bevat een groot aantal mitochondriën en vrije ribosomen, talrijke Golgi-complexen, verspreide stukjes ruw endoplasmatisch reticulum en zeer veel kleine elektronendense condensaties. Deze condensaties zijn vooral nabij de bundels fibrillen geakkumuleerd.

De kerndragende celdelen van het syncytium liggen ingezakt onder de basale lamina en de spieren die de matrix rond het stilet omgeven (Afb. 223). Het cytoplasma van deze cellichamen vertoont dezelfde eigenschappen als het cytoplasma rond de fibrillen.

2. SAMENSTELLING

2.1. Monocelididae

Uit de histochemische testen (zie Tabel 2) kunnen we afleiden dat de cirrusstekels bij Monocelididae samengesteld zijn uit collageenrijk materiaal geassocieerd met polysacchariden. Daarnaast vertonen de stekels eveneens een positieve reactie bij de kleurtest voor disulfide-bindingen, hoewel de kleurintensiteit gering is.

Behandelingen met pronase en collagenase (gedurende 4 uren) op elektronenmikroskopisch vlak tonen aan dat de verschillende lagen van de basale lamina in de stekels bestaan uit een collageen-verbinding (Afb. 224 en 225). Ook de sekreetgranula in de onderliggende cirrus-spijeren en in de inwendige laag van de basale lamina verdwijnen onder invloed van collagenase (Afb. 227). Na een kortstondige behandeling met collagenase (2 uren) is voornamelijk de inwendige laag van de basale lamina verdwenen (Afb. 226). Het materiaal van de stekelvormende middenlaag verdwijnt slechts na een collagenase-inwerking van 4 uren tot 6 uren (Afb. 227). Wellicht bevat deze laag stevigere bindingen die vermoedelijk in verband staan met de disulfide-bindingen aangetoond in de lichtmikroskopische PAAB-kleuring (zie Tabel 2).

Met de zilverproteïnaat-methode vertoont de stekellaag ook een sterke positiviteit voor polysaccharide-verbindingen (Afb. 228).

Het stilet van het accessorisch prostatoïd orgaan bij Ectocotyla multitesticulata bestaat eveneens uit collageen-materiaal geassocieerd met polysaccharide-verbindingen (zie Tabel 2).

In de lichtmikroskopische kleuringen vertoont het stilet een positiviteit voor sulphydrylgroepen, hoewel met geringe kleurintensiteit, en voor disulfide-bindingen waarbij de kleuring in de oppervlaktelaag veel intensiever is.

Door een collagenase-inwerking van 4 uren zijn voornamelijk de grotere homogene vesikels in het stilet verdwenen. De kleine dense kon-

Tabel 2 : Histochemische testen

	LICHTMIKROSKOPISCH				ELEKTRONENMIKROSKOPISCH		
	PAS polysac- chariden	FFC -SH-groepen	PAAB -S-S-bin- dingen	PAF collageen keratine	Collagenase	Pronase	PATCS polysac- chariden
Monocelididae							
cirrusstekels	+	-	<u>+</u>	rood	inwendige laag + middenlaag + oppervl. laag +	- - -	- + -
stilet	+	<u>+</u>	<u>+</u> oppervl. laag +	rood	+	<u>+</u>	+
Coelogynoporidae							
cirrusstekels	-	+ oppervl. laag ++	+ oppervl. laag ++	geel-beige	-	matrix + oppervl. laag -	-
stilet	/	<u>+</u> oppervl. laag +	<u>+</u> oppervl. laag +	/	fibrillen + matrix -	- <u>+</u>	/

PAS : Performic Acid-Schiff methode

FFC : Ferric Ferricyanide methode

PAAB : Performic Acid-Alcian Blue methode

PAF : Picro-Acid Fuchsine methode : collageen-verbindingen kleuren rood
keratine-verbindingen kleuren geel

PATCS : Periodic-Acid-Thiocarbohydrazone-Zilverproteinate methode

++
 +
 +
 -
 -

} positief met gradaties in intensiteit
 } negatief
 / niet uitgevoerd

densaties, die vooral in de basis van het stilet voorkomen, worden slechts na een behandeling van 6 tot 8 uren aangetast. Na een inwerking van pronase gedurende 4 uren blijken daarentegen de oppervlaktelaag en de kleine dense condensaties aangetast te zijn, terwijl de grotere homogene vesikels geen beïnvloeding vertonen (Afb. 229 en 230). Het stiletmateriaal vertoont bij de zilverproteïnaat-behandeling eveneens een positiviteit voor polysaccharide verbindingen (Afb. 229).

2.2. Coelogynoporidae

De histochemische testen (zie Tabel 2) tonen aan dat de cirrusstekels bij Cirrifera samengesteld zijn uit een proteïne-rijk materiaal met zwavelhoudende verbindingen.

De stekels vertonen een positieve reactie zowel voor sulfhydryl-groepen als voor disulfide-bindingen, waarbij de kleurintensiteit in de oppervlaktelaag veel sterker is dan in de matrix van de stekels.

Cytochemisch heeft de inwerking van collagenase, zelfs in behandelingen van 6 uren, geen invloed op het stekelmateriaal (Afb. 233). Door pronase-inwerking van 3 en 4 uren wordt het stekelmateriaal wel aangetast (Afb. 231 en 232). Het centrum van de stekels verdwijnt echter pas bij behandelingen met pronase gedurende 6 tot 8 uren, terwijl de oppervlaktelaag slechts weinig beïnvloed wordt (Afb. 231). Er is geen positiviteit waargenomen voor polysaccharide-verbindingen. De dense granula apikaal in de stekelcellen verdwijnen niet door de inwerking van pronase of collagenase (Afb. 231 en 233). Zij vertonen daarentegen wel een positiviteit in de PAS-kleurmethode.

Voor het stilet en de naalden van Carenscoilia biformis wordt eveneens een positiviteit waargenomen in de kleurtesten voor sulfhydryl-groepen en disulfide-bindingen (zie Tabel 2). Deze reactie is voornamelijk zichtbaar in de oppervlaktelaag van de harde structuren, terwijl de matrix zelf slechts een geringe kleurintensiteit vertoont.

De centrale bundel dwarsgestreepte fibrillen verdwijnt na inwerking

van collagenase gedurende 2 tot 4 uren (Afb. 234 en 235). De matrix die de fibrillen omgeeft wordt hierbij echter niet aangetast. Na een pronase-behandeling van 4 uren is slechts een geringe aantasting van de matrix waarneembaar.

De kleine dense granula in het cytoplasma rond de stiletstructuur vertonen geen invloed door de inwerking van collagenase of pronase. Bij de cilia in de epidermis verdwijnen de dwarsgestreepte ciliaire wortels eveneens door een inwerking van collagenase van 3 uren (Afb. 236 en 237).

BESPREKING

Voor de differentiatie van de harde structuren in het kopulatieorgaan bij Proseriata treffen we verschillende types aan :

- een sub-epitheliale vorming bij de Monocelididae waarvan de cirrusstekels opgebouwd worden in de basale lamina.
- een intracellulaire vorming bij de Coelogynoporidae waarbij :
 - in de Cirrifera-soorten de cirrusstekels elk afzonderlijk in een eigen cel worden opgebouwd;
 - in Carenscoilia biformis de stiletstructuur in een syncytium wordt opgebouwd.

Monocelididae

De cirrusstekels in de Monocelididae zijn specialisaties van de basale lamina en worden sub-epitheliaal aangelegd. De talrijke dense sekreetgranula in de onderliggende cirrusspieren wijzen op een sekretorische activiteit van deze cellen. Deze granula worden afgezet in de basale lamina naar hun inhoud fusioneert met de stekelvormende middenlaag. De aanwezigheid van talrijke ribosomen en van Golgi-complexen geeft een aanwijzing dat het sekreetmateriaal proteïne-achtig is.

De histochemische testen tonen aan dat de cirrusstekels samengesteld zijn uit collageen- en polysaccharide-verbindingen. Of de talrijke glycogeenpartikels in de cirrusspieren bij sub-adulten in verband kunnen gebracht worden met de sterke positiviteit voor polysaccharide-verbindingen in de stekellaag bij adulten kunnen we uit deze studie echter niet afleiden.

Van de samenstelling van harde structuren bij Turbellaria zijn tot nu geen gegevens bekend. In verband met collageen bij Invertebraten is beschreven dat het in zeer gediversifieerde samenstelling en vorm kan voorkomen, zowel granulair als fijn fibrillair of als dikkere dwarsgestreepte fibrillen (Bairati 1972; Franc et al. 1976; Humphreys & Porter 1976; Pedersen 1964, 1972, 1983; Ramachandran 1967).

Collageen kan stabielere struktuureigenschappen vertonen o.a. door verbindingen met polysacchariden of door disulfide-bindingen (Bairati

1972). Zowel in de cirrusstekels als in het stilet zijn naast polysaccharide-verbindingen eveneens sulfhydryl-groepen en disulfide-bindingen aanwezig. De aanwezigheid van polysacchariden kan wellicht een aanwijzing vormen voor het feit dat de stekellaag in de cirrus minder snel wordt aangetast door collagenase dan de inwendige laag van de basale lamina. Disulfide-bindingen werden ook aangetoond bij collageen in nematocysten van Hydra en in de basale membraan van het darmepitheel bij Ascaris (Adams 1978).

Sekretie van proteïnen door spiercellen is niet uitzonderlijk bij invertebraten (Dorsett & Roberts 1980, Grootaert & Coomans 1980, Økland 1980). De akumulatie van dense condensaties tussen de spieren aan de basis van het stilet bij Ectocotyla zijn vermoedelijk ook sekretieprodukten van de spieren zelf.

Sub-epitheliale harde structuren in het kopulatieorgaan werden bij andere Turbellaria tot nu toe niet aangetoond. Wel komen er basale lamina stekels voor in de proboscis bij Kalyptorhynchia (Rieger & Doe 1975, Doe 1976). In de beschrijving van de adulte specimens is er echter geen aanwijzing voor de wijze van differentiatie.

Coelogynoporidae

Bij de Coelogynoporidae worden de harde structuren intracellulair gevormd ofwel in één enkele cel ofwel in een syncytium. De aanleg van de structuren zelf gebeurt eveneens op verschillende wijze.

In Cirrifera worden de cirrusstekels elk in een eigen matrixcel gevormd door een successieve afzetting van elektronendens materiaal, beginnend aan de top. Elektronendens materiaal wordt in de cel geproduceerd en rechtstreeks in het cytoplasma geakkumuleerd rond een bundel microtubuli dat een soort geraamte vormt. De talrijke mitochondriën, ribosomen en Golgi-complexen in de stekelcellen wijzen op een hoge aktiviteit in sekretie van proteïnen. De microtubuli worden zodanig omgeven met het dense materiaal dat ze in een voltooid stekel niet meer zichtbaar zijn. De dense condensaties zijn dan versmolten tot een homogene matrix die wel zeer dense fibrillaire substructuren bevat. De wijziging in het aspekt van het stekelma-

teriaal is wellicht te wijten aan een chemische verandering.

Binnen de Proseriata werd een gelijkaardige differentiatie tot nu toe alleen aangetoond voor het stilet van het accessorisch prostatoid orgaan bij Polystyliphora filum Ax, 1958 (Brüggemann 1984). Bij deze soort gebeurt de afzetting van dens materiaal echter simultaan over de hele lengte van de bundel microtubuli.

Bij Paromalostomum (Macrostomida) gebeurt de differentiatie van de stiletstructuur zoals bij Cirrifera door een successieve afzetting van dens materiaal rond microtubuli (Brüggemann 1985). Het stilet bij Promesostoma (Typhloplanoida) wordt eveneens successief aangelegd maar hier is geen geraamte van microtubuli aanwezig (Brüggemann 1985).

Uit de histochemische benadering blijkt dat de cirrusstekels samengesteld zijn uit proteïne-verbindingen rijk aan sulfhydryl-groepen en disulfide-bindingen. Gegevens over de samenstelling van harde structuren zijn tot nu toe enkel gekend voor parasitieve Plathelminthen.

Zoals ook aangetoond werd voor de cirrusstekels van Cirrifera bestaan de oncospheer-haken bij Cestoda uit een homogene matrix, waarin dense substructuren voorkomen, en een dense oppervlaktelaag (Swiderski 1972). De differentiatie van deze oncospheer-haken gebeurt eveneens door een successieve afzetting van dens materiaal maar er is geen geraamte van microtubuli aanwezig (Bilqees & Freeman 1969; Collin 1968; Moczon 1971; Ogren 1958; Swiderski 1972, 1973, 1976). Bij deze vorming werd aangetoond dat de matrix uit proteïnen met sulfhydryl-groepen bestaat en de oppervlaktelaag disulfide-bindingen bevat, respectievelijk beschouwd als pre-keratine en keratine materiaal. Naarmate de afzetting van het materiaal verder naar de basis van de haken uitbreidt, gebeurt tegelijk een omzetting van de sulfhydryl-groepen in disulfide-bindingen (Swiderski 1973). Dezelfde samenstelling werd ook aangetoond voor de oncospheer-haken van Hymenolepis diminuta McLeod, 1933 (Cestoda) (Moczon 1970) en Inermicapsifer madagascariensis (Davaine, 1870) (Cestoda) (Swiderski 1976), en voor de "rostellar"-haken bij Cysticercus longicollis Rudolphi (Cestoda) (Baron 1968, Prokopic & Hulinska 1979).

Bij Gastrocotyle trahuri Van Beneden & Hess (Monogenea) gebeurt de differentiatie van de sclerieten in de opisthaptor eveneens door een successieve afzetting van dens materiaal rond microtubuli. Het

afgezette elektronendense materiaal verandert na versmelting in een veel minder dense homogene matrix waarin talrijke fibrillaire substructuren voorkomen, wat zoals bij Cirrifera wellicht te wijten is aan een chemische verandering (Shaw 1979a,b). De ultrastructuur van deze sclerieten is verschillend van deze van de cirrustekels in Cirrifera doordat de fibrillaire substructuren in de sclerieten veel talrijker zijn en de matrix zelf veel minder dens is en niet omgeven is door een dense oppervlaktelaag. De sclerieten bevatten geen zwavelhoudende proteïnen (Lyons 1966, Ramalingam 1973, Shaw 1979a). De perifeer geschikte kleine haken in de opisthaptor ("marginal hooks") bij Monogenea bestaan uit een dense oppervlaktelaag en een minder dense heterogene matrix, vergelijkbaar met de cirrustekels van Cirrifera, en zijn wel samengesteld uit zwavelhoudende keratineachtige proteïnen (Lyons 1966; Zdarska 1974, 1976).

De stekels in de epidermis bij Schistosoma mansoni Sambon (Digenea) bevatten zowel sulfhydryl-groepen als disulfide-bindingen, maar bij Fasciola hepatica Linneus (Digenea) alleen sulfhydrylgroepen (Dixon 1965, Smith et al. 1969, Slais & Zdarska 1967).

De vergelijkbaarheid in de ultrastructuur van de stekels en in de positiviteit voor sulfhydryl-groepen en disulfide-bindingen bij de histochemische testen, geeft een vermoeden dat de cirrustekels in Cirrifera eveneens opgebouwd zijn uit een keratine-achtig proteïne.

Bij Carenscoilia biformis wordt de stiletstructuur intracellulair gevormd in een syncytium. De differentiatie van het stilet begint ook met de aanleg van een geraamte, dat hier echter bestaat uit dwarsgestreepte fibrillen. Deze dwarsgestreepte fibrillen worden rechtstreeks in het cytoplasma gevormd en in bundels verzameld. De afzetting van elektronendens materiaal rond de fibrillen gebeurt simultaan over de hele lengte van de bundels. De talrijke ribosomen, mitochondriën en Golgi-complexen in het syncytium wijzen op een hoge activiteit in sekretie van proteïne-materiaal. Ook in het voltooide stilet blijven de fibrillen hier waarneembaar.

Eenzelfde differentiatie werd aangetoond voor het stilet van C. bidentata (Ehlers & Ehlers 1980) waar echter de kernen van het syncytium binnen de spiermantel liggen, terwijl ze bij C. biformis buiten de spiermantel gelegen zijn.

De stiletstructuur van een Otoplanida-species wordt op gelijkaardige wijze als bij Carenscoilia aangelegd : simultane afzetting van dens materiaal rond dwarsgestreepte fibrillen (eigen observaties). Ook bij Ciliopharyngiella intermedia Ax, 1952 begint de differentiatie van het stilet met de aanleg van dwarsgestreepte fibrillen, maar de afzetting van dens materiaal gebeurt successief, beginnend aan de top. De stiletnaalden van Philocelis cellata Dörjes, 1968 (Acoela) bestaan eveneens uit bundels dwarsgestreepte fibrillen die hier echter zelf successief worden aangelegd en niet omgeven worden door dens materiaal (Brüggemann 1985).

De histochemische testen tonen aan dat de dwarsgestreepte fibrillen in het stilet en de naalden bij C. biforamen, en tevens in de ciliaire wortels, collageenen zijn.

De dwarsgestreepte fibrillen in het stilet en de naalden bij de bovenvermelde soorten vertonen een vergelijkbare ultrastructuur en zijn wellicht ook opgebouwd uit collageen.

De periodiciteit van de banding in de fibrillen die in de harde structuren voorkomen is echter verschillend naargelang de soort : bij Carenscoilia ongeveer 72 nm, bij Philocelis cellata 55 nm, bij Ciliopharyngiella intermedia 70 nm, bij de Otoplanida-species 66 nm en in de naalden van Archimonocelis 75 nm. Ook in de wortelfibrillen is de periodiciteit verschillend : bij Carenscoilia 66 nm, bij Archimonocelis 75 nm en bij Philocelis cellata 52 nm. Er bestaat een grote verscheidenheid in de periodiciteit in ciliënwortels, en dit niet alleen voor de Plathelminthen in het algemeen, gaande van 45 tot 80 nm (Hendelberg 1981, Hendelberg & Kjell-daf 1974), maar zelfs ook binnen eenzelfde individu. Zo is bij Dugesia trigrina Hyman, 1939 (Tricladida) de periodiciteit bij de cilia in de epidermis 64-68 nm en in de receptorcellen 68-70 nm (Mac Rae 1967), en bij de larve van Gyrocotyle urna (Cestoda) voor de cilia in de epidermis 45 nm en in de receptorcellen 69-70 nm (Xylander in Brüggemann 1985).

Dit wijst aan dat de dwarsgestreepte fibrillen hoewel zij alle gelijkaardig zijn aan collageen, een verschillende samenstelling of polymerisatie vertonen. Dit kan zowel te wijten zijn aan soortspecifieke variaties als aan verschillen in functie.

De intracytoplasmatische aanleg van deze collageen-achtige fibrillen

is wel merkwaardig. Dit proces is namelijk verschillend van de algemeen aanvaarde synthese van collageen, waarbij de polymerisatie van de collageenfibrillen extracellulair gebeurt en alleen tropocollageen-precursors in de cel worden gesynthetiseerd (Porter 1964). Intracytoplasmatische collageen-achtige fibrillen werden tot nu toe, voor zover wij weten, slechts waargenomen in fibroblasten van de radula in Helix aspera, waarvan echter gepostuleerd wordt dat het een fenomeen van fagocytosis zou zijn (Meek 1965, 1968), en in hepatocyten van de mens onderhevig aan erge hepatitis (Szpak & Woodard 1983).

DISCUSSIE

Door deze vergelijkende elektronenmikroskopische studie van het kopulatieorgaan bij Proseriata werden verscheidene nieuwe kenmerken gevonden die een taxonomische waarde hebben.

Binnen de Proseriata zijn bij de Archimonocelididae, de Coelogynoporidae, de Otoplanidae en de Polystyliphoridae de harde structuren intracellulaire specialisaties (Brüggemann 1984, Ehlers & Ehlers 1980, Lanfranchi 1978, en deze studie). Een intracellulaire ligging werd ook aangetoond voor de stiletstructuur bij Acoela (Mainitz 1977, Brüggemann 1985), Rhadocoela (Brüggemann 1985), Macrostomida (Brüggemann 1985, Doe 1982) en Haplopharyngida (Doe 1985); en voor de cirrustekels bij Tricladida (Keller 1984), Kalyptorhynchia (eigen observaties), en Trematoda (Kritsky in Shaw 1979, Threadgold 1975).

De intracellulaire ligging van de kopulatiestructuren is bijgevolg een plesiomorfie voor de Plathelminthen in het algemeen en dus ook voor de Proseriata.

De Monocelididae is de enige groep binnen de Proseriata, en binnen de Turbellaria, waarin de harde kopulatiestructuren sub-epitheliaal zijn, nl. opgebouwd in de basale lamina van het mannelijk genitaal kanaal. Deze eigenschap vormt een nieuwe autopomorfie duidend op het monofyletisch ontstaan van de Monocelididae.

Op basis van dit kenmerk werd het genus Archimonocelis uit de

Monocelididae gehaald. Andere kenmerken van Archimonocelis, die deze scheiding staven zijn de intraepitheliale kernen in de epidermis, de aanwezigheid van een hersenkapsel, de ligging van de vesiculae seminales caudaal van het kopulatieorgaan en de vorm van de harde structuren (lang stilet meestal geassocieerd met naalden)... kenmerken waarin Archimonocelis verwantschappen vertoont met de Coelognoporidae en de Otoplanidae. Ook recente gegevens over de karyologie wijzen deze verwantschap aan (Curini-Galletti et al. 1984).

De enige sub-epitheliale structuren die bij Turbellaria, buiten de Proseriata, tot nu toe aangetoond werden zijn de proboscisstekels in Cheliplana, Diascorhynchus en Carchorodorhynchus (Schizorhynchia, Kalyptorhynchia), terwijl deze stekels bij Gnatorhynchus (Eukalyptorhynchia) intracellulair zijn (Doe 1976, Rieger & Doe 1975). Deze sub-cellulaire ligging van de stekels bij de Schizorhynchia werd aangevoerd als een argument voor het monofyletisme van deze groep (Doe 1976). In de cirrus zijn de stekels echter intracellulair zowel bij de Schizorhynchia als bij de Eukalyptorhynchia (eigen observaties).

De vergelijkbare ultrastructuur en bouw van het stilet van het accessorsch orgaan bij Ectocotyla en Dupliminona vormt een argument om het accessorsch prostatoïd orgaan als een synapomorf kenmerk te aanvaarden voor de Minoninae, wat het monofyletisch ontstaan van deze groep aantoont. Bij Polystyliphoridae komt eveneens een accessorsch prostatoïd orgaan voor, echter in meervoudige aantallen en met een intracellulair gelegen stilet. Karling (1978) beschouwde het accessorsch orgaan bij de Minoninae eveneens als een synapomorfe eigenschap, wat later echter in twijfel getrokken werd door P. Martens (1983).

In de bouw van de cirrusstekels zelf zijn verschillende types merkbaar. Bij Cirrifera (Proseriata), Fasciola hepatica (Digenea) (Threagold 1975), Gastrocotyle trachuri (Monogenea) (Kritsky in Shaw 1979) en Polycelis (Tricladida) (Keller 1984) zijn de stekels volle structuren van elektronendens materiaal, die elk afzonderlijk liggen in een eigen matrixcel. Bij de Kalyptorhynchia is de cirrus bekleed met een syncytium dat talrijke lange uitstulpingen vormt die verstevigd zijn met een dikke elektronendense laag die de stekels vormt (eigen observaties). Deze stekels zijn holle structuren die kunnen

beschouwd worden als specialisaties van de terminale celweb in het epitheel en liggen bijgevolg niet afzonderlijk. Bij de Monocelididae zijn de stekels eveneens holle structuren maar gevormd door plaatse-lijke verdikkingen van de middenlaag in de basale lamina.

Ook bij de stiletten treden verschillende bouwtypes op.

Bij Archilina sp. en Archilopsis arenaria bestaat de wand van de stiletstructuur uit spieren omgeven door de elektronendense basale lamina. Bij Monocelis fusca bevat de stiletwand alleen in het proximaal gedeelte spieren ingebed in een dense matrix die verder distaal de wand volledig vult. Het stilet van het accessorisch orgaan bij Ectocotyla multitesticulata en Dupliminona corsicana heeft een volle wand van respectievelijk dense condensaties of grof fibril-lair basale lamina-materiaal dat naar de oppervlakte toe versmelt tot een homogene laag. De wand van het intracellulair stilet van Polystyliphora filum (Brüggemann 1984) en Paramalostomum (Macrostomida) (Brüggemann 1985) bestaat ook uit dense condensaties zoals bij Ectocotyla. In Polystyliphora filum liggen deze kondensa-ties echter alleen tegen de oppervlaktelaag aan, zodat een holle structuur wordt gevormd. Bij Carenscoilia en bij Ciliopharyngiella intermedia (Typhloplanoida) (Brüggemann 1985) bestaat de stiletwand uit dwarsgestreepte collageenfibrillen ingebed in een homogene dense matrix en een zeer dense oppervlaktelaag. De naalden in Archimonocelis vertonen dezelfde structuur, de stiletwand daarentegen is opgebouwd uit homogeen dens materiaal. Ook de stiletnaalden van Philicelis cellata (Acoela) (Brüggemann 1985) bestaan uit dwarsge-streepte fibrillen die hier echter niet omgeven zijn met dens mate-riaal. Bij de Kalyptorhynchia is de stiletwand, zoals bij de cirrus-stekels, een holle structuur opgebouwd in de terminale celweb (Brüggemann 1985). De stiletwand bij de Macrostomida (Brüggemann 1985, Doe 1982) en de stiletnaalden bij Acoela (Mainitz 1977) zijn volle structuren van homogeen dens materiaal.

In de vorm van de stiletten bestaat eveneens een merkwaardige varia-tie. Bij Monocelis fusca en Archilopsis arenaria is het sub-epithe-liaal gelegen stilet buisvormig, bij de Minoninae gootvormig en bij Archilina sp. samengesteld uit 4 naalden die samen een konische structuur vormen. Bij de intracellulaire stiletten komen eveneens

samengestelde vormen voor : Paratoplana macrostyla (Otoplanidae) 2 naalden (Lanfranchi 1978), bij de Acoela 11 tot 17 naalden (Mainitz 1977, Brüggemann 1985). In Archimonocelis heeft het stilet de vorm van een gesloten goot, en bij Carenscoilia, de Rhabdocoela (Brüggemann 1985) en de Macrostomida (Brüggemann 1985, Doe 1982) de vorm van een buis.

Voor de Otoplanidae, waar de drie vormen van stiletten (buis, goot, afzonderlijke naalden) voorkomen binnen het genus Paratoplana (Ax 1956, Karling 1973, Lanfranchi 1978), suggereerde Lanfranchi (1978) de evolutieve ontwikkeling van een buisvormig stilet in een gootvormig en tenslotte in afzonderlijke naalden.

De tendens in omgekeerde richting is echter eveneens aanvaardbaar. Bij samengestelde stiletstructuren liggen de naalden in afzonderlijke cellen. Bij Carenscoilia waar het stilet en de vier naalden aan de basis versmolten zijn en bij Macrostomum (Doe 1982) met een buisvormig stilet, ligt de structuur in een syncytium. In alle andere delen van het kopulatieorgaan (en van het lichaam) komt echter een cellulair epitheel voor. Dit suggereert dat de syncytiale vorm van het epitheel de afgeleide vorm is en dat de celmembranen tussen de naalden verdwenen zijn om versmelting van de structuren toe te laten.

Voor de differentiatie van de harde structuren kunnen we bij de Turbellaria drie algemene types onderscheiden. Bij de **sub-epitheliaal** gelegen structuren van de Monocelididae wordt het elektronendens materiaal in de onderliggende spieren gevormd en in de basale lamina gesekreteerd. Bij de **intracellulaire** vormen wordt het dens materiaal rechtstreeks in de matrixcel afgezet op een geraamte van microtubuli of fibrillen. Deze afzetting kan nu ofwel **simultaan** gebeuren over de hele lengte van het geraamte, ofwel **successief** beginnend aan de distale top.

Een successieve afzetting komt voor bij Cirrifera (Proseriata) en Paromalostomum (Macrostomida) op microtubuli, bij Ciliopharyngiella (Typhloplanoida) op fibrillen en Promesostoma (Typhloplanoida) zonder geraamte-structuur (Brüggemann 1985, deze studie). Bij Acoela worden de fibrillen zelf successief aangelegd maar niet omgeven door elektronendens materiaal (Brüggemann 1985). Ook bij de parasitaire Plathelminthen worden de harde structuren op successieve wijze aange-

legd : de sclerieten in de opisthaptor bij Monogenea op microtubuli, en de oncospheer-haken bij Cestoda zonder geraamtestruktuur (Collin 1968; Moczon 1971; Ogren 1958; Shaw 1979a,b; Swiderski 1972,1973,1976).

Een simultane afzetting komt voor bij de Proseriata in Carenscoilia (Coelogynoporidae) en Otoplanidae op fibrillen en in Polystyliphoridae op microtubuli, en bij Kalyptorhynchia en Dalyellioida, zonder geraamte-struktuur (Brüggemann 1985, deze studie).

Beschouwen we bijgevolg de successieve afzetting als een plesiomorfe situatie voor de Turbellaria ("out group occurrence"), dan vormt de simultane afzetting een apomorfie voor de Kalyptorhynchia en de Dalyellioida en voor een deel van de Proseriata (zie ook Brüggemann 1985). Binnen de Coelogynoporidae hebben we dan enerzijds het plesiomorf kenmerk voor Cirrifera en anderzijds het synapomorf kenmerk, dat ook voorkomt in de Otoplanidae en de Polystyliphoridae, voor Carenscoilia. Dit geeft een aanwijzing dat de Coelogynoporidae een para- of polyfyletische groep is, waarin Carenscoilia een verwantschap vertoont met de Otoplanidae en de Polystyliphoridae.

In verband met dit verschil in de differentiatie-wijze en tevens in de vorm van de kopulatiestructuren kan gesuggereerd worden dat Carenscoilia - en vermoedelijk ook de andere genera met lang stilet en naalden : Coelogynopora en Ezona - een gemeenschappelijke oorsprong hebben met de Otoplanidae en Polystyliphoridae, en bijgevolg zouden kunnen afgescheiden worden van de overige Coelogynoporidae Cirrifera en Vannuccia met bestekelde cirrus en Invenusta met penisapil.

In verband met de structuur van het geraamte in de harde delen, microtubuli of fibrillen, kan op dit ogenblik geen passend besluit genomen worden. We kunnen slechts vermoeden dat de microtubuli een plesiomorfe toestand vormen voor de Turbellaria, ook aanwezig in de parasitaire Plathelminthen, en de fibrillen binnen verschillende ordo's onafhankelijk van elkaar zijn ontstaan.

Binnen de Proseriata kan de aanwezigheid van fibrillen bij Carenscoilia (Coelogynoporidae) en bij Archimonocelididae eveneens tussen deze twee groepen een verwantschap aanwijzen, maar vooreerst is verder onderzoek vereist over de differentiatie-wijze van stilet en naalden bij Archimonocelis.

Voor de chemische samenstelling van de harde structuren konden we enkel vergelijkingen maken met parasitaire Plathelminthen. De cirrusstekels van Cirrifera vertonen een vergelijkbare structuur en samenstelling als deze van de oncospheer-haken bij Cestoda. Deze haken bestaan uit prekeratine- (met sulfhydrylgroepen) en keratine- (met disulfide-bindingen) proteïnen. De stekels in de epidermis bij Digenea en de kleine haken in de opisthaptor en de haptor bij Monogenea bestaan eveneens uit keratine-achtige proteïnen (Baron 1968; Lyons 1966; Moczon 1970; Slais & Zdarska 1967; Smith et al. 1969; Swiderski 1972, 1973, 1976; Zdarska 1974, 1976).

Bij Cirrifera werden eveneens sulfhydryl-groepen en disulfide-bindingen aangetoond zodat we kunnen vermoeden dat de cirrusstekels ook uit keratine-achtige proteïnen bestaan.

De sub-epitheliale structuren bij de Monocelididae bestaan daarentegen uit collageen- en polysaccharide-verbindingen, die in het stilet verstevigd zijn door disulfide-bindingen.

In het stilet van Carenscoilia zijn de dwarsgestreepte fibrillen collagenen. Deze collagenen vormen wel een merkwaardigheid doordat zij intracytoplasmatisch aangelegd worden. Vergelijkbare intracytoplasmatische collageen-fibrillen zijn ook aanwezig in de stiletnaalden bij Archimonocelis (Proseriata) en Philocelis cellata (Acoela) en in het stilet van Ciliopharyngiella intermedia (Typhloplanoida). In de periodiciteit van de banding treden echter wel verschillen op.

Het mannelijk genitaal kanaal vertoont bij deze Proseriata over de hele lengte - vasa deferentia, vesicula seminalis, ductus seminalis - een gecilieerd cellulair epitheel. In lichtmikroskopische studies werden deze delen bij de Coelogynoporidae over het algemeen als niet gecilieerd beschouwd, o.a. bij Carenscoilia en Cirrifera (Sopott 1972, Tajika 1972), terwijl in de studie hier blijkt dat het mannelijk kanaal bij deze soorten gecilieerd is tot aan de cirrus of het stilet. Voor andere Coelogynoporidae zijn tot nu toe geen elektronenmikroskopische studies gekend die de afwezigheid van cilia tegenspreken of bevestigen. De afwezigheid van cilia in het mannelijk kanaal bij sommige soorten kan echter ook een afgeleid kenmerk zijn door reductie van de cilia.

Prostaatducten werden alleen in beide Archilopsis-soorten waargenomen, terwijl bij de andere Monocelididae de celnekkens van de prostaatklieren rechtstreeks uitmonden in de vesicula seminalis of in de ductus seminalis die dan plaatselijk gedifferentieerd is tot prostaatvesikel. De aanwezigheid van deze prostaatducten kan bijgevolg beschouwd worden als een genus-specifiek kenmerk voor Archilopsis.

CONCLUSIES

Uit deze elektronenmikroskopische studie van het kopulatieorgaan bij Proseriata kunnen volgende conclusies getrokken worden :

- De intracellulaire ligging van de harde structuren bij Archimonocelidae, Coelogynoporidae en Otoplanidae is een plesiomorfie voor de Proseriata.
- De sub-epitheliale ligging van de harde structuren bij de Monocelididae is een autapomorfie duidend op het monofyletisch ontstaan van deze groep.
- Het accessorisch prostatoïd orgaan voorzien van een stilet is een synapomorf kenmerk voor de Minoninae.
- Bij de Monocelididae is de aanwezigheid van prostaatducten een genus-specifiek kenmerk voor het genus Archilopsis.
- Bij de Proseriata komen voor de vorming van de harde structuren drie differentiatie-wijzen voor : sekretie door de spieren in de basale lamina met de vorming van sub-epitheliale structuren, intracellulaire afzetting van dens materiaal op simultane of successieve wijze. De afzetting van het elektronendens materiaal gebeurt op een geraamte van microtubuli of dwarsgestreepte collageen-fibrillen.
- Het voorkomen van zowel successieve als simultane differentiatie-wijze binnen de Coelogynoporidae vormt een aanwijzing dat deze groep para- of polyfyletisch is. Door de successieve differentiatie-wijze vertoont Carenscoilia verwantschappen met de Otoplanidae en de Polystyliphoridae.

- De basale lamina structuren bij Monocelididae bestaan uit collageen- en polysaccharide-verbindingen (verstevigd met disulfide-bindingen). Bij de Coelogynoporidae zijn de cirrusstekels samengesteld uit keratine-achtige proteïnen terwijl de dwarsgestreepte fibrillen in de stiletstructuren collagenen zijn. Deze collageenfibrillen worden intracytoplasmatisch aangelegd.

SAMENVATTING

In het onderzoek van de Plathelminthen vormt het genitaal stelsel een belangrijk taxonomisch kenmerk. Buiten een aantal recente studies gebeurde echter weinig elektronenmikroskopisch onderzoek op de genitale organen, meer in het bijzonder op het kopulatieorgaan. Om een duidelijker inzicht te bekomen over de bouw van het kopulatieorgaan en de geassocieerde harde delen (een belangrijk systematisch kenmerk voor de Proseriata) gebeurde een vergelijkende studie van de ultrastructuur van het kopulatieorgaan bij 20 soorten van de Monocelididae, Archimonocelididae en Coelogynoporidae.

Bij de Monocelididae met een kopulatieorgaan van het simplex-type vertoont het kopulatieorgaan een gelijkaardige structuur : een eenvoudige gespierde vesikel met een penispapil in Monocelis lineata, een tubulaire omstulpbare penis in Ectocotyla hirudo, E. multitesticulata en Peraclistus oofagus, en een stilet in Monocelis fusca. De tubulaire penis in beide Ectocotyla-soorten, verstevigd door een sterk verdikte basale lamina, en het stilet bij M. fusca, samengesteld uit spieren en basale lamina-materiaal, zijn op vergelijkbare wijze opgebouwd.

Bij de Monocelididae met een kopulatieorgaan van het duplex-type bevat de kopulatorische bulbus de vesicula seminalis, de prostaat en de ductus ejaculatorius waarvan het distale einde voorzien is van een cirrus met stekels. Bij al deze soorten vertoont de cirrus een-

zelfde bouw. In de cirrus is geen epitheel aanwezig zodat de basale lamina zelf de begrenzing van het lumen vormt. De basale lamina vertoont een trilaminaire structuur waarvan de variaties in dikte en elektronendensiteit van de drie lagen te beschouwen zijn als soortspecifieke verschillen. De cirrusstekels zijn holle kegelvormige structuren gevormd door een plaatselijke verdikking van de elektronendense middenlaag van de basale lamina. De stekels zijn opgevuld met spierweefsel, uitgezonderd bij Promonotus marci waar slechts weinig cirkulaire spieren rond de cirrus voorkomen. De stiletstructuren aanwezig in de cirrus bij Archilopsis arenaria (buisvormig) en Archilina sp. (samengesteld uit vier lange stekels) zijn eveneens opgebouwd uit spierweefsel omgeven door een verdikte basale lamina. In de bouw van de prostaat treden wel verschillen op. Bij Dupliminona, Promonotus en Archilina monden de prostaatklieren uit in het distale deel van de vesicula seminalis. Bij Promonotus schultzei is echter binnen de bulbus geen prostaat aanwezig. In Archilopsis komen twee prostaatducten voor. Bij Archilooa en Monocelopsis is een afzonderlijke prostaatvesikel aanwezig.

Het accessorisch prostatoïd orgaan bij de Minoninae Ectocotyla multitesticulata en Dupliminona corsicana, voorzien van een haakvormig stilet, vertoont in beide soorten een vergelijkbare ultrastructuur. Het stilet heeft de vorm van een goot en is opgebouwd in de basale lamina van de vesikel. Het stiletmateriaal is aan de basis continu met de matrix tussen de spieren, terwijl de elektronendense oppervlaktelaag continu is met de basale lamina van de vesikel.

Bij de Archimonocelididae Archimonocelis oostendensis en Archimonocelis sp. omvat de kopulatorische bulbus de prostaat, een accessorische prostaatvesikel en het stilet gekombineerd met naalden. Het stilet en de naalden zijn intracellulaire specialisaties opgebouwd in een eigen matrixcel en vertonen in beide soorten eenzelfde ultrastructuur. Het stilet is gootvormig en samengesteld uit een homogene matrix waarin dense substructuren voorkomen en een dense oppervlaktelaag. Bij de naalden ligt in de matrix een centrale bundel dwarsgestreepte fibrillen. Aan de basis van de structuren is het materiaal meer diffuus en continu met het fibrillaire netwerk in het cytoplasma.

Bij de Coelogynoporidae bevat de kopulatorische bulbus in Cirrifera

aculeata de prostaatvesikel en de ductus ejaculatorius voorzien van een cirrus met stekels, terwijl in Cirrifera n.sp. de prostaatvesikel caudaal van het kopulatieorgaan ligt. De cirrus en de stekels vertonen in beide soorten dezelfde ultrastructuur. De stekels zijn intracellulaire specialisaties opgebouwd in een eigen matrixcel. Zij bestaan uit een homogene matrix waarin dense substructuren voorkomen, en een dense oppervlaktelaag. Aan de basis is het stekelmateriaal meer diffuus verspreid en continu met het cytoplasmatisch netwerk van de cel. De stekels in het zogenaamde "zonneorgaan" in het atrium bij C. aculeata vertonen eveneens dezelfde ultrastructuur.

De stiletstructuur in Carenscoilia biformis is intracellulair, en opgebouwd in een matrixsyncytium. Het buisvormig stilet en de vier naalden, aan de basis met elkaar versmolten, bestaan uit een centrale bundel dwarsgestreepte fibrillen ingebed in een homogene matrix, en een dense oppervlaktelaag. De gootvormige accessorische naalden vertonen dezelfde samenstelling.

Van de Monocelididae en Coelogynoporidae werden subadulte vormen eveneens bestudeerd. Voor de differentiatie van de harde kopulatiestructuren werden verschillende types aangetroffen. Bij de Monocelididae worden de sub-epitheliaal gelegen cirrusstekels gevormd door sekretorische activiteit van de cirruspijpen. Elektronendense granula worden door de spieren afgezet in de basale lamina waar hun inhoud fusioneert met de dense middenlaag.

Bij de Coelogynoporidae worden de intracellulaire cirrusstekels in Cirrifera gevormd door een successieve afzetting (beginnend aan de distale top) van elektronendens materiaal op een geraamte van microtubuli. De stiletstructuur in Carenscoilia wordt gevormd door de aanleg van intracytoplasmatische dwarsgestreepte fibrillen en een simultane afzetting van dens materiaal over de hele lengte van de bundel.

Een histochemische benadering van de harde delen in het kopulatieorgaan wijst aan dat de basale lamina-structuren bij de Monocelididae bestaan uit collageen- en polysaccharide-verbindingen (versterkt door disulfide-bindingen). Bij de Coelogynoporidae zijn de intracellulaire cirrusstekels in Cirrifera samengesteld uit keratine-achtige proteïnen, terwijl de dwarsgestreepte fibrillen in het stilet van

Carenscoilia collagenen zijn.

Door deze vergelijkende elektronenmikroskopische studie werden nieuwe kenmerken gevonden die een taxonomische waarde hebben.

- a) De intracellulaire ligging van de harde structuren bij Archimonocelididae, Coelogynoporidae en Otoplanidae is een plesiomorfie voor de Proseriata (door in-group en out-group comparison). De sub-epitheliale ligging van de basale lamina-structuren is een autapomorfie voor de Monocelididae duidend op het monofyletisch ontstaan van deze groep.
- b) Het accessorisch prostaatoid orgaan voorzien van een stilet is homoloog binnen de Minoniae en vormt een synapomorf kenmerk voor de subfamilie.
- c) Bij de Monocelididae zijn de prostaatducten een genusspecifiek kenmerk voor Archilopsis.
- d) Bij de Coelogynoporidae komt zowel een successieve als een simultane differentiatiewijze van de harde structuren voor. Dit vormt een aanwijzing dat de Coelogynoporidae een polyfyletische groep is waarbij Carenscoilia verwantschappen vertoont met de Otoplanidae en Polystyliphoridae (met simultane differentiatie als synapomorfie).

SUMMARY

The genital system constitutes an important feature in the taxonomy of Plathelminthes. Except for some recent publications, only few electron microscopic studies on genital organs, especially on the copulatory organs, have been done.

To get a better understanding of the structure of the copulatory organ and associated hard parts in Proseriata, a comparative study on the ultrastructure of the copulatory organ has been done in 20 species of Monocelididae, Archimonocelididae and Coelogynoporidae.

In the Monocelididae with a copulatory organ of the simplex-type, the copulatory organ exhibits a similar structure : a simple muscular vesicle with a muscular penispapilla in Monocelis lineata, a tubular eversible penis in Ectocotyla hirudo, E. multitesticulata and Peraclistus oofagus and a stilet in Monocelis fusca. The penis in both Ectocotyla-species, strengthened by a thickened basal lamina, and the stilet in M. fusca, composed of muscles and basal lamina material, are built in a similar way.

In the Monocelididae with a copulatory organ of the duplex-type, the copulatory bulb contains a seminal vesicle, a prostate and an ejaculatory duct of which the distal end is a cirrus armed with spines, the whole being surrounded by a muscular septum. In all the species studied the cirrus has basically the same structure. There is no epithelial covering and the basal lamina itself forms the lining of the lumen. This basal lamina has a trilaminar structure

of which the variations in thickness and electron density of the three layers can be considered as species-specific differences. The cirrus spines are hollow cone-shaped structures formed by a local thickening of the electron dense middle layer of the basal lamina. The spines are filled with muscle tissue, except in Promonotus marci having only few muscles in the cirrus. The stilet structures in the cirrus in Archilopsis arenaria (tube-shaped) and Archilina sp. (composed of four long spines) consist also of muscle tissue surrounded by a thickened basal lamina.

Differences are found in the structure of the prostate. In Dupliminona, Promonotus and Archilina the prostate glands open in the distal part of the seminal vesicle. In P. schultzei there is no prostate at all inside the bulb. In both Archilopsis-species the prostate glands open in two prostate ducts. A separate prostate vesicle is present in Archiloa and Monocelopsis.

The accessory prostatoid organ of the Minoninae Ectocotyla multites-ticulata and Dupliminona corsicana is provided with a hook-shaped stilet. It has a similar ultrastructure in both species. The stilet is gutter-shaped and is a derivative of the basal lamina of the vesicle. The material in the base of the stilet is continuous with the fibrous matrix between the muscles. The electron dense outer layer is continuous with the basal lamina of the vesicle.

In the Archimonocelididae Archimonocelis oostendensis and Archimonocelis sp., the copulatory bulb comprises a prostate vesicle, an accessory prostate vesicle and a stilet combined with needles. The stilet and the needles are intracellular specializations lying each in a matrix cell and have a similar ultrastructure in both species. The stilet has the shape of a gutter, closed at one side, and consists of an homogeneous matrix with dense substructures and an electron dense outer layer. In the needles the matrix contains a central bundle of cross-banded fibrils. At the base of the stilet and the needles the material is more diffuse and continuous with the fibrillar network in the cytoplasm of the cell.

The copulatory bulb in Cirrifera aculeata (Coelognoporidae) contains the prostate vesicle and the ejaculatory duct provided with a cirrus armed with spines. In Cirrifera n.sp. the prostate vesicle lies

caudally from the copulatory bulb. The cirrus and the spines exhibit a similar ultrastructure in both species. The spines are intracellular specializations built in a matrix cell. They are composed of an homogeneous matrix in which dense substructures occur, and an electron dense outer layer. The material in the base of the spines is more diffuse and continuous with the cytoplasmic fibrillar network. The spines of the "Sonnen-organ" in the genital atrium of C. aculeata also have a similar ultrastructure.

The stilet in Carenscoilia (Coelogynoporidae) is an intracellular specialization lying in a matrix syncytium. At their base, the four needles are fused with the stilet. Stilet and needles consist of a central bundle of cross-banded fibrils embedded in an homogeneous matrix, and an electron dense outer layer. The gutter-shaped accessory needles show a similar ultrastructure.

Sub-adult specimens of the Monocelididae and Coelogynoporidae have also been investigated. Several modes of differentiation of the hard structures have been found.

In the Monocelididae, the sub-epithelial spines in the cirrus are formed by the secretory activity of the muscles. Electron dense granules are deposited by the muscles in the basal lamina where their content fuses with the dense middle layer.

The intracellular cirrus spines in Cirriifera (Coelogynoporidae) are formed by a successive deposition (beginning at the top) of electron dense material on a framework of microtubuli. The stilet and the needles in Carenscoilia (Coelogynoporidae) are differentiated by the formation of intracytoplasmic cross-banded fibrils and a synchronous deposition of dense material along the whole length of the bundle.

An histochemical approach of the hard parts in the copulatory organ shows that the basal lamina derivatives in the Monocelididae are composed of collagene - and polysaccharide - compounds strenghtened by disulfide-bounds. In the Coelogynoporidae the intracellular cirrus spines of Cirriifera consist of keratine-like proteins, while the cross-banded fibrils in the stilet of Carenscoilia are collageneous.

From this comparative electron microscopic study some conclusions on

taxonomic relationships within the Proseriata can be put forewards :

- a. The sub-epithelial location of the basal lamina structures is an autapomorphy for the Monocelididae.
The intracellular location of the hard structures in Archimonocelididae, Coelogynoporidae and Otoplanidae forms indeed the plesiomorphic situation for the Seriata (by in-group and out-group comparison).
- b. The accessory prostate organ provided with a stilet is homologue within the Minoninae and may be considered a synapomorphy for this sub-family.
- c. In the Monocelididae the presence of prostate ducts are a genus-specific characteristic for Archilopsis.
- d. Within the Coelogynoporidae as well a successive as a synchronous way of differentiation of the hard structures occur. This is an indication that the Coelogynoporidae may be para- or polyphyletic, and that relationships may exist between Carenscoilia and the Otoplanidae and Polystyliphoridae (with a synchronous differentiation way as synapomorphy).

BIBLIOGRAFIE

- Adams, E., 1978. Invertebrate collagens. Marked differences from vertebrate collagens appear in only a few invertebrate groups. *Science* 202 : 591-598.
- Anderson, W.A. & André, J., 1968. The extraction of some cell components with pronase and pepsin from thin sections of tissue embedded in an epon-araldite mixture. *J. Microscopie* 7 : 343-354.
- Ax, P., 1951. Die Turbellarien des Eulittorals der Kieler Bucht. *Zool. Jb. Syst.* 80 : 277-278.
- Ax, P., 1956. Monographie der Otoplanidae (Turbellaria). Morphologie und Systematik. Akad. Wiss. Lit. Mainz, Abhandl. Math. Naturw. Kl. 13 : 499-796.
- Ax, P., 1959. Zur Kenntnis der Gattung Promonotus Beklemischev (Turbellaria, Proseriata). *Zoologischer Anzeiger* 163 : 371-385.
- Ax, P., 1963. Relationships and phylogeny of the Turbellaria. In E.C. Dougherty (ed.) *The Lower Metazoa*. pp. 191-224. Berkely & Los Angeles, Univ. of California Press.
- Ax, P., 1984. Das phylogenetische System. Systematisierung der lebenden Natur aufgrund ihrer Phylogenese. Stuttgart-New York : Gustav Fischer Verlag.
- Bairati, A., 1972. Collagen : an analysis of phylogenetic aspects. *Bull. Zool.* 39 : 205-248.

- Ball, I. & Hay, D., 1977. The taxonomy and ecology of a new Monocelid flatworm from Macquarie Island (Platyhelminthes, Turbellaria). *Bijdragen tot de Dierkunde* 47 : 205-214.
- Baron, P.J., 1968. On the histology and ultrastructure of Cysticercus longicollis, the cysticercus of Taenia crassiceps Zeder, 1800 (Cestoda, Cyclophyllidae). *Parasitology* 58 : 497-513.
- Bedini, C., Ferrero, E. & Lanfranchi, A., 1973a. The ultrastructure of ciliary sensory cells in two Turbellaria Acoela. *Tissue & Cell* 5 : 359-372.
- Bedini, C., Ferrero, E. & Lanfranchi, A., 1973b. Fine structure of the eyes in two species of Dalyelliidae (Turbellaria, Rhadbocoela). *Monitore Zool. Ital.* 7 : 51-70.
- Bedini, C., Ferrero, E. & Lanfranchi, A., 1975. Fine structural observations on the ciliary receptors in the epidermis of three Otoplanid species (Turbellaria, Proseriata). *Tissue & Cell* 7 : 253-266.
- Bedini, C. & Lanfranchi, A., 1974. The fine structure of photo-receptors in two Otoplanid species (Turbellaria, Proseriata). *Z. Morph. Tiere* 77 : 175-186.
- Bedini, C. & Papi, F., 1974. Fine structure of the turbellarian epidermis. In Riser & Morse (eds.) *Biology of the Turbellaria*. pp.108-147.
- Bilqees, F.M. & Freeman, R.S., 1969. Histogenesis of the rostellum of Taenia crassiceps (Zeder, 1800) (Cestoda), with special reference to hook development. *Can. J. Zool.* 47 : 251-261.
- Boaden, P.J.S., 1963. The interstitial fauna of some North Wales beaches. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 43 : 79-96.
- Bresslau, E., 1933. Turbellaria. *Handb. Zool.* 2 : 52-320.
- Brüggemann, J., 1984. Ultrastruktur und Differenzierung der prostatoiden Organe van Polystyliphora filum (Plathelminthes, Proseriata). *Zoomorphology* 104 : 86-95.
- Brüggemann, J., 1985. Ultrastruktur und Bildungsweise penialer Hartstrukturen bei freilebenden Plathelminthen. *Zoomorphology* 105 : 143-189.

- Chien, P. & Koopowitz, H., 1972. The ultrastructure of neuromuscular systems in Notoplana acticola, a Free-living Polyclad Flatworm. Z. Zellforsch. 133 : 277-288.
- Collin, W.K., 1968. Electron microscope studies of the muscle and hook systems of hatched ancospheres of Hymenolepis citelli McLeod 1933 (Cestoda : Cyclophyllidea). Journ. of Parasitology 54 : 74-88.
- Curini-Galletti, M., Galleni, L., Martens, P.M., Puccinelli, I. & Schockaert E., 1984. Karyological observations on Turbellaria Proseriata. Boll. Zool. 51 Suppl. : 35.
- Dixon, K.E., 1965. The structure and histochemistry of the cyst wall of the metacercaria of Fasciola hepatica L. Parasitology 55 : 215-226.
- Doe, D.A., 1976. The proboscis hooks in Karkiorhynchidae and Gnathorhynchidae (Turbellaria, Kalyptorhynchia) as basement membrane or intracellular specializations. Zool. Scr. 5 : 105-115.
- Doe, D.A., 1981. Comparative ultrastructure of the pharynx simplex in Turbellaria. Zoomorphology 97 : 133-193.
- Doe, D.A., 1982. Ultrastructure of copulatory organs in Turbellaria. I. Macrostomum sp. and Microstomum sp. (Macrostomida). Zoomorphology 101 : 39-50.
- Doe, D.A., 1985. Ultrastructure of the male reproductive system in Haplopharynx quadristimulus Ax, 1971. I. Copulatory stilet and accessory spines. Hydrobiologia, in press.
- Ehlers, B. & Ehlers, U., 1977. Ultrastruktur pericerebraler cilienaggregate bei Dicoelandropora atriopapillata Ax und Notocaryoplanella glandulosa Ax (Turbellaria, Proseriata). Zoomorphologie 88 : 163-174.
- Ehlers, B. & Ehlers, U., 1980. Struktur und Differenzierung penialer Hartgebilde von Carenscoilia bidentata Sopott 1972 (Turbellaria, Proseriata). Zoomorphologie 95 : 159-168.
- Ehlers, U., 1977. Vergleichende Untersuchungen über Collar-Rezeptoren bei Turbellariën. Acta Zoologica Fennica 154 : 137-148.

- Ehlers, U., 1984. Phylogenetic relationships within the Platyhelminthes. In Morris, S.C., George, J.D., Gibson, R. & Platt, H.M. (Hrsg.) The origins and relationships of lower invertebrates. Oxford : Oxford University Press.
- Ehlers, U. & Ehlers, B., 1977. Monociliary receptors in interstitial Proseriata and Neorhabdocoela (Turbellaria, Neoophora). Zoomorphology 86 : 197-222.
- Ferrero, E., 1973. A fine structural analysis of the stataocyst in Turbellaria Acoela. Zool. Scripta 2 : 5-16.
- Fleming, L.C. & Burt, M.D.B., 1978a. Revision of the turbellarian genus Ectocotyla (Seriata, Monocelididae) associated with the crabs Chionoecetes opilio and Hyas araneus. J. Fish. Res. Bol. Can. 35 : 1223-1233.
- Fleming, L.C. & Burt, M.D.B., 1978b. On the genus Peraclistus (Turbellaria, Proseriata), with redescription of P. oofagus (Friedman). Zool. Scripta 7, 2 : 81-84.
- Franc, S., Franc, J.M. & Garrone, R., 1976. Fine structure and cellular origin of collagenous matrices in primitive animals : Porifera, Cnidaria and Ctenophora. Front. Matrix. Biol. 3 : 143-156.
- Gremigni, V., 1979. An ultrastructural approach to planarian taxonomy. Systematic. Zool. 28 : 345-355.
- Grootaert, P. & Coomans, A., 1980. The formation of the anterior feeding apparatus in Dorylaeids. Nematologica 26 : 406-431.
- Hendelberg, J., 1969. Comparative spermatology. Academic Nazionale Dei Lincei. 137 : 369-375.
- Hendelberg, J., 1974. Spermiogenesis, sperm morphology and biology of fertilization in the Turbellaria. In Riser, N.W. & Morsen P.M. (eds.) Biology of the Turbellaria. Mc Graw-Hill Book Company, New York.
- Hendelberg, J., 1975. Functional aspects of flatworm sperm morphology. Uit "The functional anatomy of the Spermatozoon" B.A. Afzelius Oxford-New York. pp. 299-309.

- Hendelberg, J., 1977. Comparative morphology of turbellaria spermatozoa studied by electron microscopy. Acta Zool. Fennica 154 : 149-162.
- Hendelberg, J., 1983. Trends in the evolution of flatworm spermatozoa. In André J. (ed.) The Sperm Cell. M. Nijhoff Publs. The Hague. pp. 450-453.
- Humprheys, S. & Porter, K.R., 1976. Collagenous and other organizations in mature annelid cuticle and epidermis. J. Morph. 149 : 33-52.
- Karling, T.G., 1956. Morphologisch-histologische Untersuchungen an den männlichen Atrialorganen der Kalyptorhynchia (Turbellaria). Ark. f. Zool. 9 : 187-279.
- Karling, T.G., 1958. Zur Kenntnis der Gattung Coelogynopora Steinböck (Turbellaria, Proseriata). Ark. f. Zool. 11 : 559-570.
- Karling, T.G., 1963. Some Evolutionary Trends in Turbellarian Morphology. In E.C. Dougherty (ed.) The Lower Metazoa. Berkely & Los Angeles. Univ. of California Press. pp. 225-233.
- Karling, T.G., 1966. Marine Turbellaria from the Pacific Coast of North America. IV. Coelogynoporidae and Monocelididae. Ark. f. Zool. 18 : 493-528.
- Karling, T.G., 1973. Anatomy and taxonomy of a new Otoplanid (Turbellaria, Proseriata) from South Georgia. Mikrofauna Meeresboden 16 : 359-369.
- Karling, T.G., 1978. Anatomy and systematics of Marine Turbellaria from Bermuda. Zool. Scr. 7 : 225-248.
- Karling, T.G., 1980. Revision of Koinocystididae (Turbellaria). Zool. Scr. 9 : 241-269.
- Keller, J.M., 1984. La papille du pénis chez les planaires Polycelis tenuis et Polycelis nigra. Arch. Biol. (Bruxelles) 95 : 187-198.
- Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H. & Currie, A.R., 1972. Apoptosis : a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. Br. J. Cancer. 26 : 239-256.

- Koopowitz, H. & Chien, P., 1974. Ultrastructure of the nerve plexus in flatworms. I. Peripheral organization. *Cell Tissue Res.* 155 : 337-351.
- Koopowitz, H. & Chien, P., 1975. Ultrastructure of the nerve plexus in flatworms. II. Sites of synaptic interactions. *Cell Tissue Res.* 157 : 207-216.
- Lanfranchi, A., 1978. Morphology and taxonomy of two new Otoplanids (Turbellaria, Proseriata) from the Ligurian Sea. *Zool. scr.* 7 : 249-254.
- Lillie, R.D. & Fullmer, H.M., 1976. Histopathologic technic and practical histochemistry. Mc Graw-Hill Book Company.
- Lyons, K.M., 1966. The chemical nature and evolutionary significance of monogenean attachment sclerites. *Parasitology* 56 : 63-100.
- Mac Rae, E.K., 1965. The fine structure of muscle in a marine turbellarian. *Z. Zellforsch.* 68 : 348-362.
- Mac Rae, E.K., 1967. The fine structure of sensory receptor processes in the auricular epithelium of the planarium, *Dugesia tigrina*. *Z. Zellforsch.* 82 : 479-494.
- Mainitz, M., 1977. The fine structure of the stylet apparatus in *Gnathostomulida scleroperalia* and its relationship to turbellarian stylets. The A. Luther Symposium on Turbellaria (T.G. Karling & M. Meinander eds.). *Acta Zool. Fennica* 154 : 163-174.
- Martens, E.E., 1984a. Differentiation in the copulatory organ of Turbellaria (Platyhelminthes). In Engels, W. et al. (eds.) *Advances in invertebrate reproduction 3*. Elsevier Sc. Publ. Amsterdam - New York - Oxford. p. 611.
- Martens, E.E., 1984b. Ultrastructure of the spines in the copulatory organ of some Monocelididae (Turbellaria, Proseriata). *Zoomorphology* 104 : 261-265.
- Martens, E.E., 1985. Comparative ultrastructure of copulatory organs having a stilet in the Proseriata (Turbellaria). *Hydrobiologia* : in press.

- Martens, E.E. & Schockaert, E.R., 1981. Observations on the ultrastructure of the copulatory organ of Archilopsis unipunctata (Fabricius, 1826) (Proseriata, Monocelididae). In Schockaert, E.R. & Ball, I.R. (eds.). The biology of the Turbellaria. Hydrobiologia 84 : 277-285.
- Martens, E.E. & Schockaert, E.R., 1985. Studies on the ultrastructure of the genital organs in Proseriata (Turbellaria). I. Cirrifera aculeata (Ax, 1951) (Coelogynoporidae). Zool. Scr. 14 : 81-90.
- Martens, P.M., 1983. Three new species of Minoninae (Turbellaria, Proseriata, Monocelididae) from the North Sea, with remarks on the taxonomy of the subfamily. Zool. Scr. 12 : 153-160.
- Martens, P.M., 1984. Three new Duplominona species (Turbellaria, Monocelididae, Minoninae) from the Mediterranean. Cahiers de Biologie Marine XXV : 319-331.
- Martens, P.M. & Schockaert, E.R., 1981. Sand dwelling Turbellaria from the Netherlands Delta area. In Schockaert, E.R. & Ball, I.R. Ball (eds.). The biology of the Turbellaria. Hydrobiologia 84 : 113-127.
- Meek, G.A., 1965. Intracellular collagen fibres. J. Physiol. Lond. 182 : 3 p.
- Meek, G.A., 1968. Apparent intracellular collagen synthesis. In McGee-Russell, S.M. (ed.) Cell Structure and its Interpretation. KFA Ross, London, Edward Arnold, Chap. 18 : 225-235.
- Meixner, J., 1938. Turbellaria (Strudelwürmer) I. Tierwelt Nord- und Ostsee IVb. pp. 1-146.
- Moczon, T., 1971. Histochemical study of the development of embryonic hooks in Hymenolepis diminuta (Cestoda). Acta Parasitologica Polonica vol. XIX , 23 : 269-274.
- Monneron, A., 1966. Utilisation de la pronase en cytochimie ultrastructurale. J. Microscopie 5 : 583-605.
- Monneron, A. & Bernard, W., 1966. Action de certaines enzymes sur des tissus inclus en Epon. J. Microscopie 5 : 697-714.

- Moraczewski, J., Czubaj, A. & Bakowska, J., 1977a. Organization and ultrastructure of the nervous system in Catenulida (Turbellaria). *Zoomorphologie* 87 : 87-95.
- Moraczewski, J., Czubaj, A. & Kiatkowska, J., 1977b. Organization and ultrastructure of the nervous system in Catenulida (Turbellaria). *Zoomorphologie* 87 : 87-95.
- Ogren, R.E., 1961. Observations on hook development in the oncoblasts of hexacanth embryos from Hymenolepis diminuta, a tapeworm of mammals (Cestoda : Cyclophyllidae). *Proc. of Pennsylvania Academy of Science* 35 : 23-31.
- Økland, S., 1980. The heart ultrastructure of Lepidopleurus asellus (Spengler) and Tonicella marmorea (Fabricius) (Mollusca : Polyplacophora). *Zoomorphology* 96 : 1-19.
- Pedersen, K., 1964. The cellular organization of Convoluta convoluta an acoel turbellarien : a cytological, histochemical and fine structural study. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 64 : 655-687.
- Pedersen, K., 1972. Studies on regeneration blastemas of the planarian Dugesia tigrina with special reference to differentiation of the muscle-connective tissue filament system. *Wilhem Roux' Archiv* 169 : 134-169.
- Pedersen, K., 1983. Fine structural observations on the turbellarians Stenostomum sp. and Microstomum lineare with special reference to the extracellular matrix and connective tissue systems. *Acta Zool.* 64 : 177-190.
- Pearse, A., 1961. *Histochemistry Theoretical and Applied*. Little, Brown; Boston.
- Porter, K.R., 1964. Cell fine structure and biosynthesis of intercellular macromolecules. In : *Connective Tissue : Intercellular Macromolecules*. Churchill, London. pp. 167-197.
- Prokopic, J. & Hulinska, D., 1979. Histology and histochemistry of the cysticercus of Taenia crassiceps (Zeder, 1800). *Folia Parasitologica (Praha)* 26 : 129-137.
- Ramachandran, G.N., 1967. Treatise on Collagen. I. Chemistry of collagen. In Eastoe, J.E. (ed.) *Composition of collagen and allied proteins*.

- Ramalingam, K., 1973. Chemical nature of monogenean sclerites. I. Stabilization of clamp-protein by formation of dityrosine. *Parasitology* 66 : 1-7.
- Reisinger, E. & Kelbetz, S., 1964. Feinbau und Entladungsmechanismus der Rhabditen. *Z. wiss. Mikr.* 65 : 472-508.
- Reuter, M., 1975. Ultrastructure of the epithelium and the sensory receptors in the body wall, the proboscis and the pharynx of *Gyratrix hermaphroditus* (Turbellaria, Rhabdocoela). *Zoologica Scripta* 4 : 191-204.
- Reuter, M., 1977. Ultrastructure of the stylet protractor muscle in *Gyratrix hermaphroditus* (Turbellaria, Rhabdocoela). *Acta Zool.* 58 : 179-184.
- Reuter, M. & Lindroos, P., 1979a. The ultrastructure of the nervous system of *Gyratrix hermaphroditus* (Turbellaria, Rhabdocoela). I. The Brain. *Acta Zool.* 60 : 139-152.
- Reuter, M. & Lindroos, P., 1979b. The ultrastructure of the nervous system of *Gyratrix hermaphroditus* (Turbellaria, Rhabdocoela). II. The Peripheral Nervous System and the Synapses. *Acta Zool.* 60 : 153-161.
- Reynolds, E.S., 1963. The Use of Lead Citrate at high pH as an Electron-Opaque Stain in Electron Microscopy. *J. Cell. Biol.* 17 : 208-212.
- Rieger, R.M., 1981. Morphology of the Turbellaria at the ultrastructural level. In Schockaert, E.R. & Ball, I.R. (eds.). *The biology of the Turbellaria*. *Hydrobiologia* 84 : 213-229.
- Rieger, R.M. & Doe, D.A., 1975. The proboscis armature of Turbellaria-Kalyptorhynchia, a derivative of the basement lamina ? *Zool. Scr.* 4 : 25-32.
- Rieger, R.M. & Tyler, S., 1979. The homology Theorem in ultrastructural Research. *Amer. Zool.* 19 : 655-664
- Ruppert, E., 1978. A review of metamorphosis of Turbellarian larvae. In Chia & Rise (eds.) *Settlement and metamorphosis of Marine Invertebrate larva*. Elsevier N. Holl. Bioch. Press. pp. 65-81.

- Schockaert, E.R., 1984. Phylogenetic relationships within the
Seriata : an alternative. Symp. Biology of the Turbellaria.
Hydrobiologia : in press.
- Schockaert, E.R. & Bedini, C., 1977. Observations on the
ultrastructure of the proboscis epithelia in Polycystis naegelii
Kölliker (Turbellaria, Eukalyptorhynchia) and some associated
structures. Acta Zool. Fennica 154 : 175-191.
- Shaw, M.K., 1979a. The ultrastructure of the clamp sclerites in
Gastrocotyle trachuri and other clam-bearing Monogeneans.
Z. Parasitenkd. 59 : 43-51.
- Shaw, M.K., 1979b. The development of the clamp attachment organs
of the monogenean Gastrocotyle trachuri. Z. Parasitenkd. 59 :
277-294.
- Slais, J. & Zdarska, Z., 1967. Contribution to the histochemistry
of the cuticle and cuticular structures of Trematodes. Folia
Parasitol. 14 : 311-319.
- Smith, J.H., Reynolds, E.S. & von Lichlenberg, F., 1969. The
integument of Schistosoma mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyp. 18 :
28-49.
- Smith, J.P.S., Tyler, S., Thomas, M.B. & Rieger, R., 1982. The
morphology of Turbellarian Rhabdites : Phylogenetic Implications.
Trans. Am. Microsc. Soc. 101 : 209-228.
- Sopott, B., 1972. Systematik und Ökologie van Proseriaten
(Turbellaria) der deutschen Nordseeküste. Mikrofauna
Meeresbodens 13 : 168-236.
- Sopott-Ehlers, B., 1982. Ultrastruktur potenteill photoreceptorischer
Zellen unterschiedlicher Organisation bei einem Proseriat
(Plathelminthes). Zoomorph. 101 : 165-175.
- Sopott-Ehlers, B., 1984a. The phylogenetic relationships within
the Seriata. In : Morris, S.C., George, J.D., Gibson, R. &
Platt, H.M. (Hrsg.) The origins and relationships of lower
invertebrates. Oxford : Oxford University Press.
- Sopott-Ehlers, B., 1984b. Epidermale Collar-Receptoren der
Nematoplanidae und Polystyliphoridae (Plathelminthes, Unguiphora).
Zoomorphology 104 : 226-230.

- Sopott-Ehlers, B., 1984c. Feinstruktur pigmentierter und unpigmentierter Photoreceptoren bei Proseriata (Plathelminthes). Zool. Scripta 13 : 9-17.
- Sterrerr, W., 1968. Beiträge zur Kenntnis der Gnathostomulida. I. Anatomie und Morphologie der Genus Pterognathia Sterrer. Ark. Zool. 22 : 1-125.
- Swiderski, Z., 1972. La structure fine de l'oncosphère du cestode Catenotaenia pusilla (Goeze, 1782) (Cyclophyllidae, Catenotaeniidae). La cellule 69 : 207-239.
- Swiderski, Z., 1973. Electron microscopy and histochemistry of oncospherical hook formation by the cestode Catenotaenia pusilla. Int. Journ. of Parasitology 3 : 27-33.
- Swiderski, Z., 1976. Oncospheral hook morphogenesis in the Davaineid cestode Inermicapsifer madagascariensis (Davaine, 1870) Baer, 1956. Int. Journ. of Parasitology 6 : 495-504.
- Szpak, A.C. & Woodard, B.H., 1983. A case for the panel : Intracellular Collagen in Hepatocytes. Ultrastructural Pathology 4 : 101-105.
- Tajika, K.-I., 1982. Morphologisch-phylogenetische Untersuchungen an der Familie, Coelogynoporidae (Turbellaria, Proseriata). J. Fac. Sc. Zool. VI 23 (1) : 13-62.
- Thiéry, J.P., 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur des coupes fines en microscopie électronique. J. Microscopie 6 : 987-1018.
- Threadgold, L.T., 1975. Fasicola hepatica : the ultrastructure of the epithelium of the seminal vesicle, the ejaculatory duct and the cirrus. Parasitology 71 ; 437-443.
- Tyler, S., 1976. Comparative Ultrastructure of Adhesive Systems in the Turbellaria. Zoomorphologie 84 : 1-76.
- Tyler, S., 1977. Ultrastructure and Systematics : an Example from Turbellarian Adhesive Organs. Mikrofauna Meeresbodens 61 : 271-286.
- Tyler, S., 1984. Turbellarian Platyhelminths. In Bereiter-Haln, J., Matoltsy, A.G. & Richards, K.S. (eds.) Biology of the integument. pp. 110-131.

- Tyler, S. & Rieger, R., 1975. Uniflagellate spermatozoa in Nemertoderma (Turbellaria) and their phylogenetic significance. *Science* 188 : 730-732.
- Uhlig, G., 1964. Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 11 : 178-185.
- Uhlig, G., 1966. Untersuchungen zur Extraktion der vagilen Mikrofauna aus marinen Sedimenten. *Zool. Anz. Suppl.* 29 : 151-157.
- Zdarska, Z., 1974. Histochemistry of the haptor sclerites for some species of the genus Tetraonchus Diesing, 1850 (Monogenoidea). *Folia Parasitologica* 21 : 345-347.
- Zdarska, Z., 1976. Selective staining of opisthaptor sclerites of some Monogeneans. *Folia Parasitol.* 23 : 182.

VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL
FACULTEIT VAN DE WETENSCHAPPEN
DEPARTEMENT BIOLOGIE

**VERGELIJKENDE STUDIE VAN DE ULTRASTRUKTUUR
VAN HET KOPULTIEORGAAN BIJ PROSERIATA
(PLATHELMINTHES)**

**DEEL II
Afbeeldingen en Figuren**

Proefschrift ingediend door **Els E. Martens**
tot het bekomen van de graad van Doctor in de
Wetenschappen (Dierkunde) aan de
Vrije Universiteit te Brussel

Afb. 1. : *Ectocotyla multitesticulata*

Lichtmikroskopische doorsnede door het kopulatieorgaan,
de accessorishe prostaatvesikel met stilet en de
vrouwelijke gonoporus.

Afb. 2. : *Ectocotyla multitesticulata*

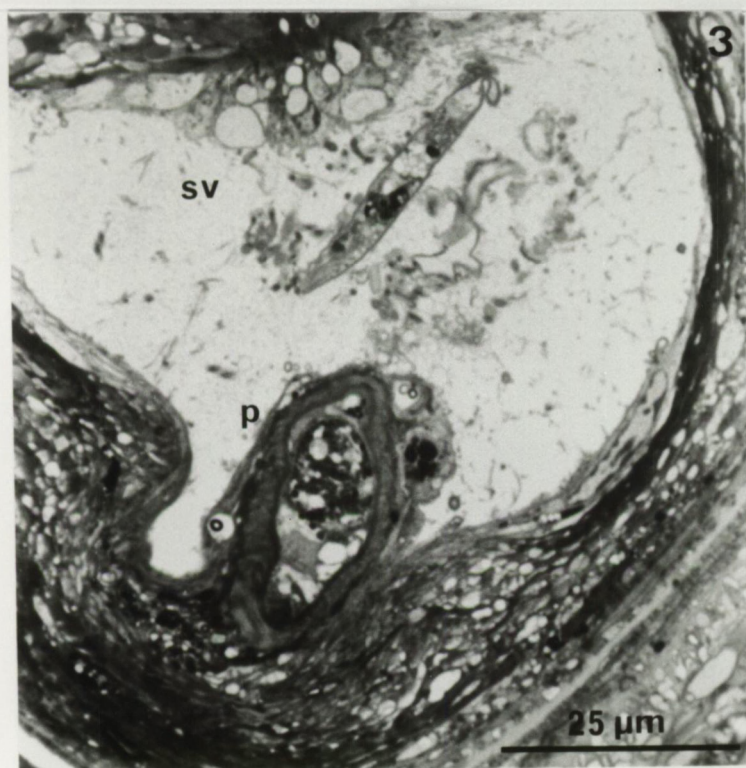
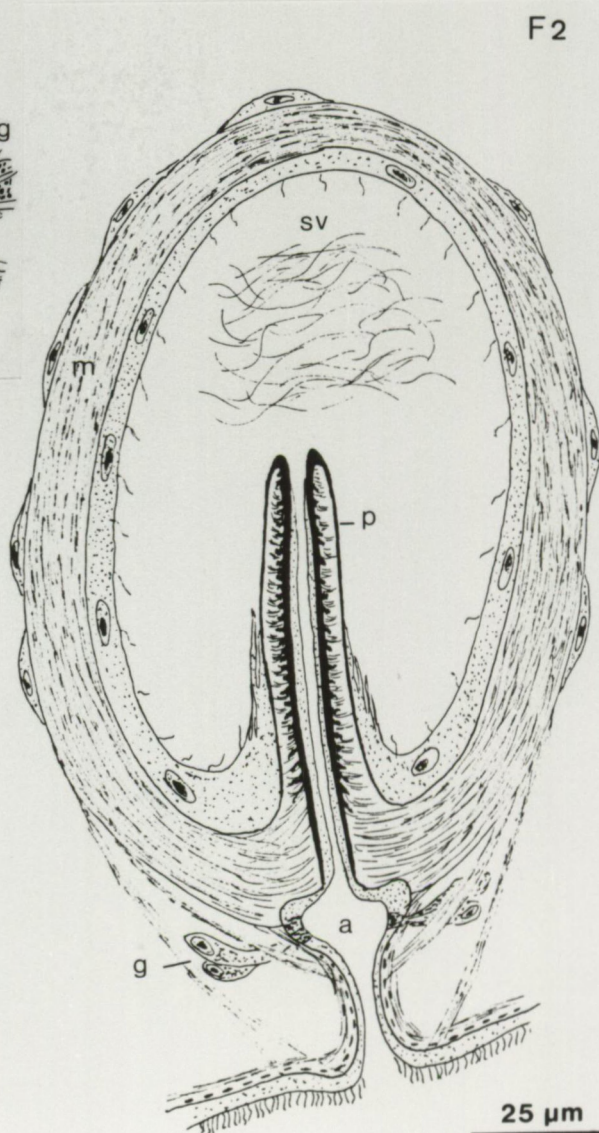
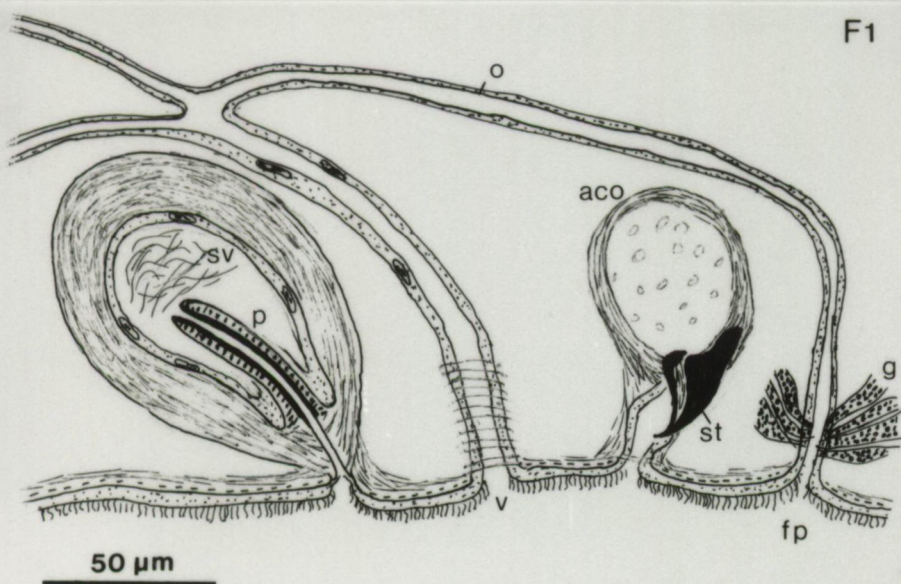
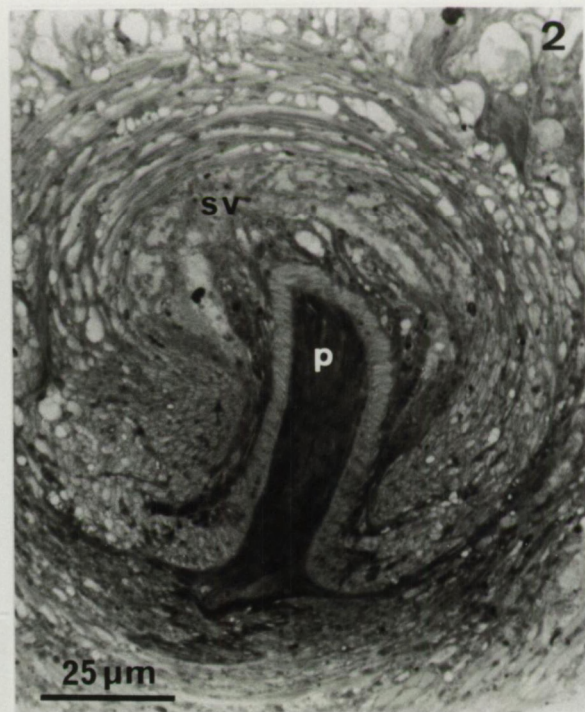
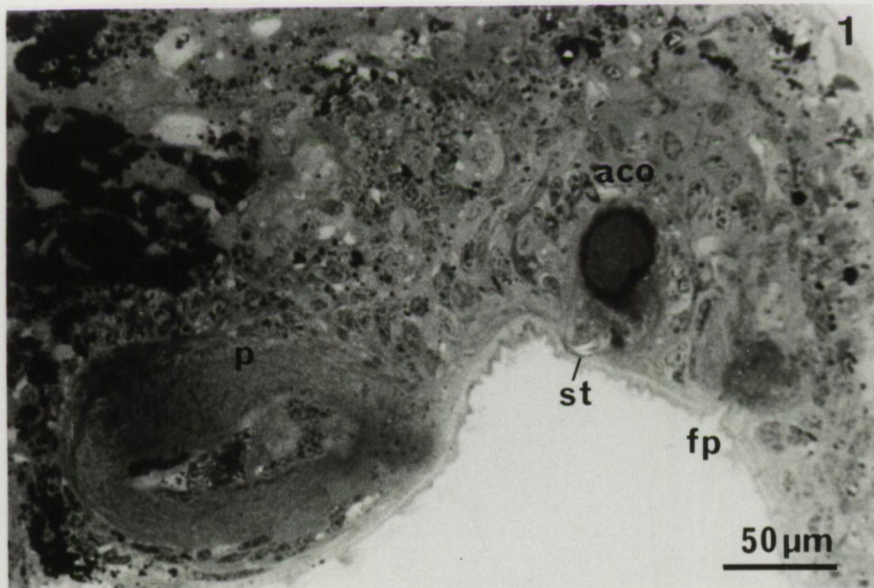
Lichtmikroskopische doorsnede door het kopulatieorgaan
met de ingestulpte penis.

Afb. 3. : *Ectocotyla hirudo*

Lichtmikroskopische doorsnede door het distale ge-
deelte van het kopulatieorgaan.

Fig. 1. : Rekonstruktie van de genitale organen bij
Ectocotyla multitesticulata.

Fig. 2. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan bij
Ectocotyla multitesticulata.



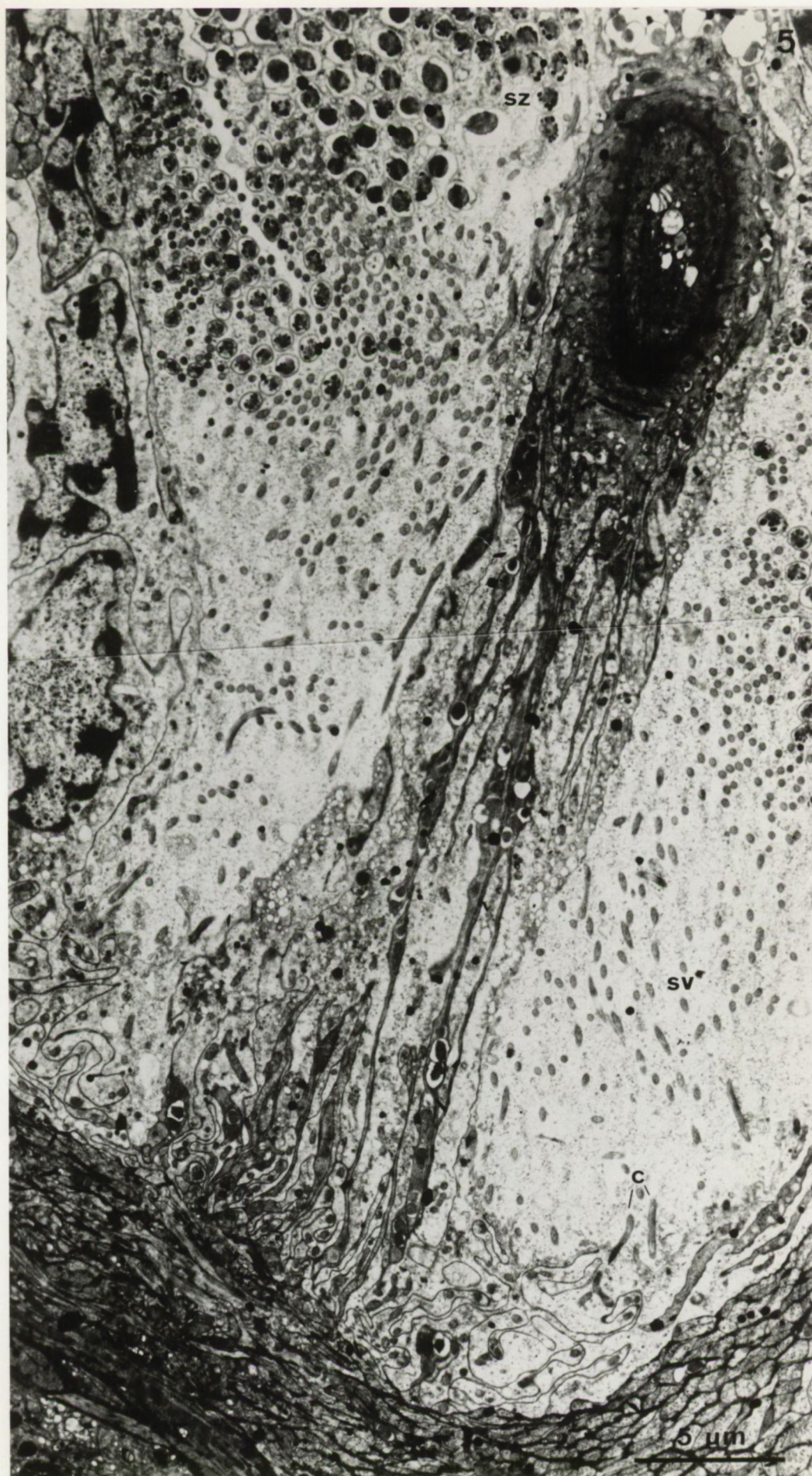
Afb. 4. : *Ectocotyla multitesticulata*

Doorsnede door de kopulatorische bulbus met
ingestulpte penis. De vas deferens mondt vrij
distaal in de vesicula uit.



Afb. 5. : *Ectocotyla multitesticulata*

Schuine doorsnede door de penis. In het distale
deel van de vesicula seminalis vormt het epitheel
lange cytoplasmastrengen die de penis omgeven.



Afb. 6. en 7. : *Ectocotyla multitesticulata*

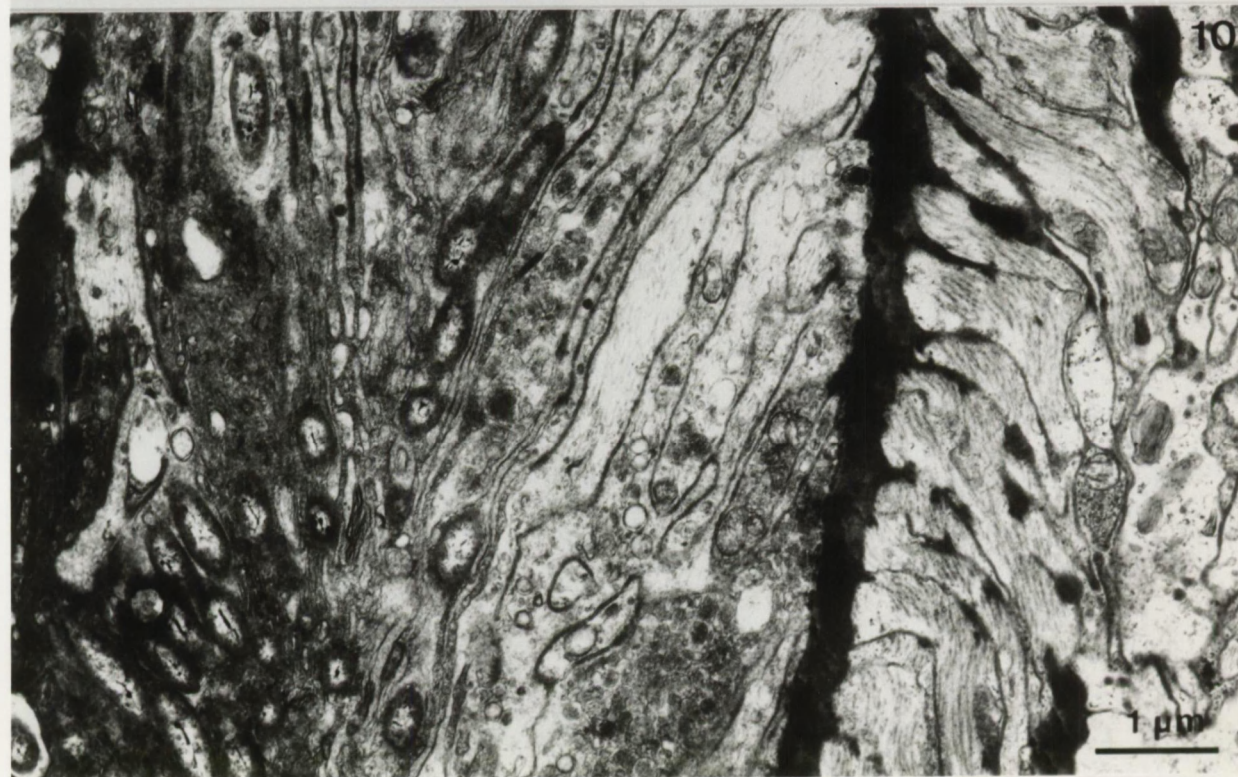
Afb. 8. : *Ectocotyla hirudo*

Dwarse doorsnede door de penis. De binnenkant van de penis is begrensd met een epitheel bestaande uit lange cytoplasastrengen die aan de lumenzijde microvillaire uitstulpingen vormen (pijltjes). De cytoplasmastrengen zijn aan elkaar gehecht met gesepteerde desmosomen (witte pijltjes).



Afb. 9. en 10. : *Ectocotyla multitesticulata*

Schuine doorsnede door de penis. De cyto-
plasmastrengen die de binnenkant van de
penis bekleden bevatten talrijke mikrotubuli.



Afb. 11. : *Ectocotyla multitesticulata*

Verder naar de top van de penis, wordt het epitheel dunner. Bemerkt de hemidesmosomen tussen de basale lamina en de basale celmembraan van het epitheel enerzijds, en de spieren van de penis anderzijds.

Afb. 12. : Dwarse doorsnede door de penis verder distaalwaarts bij *Ectocotyla hirudo*.

Afb. 13. : *Ectocotyla multitesticulata*

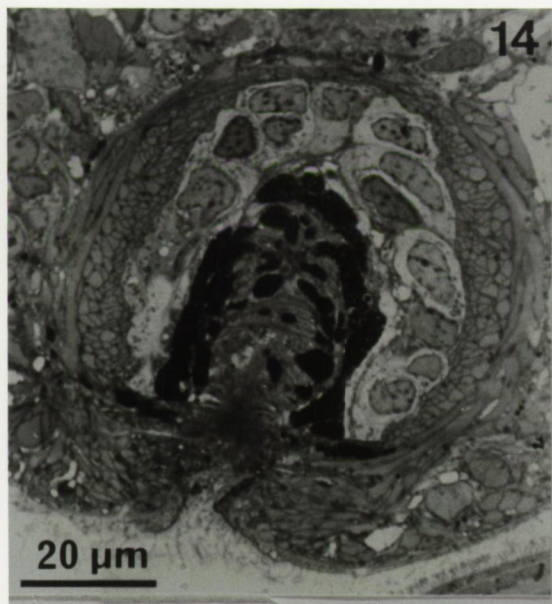
Aan de top van de penis vormt het epitheel nog slechts een dunne laag. Het lumen is gevuld met talrijke vesikels. Ook de spierlaag van de penis is dunner geworden.



Peraclistus oofagus

Afb. 14. : Lichtmikroskopische doorsnede door het kopulatieorgaan.

Afb. 15. : Elektronenmikroskopische doorsnede door het kopulatieorgaan. De celnekkens van de prostaatklieren treden distaal in de vesicula binnen.



Afb. 16. : *Peraclistus oofagus*

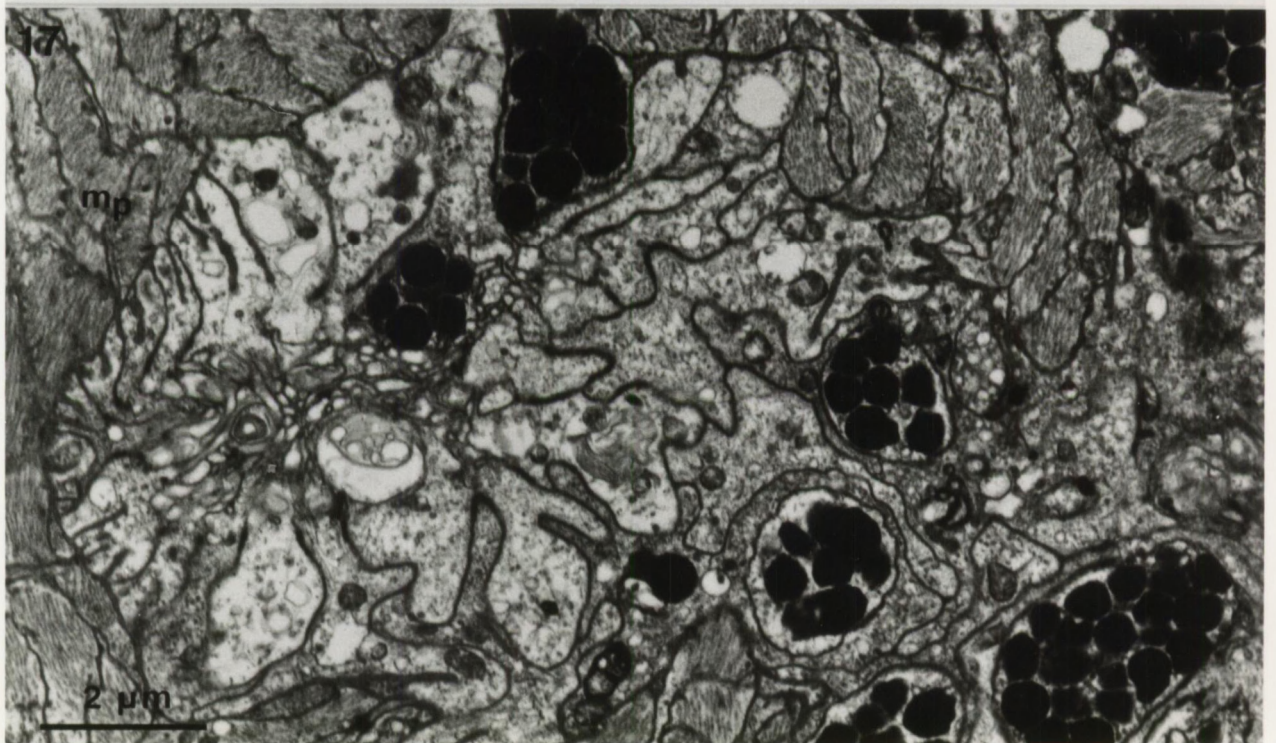
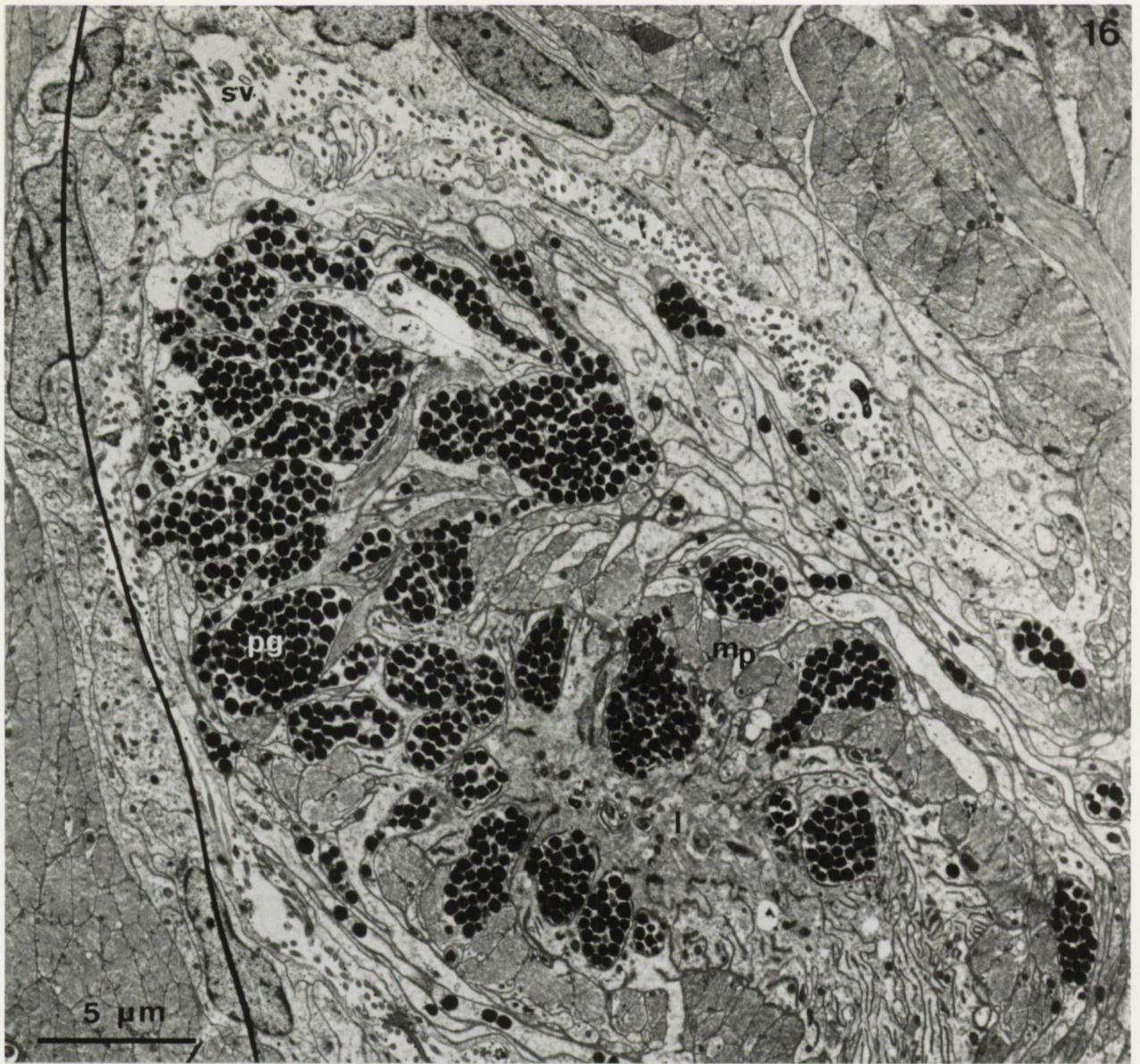
Uitmonding van de celnekkens van de prostaatklieren
in het lumen van de penis.

Afb. 17. : *Peraclistus oofagus*

Epitheel aan binnenkant van de penis. De epitheel-
cellen zijn afgeboord met kort microvilli.

De basale celmembraan vormt diepe invaginaties.

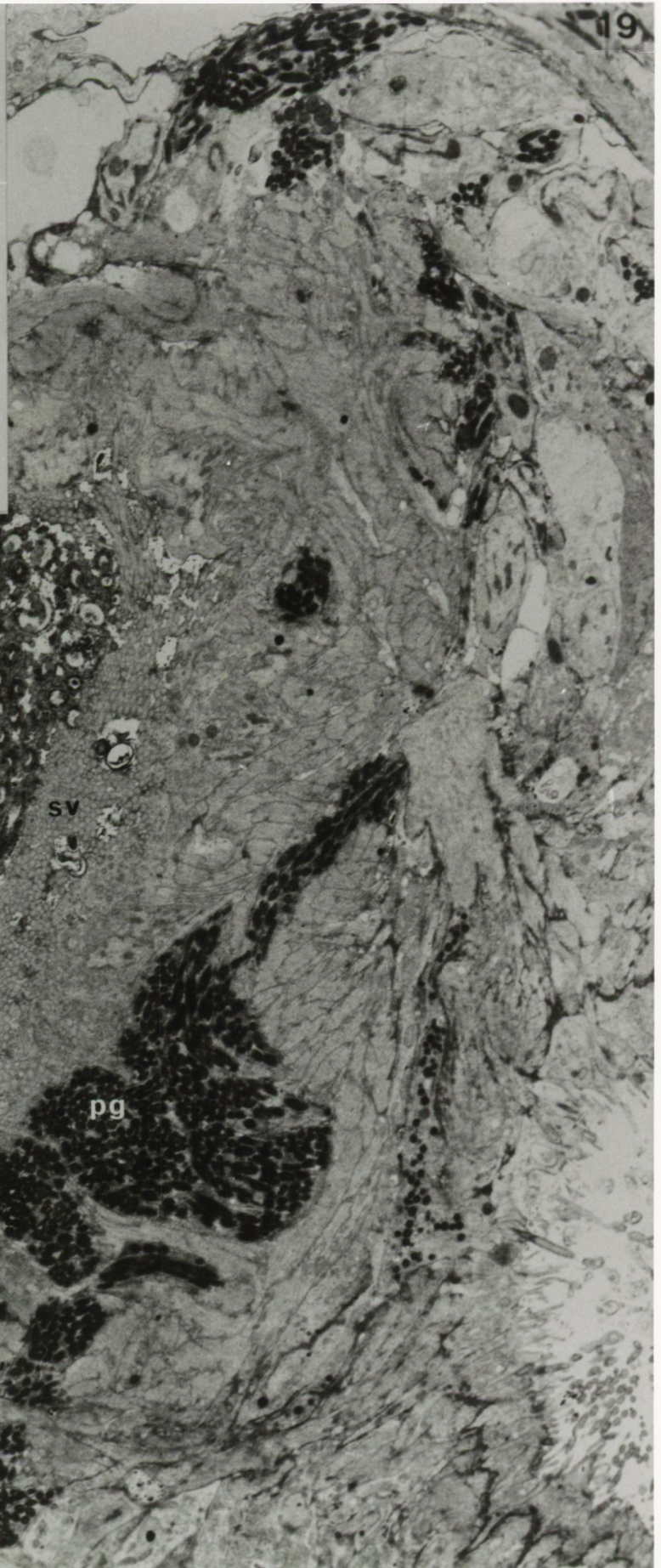
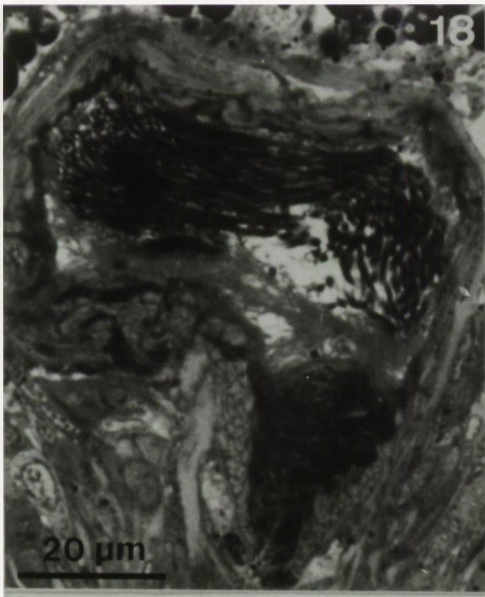
In het cytoplasma zijn verspreide mikrofilamenten
zichtbaar.



Monocelis lineata

Afb. 18. : Lichtmikroskopische doorsnede door het kopulatie-
orgaan met uitgestulpte penispapil.

Afb. 19. : Doorsnede door de kopulatorische bulbus met de
uitmonding van de prostaatklieren.



Monocelis lineata

Afb. 20. : Epitheel van de vesicula seminalis. Bemerkt de lange ciliënwortels ongeveer parallel aan het celoppervlak.

Afb. 21. : Cel van de prostaatklieren gekenmerkt door een uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum, verschillende Golgi complexen en sekreetgranula.

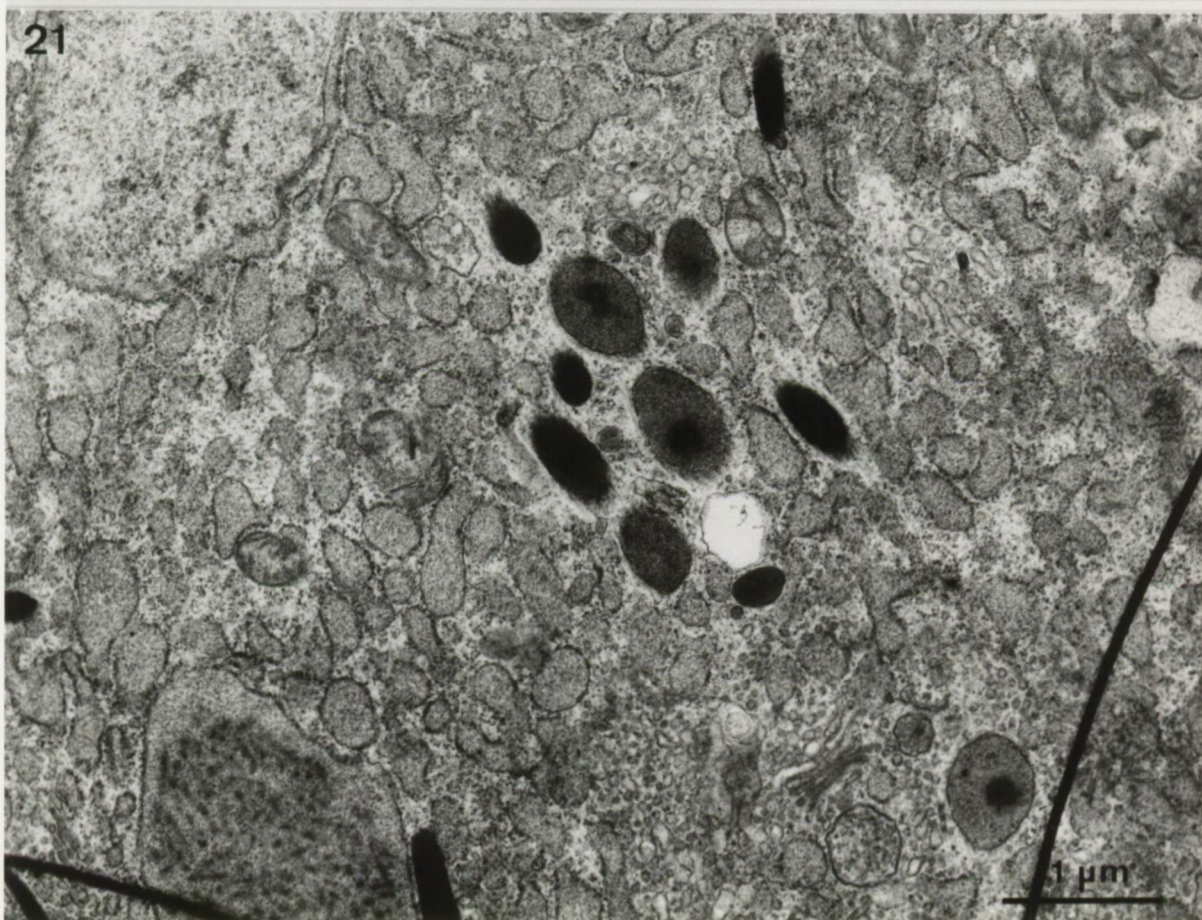
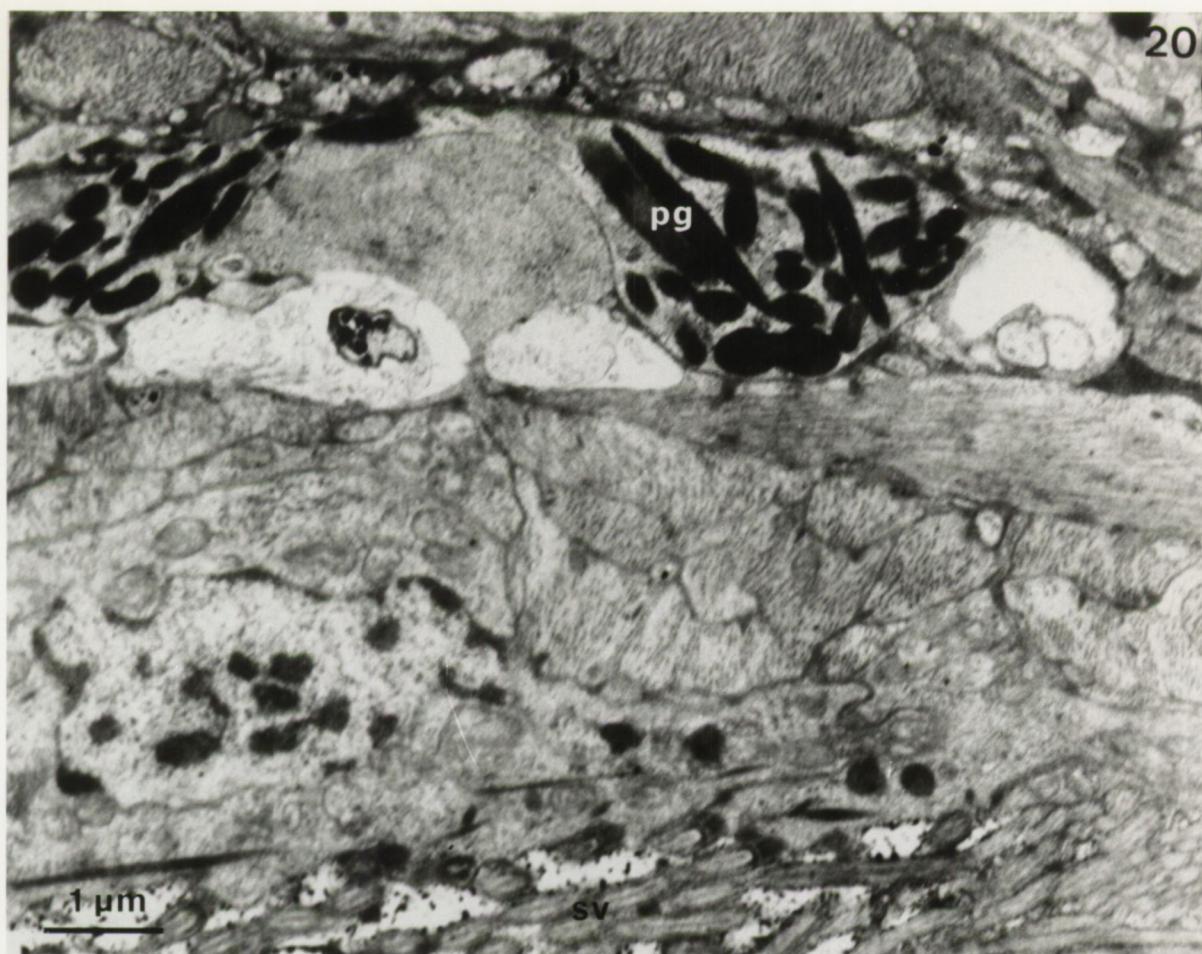


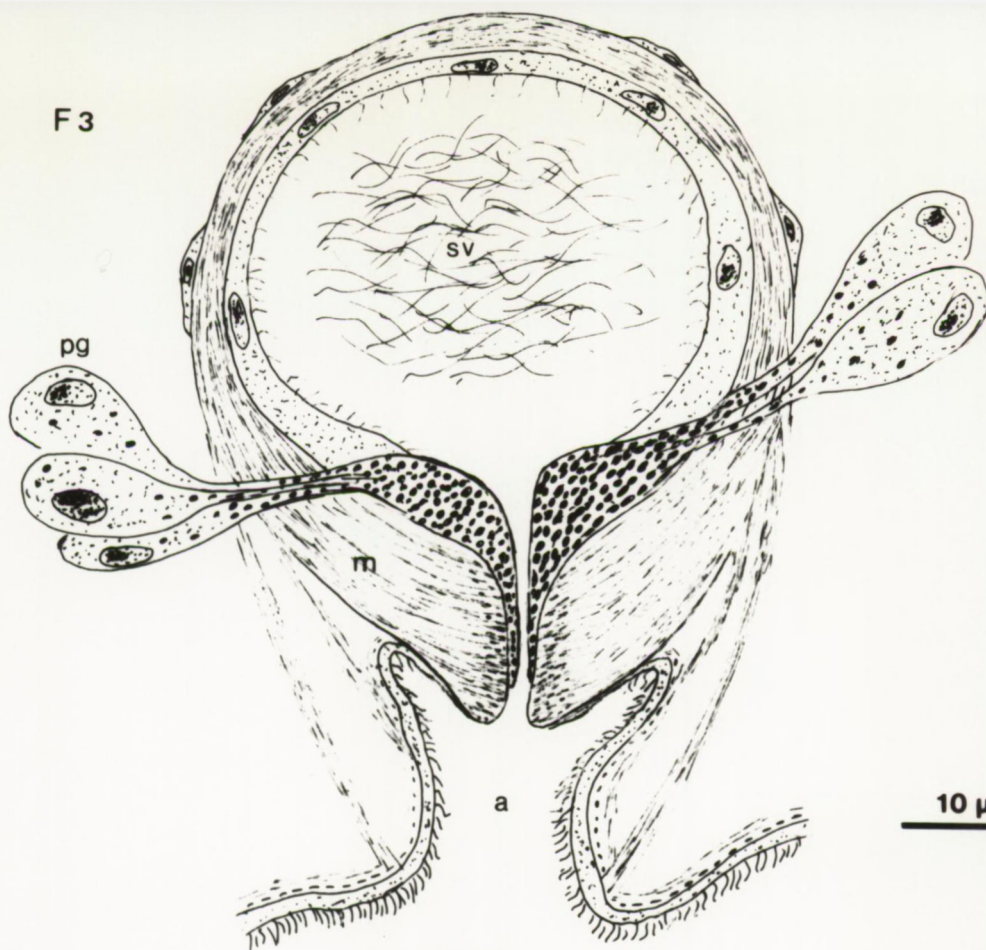
Fig. 3. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan met penisapil
bij *M. lineata*.

Fig. 4. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan met stilet
bij *M. fusca*.

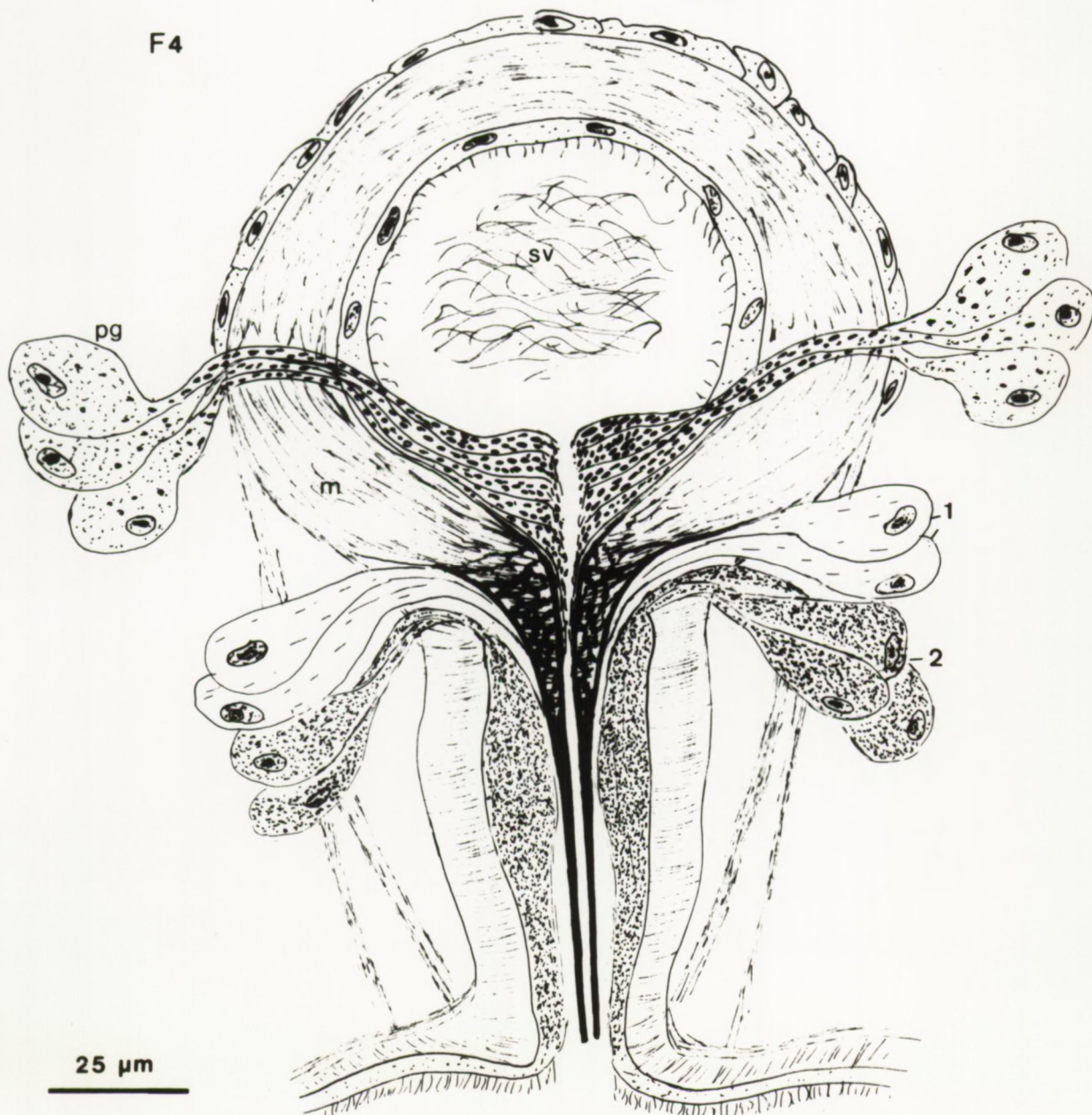
1 : minder elektronendense cellen die de basis van
het stilet aan de buitenzijde bekleden.

2 : dense cellen van het epitheel van het atrium.

F3



F4



Afb. 22. : *Monocelis fusca*

Lichtmikroskopische doorsnede door het kopulatie-
orgaan met de uitmonding van de prostaatklieren
en deel van het stilet.



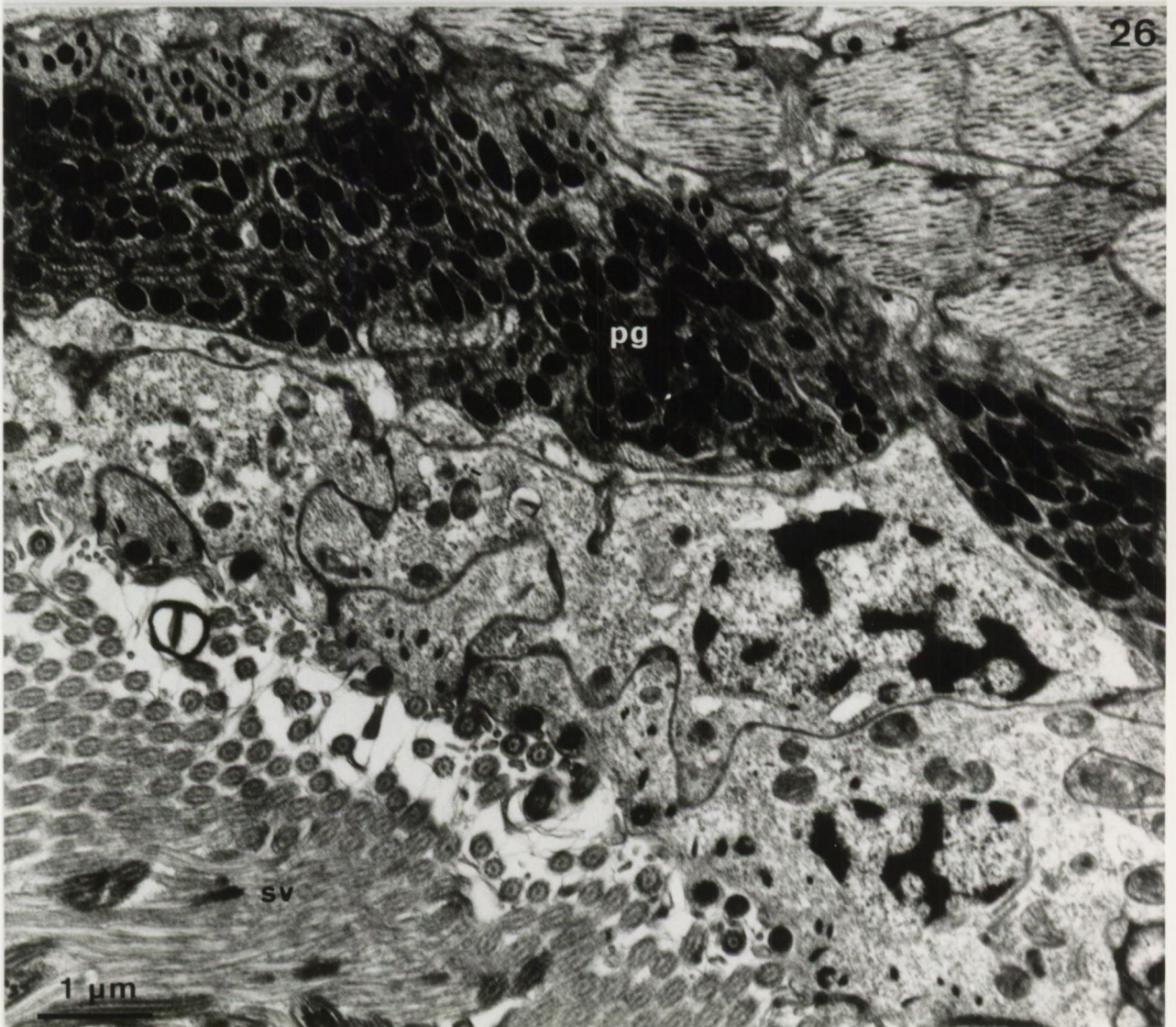
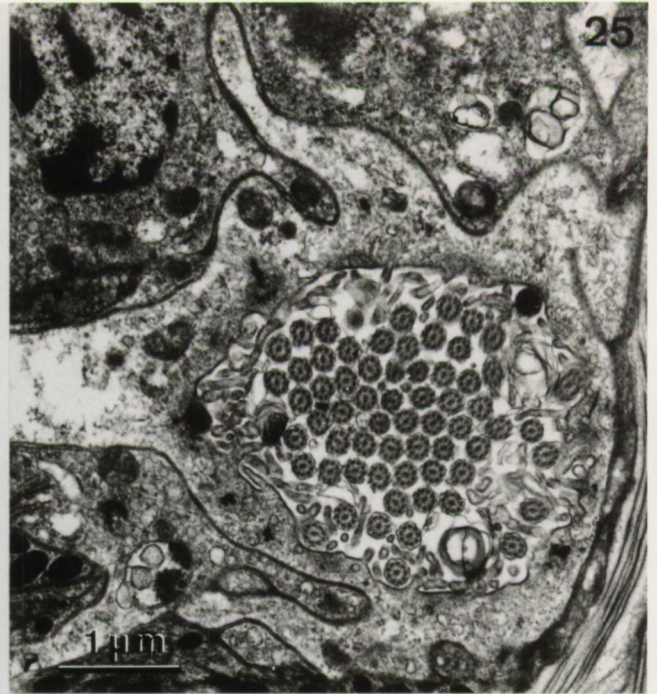
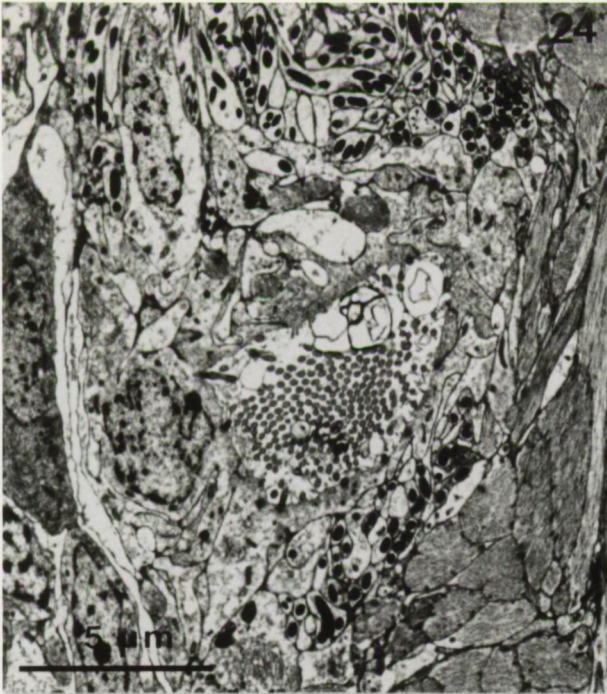
Afb. 23. : Kopulatieorgaan bij *Monocelis fusca* ter hoogte van de basis van het stilet en de uitmonding van de prostaatklieren. Bemerk tevens de blekere cellen die de basis van het stilet aan de buitenzijde bekleden (pijltjes).



Monocelis fusca

Afb. 24. en 25. : Vas deferens net voor de uitmonding in de
vesicula seminalis.

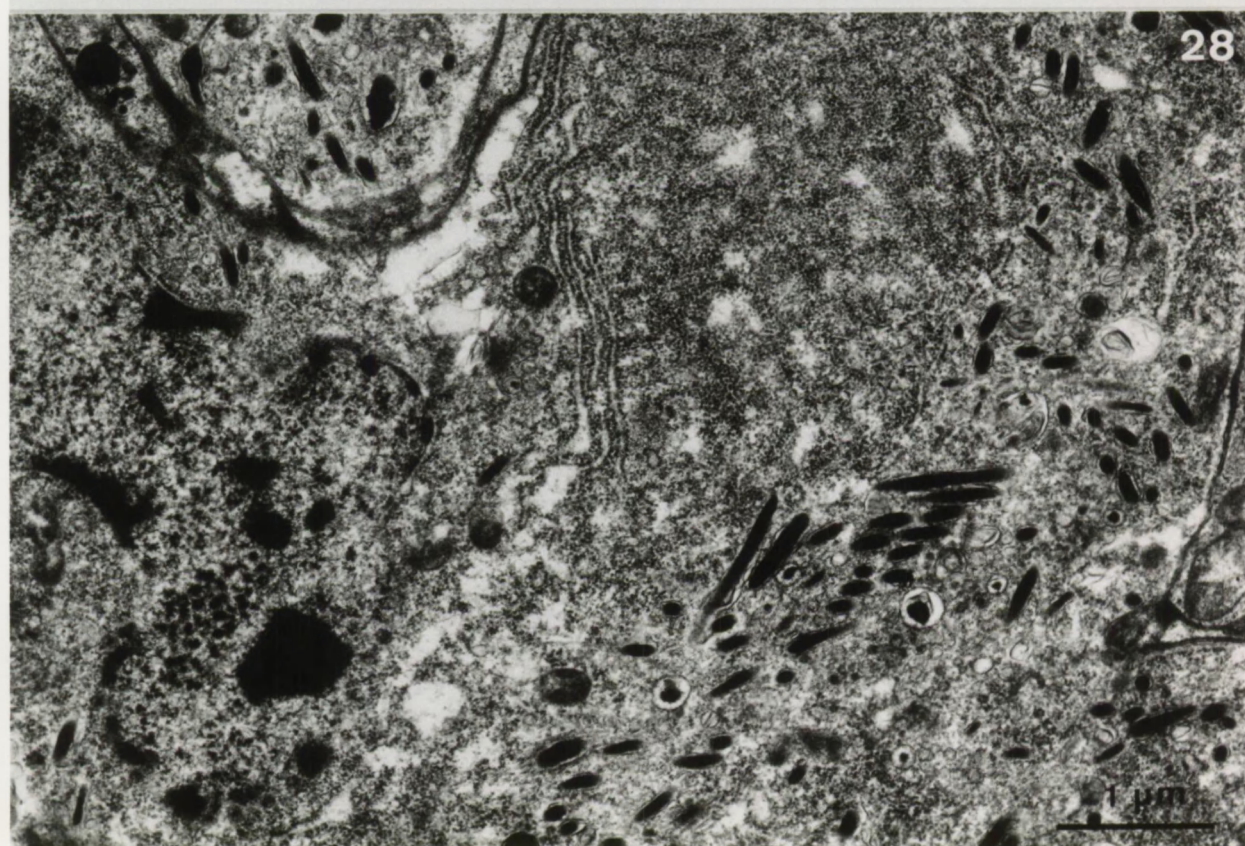
Afb. 26. : Epitheel van de vesicula seminalis. Bemerk tevens
hoe de celnekkens van de prostaatklieren verstevigd
zijn door een perifere laag mikrotubuli.



Monocelis fusca

Afb. 27. : Uitmonding van de celnekkens van de prostaatklieren
in het distale deel van de vesicula seminalis.

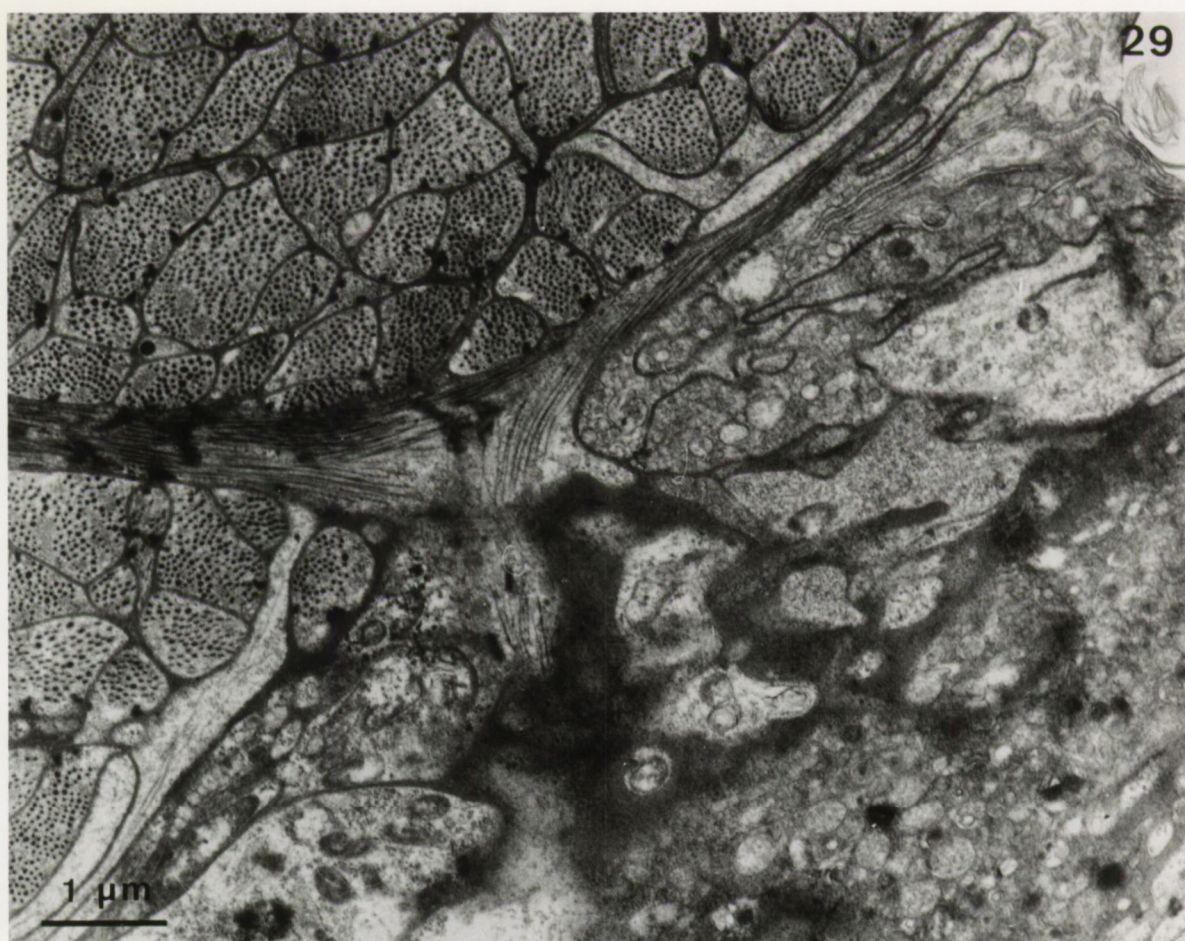
Afb. 28. : Een kernhoudend cellichaam van de prostaatklieren
met talrijke vrije ribosomen, uitgebreid endoplas-
matisch reticulum en sekreetgranula.



Monocelis fusca

Afb. 29. : Cellen die de basis van het stilet aan de buitenzijde bekleden. Bemerk de sterk geplooiden celmembranen. Een elektronendense condensatie is zichtbaar tegen de celmembranen die aangrenzen aan de epitheelcellen van het atrium.

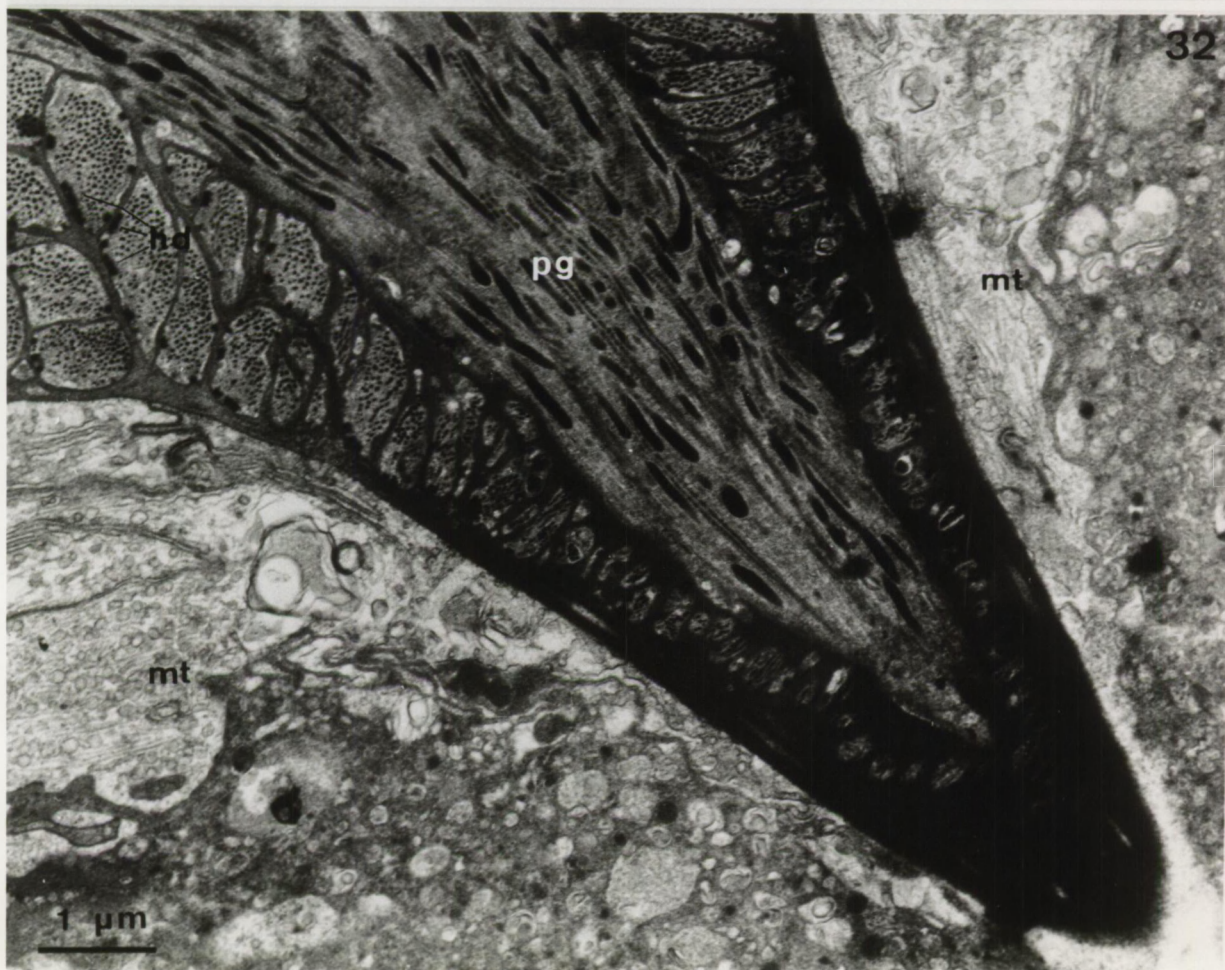
Afb. 30. : Dwarse doorsnede door de basis van het stilet.



Monocelis fusca

Afb. 31. : De cellen die de basis van het stilet bekleden
bevatten talrijke mikrotubuli.

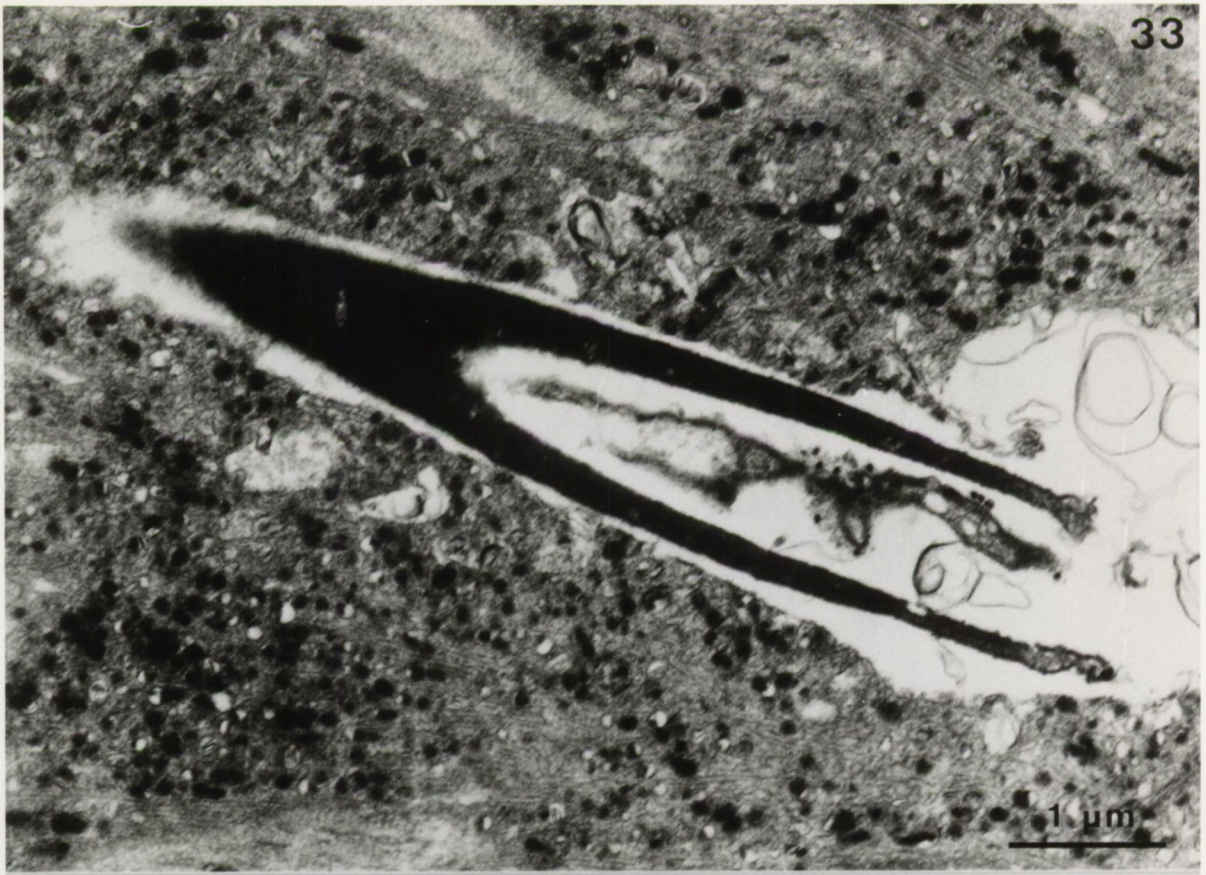
Afb. 32. : Stilet verder distaalwaarts. De elektronendense
laag wordt dikker terwijl het aantal spieren
afneemt.



Monocelis fusca

Afb. 33. : Top van het stilet omgeven door het epitheel van het atrium.

Afb. 34. : Cellichamen van het dens gekorrelde epitheel van het atrium (pijlen). Bemerk tevens net onder de bulbus de blekere cellen die de basis van het stilet bekleeden.

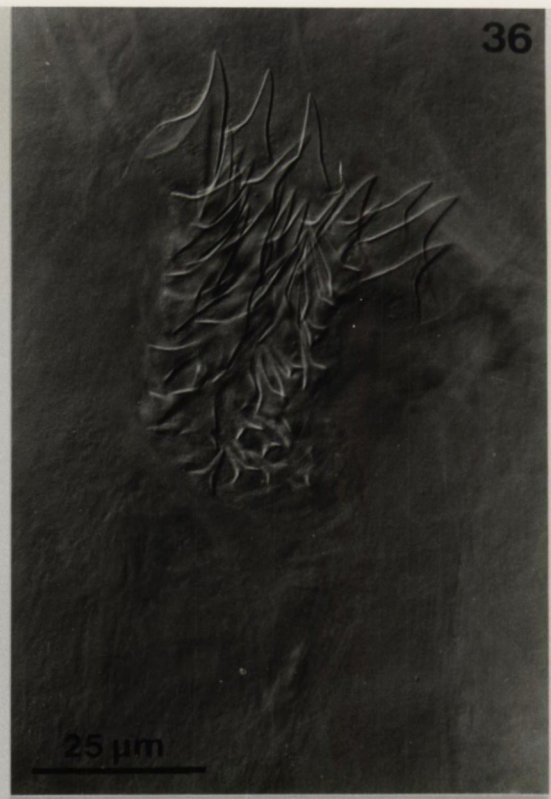
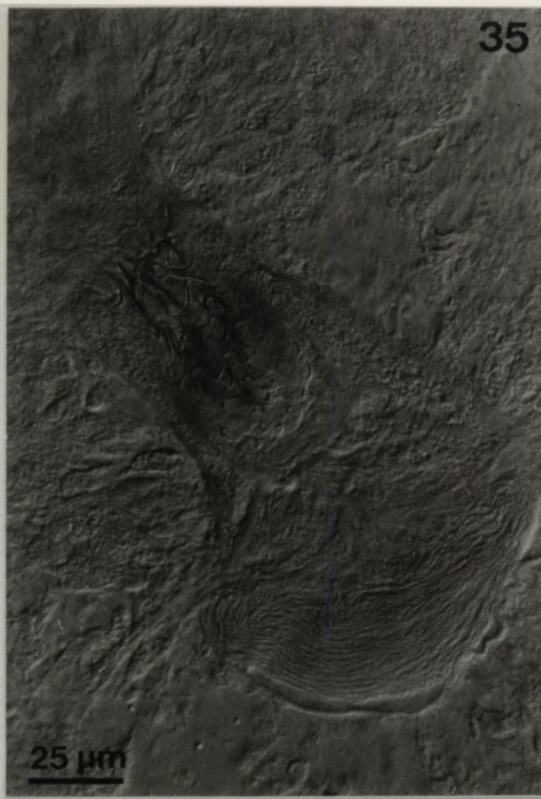


Archilopsis unipunctata

Afb. 35. : Kopulatieorgaan.

Afb. 36. : Cirrus bezet met stekels.

Fig. 5. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.



F 5

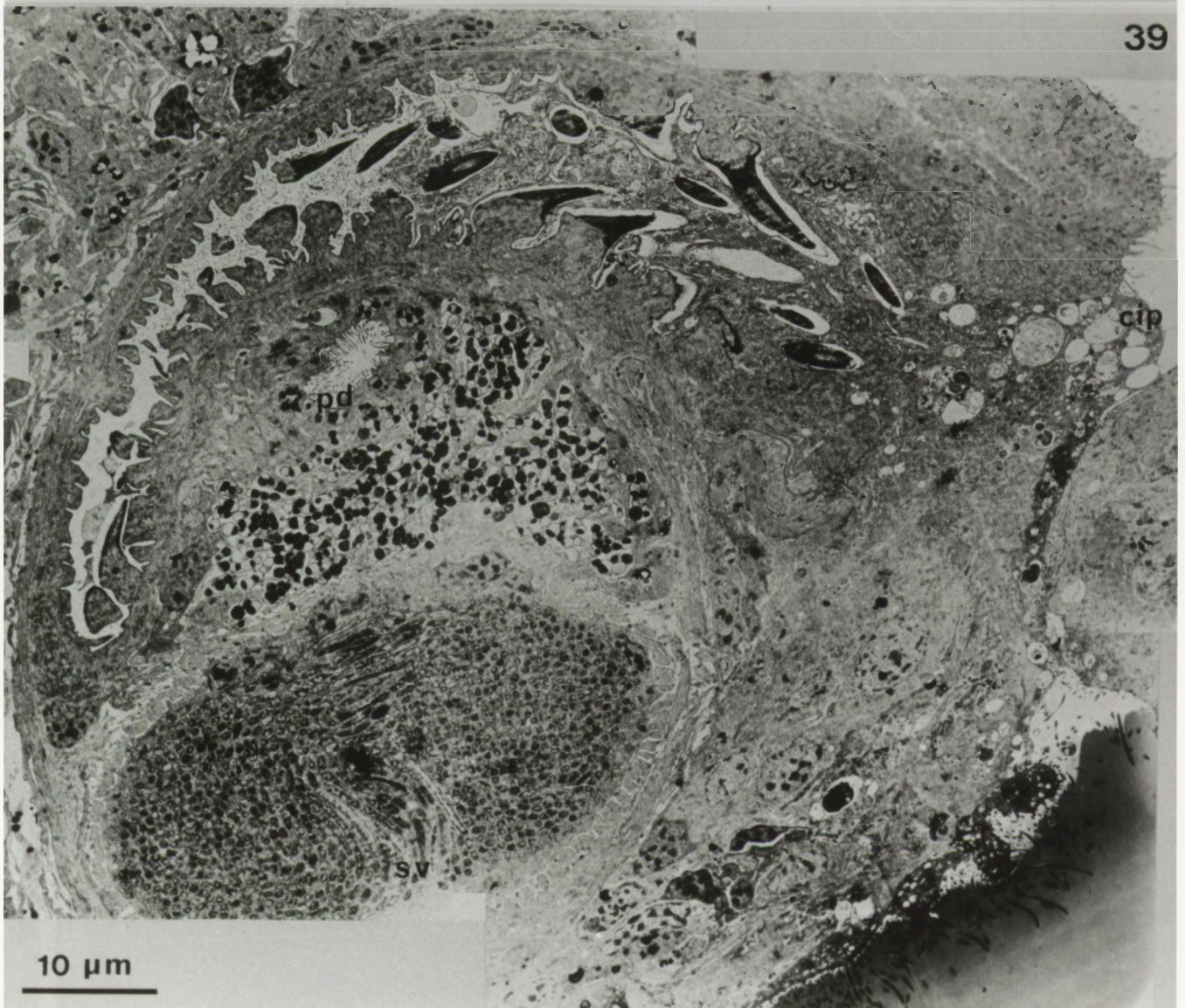
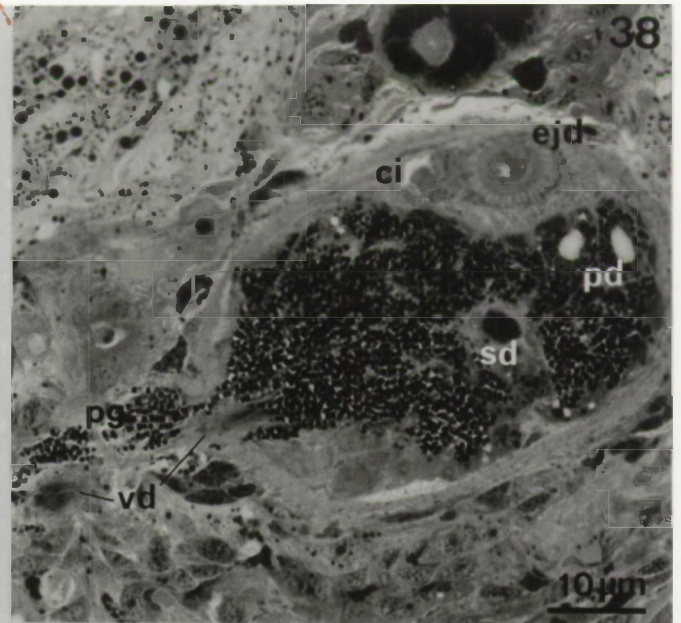


Archilopsis unipunctata

Afb. 37. : Sagittale doorsnede door het kopulatieorgaan.

Afb. 38. : Dwarse doorsnede door de kopulatorische bulbus
met de uitmonding van prostaatklieren en een vas
deferens.

Afb. 39. : Elektronenmikroskopische doorsnede door het kopula-
tieorgaan.

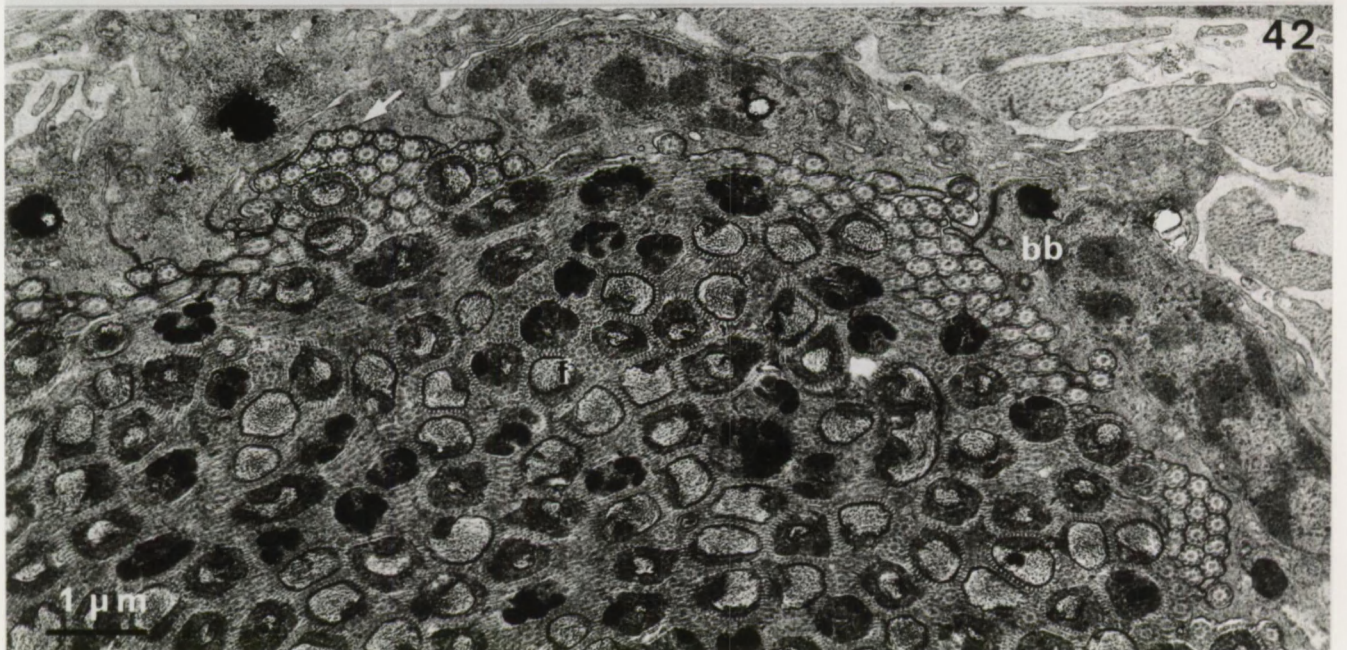
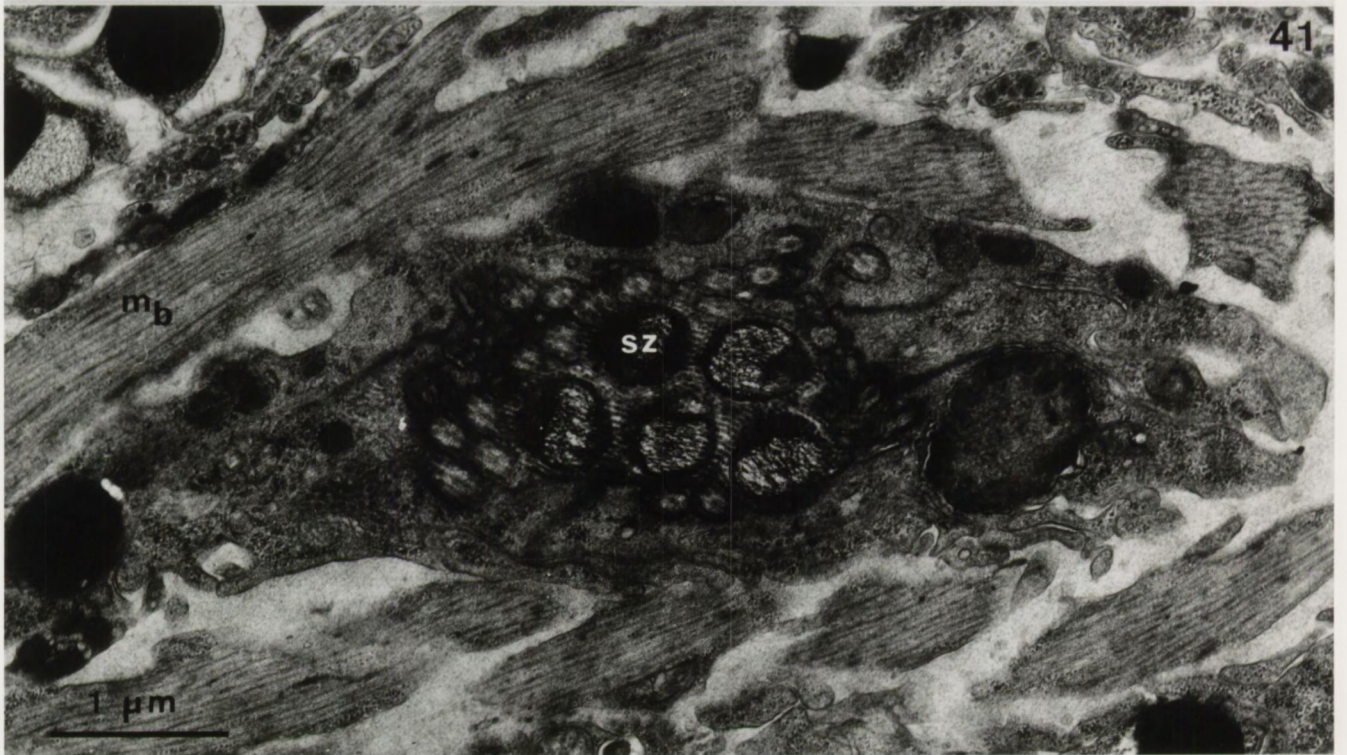
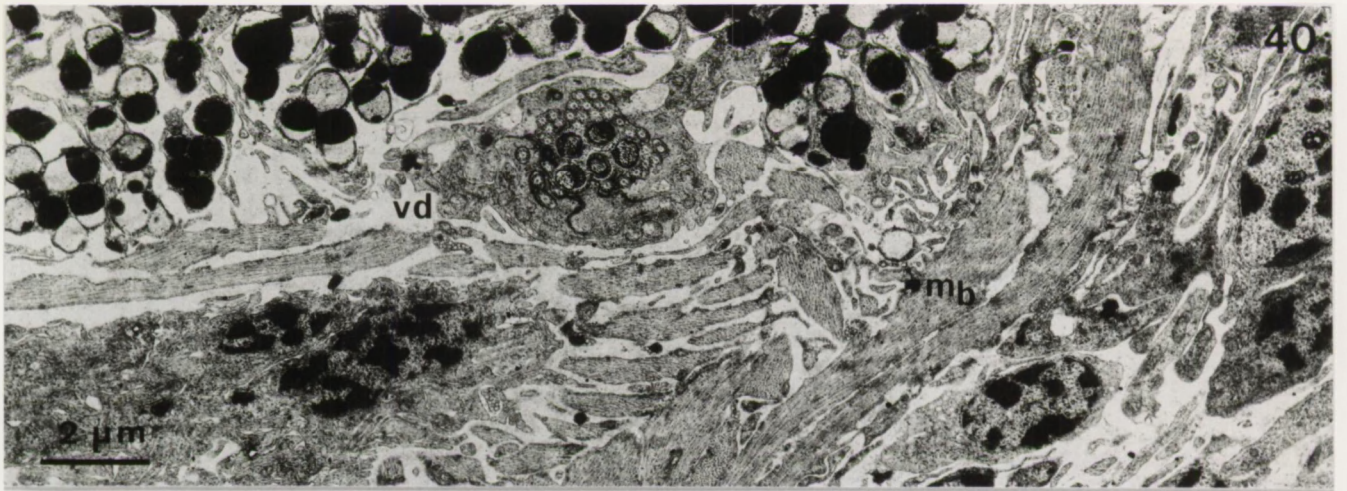


Archilopsis unipunctata

Afb. 40. : Vas deferens net binnen in de bulbus tussen de celnekkens van de prostaatklieren en de vesicula seminalis.

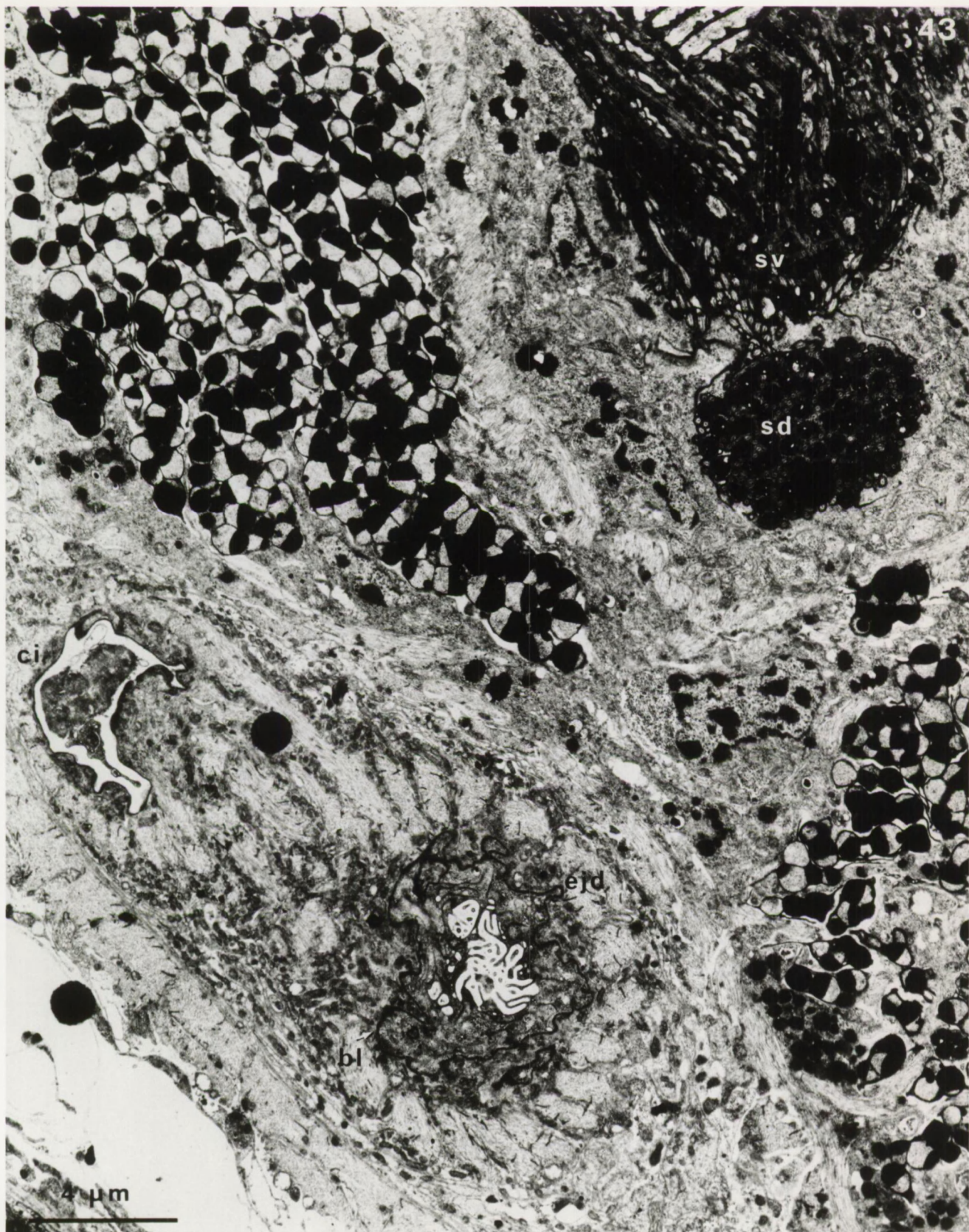
Afb. 41. : Vas deferens juist vóór de uitmonding in de bulbus. In dwarse doorsnede is het epitheel samengesteld uit vier cellen.

Afb. 42. : Epitheel van de vesicula seminalis. De cilia van de epitheelcellen vertonen een 9+2 asconema (witte pijl), de flagellen van de spermatozoiden een 9+1 asconema.



Afb. 43. : *Archilopsis unipunctata*

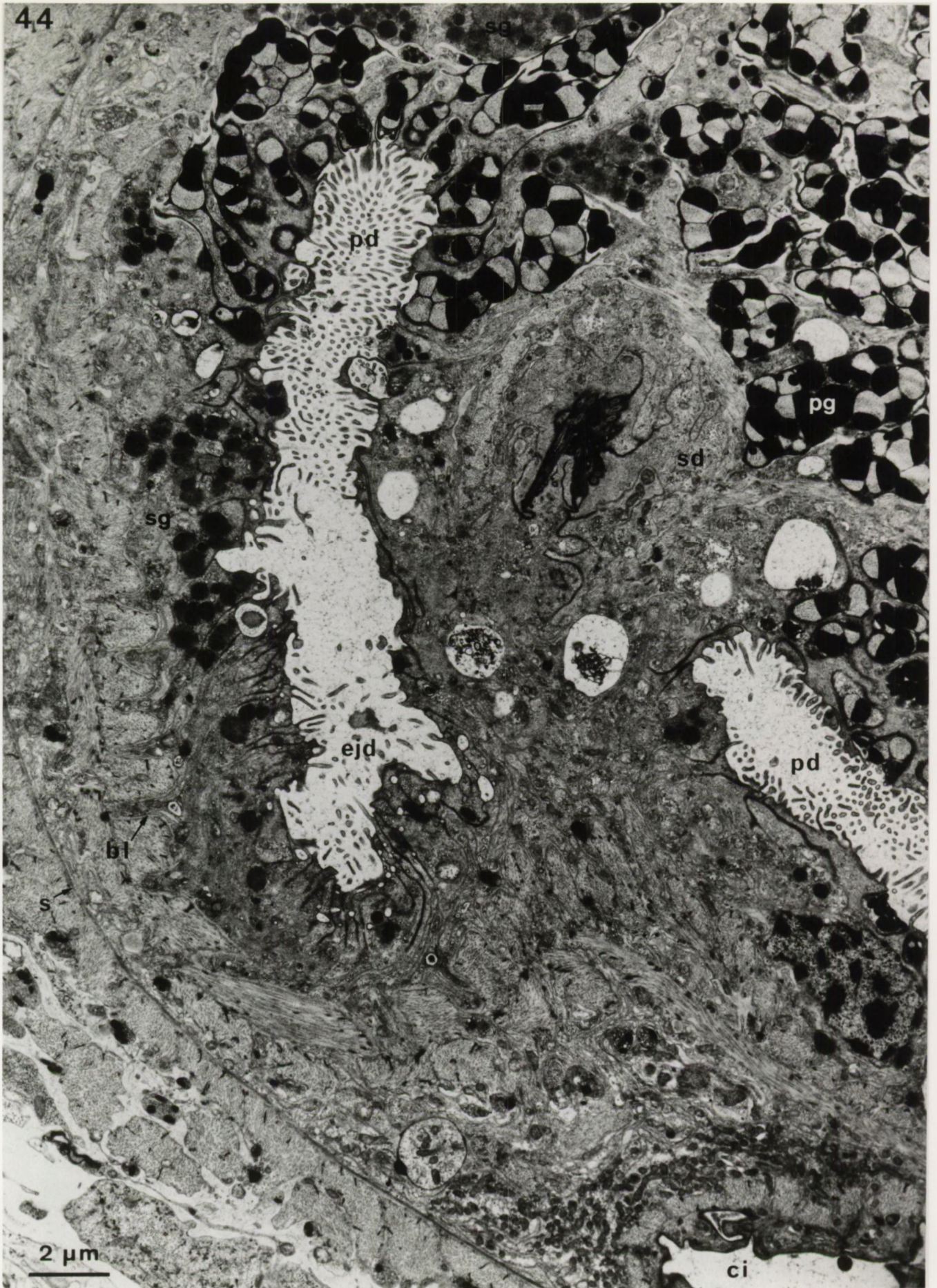
Doorsnede van de kopulatorische bulbus ter hoogte van de overgang vesicula seminalis in ductus seminalis, de ductus ejaculatorius en het begin van de cirrus. De ductus seminalis is begrensd met vier cellen.



Afb. 44. : *Archilopsis unipunctata*

Ductus seminalis verder distaal waar de epitheelcellen hoger zijn en een meer homogeen cytoplasma bevatten. Bij de overgang naar de ductus ejaculatorius vertrekken de twee prostaatducten. Bemerkt bovenaan de sekretorische granula in de epitheelcellen van de prostaatductus.

44

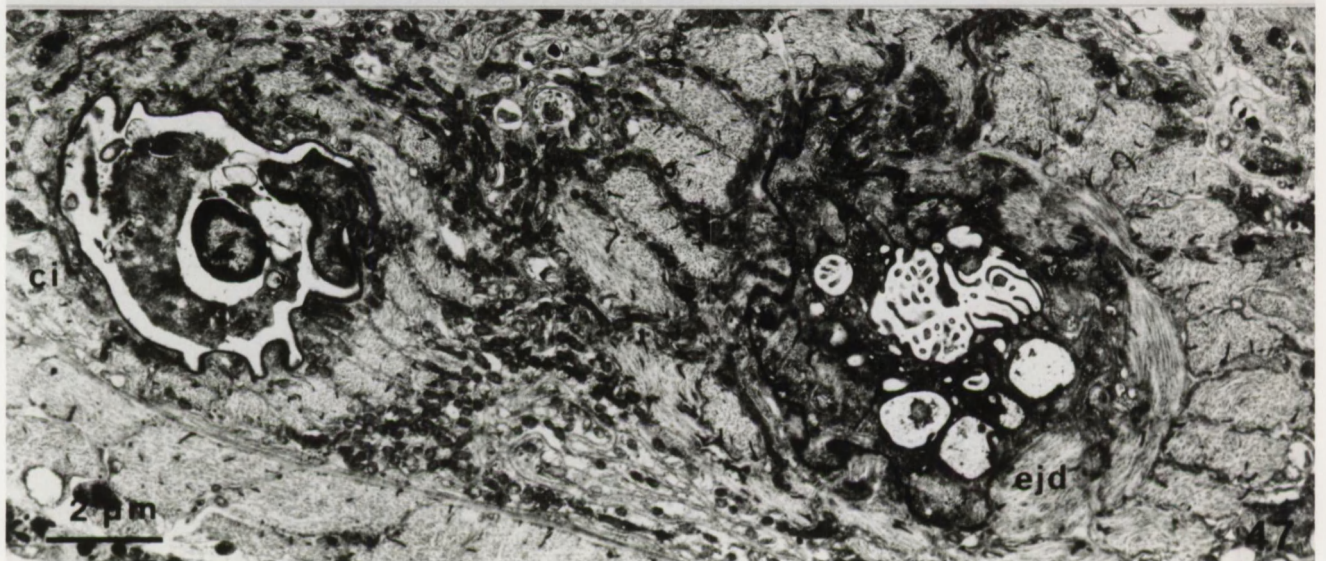
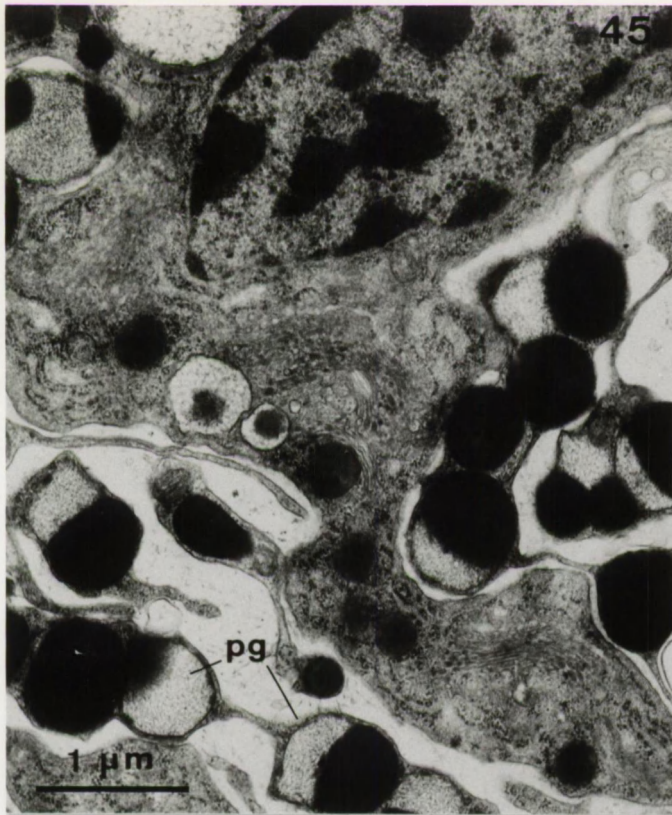


Archilopsis unipunctata

Afb. 45. : Epitheelcel van prostaatductus. Golgi complexen, ruw endoplasmatisch reticulum en sekreetgranula tonen een sekretorische aktiviteit aan. Bemerk tevens de twee-delige inhoud van de sekreetgranula van de prostaat.

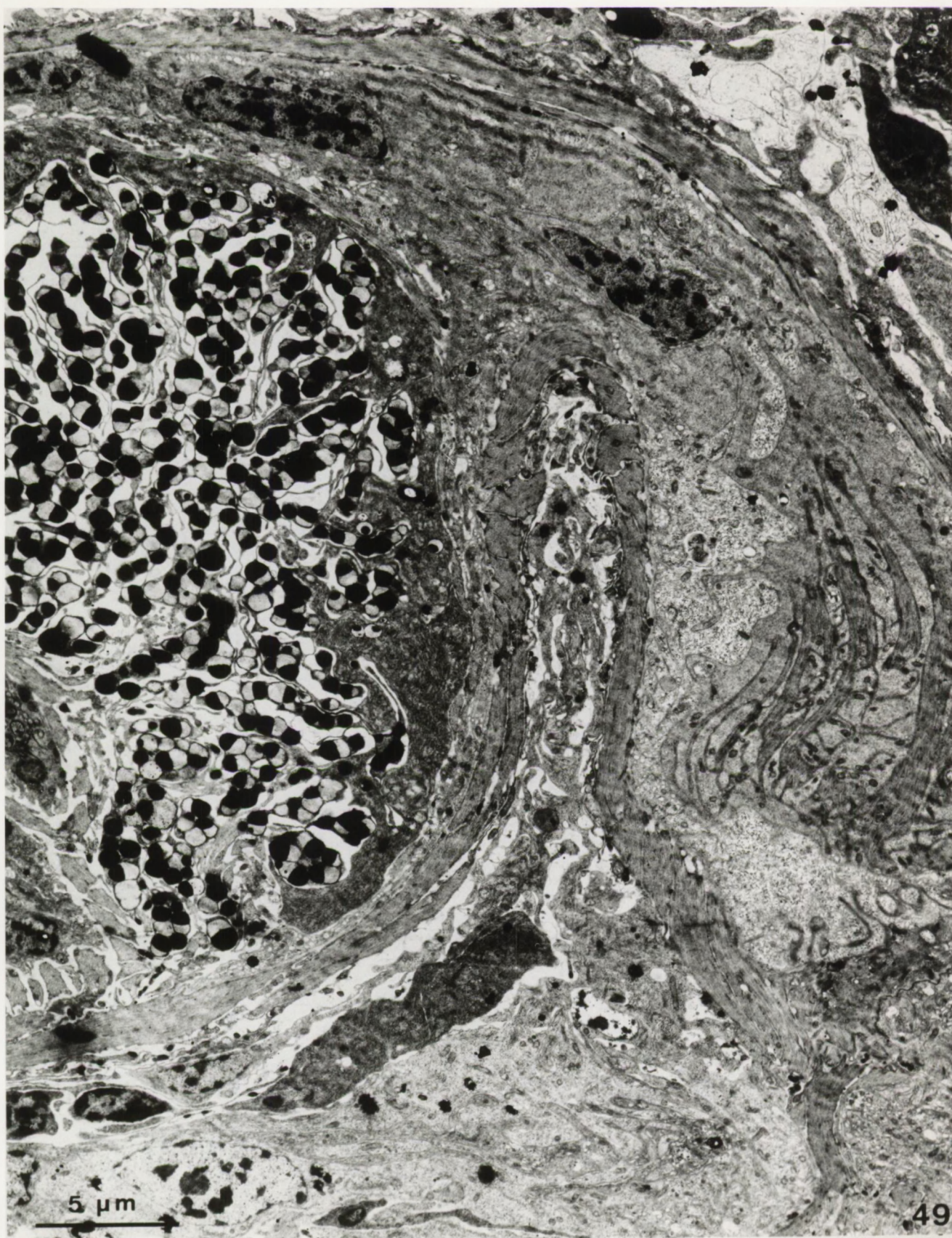
Afb. 46. en 47. : Transitie van ductus ejaculatorius en cirrus: de basale lamina wordt denser en dikker, het epitheel van de ductus ejaculatorius wordt gevakuoliseerd.

Afb. 48. : Doorsnede door de cirrus volledig proximaal waar het epitheel verdwijnt.



Afb. 49. : *Archilopsis unipunctata*

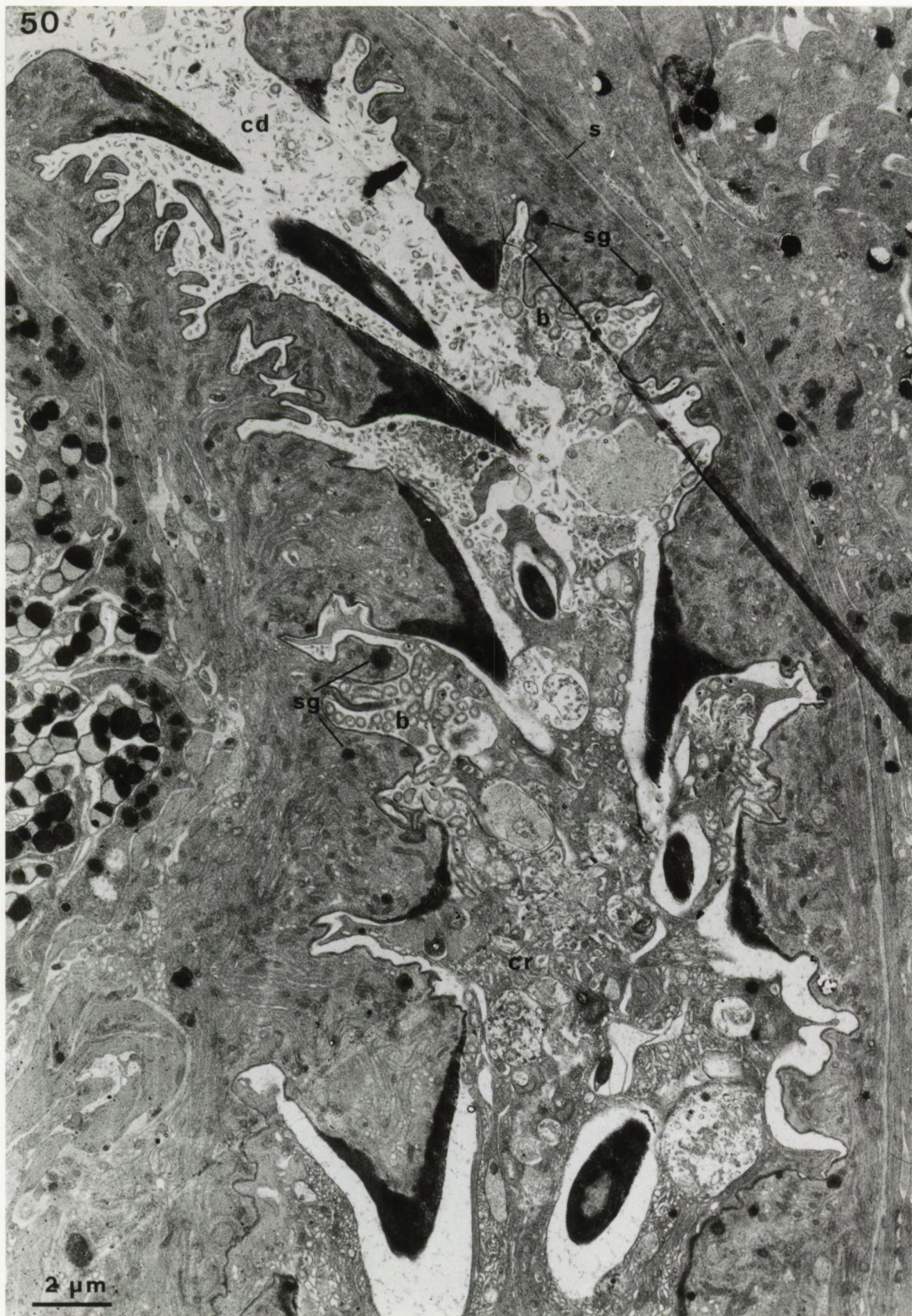
De kernen van de cirrusspiereu zijn perifeer gesitueerd.



Afb. 50. : *Archilopsis unipunctata*

In de samenstelling van het materiaal aanwezig in het lumen van de cirrus zijn van proximaal naar distaal verschillende zones merkbaar : celdebris, bacteriën, cytoplasmatische resten.

Bemerk tevens de elektronendense sekreetgranula in de spieren van de cirrus.

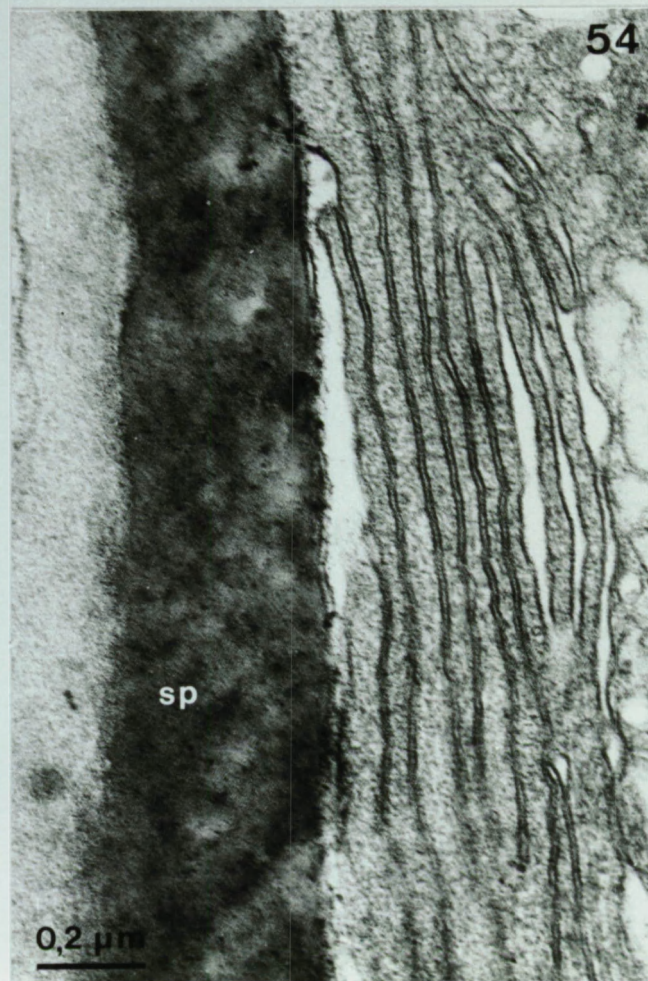
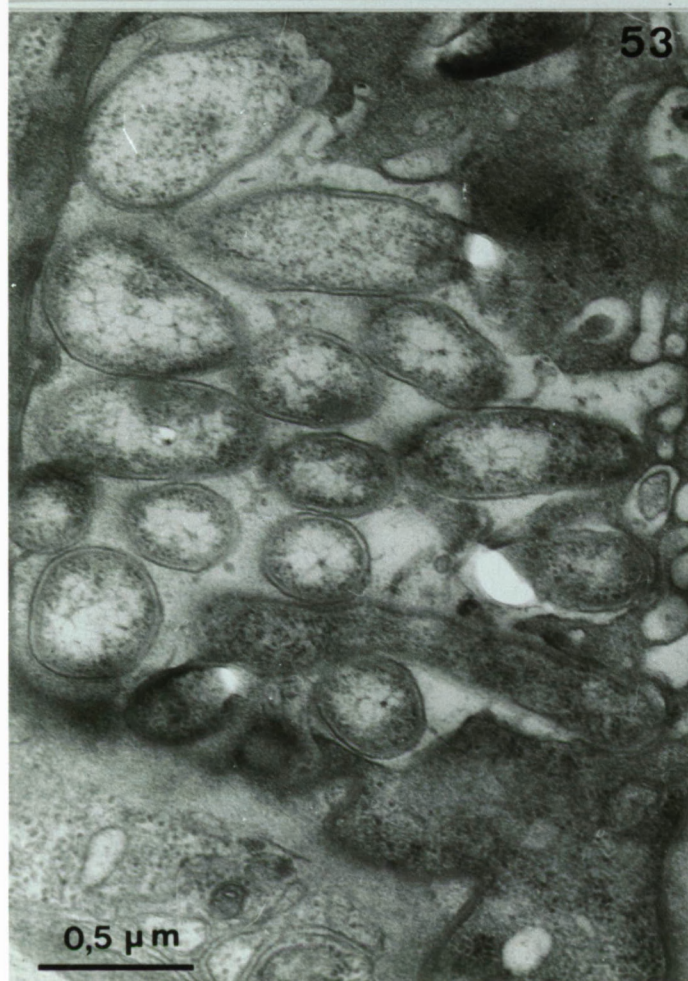
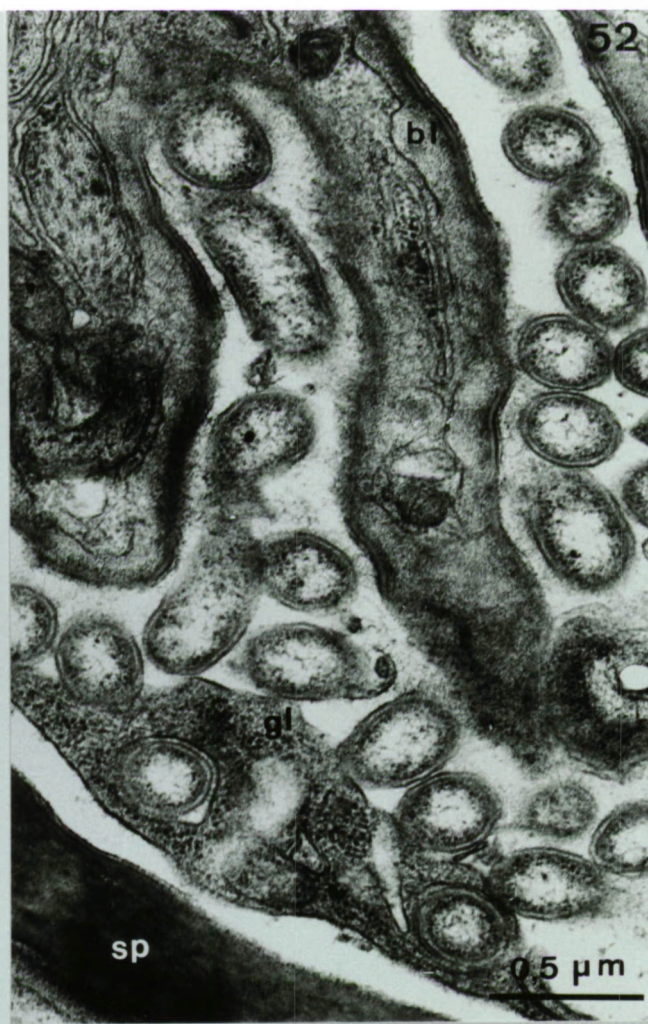
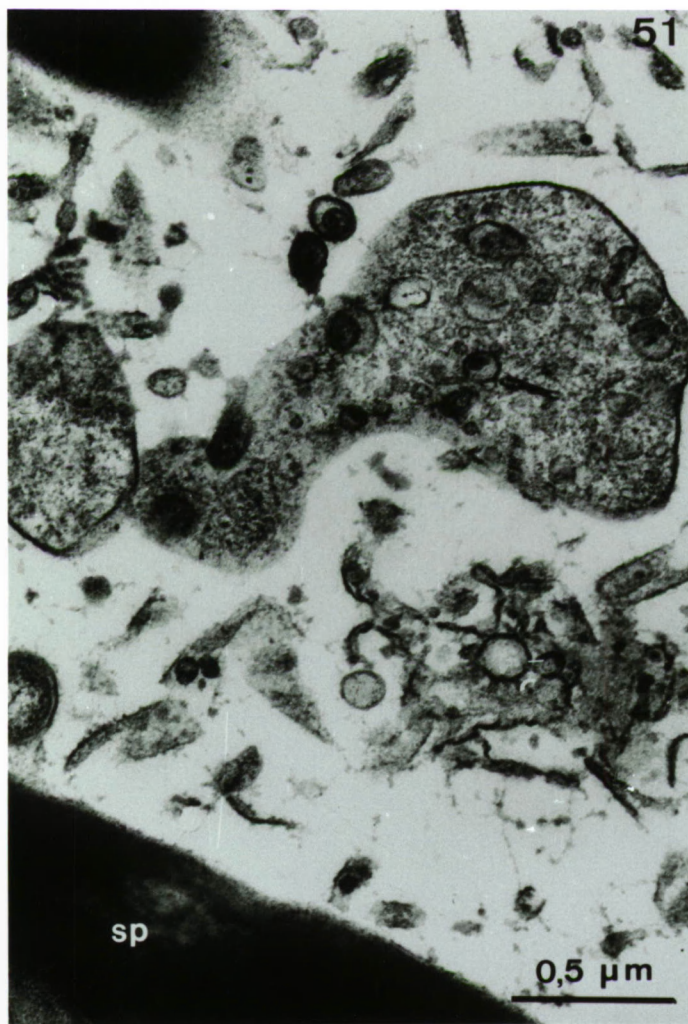


Archilopsis unipunctata

Afb. 51. : Celdebris in het lumen van het proximaal deel van de cirrus.

Afb. 52. en 53. : Bakteriën tussen celresten in het lumen verder distaalwaarts in de cirrus.

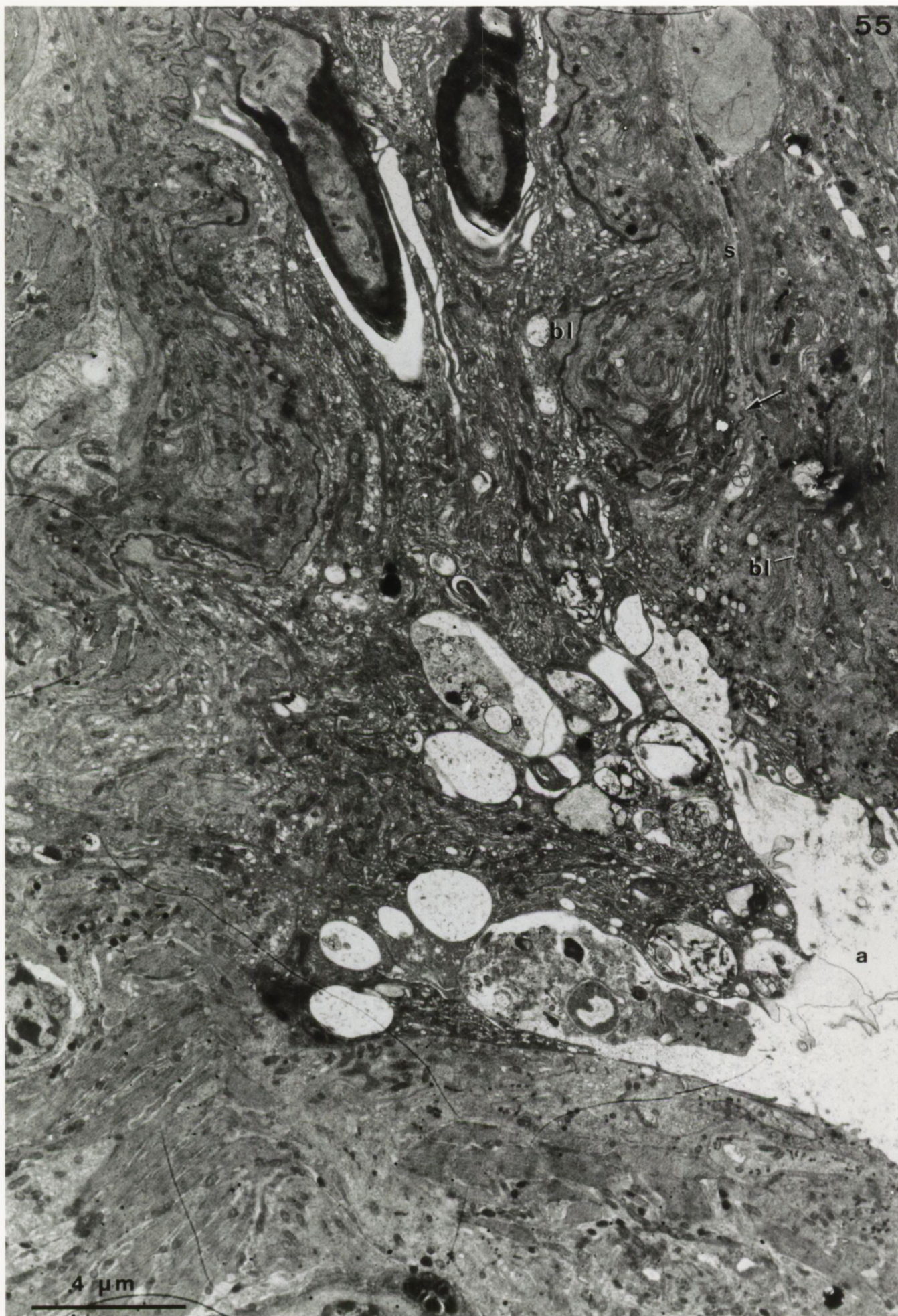
Afb. 54. : Stapelingen van cytoplasma zakken hier en daar nog aangesloten tegen de dikke basale lamina waaruit de stekel is opgebouwd.



Afb. 55. : *Archilopsis unipunctata*

Prop van cytoplasma-resten volledig distaal in de cirrus.

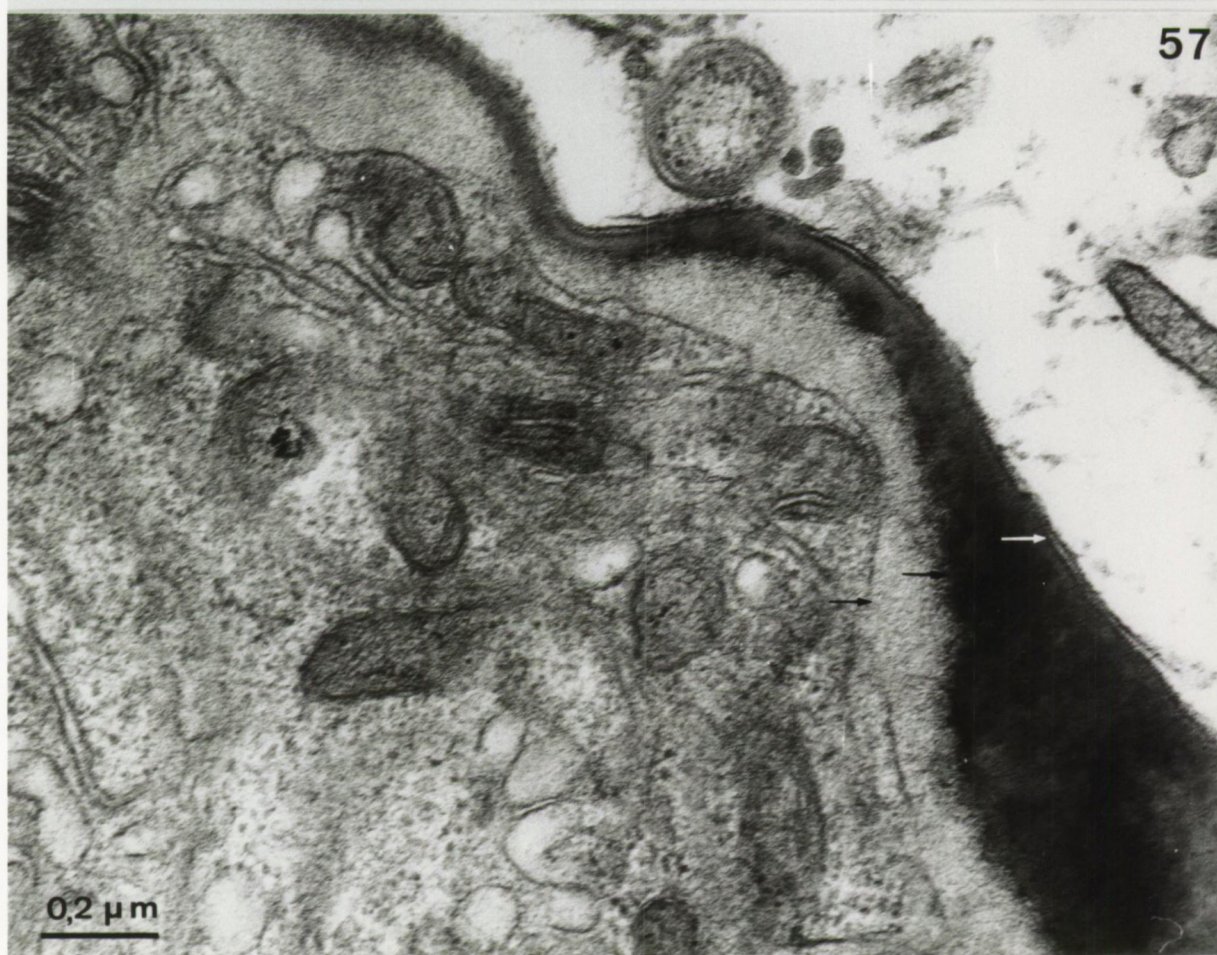
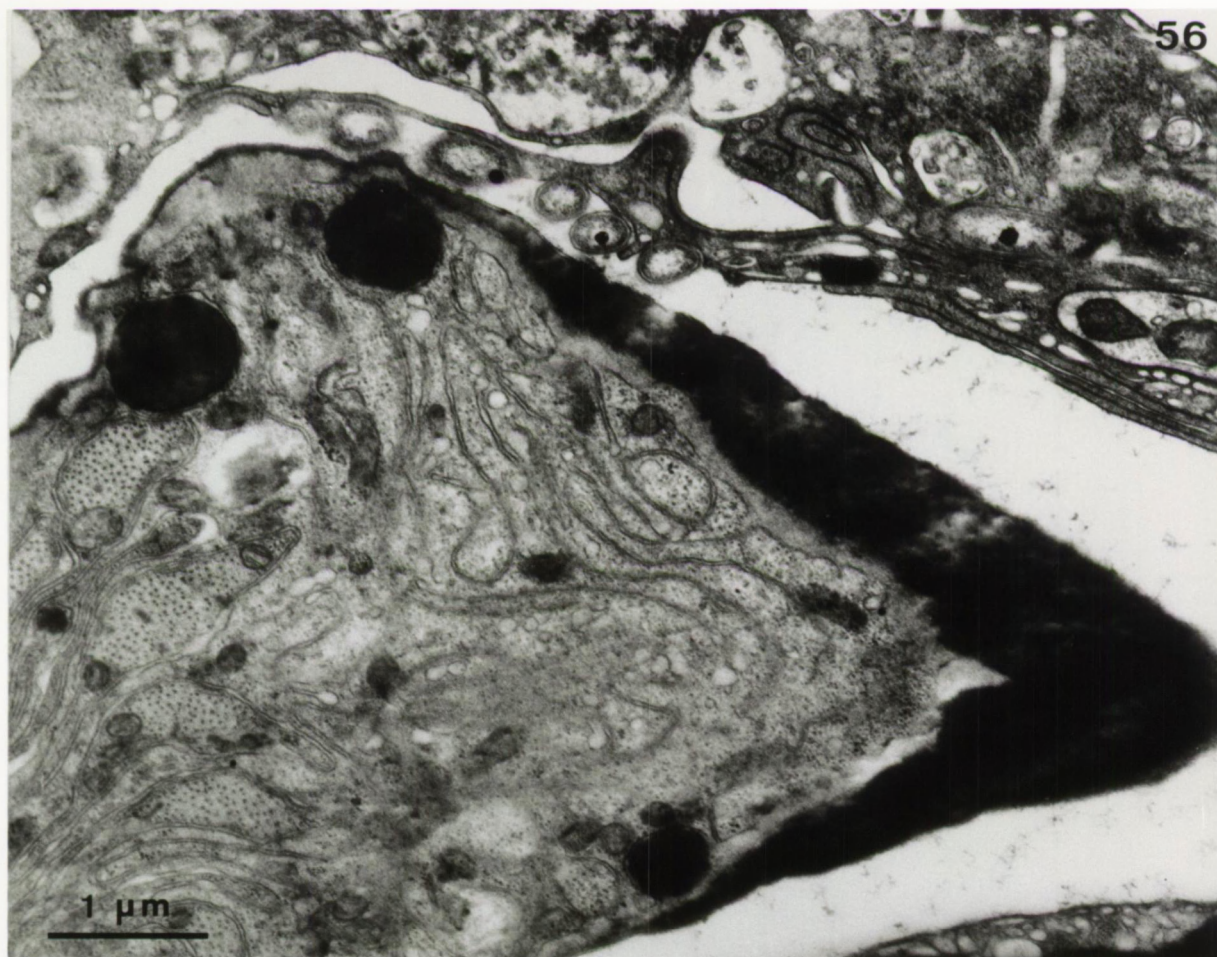
Bemerkt tevens hoe de basale lamina van de cirrus continu is met het septum en met de basale lamina van het epitheel in het atrium (pijl).



Archilopsis unipunctata

Afb. 56. : Stekel gevormd door een plaatselijke verdikking van de basale lamina. Sekreetgranula met dezelfde elektronendensiteit als de stekelvormende laag worden vanuit de cirrusspieren in de basale lamina afgezet.

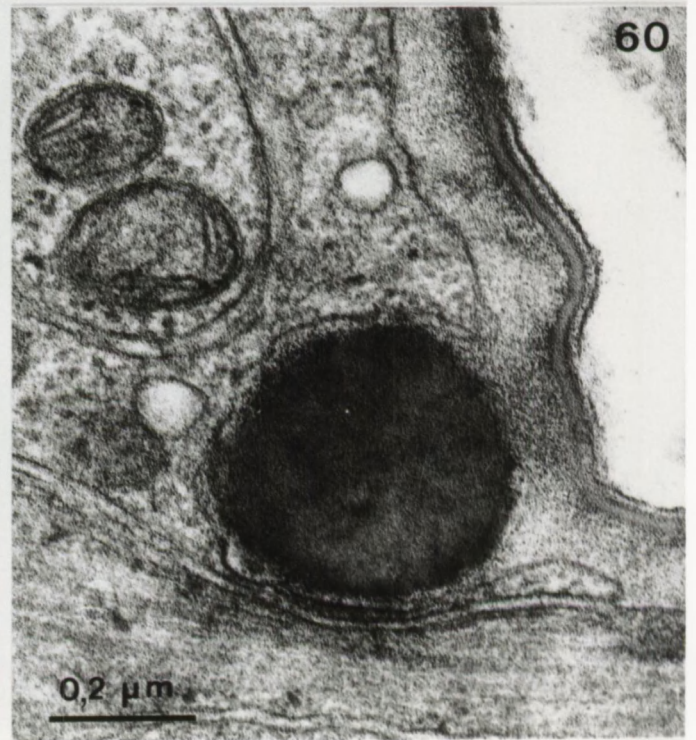
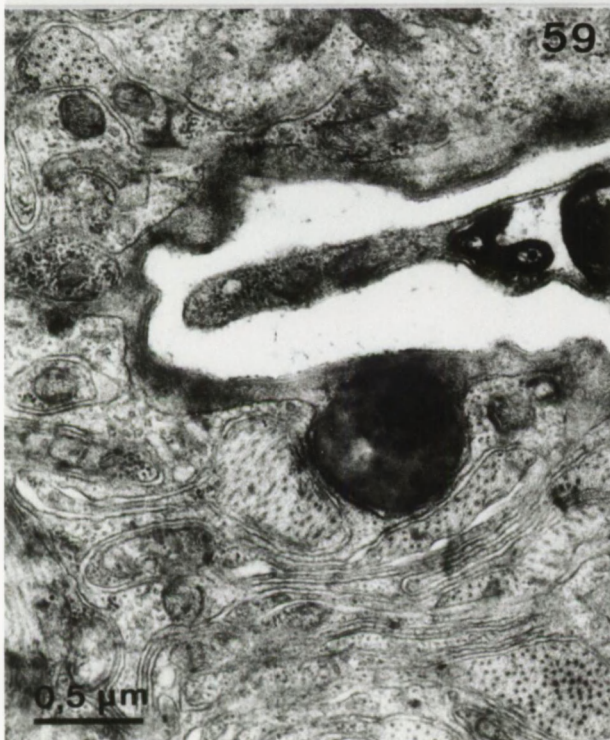
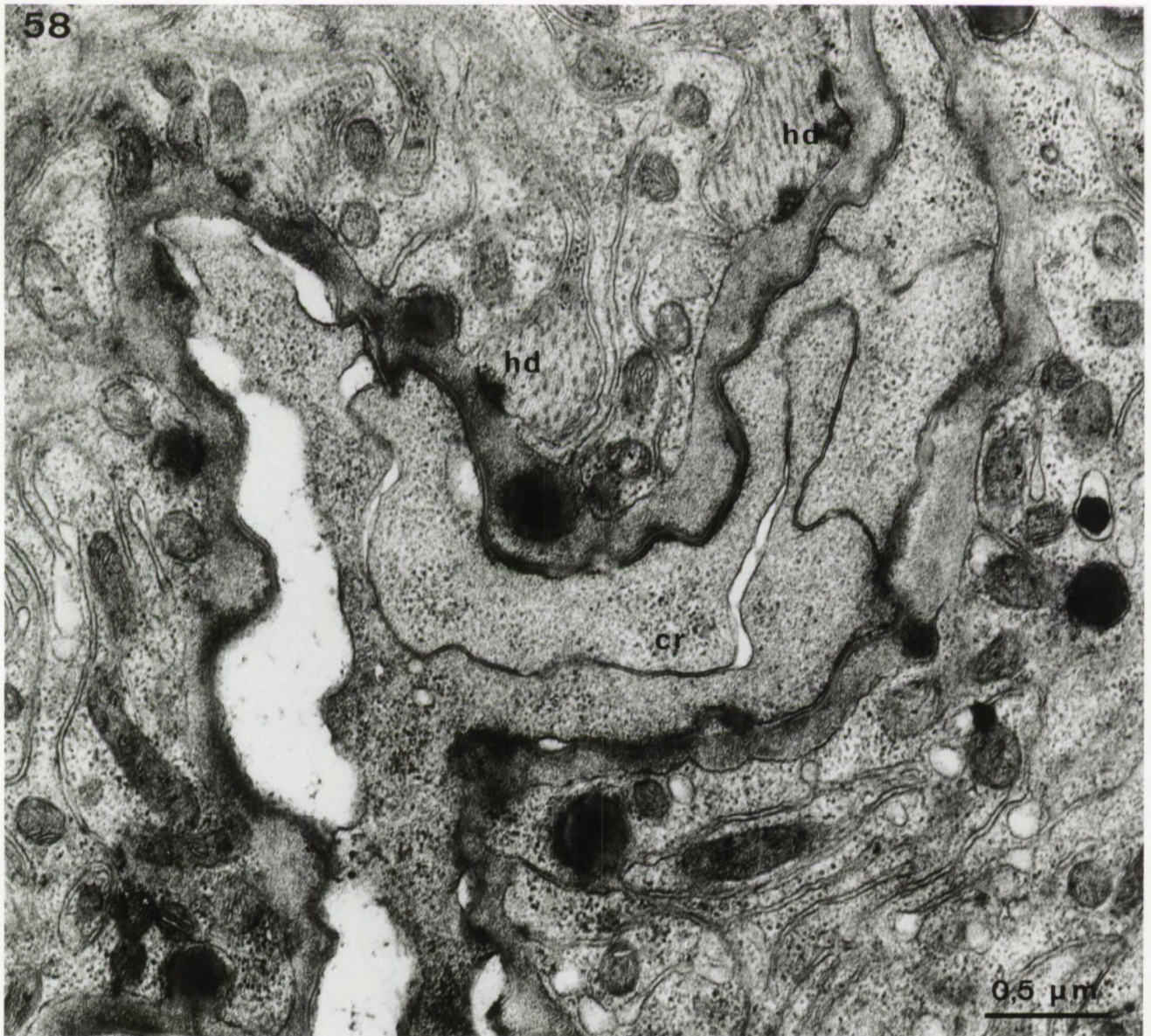
Afb. 57. : Vergroting van een stekel ter hoogte van de basis. In de basale lamina zijn drie lagen merkbaar (pijlen).



Archilopsis unipunctata

Afb. 58. : Doorsnede door de cirrus waarin verschillende elektronendense sekreetgranula zichtbaar zijn in de spieren en in de inwendige laag van de basale lamina.

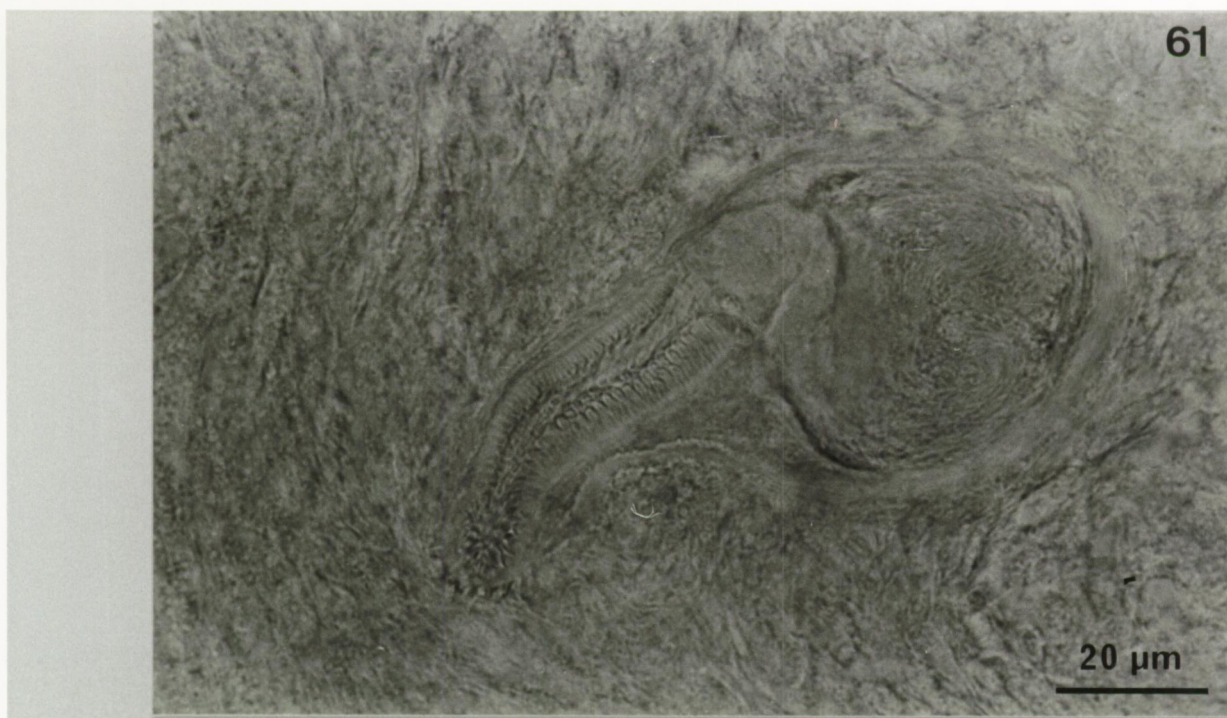
Afb. 59. en 60. : Sekreetgranula afgezet in de basale lamina waar de elektronendense inhoud fusioneert met de middenlaag van de basale lamina.



Promonotus schultzei

Afb. 61. : Lichtmikroskopisch preparaat van het kopulatie-
orgaan.

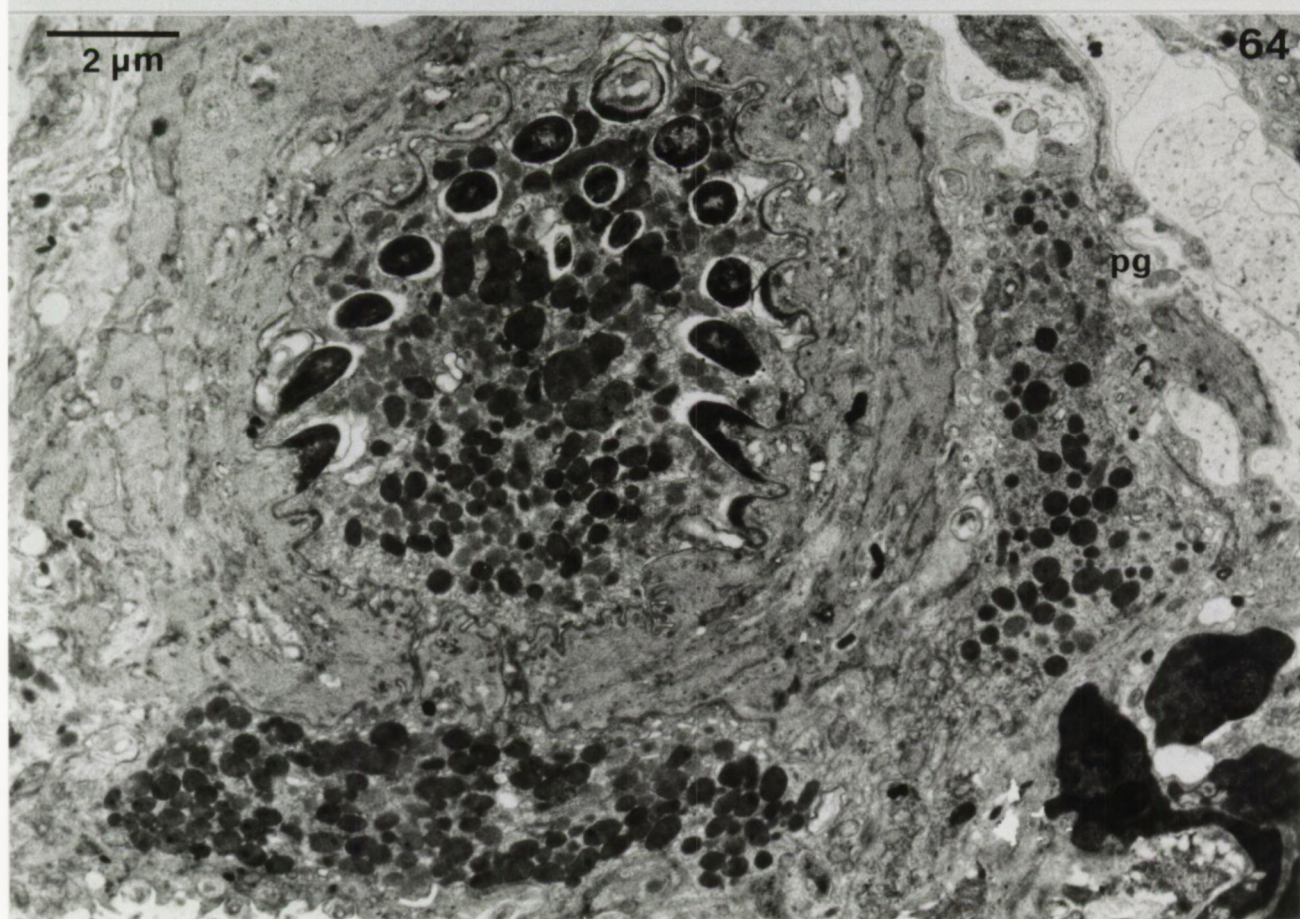
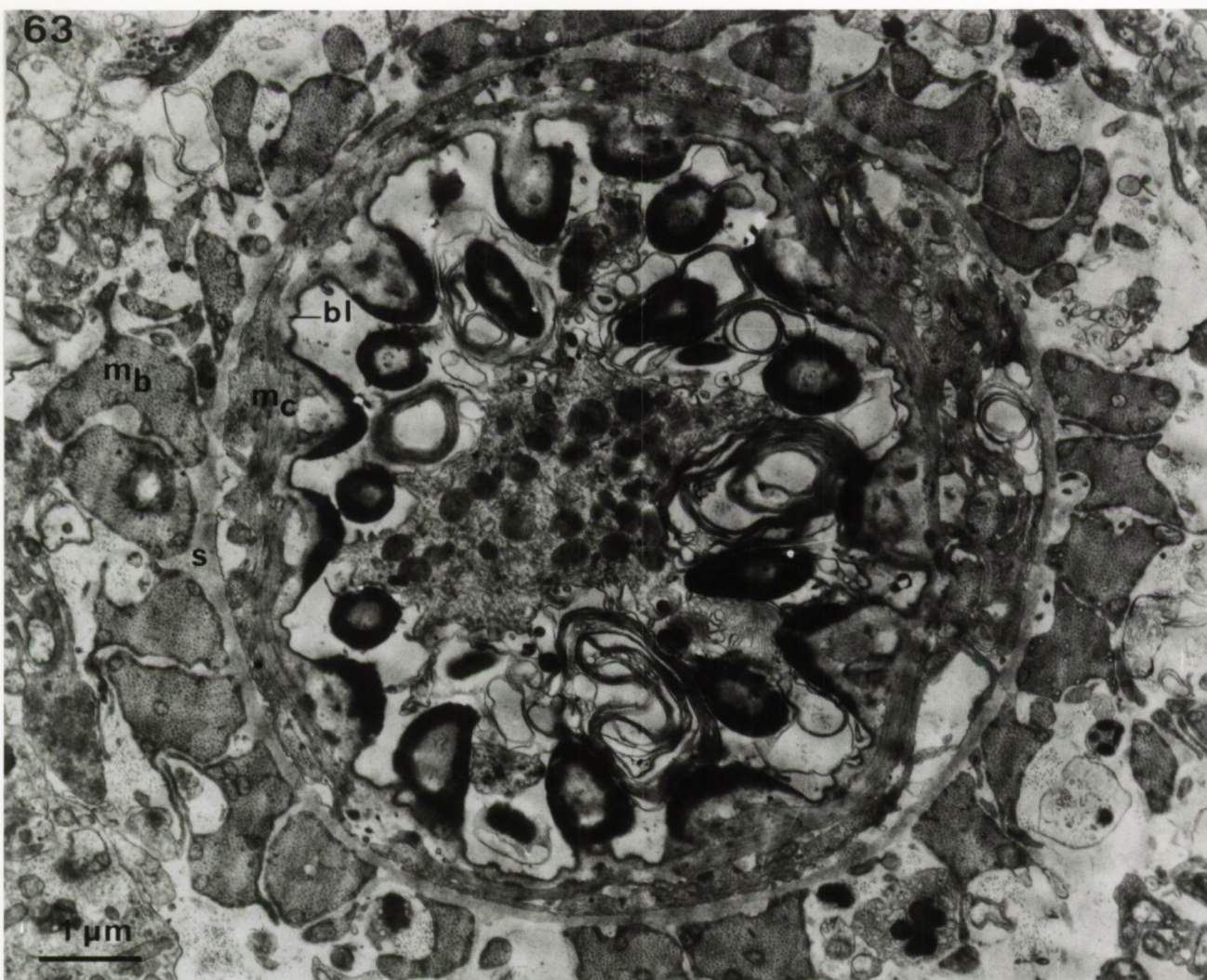
Afb. 62. : Doorsnede door de kopulatorische bulbus.



Promonotus schultzei

Afb. 63. : Dwarse doorsnede van de cirrus. In het lumen van de cirrus zijn sekreetgranula van de prostaatklieren waarneembaar tussen de celresten.

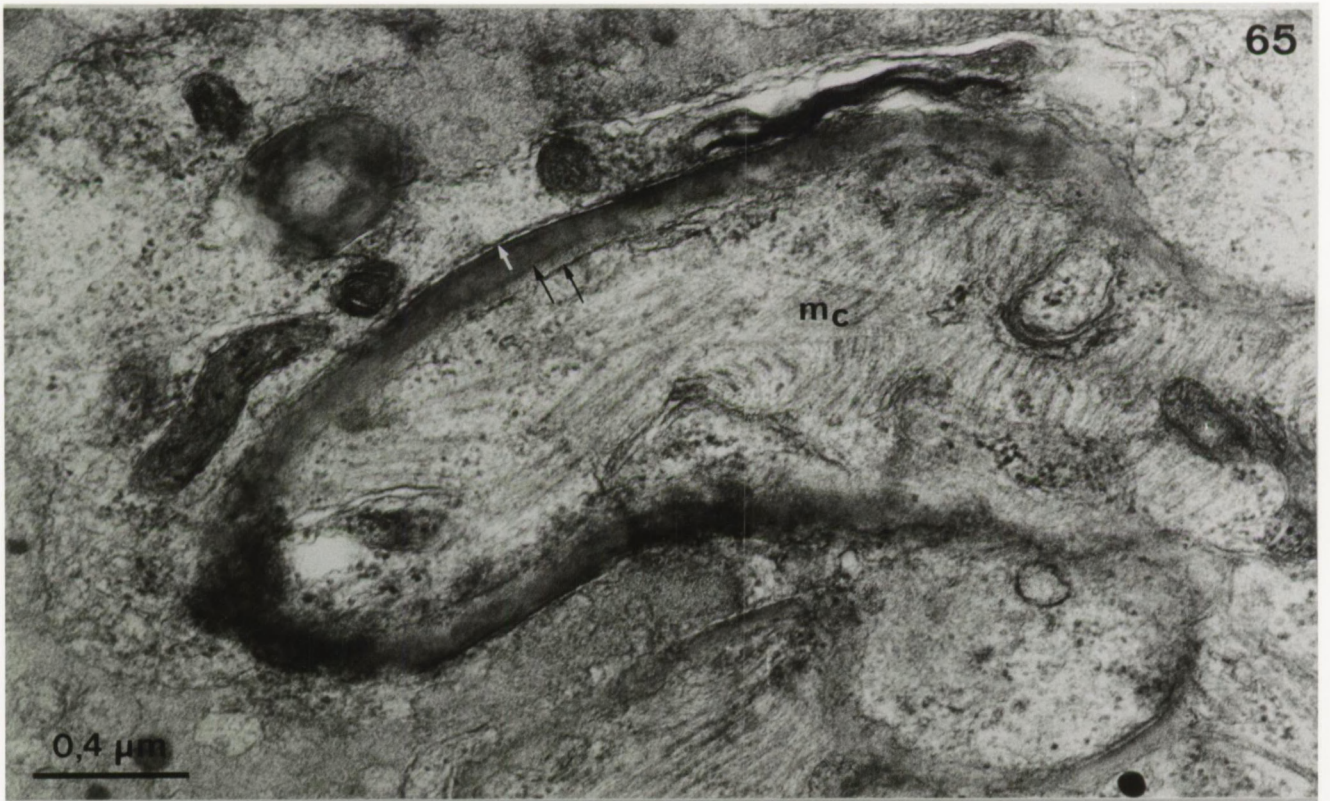
Afb. 64. : Distale eind van de cirrus waar de kliercellen van de prostaat in het lumen uitmonden.



Afb. 65. en 66. : *Promonotus schultzei*

Vergrotingen van een cirrusstekel. De stekel is opgevuld met spieren. Bemerkt de trilamellaire structuur van de basale lamina (pijlen).

65



66



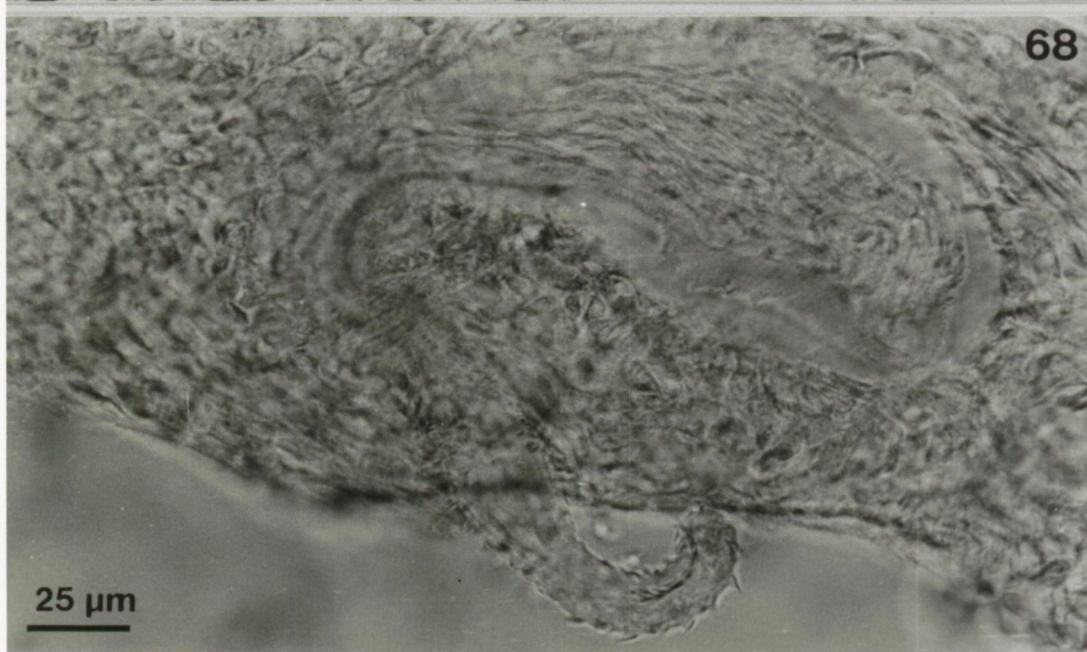
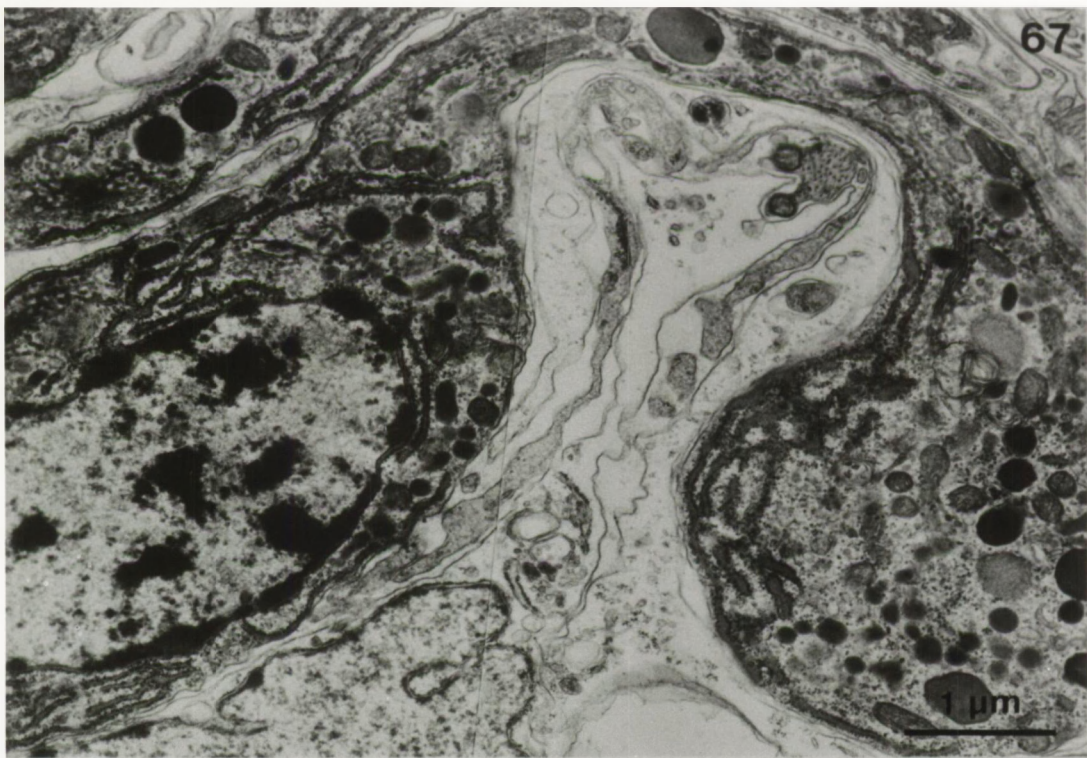
Afb. 67. : *Promonotus schultzei*

Kernhoudend cellichaam van prostaatklieren gekenmerkt door een uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum, talrijke Golgi complexen en vrije ribosomen, en sekreetgranula.

Afb. 68. en 69. : *Promonotus marci*

Afb. 68. : Kopulatieorgaan met uitgestulpte cirrus.

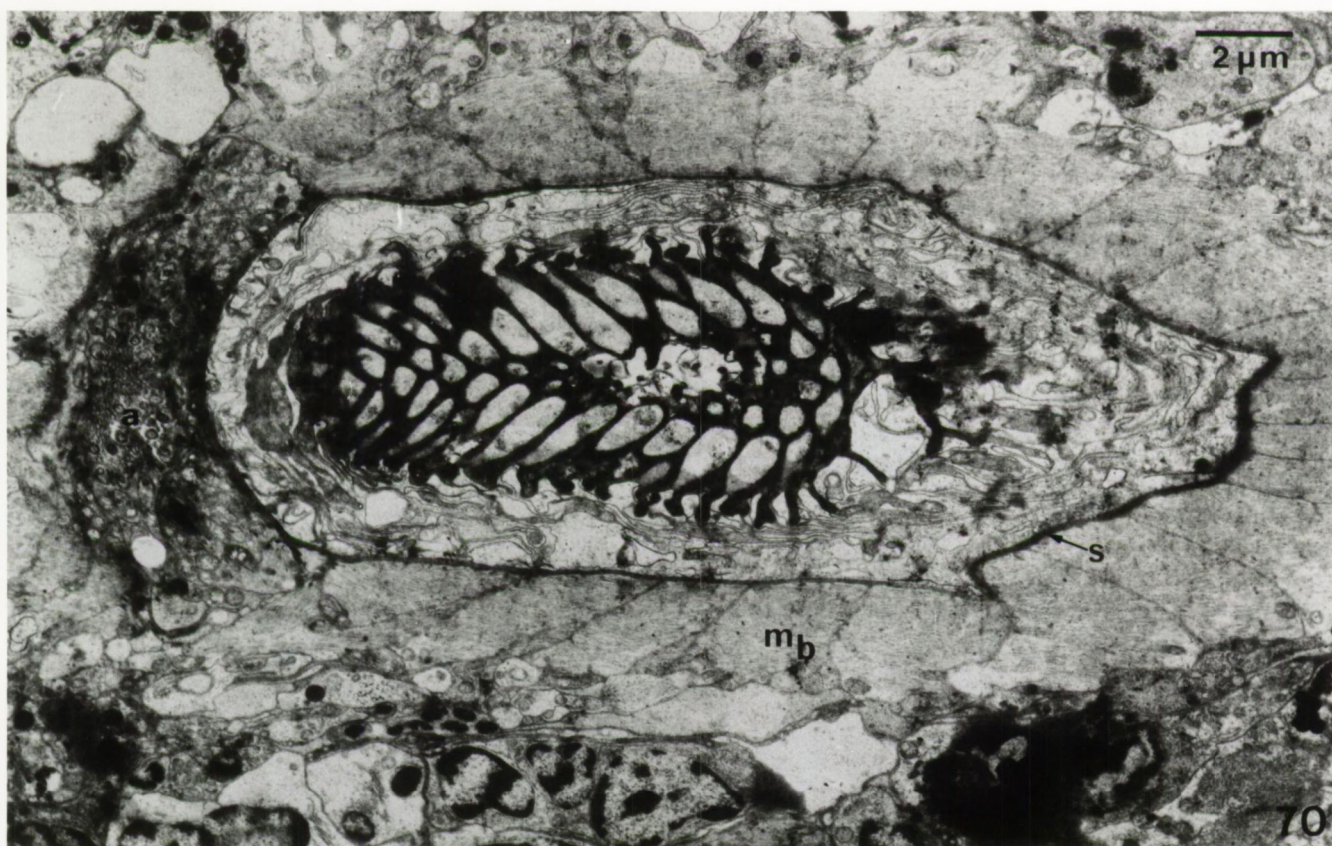
Afb. 69. : Lichtmikroskopische doorsnede van de kopulatorische bulbus.



Promonotus marci

Afb. 70. : Doorsnede door de cirrus. Bemerk de dikke spiermantel van de bulbus, terwijl in de cirrus slechts enkele verspreide spieren voorkomen.

Afb. 71. : Distale eind van de cirrus. Het lumen bevat allerlei celresten.



70

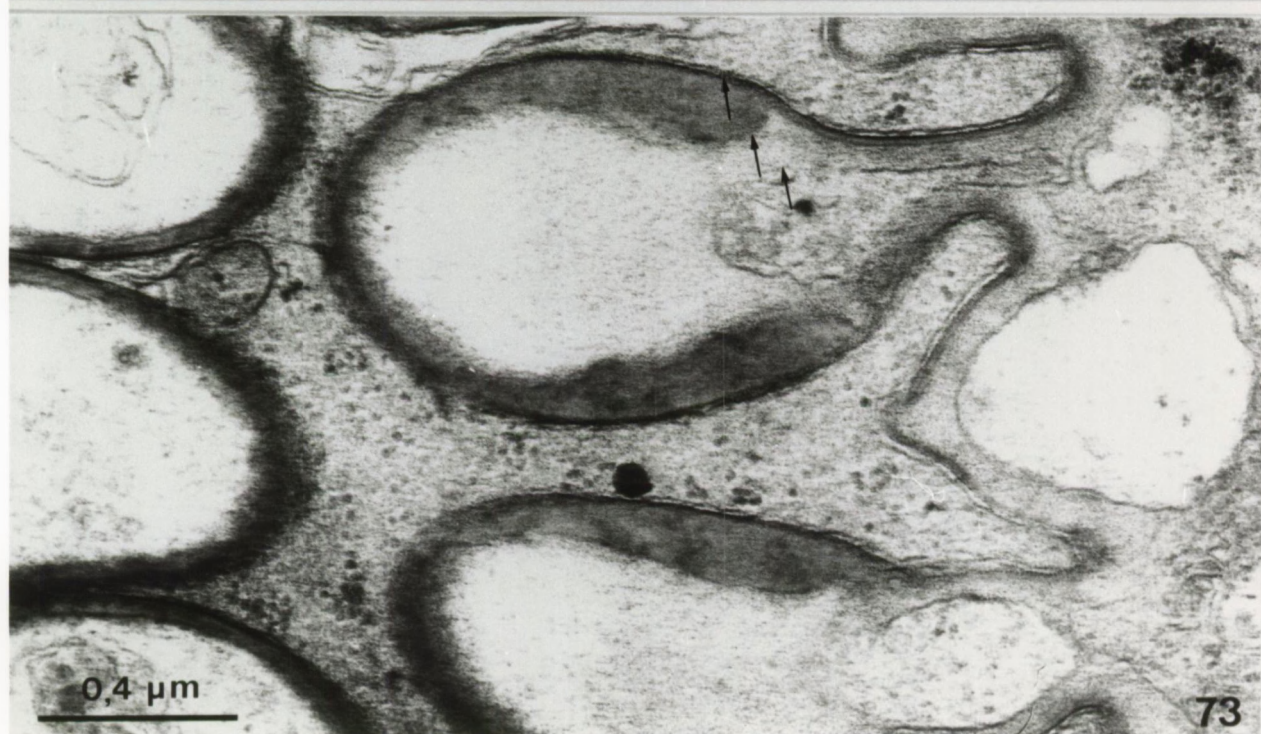


71

Afb. 72. en 73. : *Promonotus marci*

Vergrotingen van cirrusstekels. De stekels zijn gevuld met fijn fibrillair materiaal van de inwendige laag van de basale lamina en/of parenchym elementen.

Bemerkt de trilamellaire structuur van de basale lamina (pijlen).

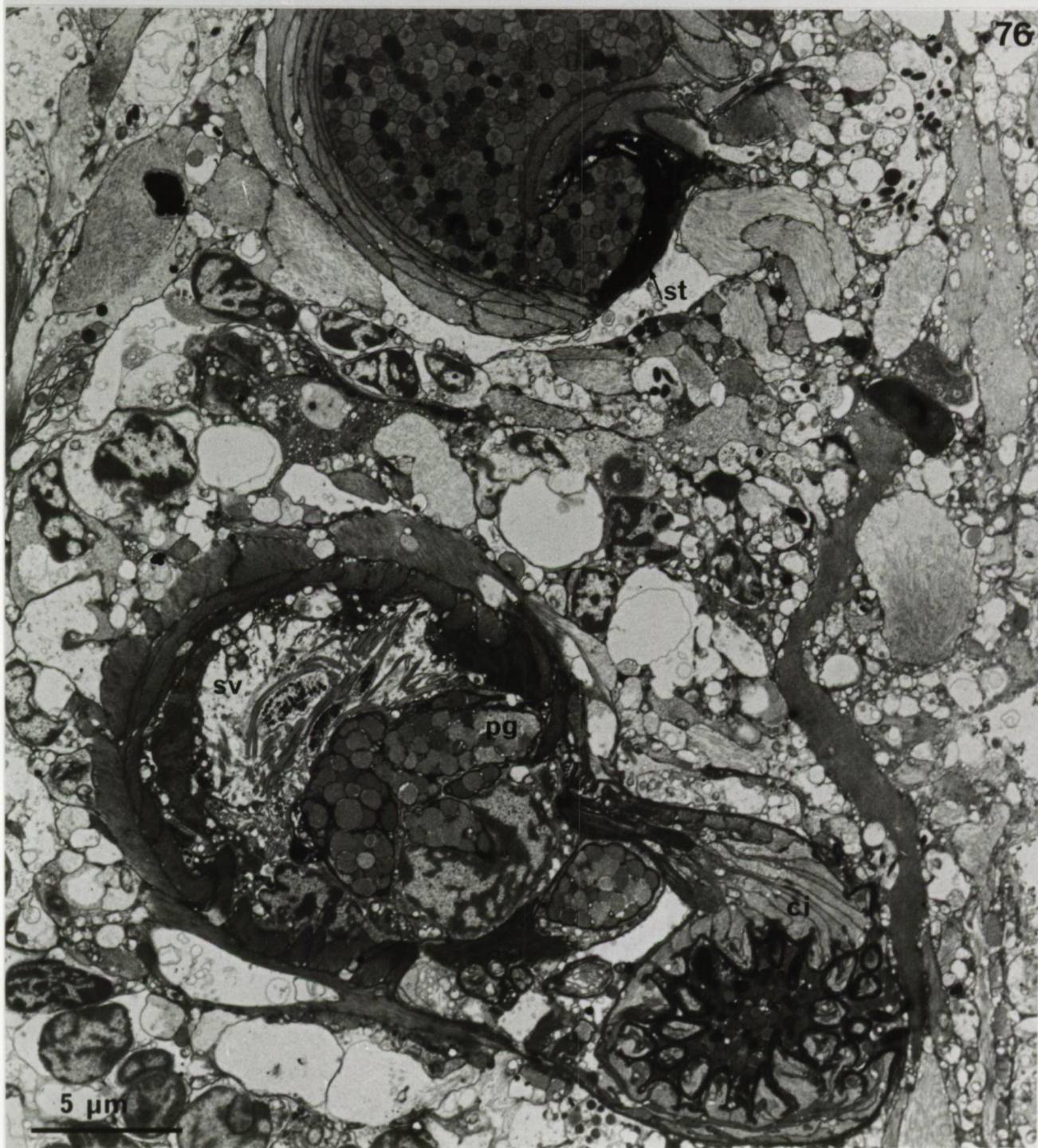
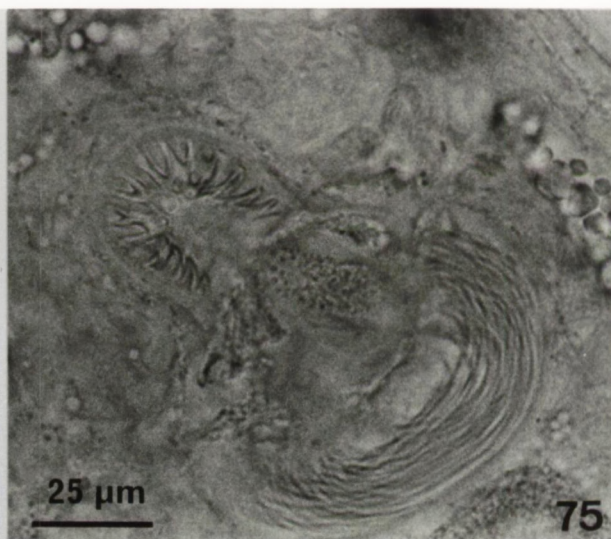
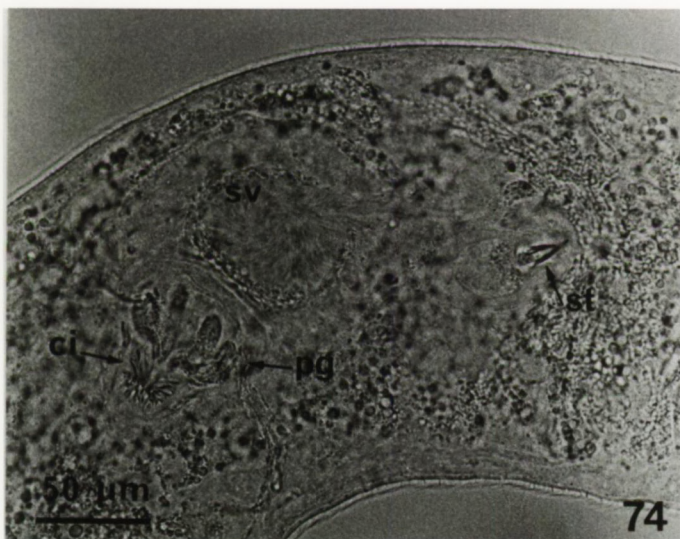


Dupliminona circocirrus, met dezelfde organisatie van de
genitale organen als bij *D. corsicana*.

Afb. 74. : Kopulatieorgaan en accessorisch prostatoid orgaan
met stilet.

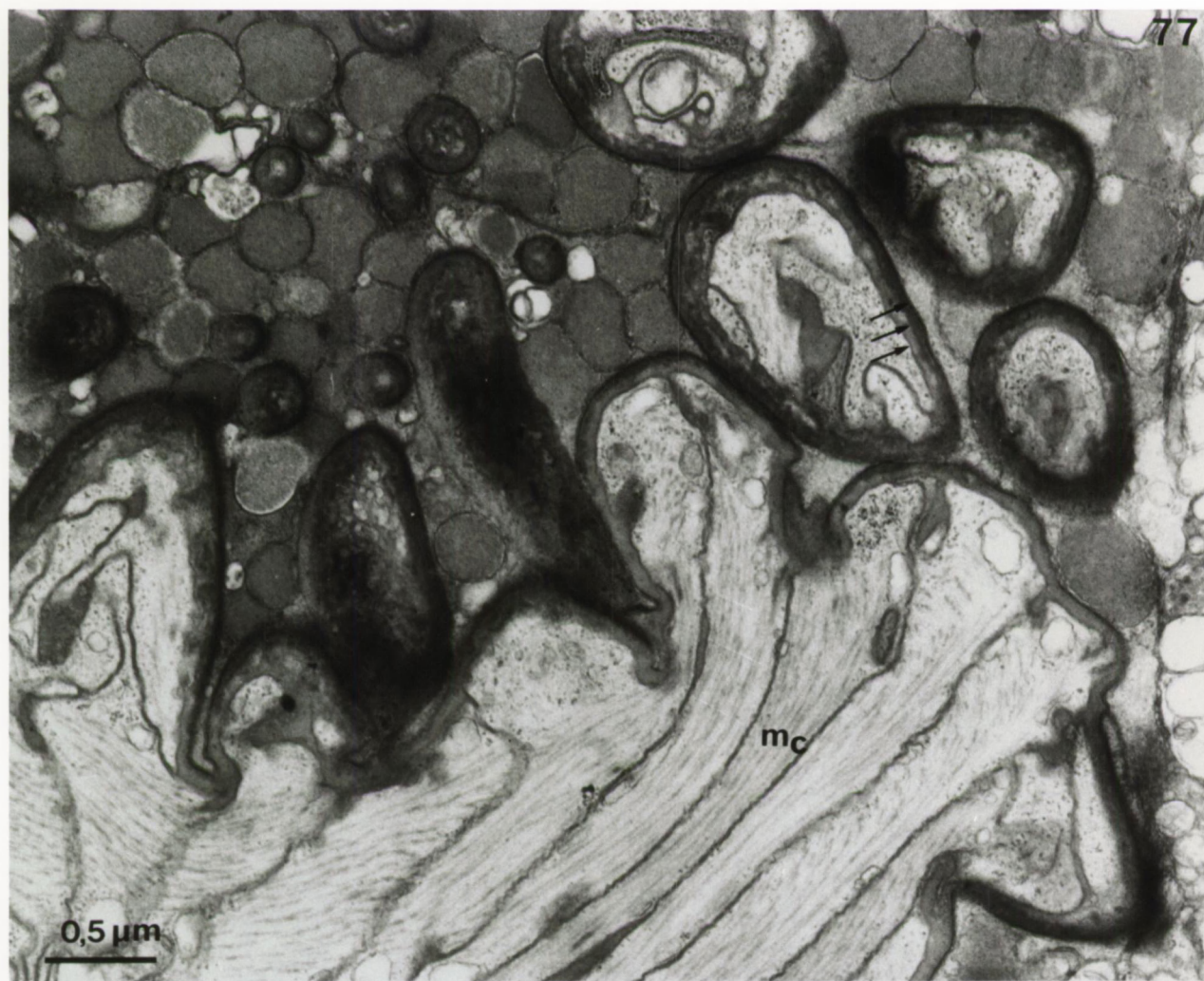
Afb. 75. : Kopulatieorgaan voorzien van een korte cirrus met
stekels.

Afb. 76. : *Dupliminona corsicana*
Doorsnede door het kopulatieorgaan en het accesso-
risch stilet.



Afb. 77. en 78. : *Dupliminona corsicana*

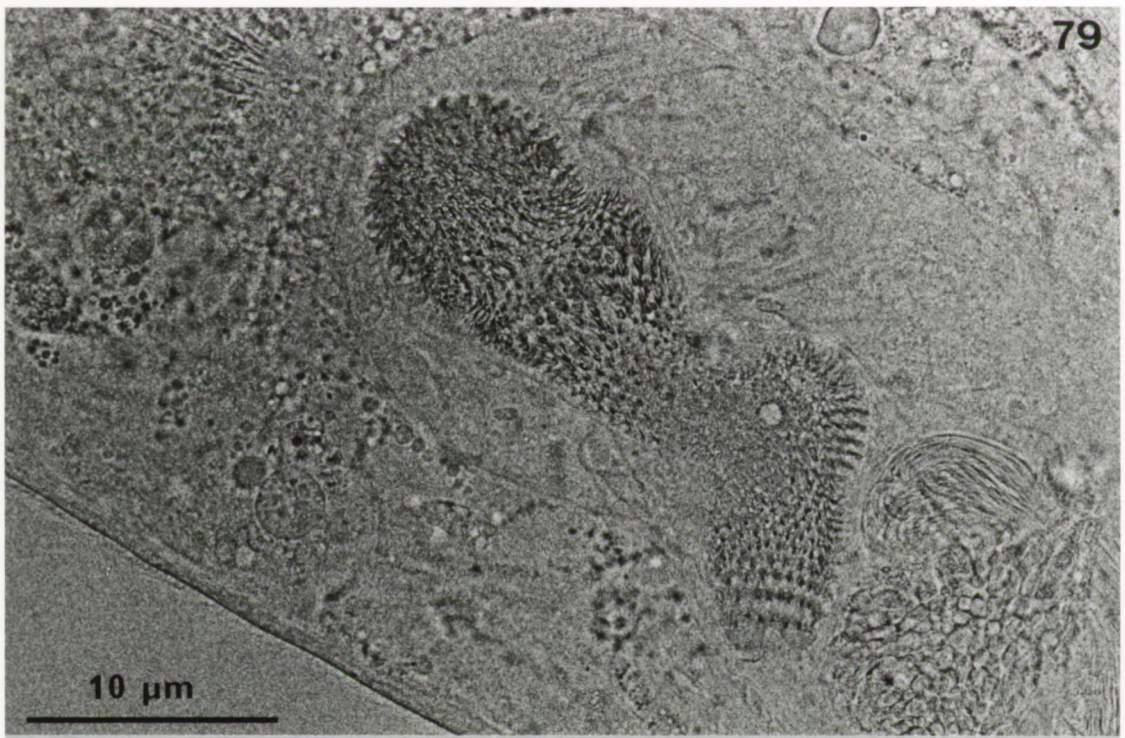
Vergrotingen van cirrusstekels. Spieren van de
cirrus vullen de stekels op. Bemerkt de drie lagen
in de basale lamina (pijlen).



Archiloea petiti

Afb. 79. : Kopulatieorgaan voorzien van een cirrus met stekels.

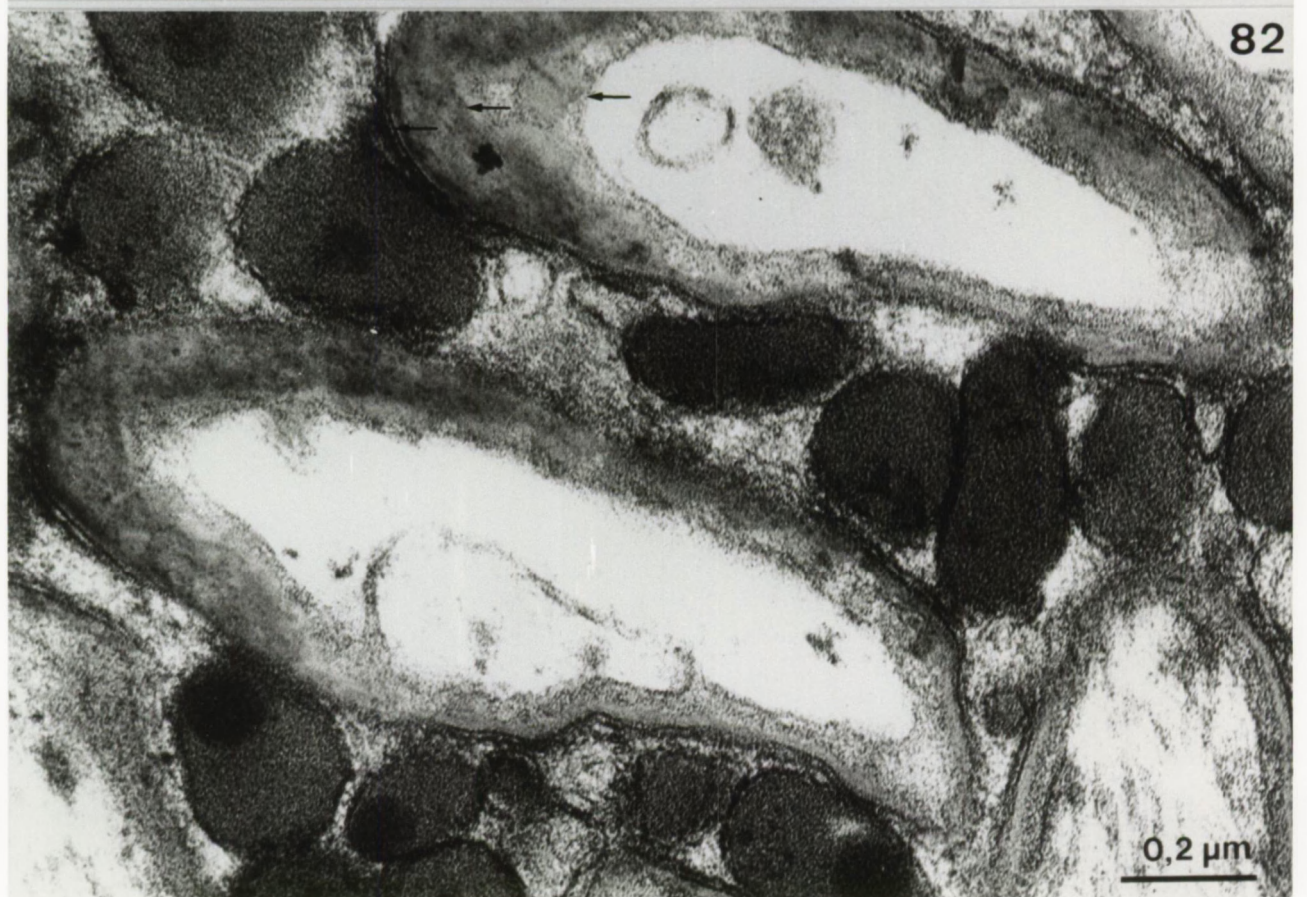
Afb. 80. : Doorsnede door de kopulatorische bulbus. De cirrus
is gedeeltelijk uitgestulpt.



Archiloa petiti

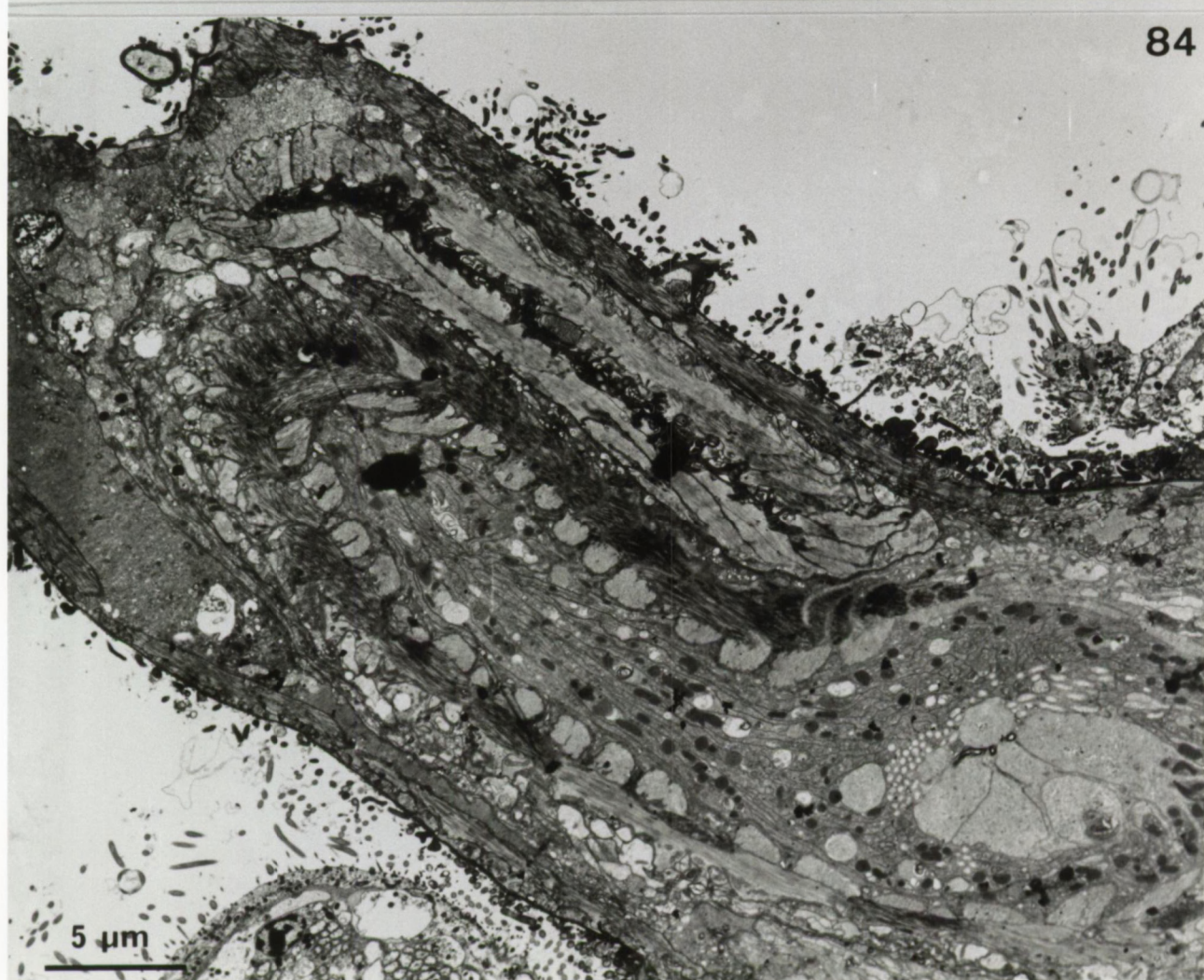
Afb. 81. : De cirrusstekels worden slechts gedeeltelijk opgevuld met spieren. Het lumen is opgevuld met sekreetgranula van de prostaatklieren.

Afb. 82. : Vergroting van cirrusstekels.
Bemerkt de trilamellaire structuur van de basale lamina (pijlen).



Afb. 83. en 84. : *Archiloea westbladi*

Kopulatieorgaan met uitgestulpte cirrus. Een afzonderlijke prostaatvesikel is voorzien van een eigen cirrus.

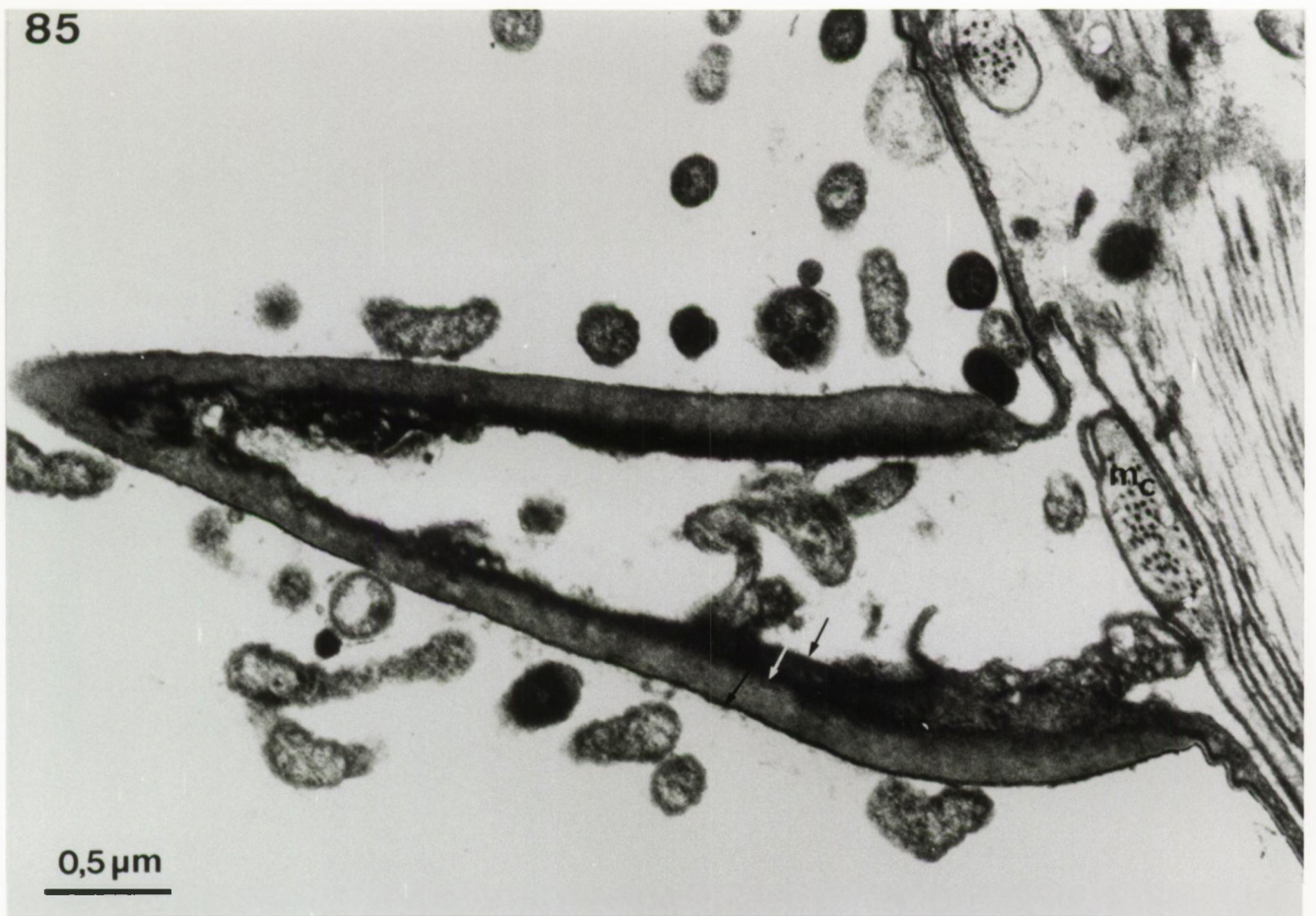


Archiloa westbladi

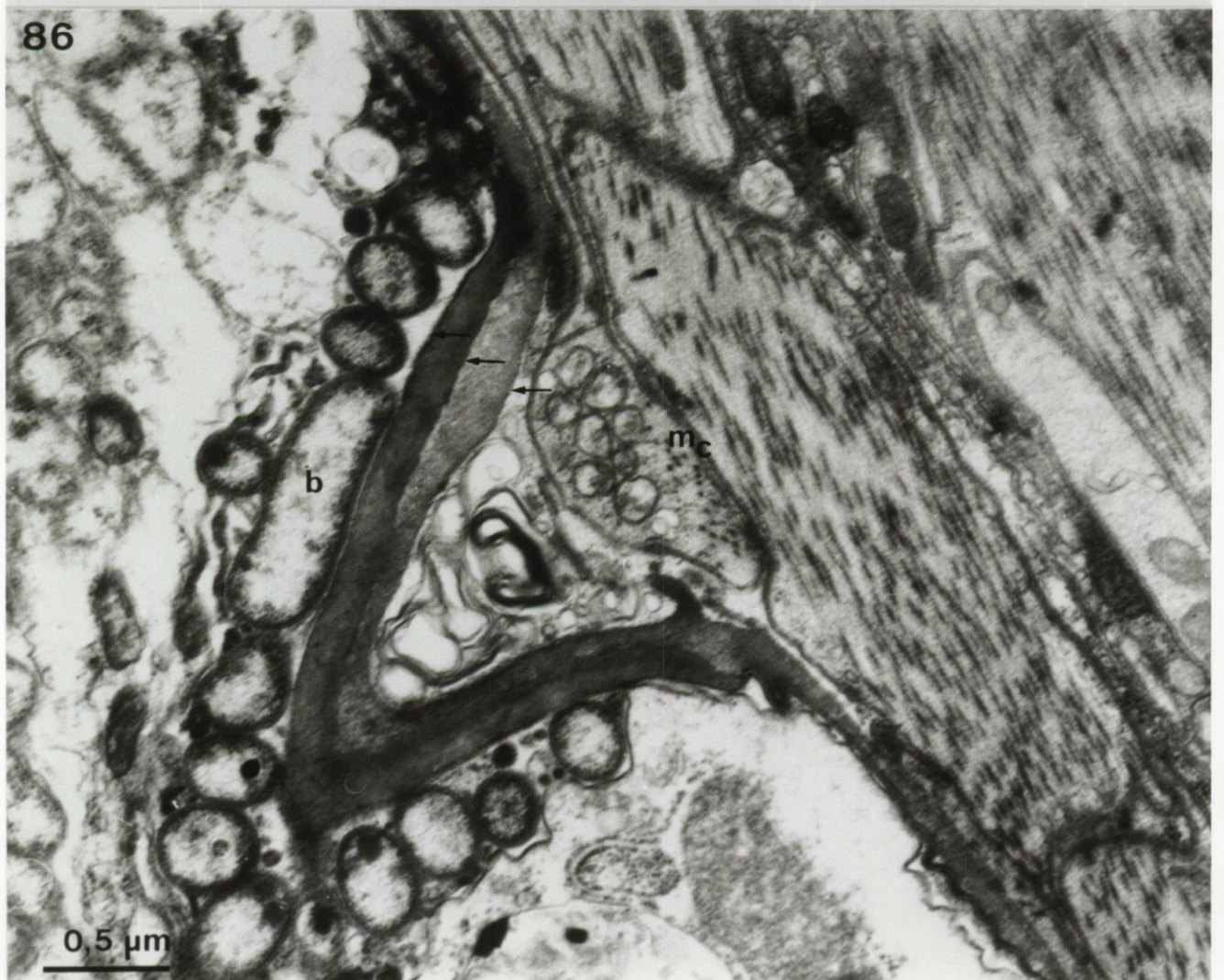
Afb. 85. : Stekel van uitgestulpte cirrus.

Afb. 86. : Cirrusstekel omgeven door bacteriën die in het lumen tussen celresten voorkomen.
De stekels worden slechts gedeeltelijk door spieren opgevuld. Bemerkt de trilamellaire structuur van de basale lamina (pijlen).

85



86



Afb. 87. : Vergroting van een cirrusstekel bij

Archiloa westbladi.

De drie lagen in de basale lamina zijn aangeduid
met pijltjes.

Afb. 88. : Prostaatvesikel bij *Archiloa petiti*.

87



88

Monocelopsis otoplanoides

Afb. 89. : Kopulatieorgaan voorzien van een cirrus met stekels.

Afb. 90. : Doorsnede door de kopulatorische bulbus. Bemerk
de gelobde vorm van de stekels.

90



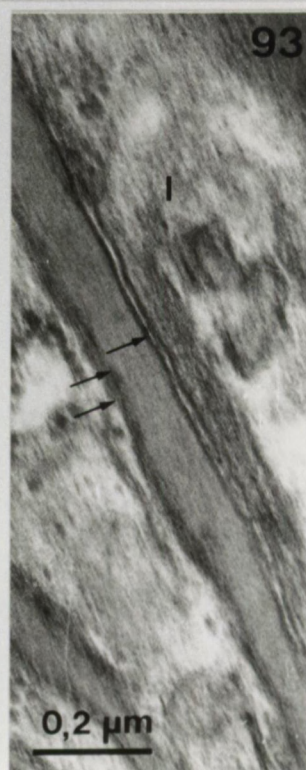
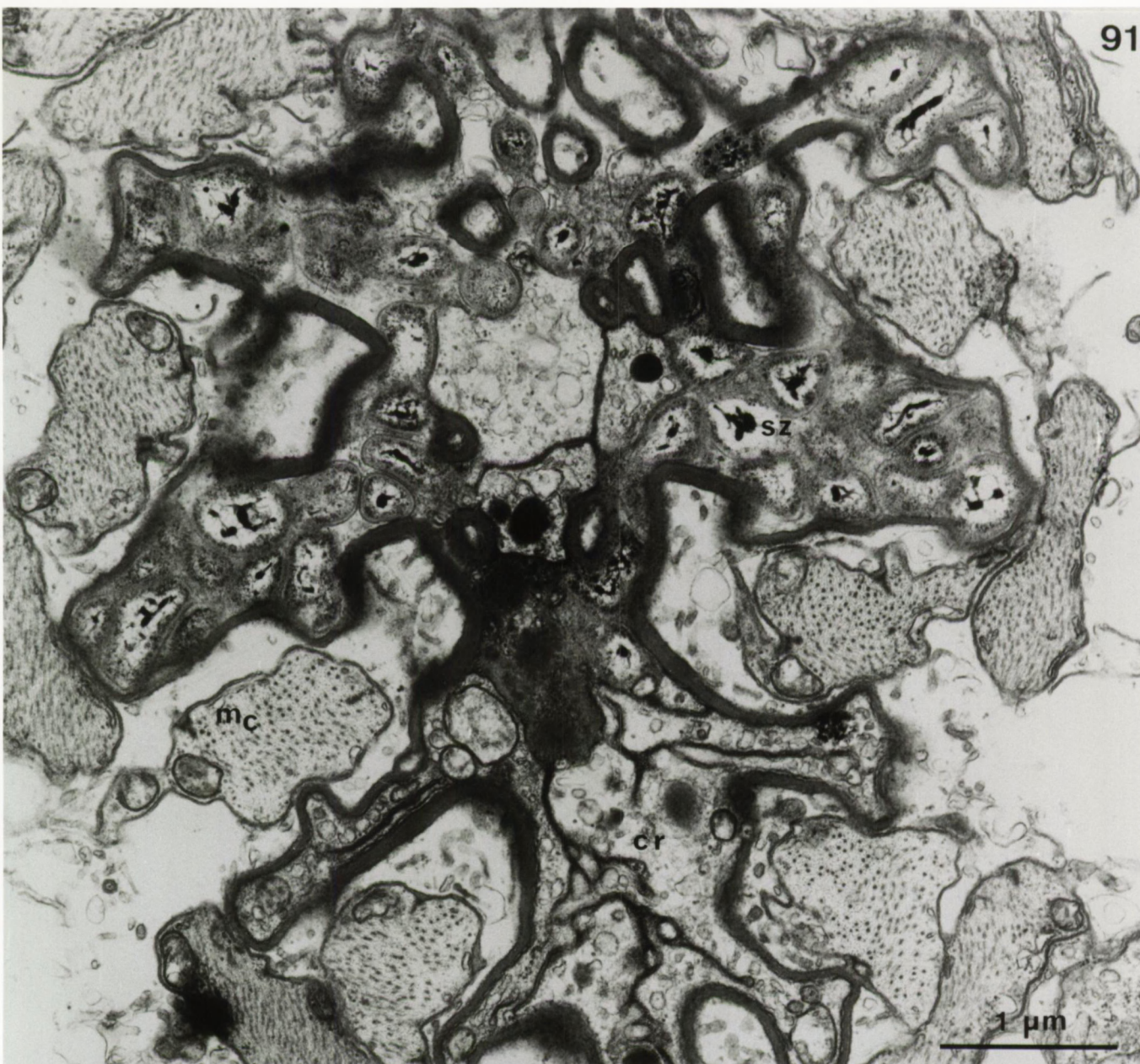
89



Monocelopsis otoplanoides

Afb. 91. : Dwarse doorsnede van de cirrus. De stekels worden slechts gedeeltelijk opgevuld met spieren.
Bemerk in het lumen spermatozoa tussen cellulaire resten.

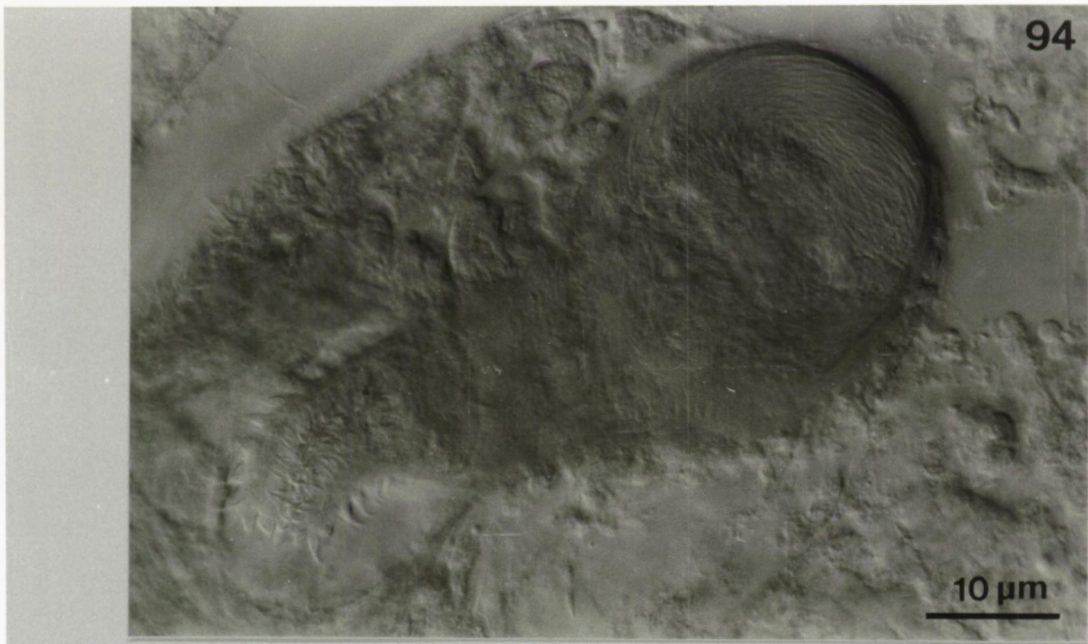
Afb. 92. en 93. : Vergrotingen van een stekel. De drie lagen in de basale lamina zijn aangeduid met pijltjes.



Promonotus sp.

Afb. 94. : Lichtmikroskopische opname van het kopulatieorgaan.

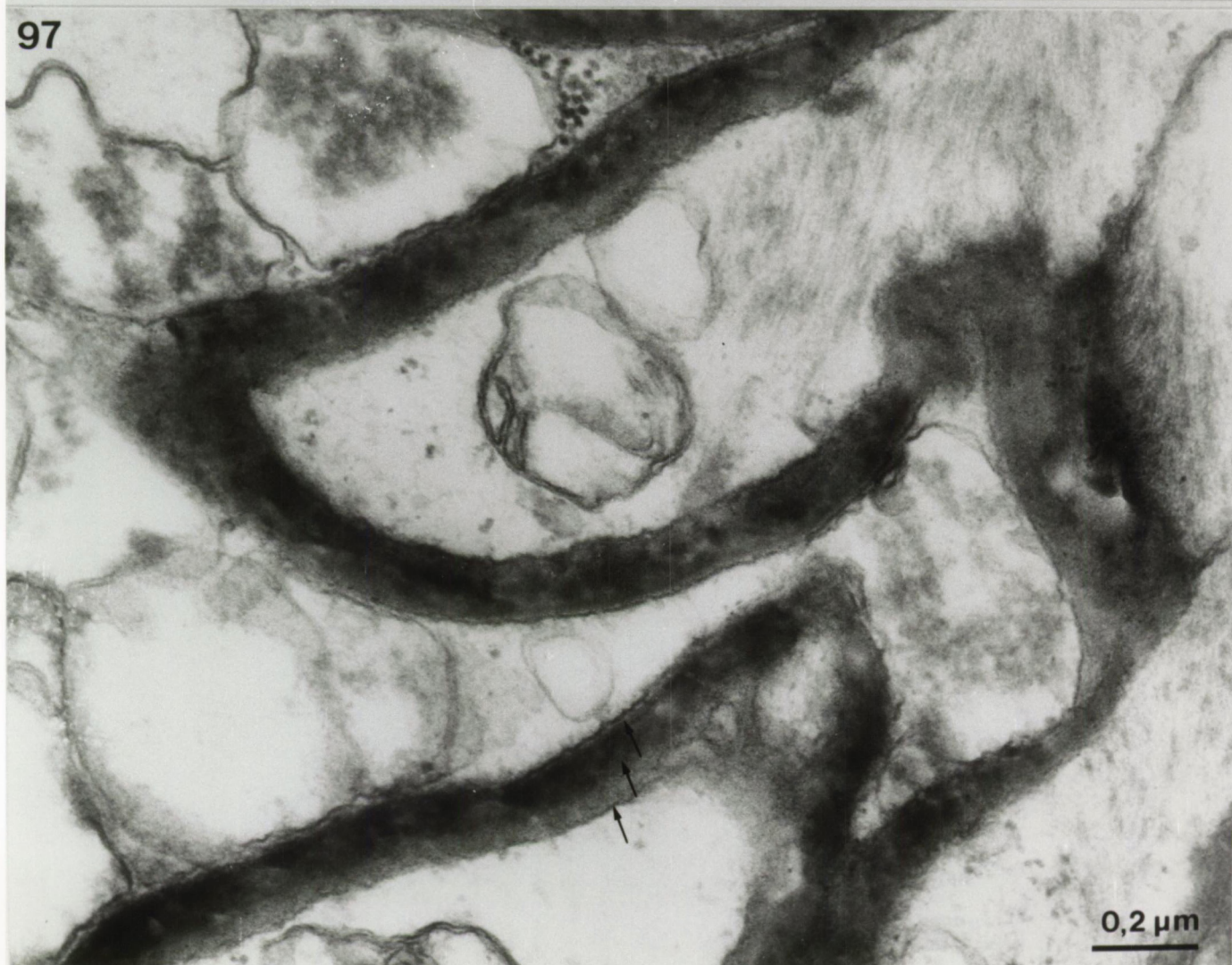
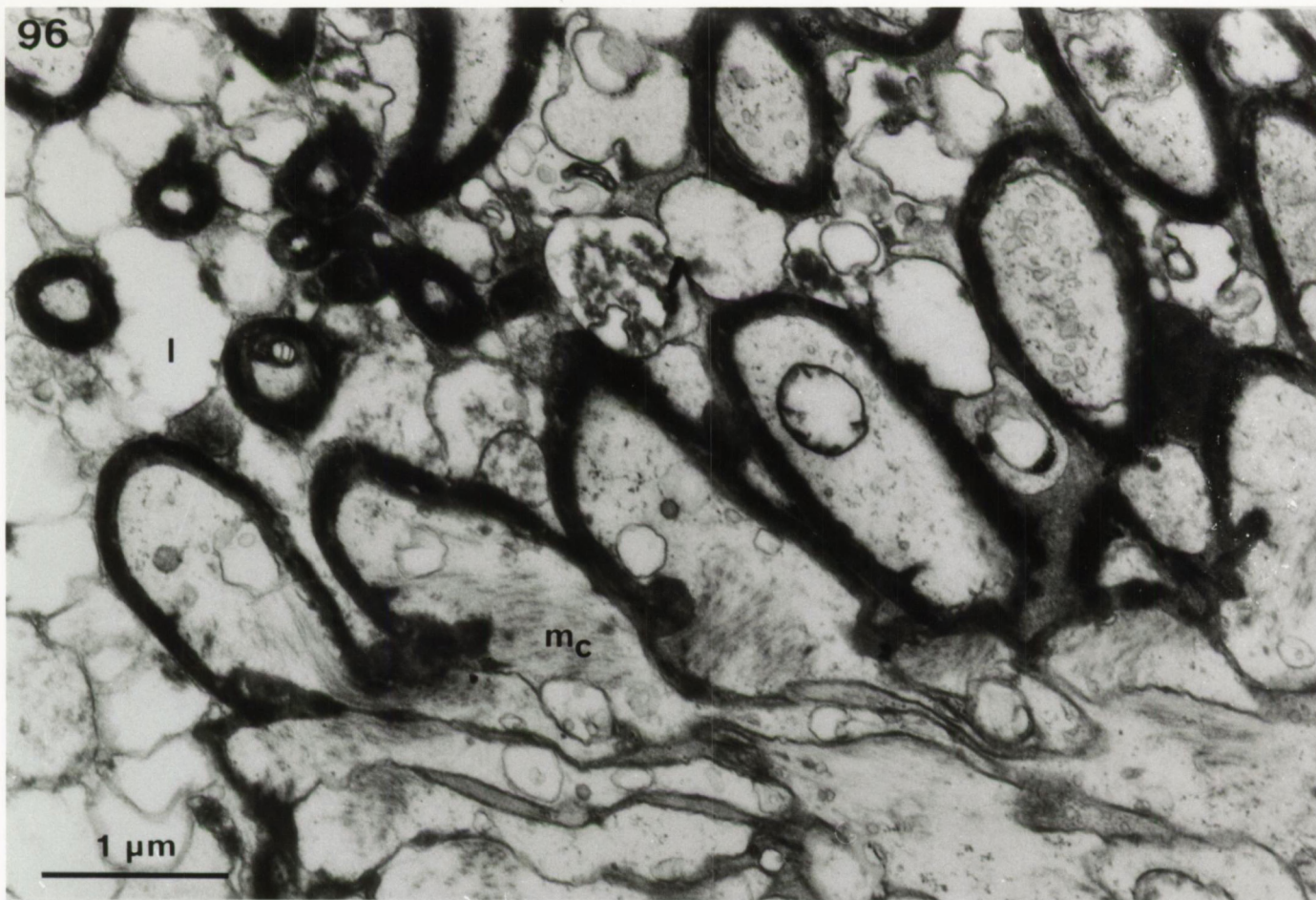
Afb. 95. : Doorsnede door de kopulatorische bulbus.



Promonotus sp.

Afb. 96. : Het lumen van de cirrus is opgevuld met allerlei celresten. De stekels worden slechts gedeeltelijk opgevuld met spieren van de cirrus.

Afb. 97. : Vergroting van een cirrusstekel. Bemerkt de trimellaire structuur van de basale lamina (pijlen).

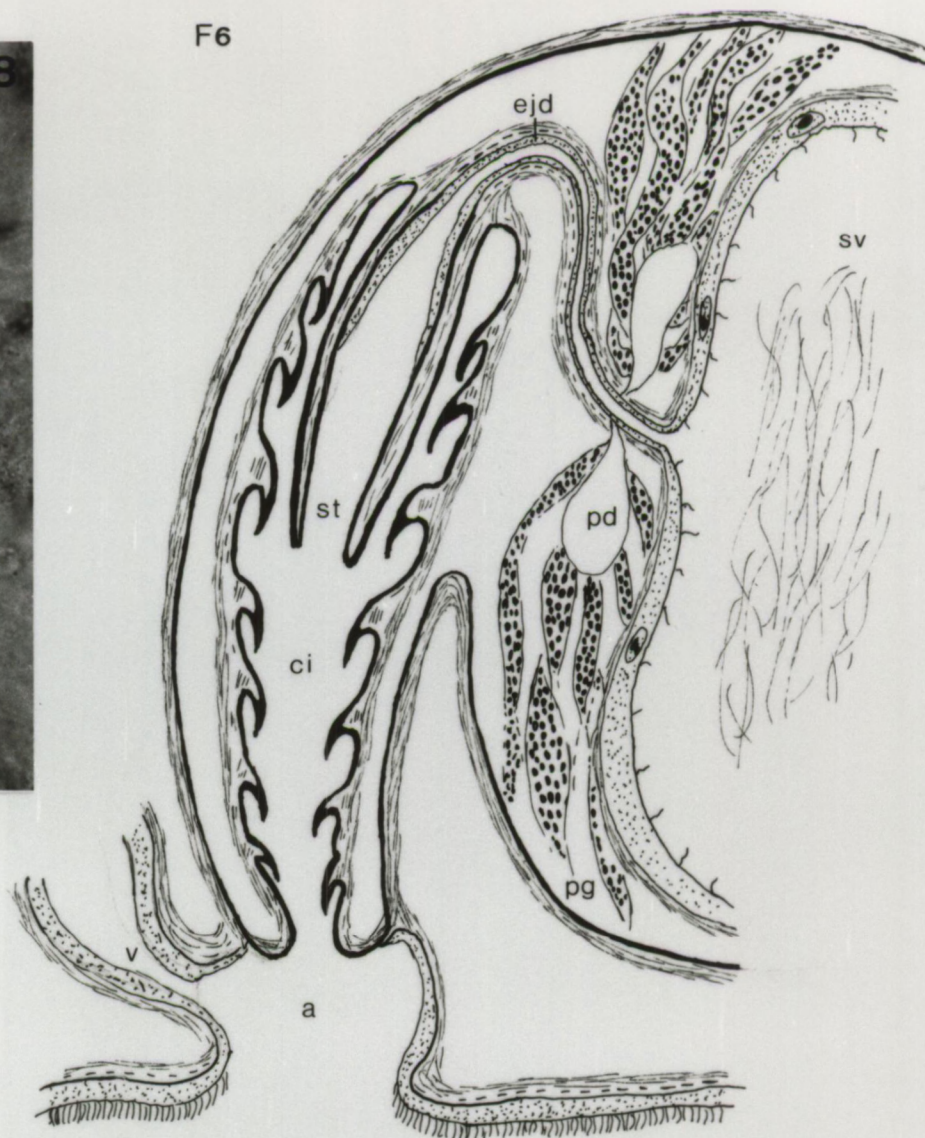
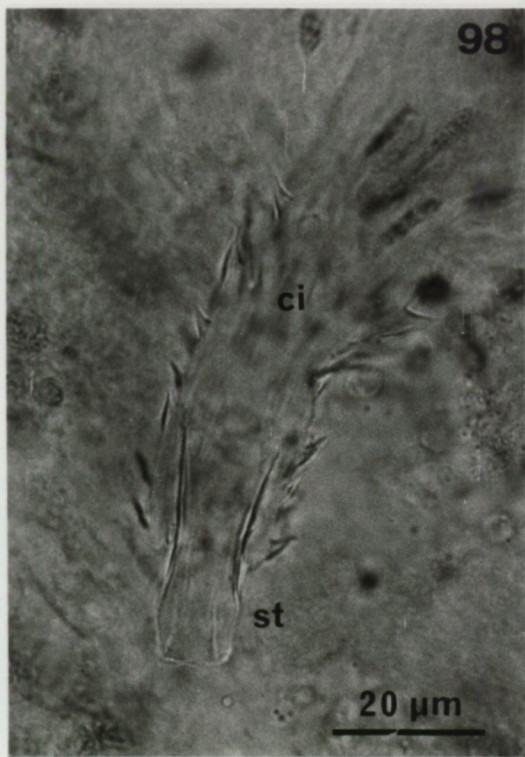


Archilopsis arenaria

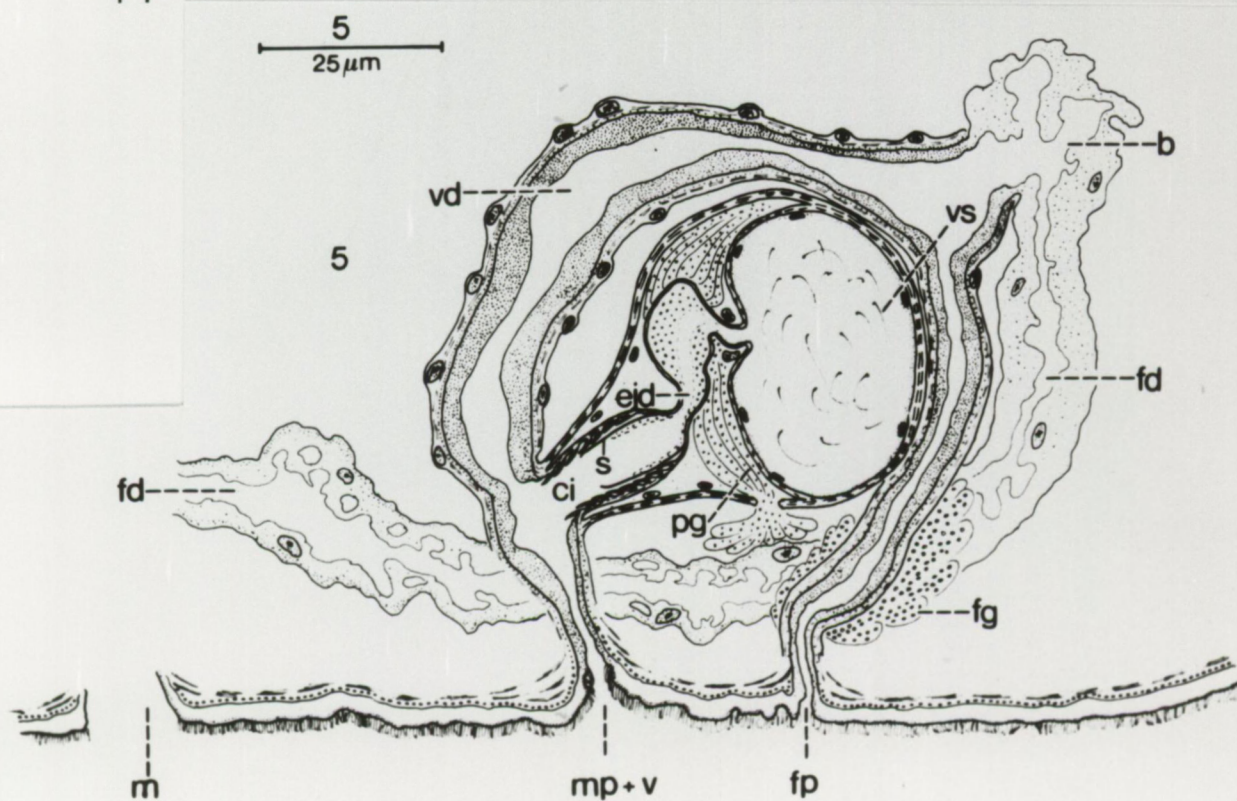
Afb. 98. : Lichtmikroskopische opname van het stilet in de cirrus.

Fig. 6. : Bouw van de cirrus (schematisch).

Fig. 7. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan
(naar P. Martens)
(b : bursa; vd : vaginale ductus; vs : vesicula seminalis; mp + v : mannelijke porus + vagina).

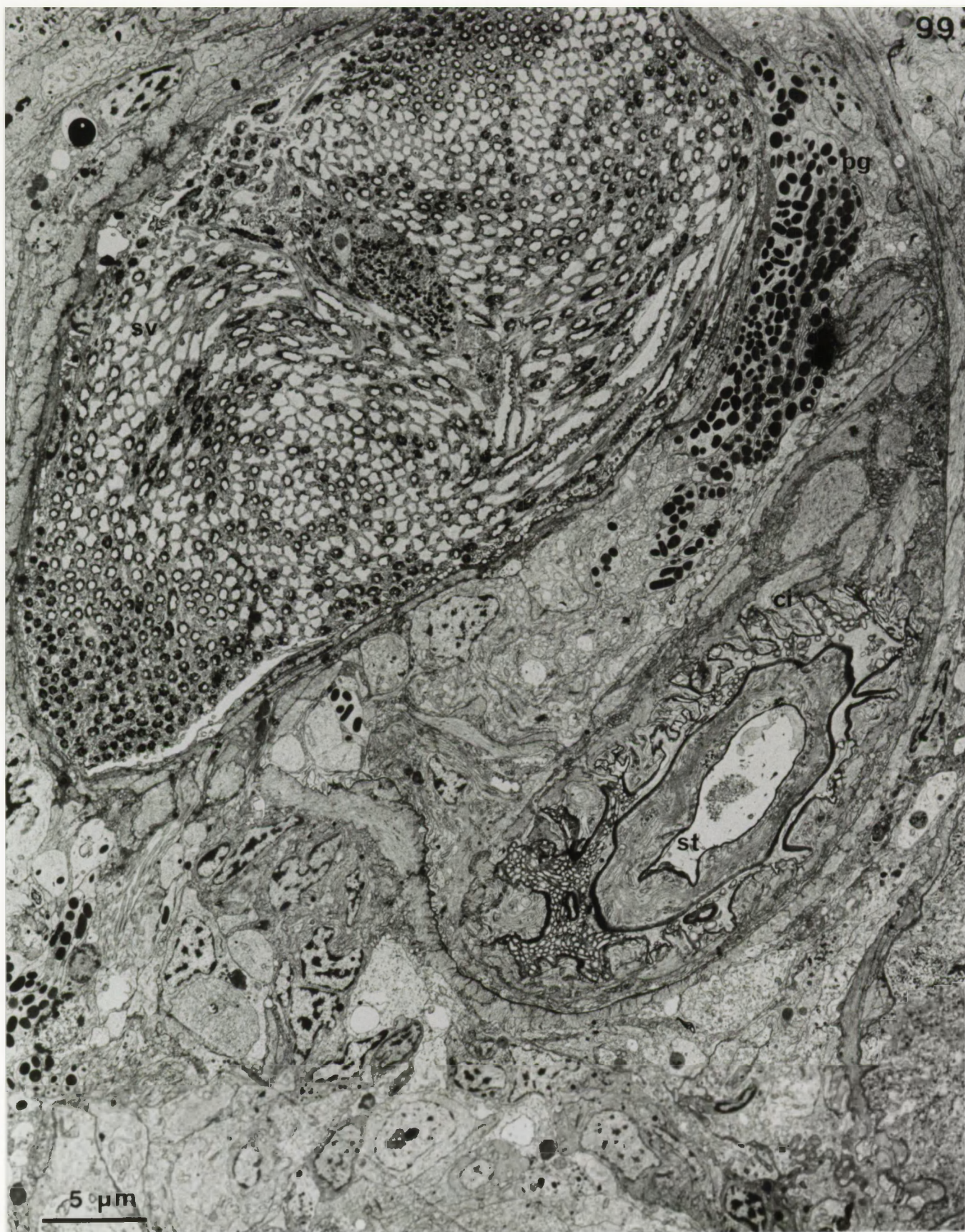


F7



Afb. 99. : *Archilopsis arenaria*

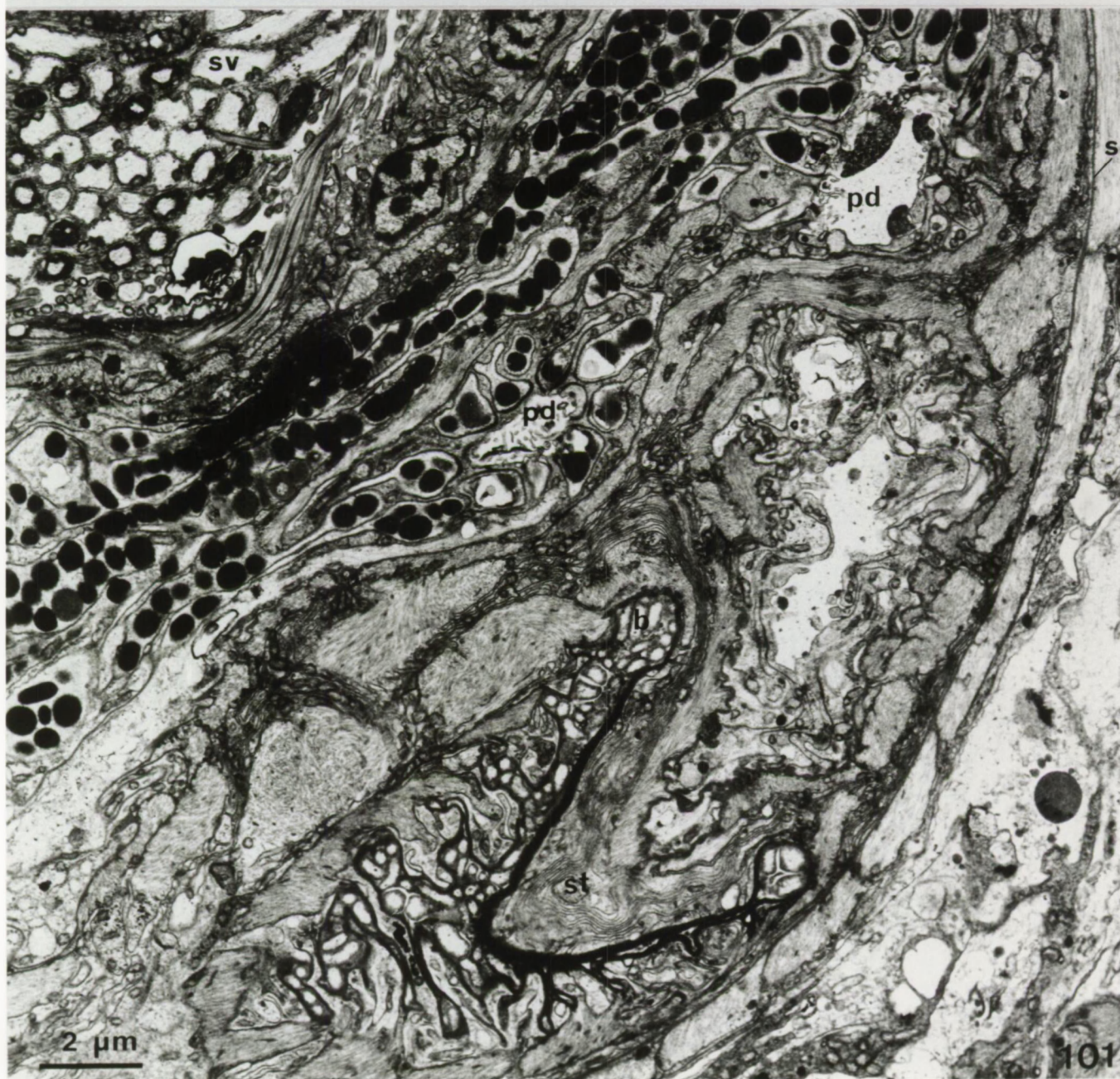
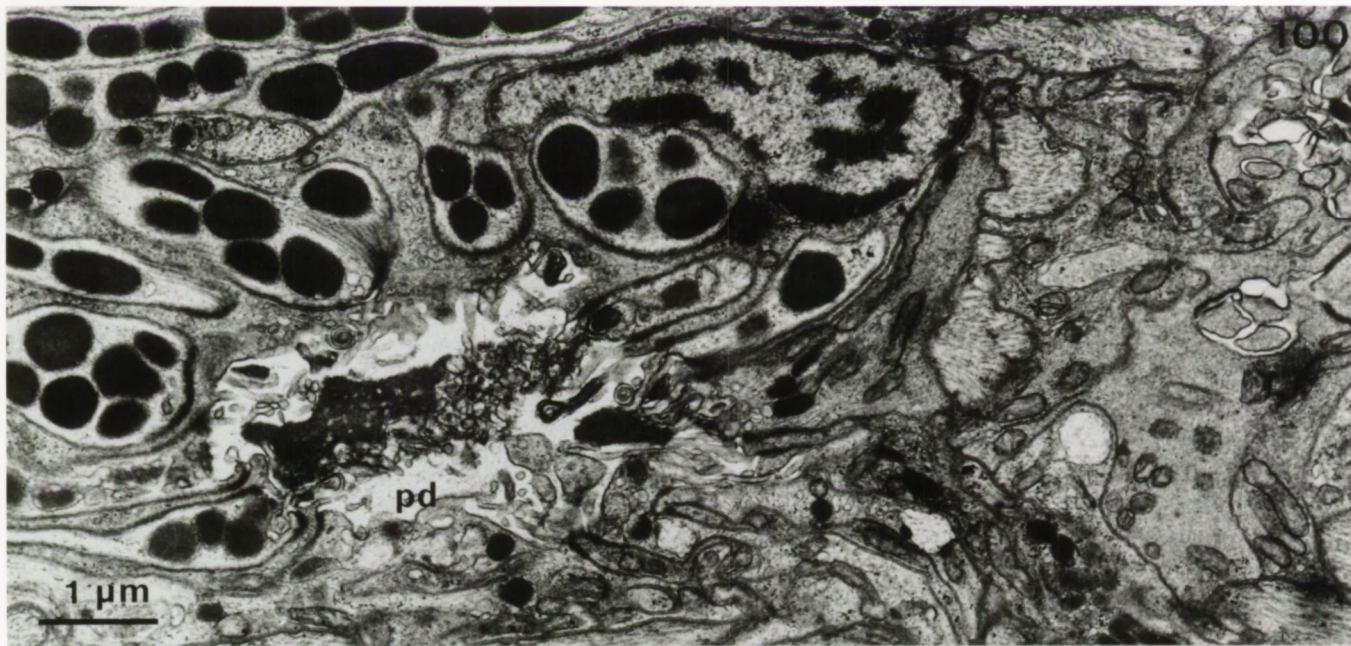
Doorsnede door de kopulatorische bulbus.



Archilopsis arenaria

Afb. 100. : Doorsnede ter hoogte van een prostaatductus. De celnekken van de prostaatklieren zijn verstevigd door een perifere laag mikrotubuli, en met zonula adherens en gesepteerde desmosomen in de epitheelcellen van de prostaat ductus vastgehecht.

Afb. 101. : Doorsnede door de basis van het stilet in de cirrus en de twee prostaatducten.



Archilopsis arenaria

Afb. 102. : Het stilet bestaat uit spieren die aan weerszijden begrensd zijn door een elektronendense basale lamina. De uitwendige basale lamina is continu met de basale lamina die de cirrusstekels vormt. Het epitheel van de ductus ejaculatorius vormt de bekleding van het lumen in de basis van het stilet.

Afb. 103. : Stilet verder distaalwaarts. Het epitheel in het stilet is verdwenen zodat de inwendige basale lamina de bekleding van het lumen vormt.

102



103



Archilopsis arenaria

Afb. 104. : Doorsnede door stilet en cirrus verder distaal-
waarts. Het lumen van de cirrus bevat bacteriën
en cytoplasmaresten.

Afb. 105. : Aan de top van het stilet zijn de inwendige en
uitwendige basale lamina kontinu met elkaar.



Archilopsis arenaria

Afb. 106. : De cirrusstekels zijn opgevuld met spierweefsel en parenchymelementen.

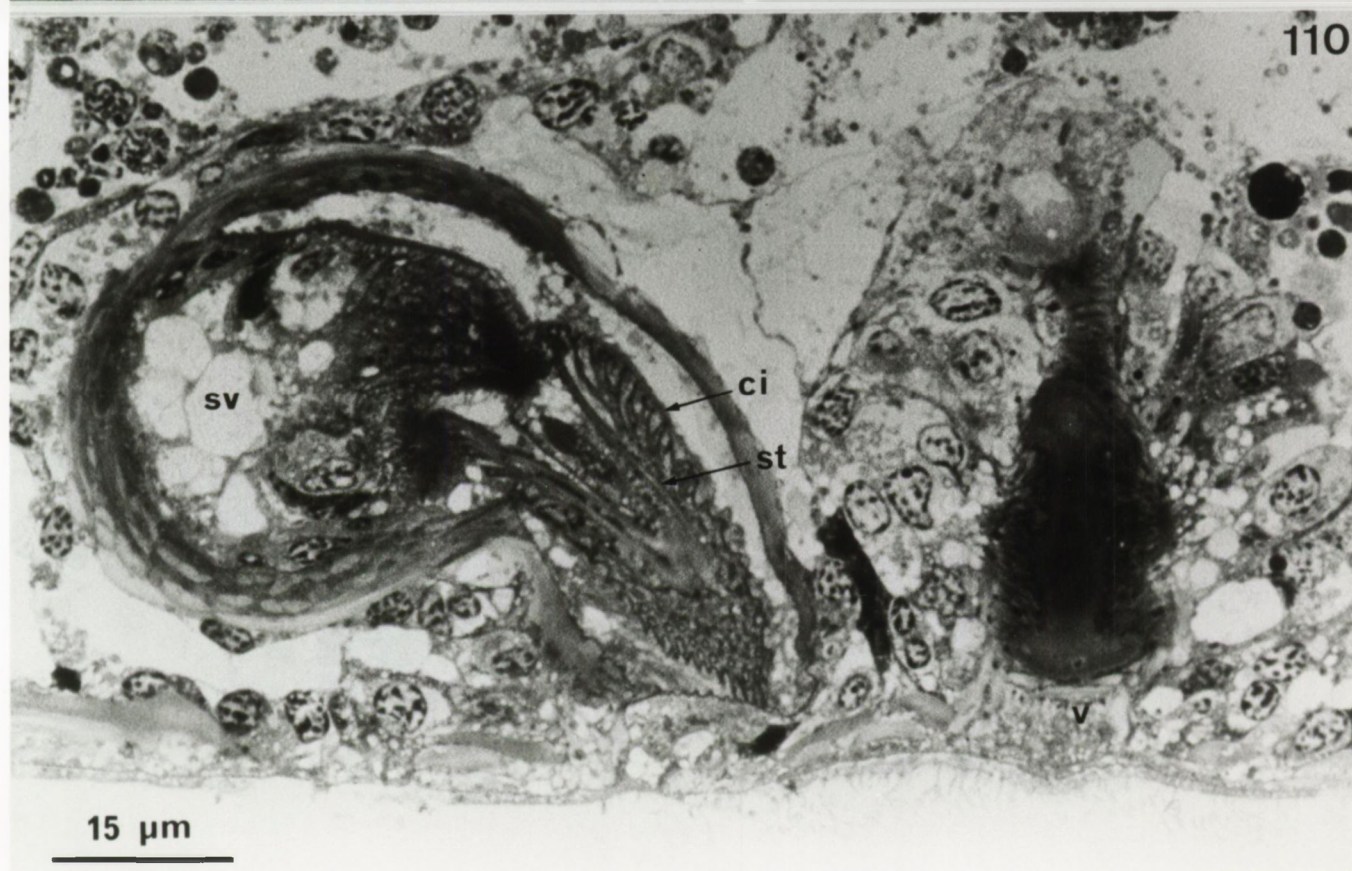
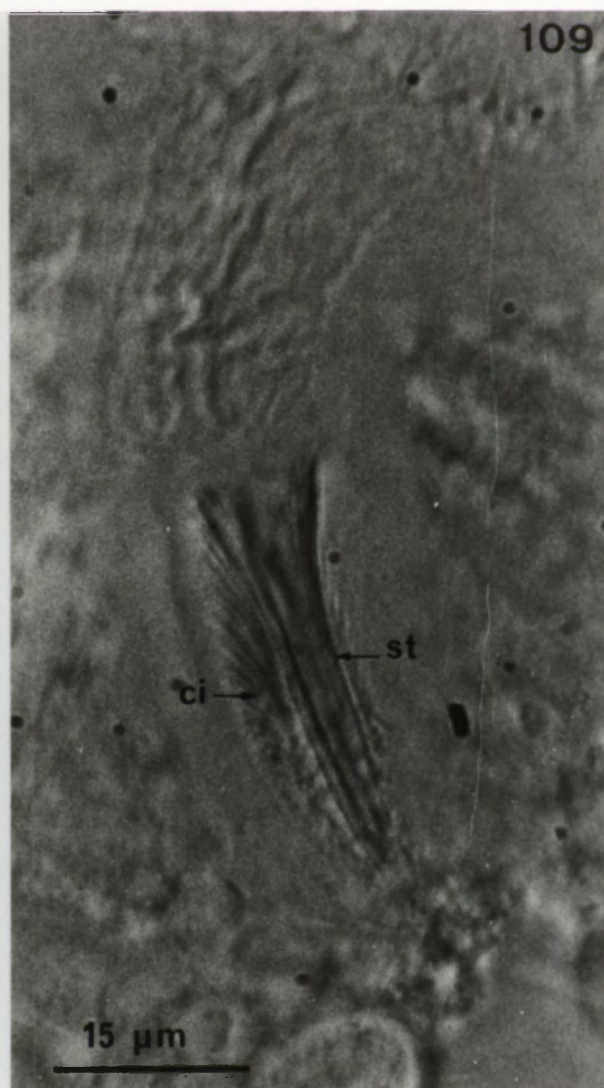
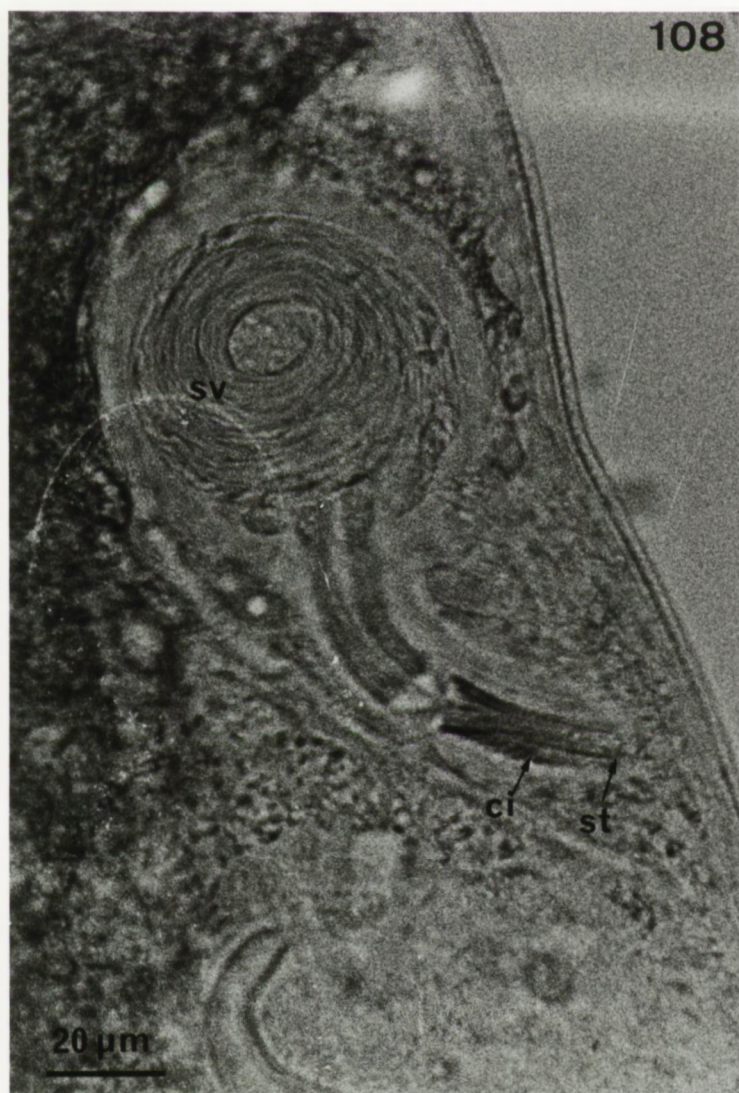
Afb. 107. : Vergroting van de uitwendige basale lamina van het stilet en de basale lamina van de cirrusstekels. Pijltjes duiden de drie lagen van de basale lamina aan.



Archilina sp.

Afb. 108. en 109. : Afbeeldingen van het kopulatieorgaan
 voorzien van een stiletstructuur in een cirrus
 met stekels.

Afb. 110. : Lichtmikroskopische doorsnede door de kopulatorische
 bulbus.



Afb. 111. : *Archilina* sp.

Doorsnede van het kopulatieorgaan waarop drie
stiletnaalden in de cirrus zichtbaar zijn.



Afb. 112. : *Archilina* sp.

Doorsnede door de cirrus en de lange stiletnaalden.

Het lumen is opgevuld met prostaatsekreet en
celresten.



Afb. 113. en 114. : *Archilina* sp.

De stiletnaalden en de cirrusstekels worden slechts gedeeltelijk opgevuld met spieren van de cirrus. Zowel in de naalden als in de stekels vertoont de basale lamina een trilamellaire structuur (pijlen).

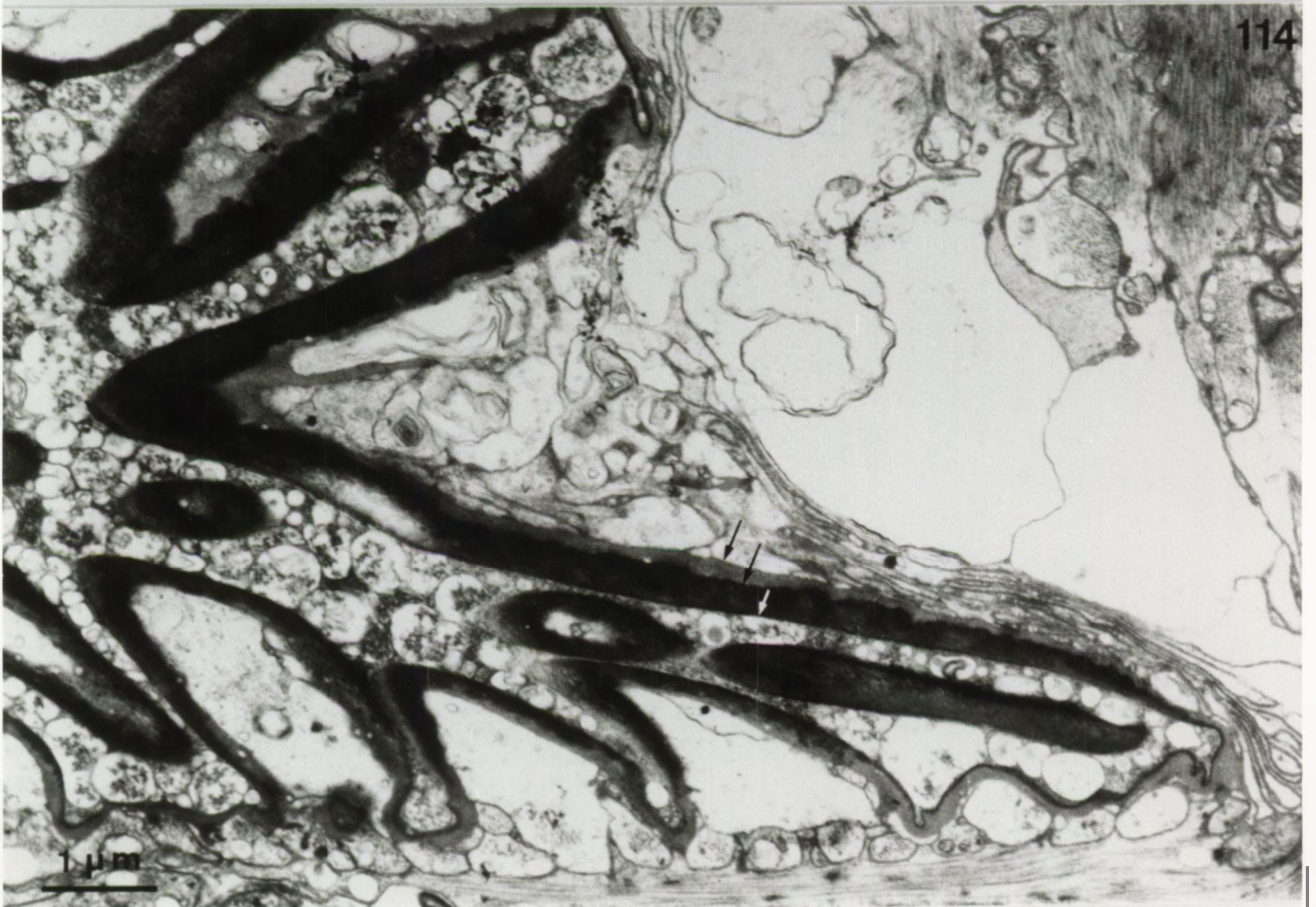
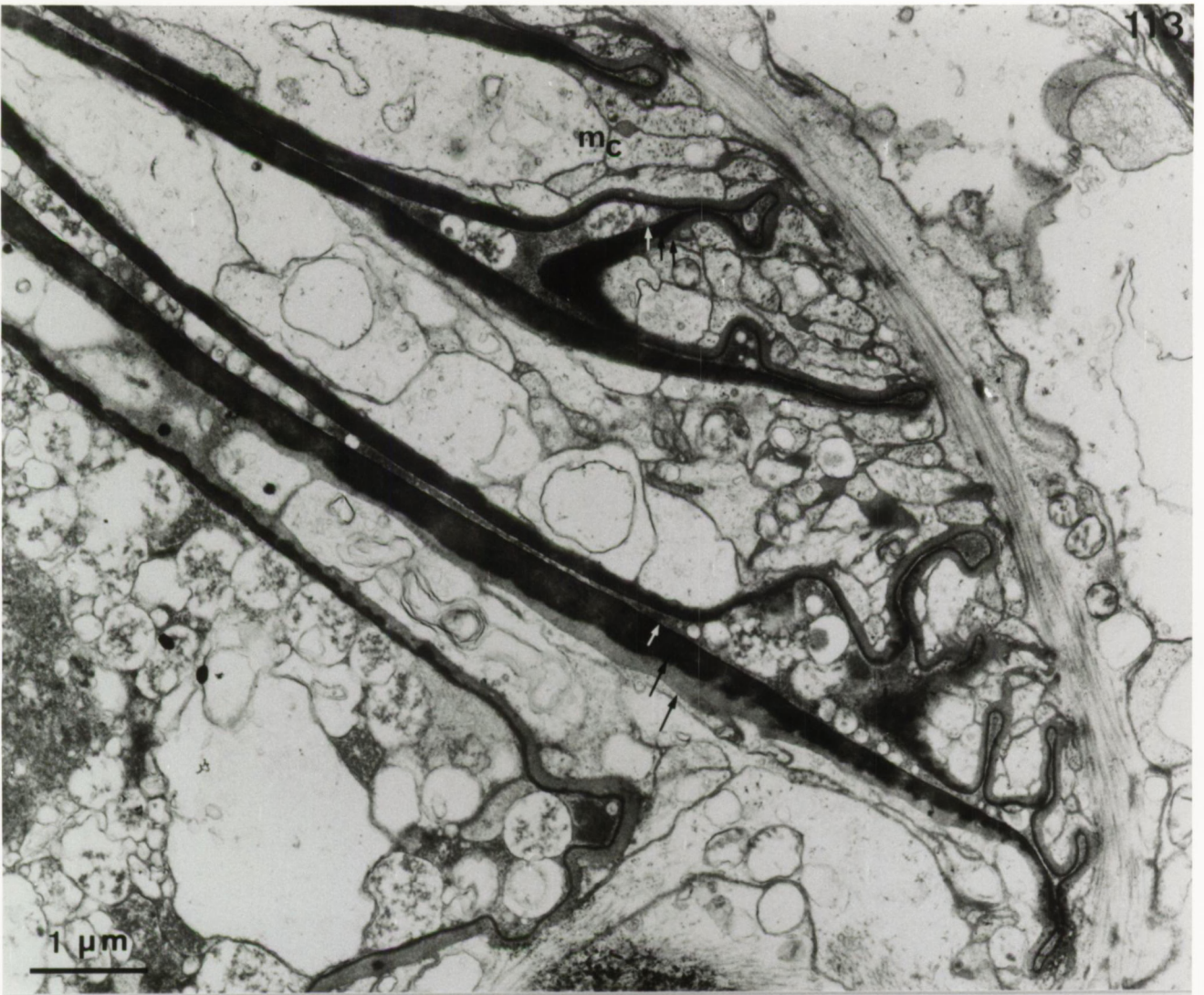


Fig. 8. en 9. : *Archilina* sp.

Fig. 8. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.

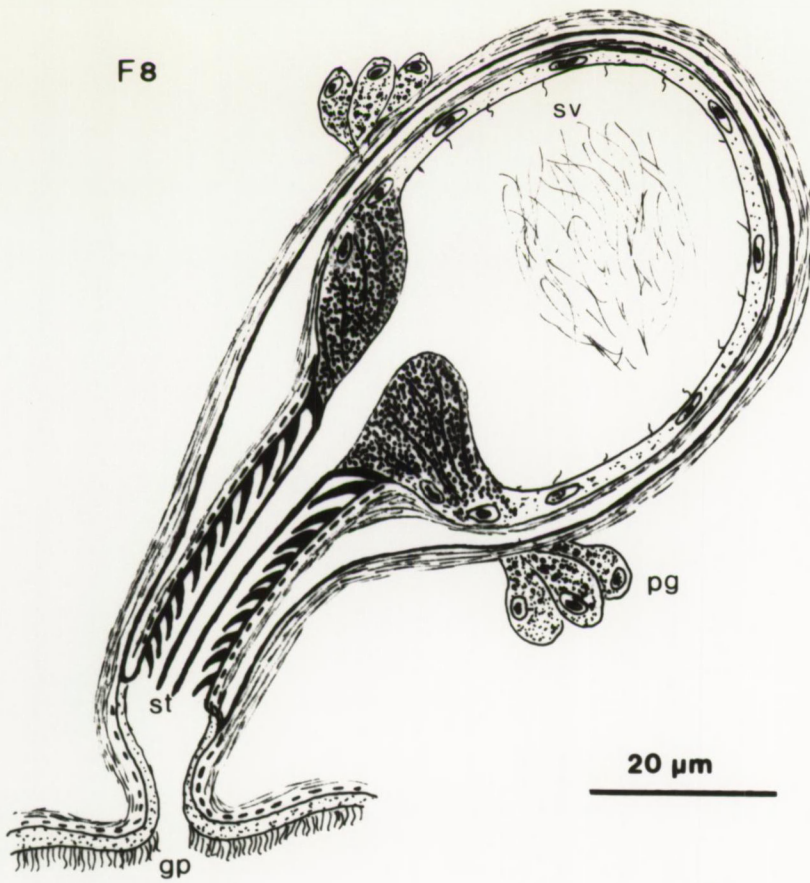
Fig. 9. : Stilet in de cirrus (Toto-preparaat,
P. Martens).

Fig. 10. : *Promonotus schultzei*
Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.

Fig. 11. : *Archiloea westbladi*
Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.

Fig. 12. : *Promonotus marci*
Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.

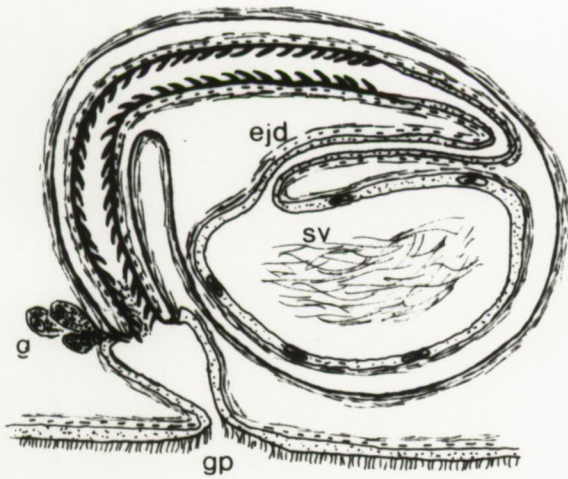
F8



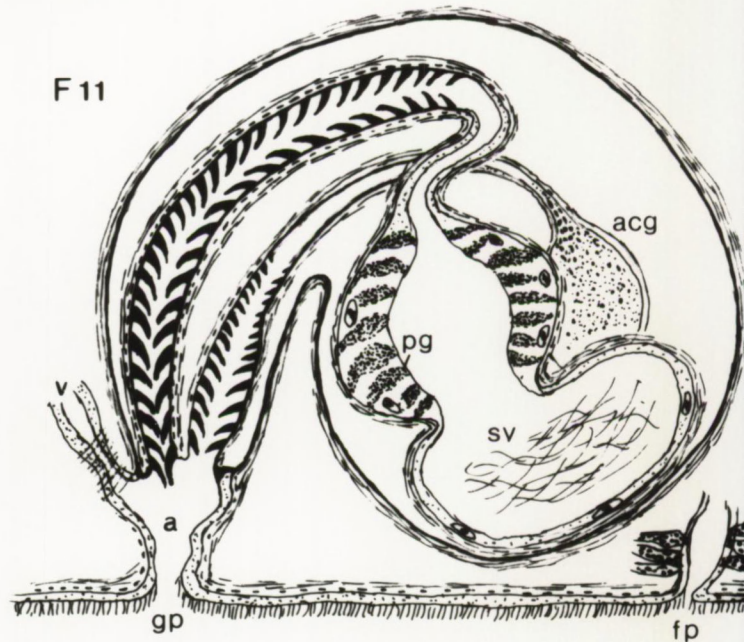
F9



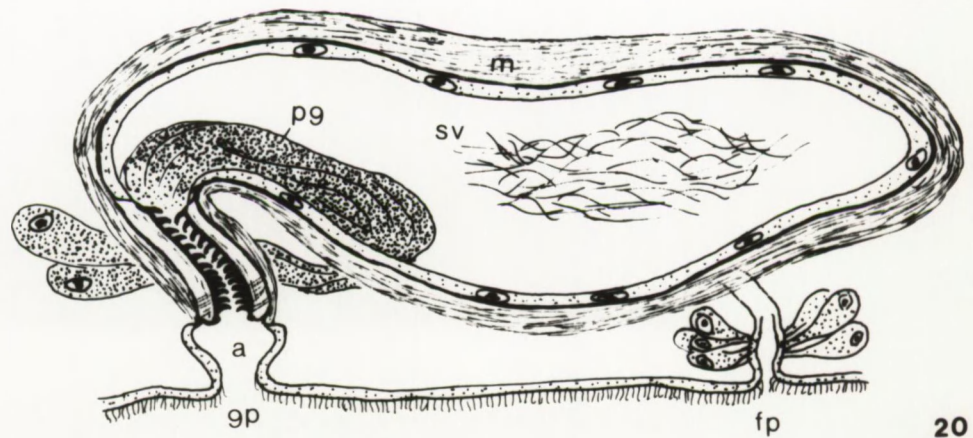
F10



F11



F12



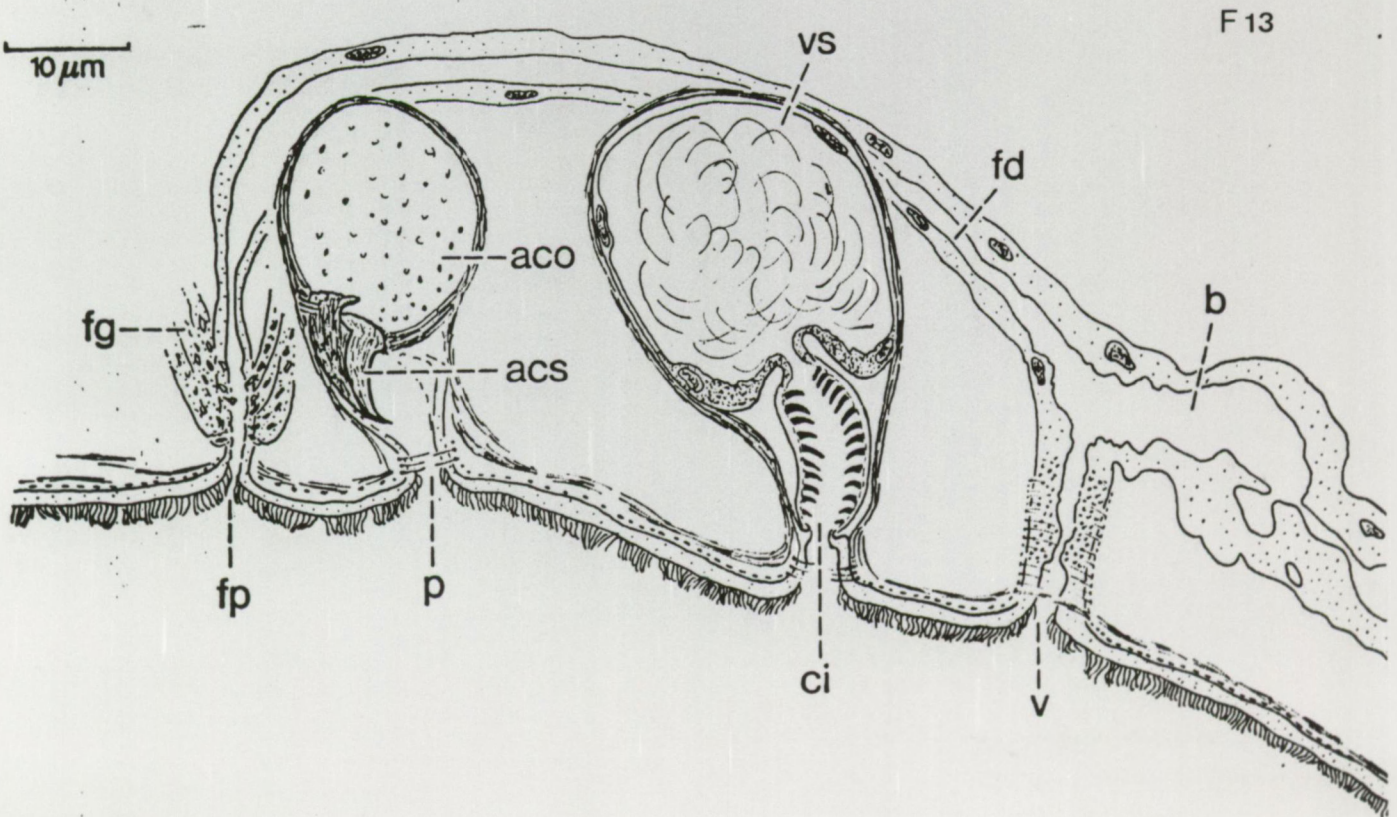
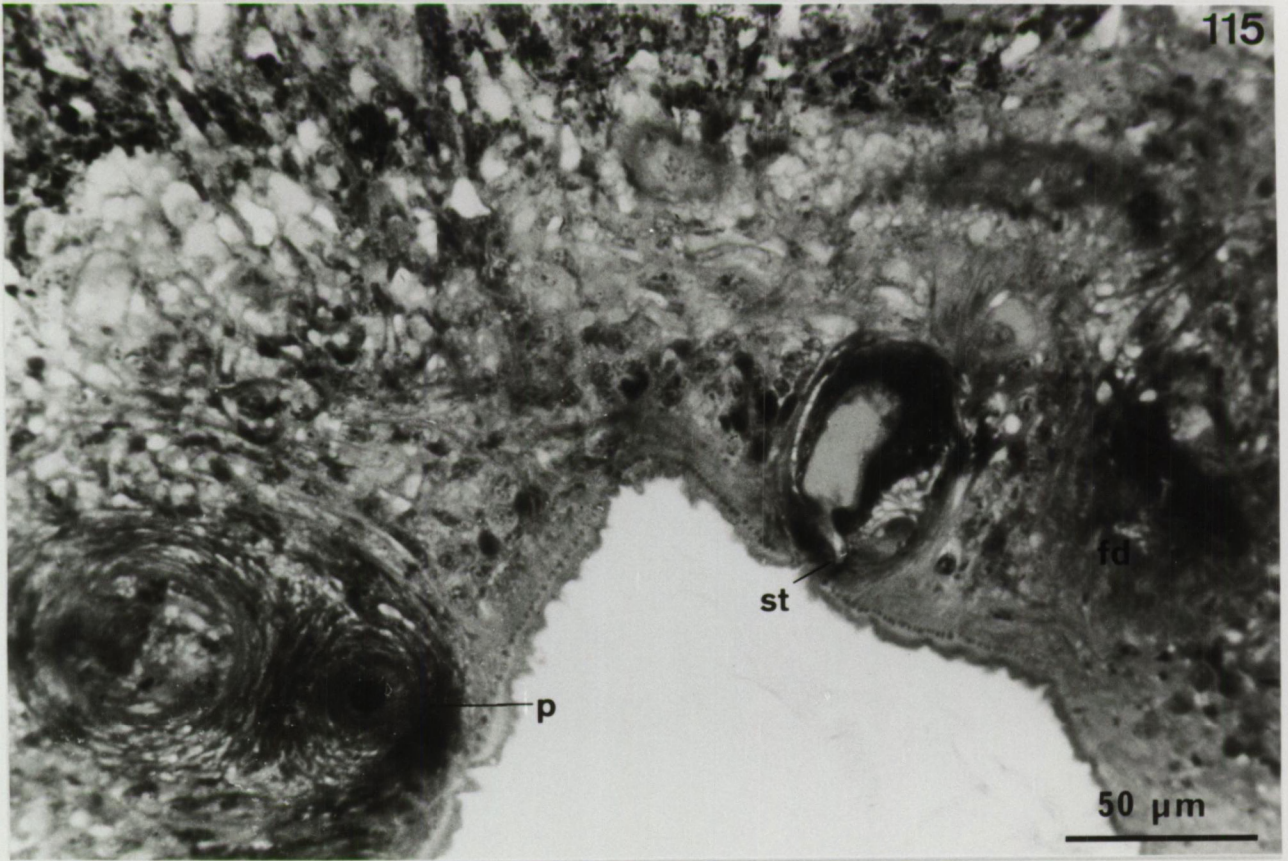
Afb. 115. : *Ectocotyla multitesticulata*

Lichtmikroskopische doorsnede door het kopulatie-
orgaan met penis en de accessorisches prostaat-
vesikel met stilet.

Fig. 13. : *Dupliminona corsicana*

Rekonstruktie van de kopulatieorganen

(naar P. Martens 1984) (acs : accessoirisch stilet;
aco : accessoirisch orgaan; b : bursa; ci : cirrus;
fd : vrouwelijk kanaal; fg : vrouwelijke klieren;
fp : vrouwelijke porus; p : porus; v : vagina;
vs : vesicula seminalis).



Afb. 116. : *Ectocotyla multitesticulata*

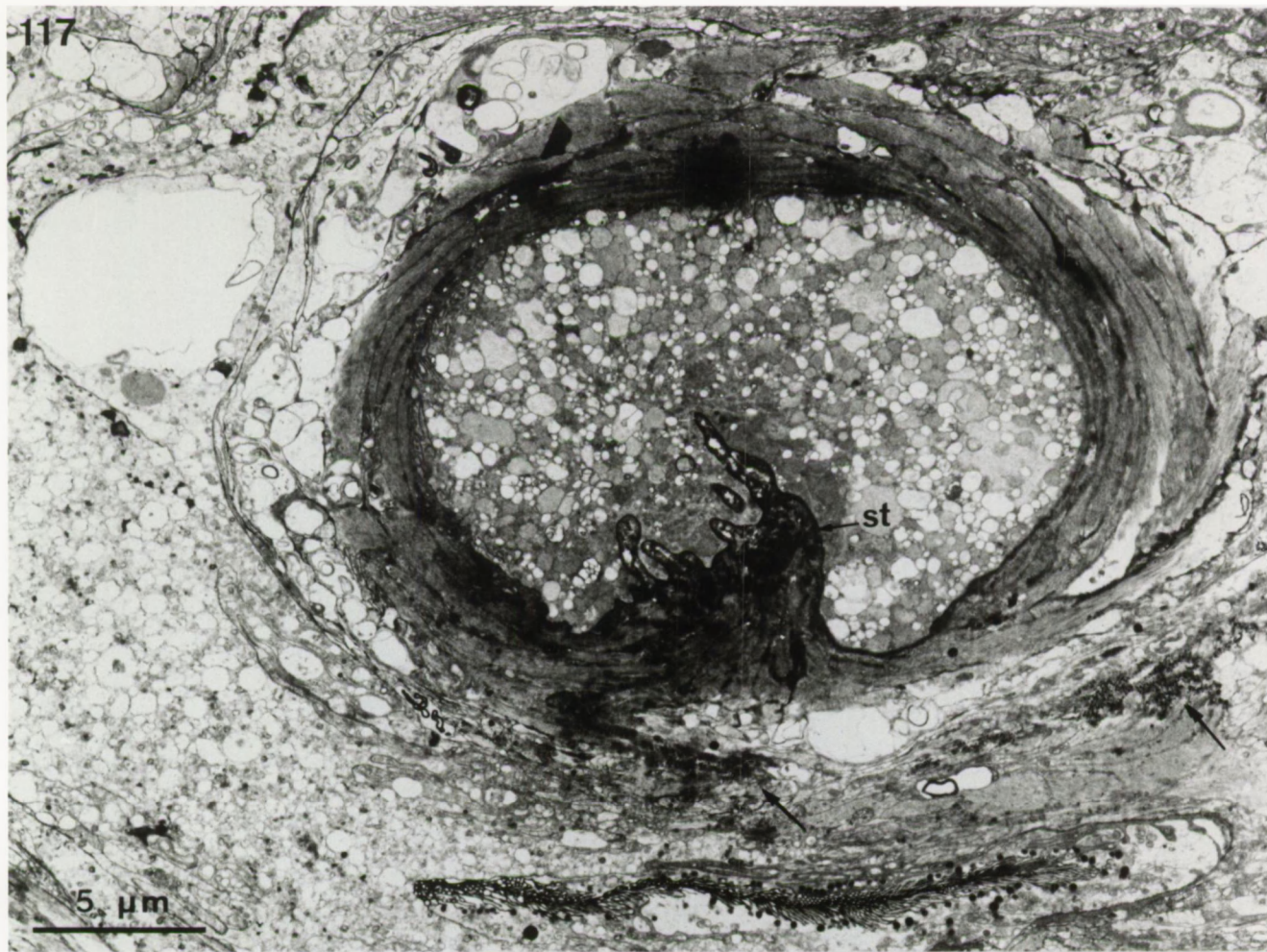
Longitudinale doorsnede door het stilet van het accessorisch prostatoid orgaan. De opening van het stilet is subterminaal. Er is een accumulatie van stiletmateriaal merkbaar tussen de spieren onder de basis van het stilet (pijlen). De oppervlaktelaag van de stiletstructuur is ~~aan de basis~~ kontinu met de basale lamina die de sekreetvesikel omgeeft (dubbele pijl).



Ectocotyla multitesticulata

Afb. 117. : Het accessorisch prostatoid orgaan ter hoogte van de stiletbasis. Pijltjes duiden stiletmateriaal aan dat tussen de spieren akkumuleert.

Afb. 118. : Tangentiële doorsnede door de basis van het stilet. De oppervlaktelaag van het stilet is kontinu met de basale lamina van de vesikel.



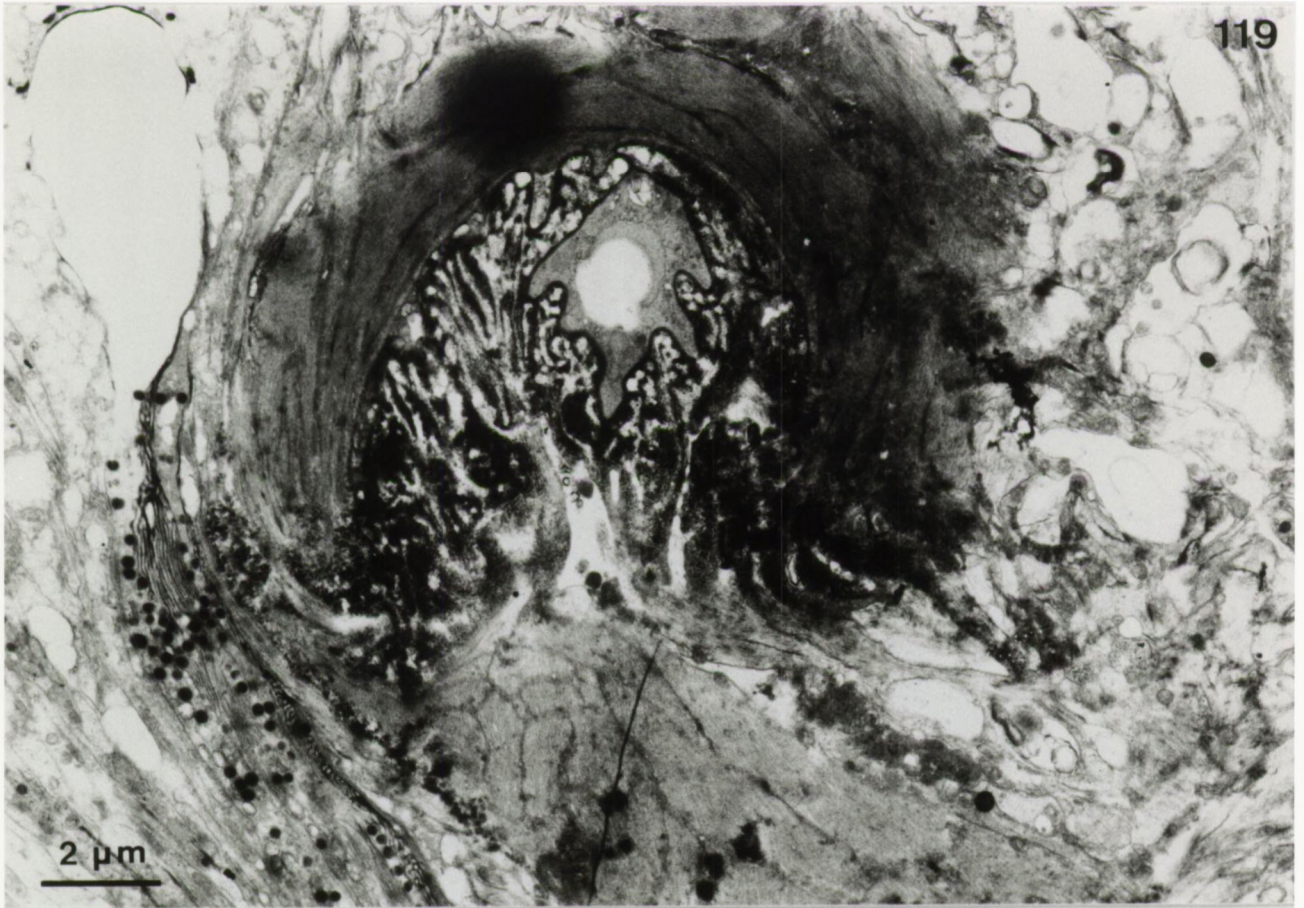
Ectocotyla multitesticulata

Afb. 119. : Dwarse doorsnede door de basis van het stilet.

Het stilet heeft de vorm van een goot waarvan de laterale randen tegen elkaar komen. De wand van het stilet vertoont onregelmatige uitstulpingen.

Afb. 120. : Dwarse doorsnede door de top van het stilet.

119



120

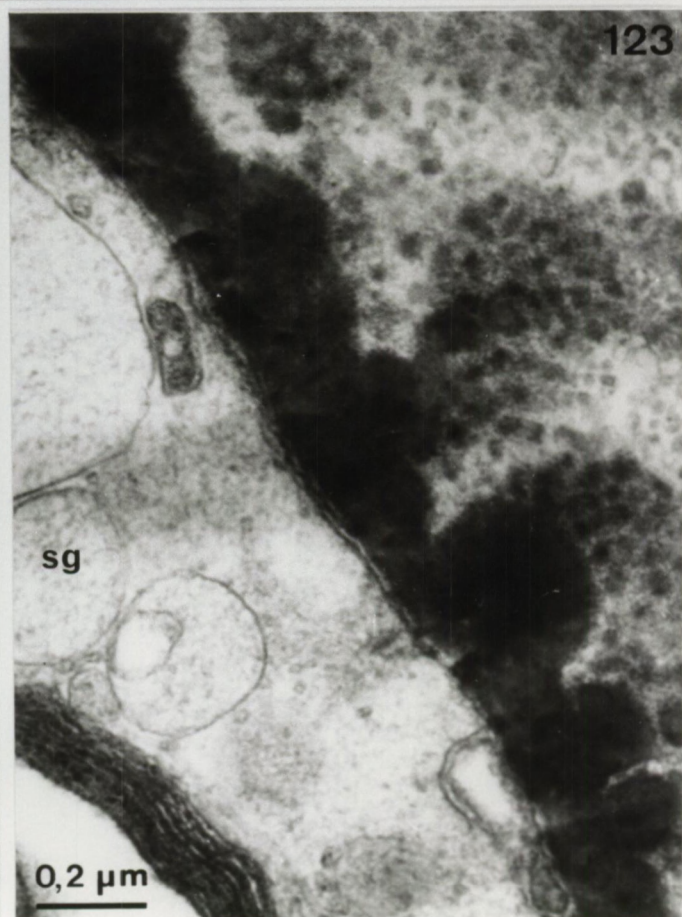
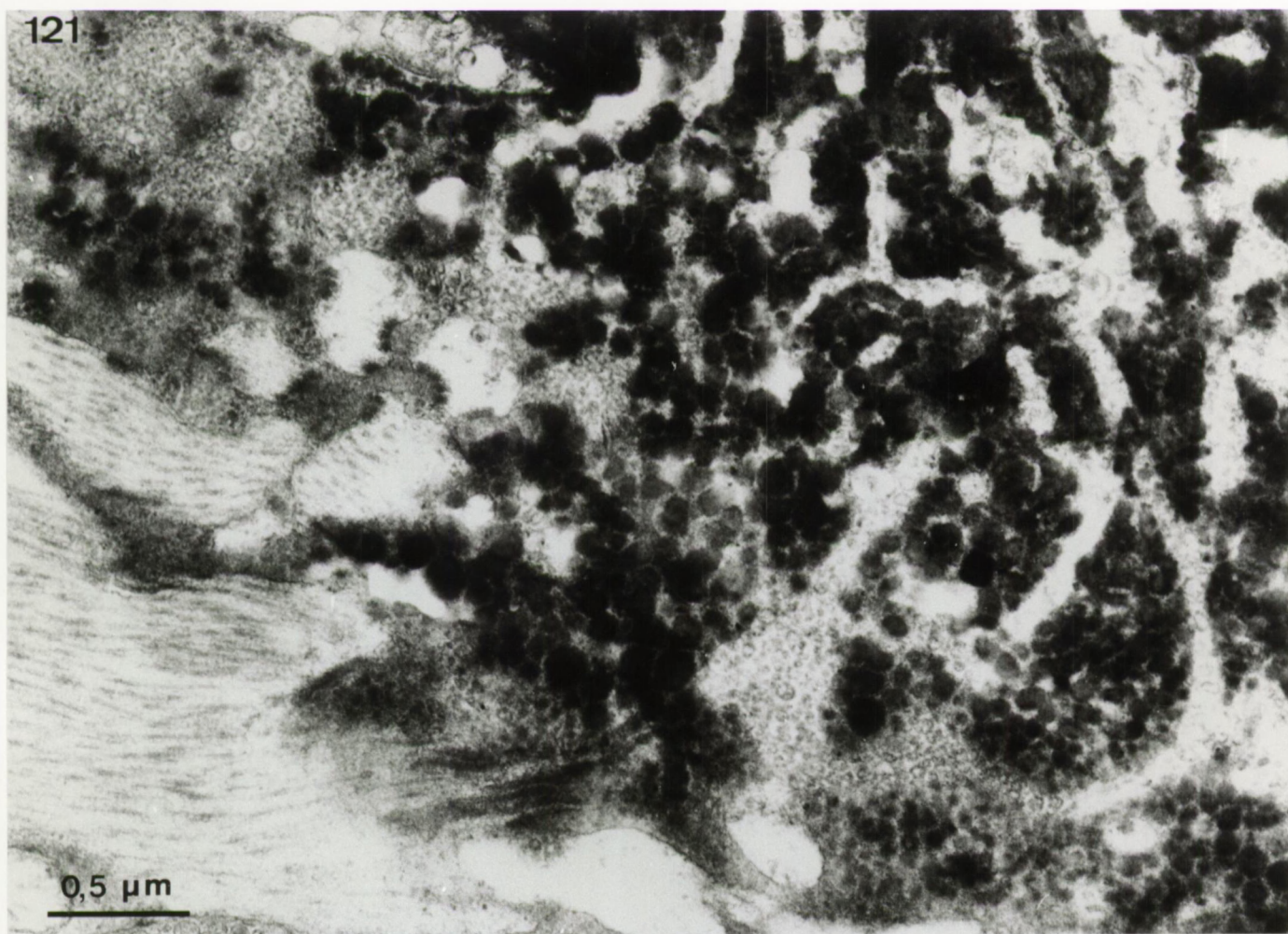


Ectocotyla multitesticulata

Afb. 121. : Het stiletmateriaal aan de basis van het stilet
is samengesteld uit elektronendense condensaties
en talrijke kleine vesikels.

Afb. 122. : Stiletwand aan de buitenzijde van het stilet.
De elektronendense condensaties versmelten en
vormen een homogene oppervlaktelaag.

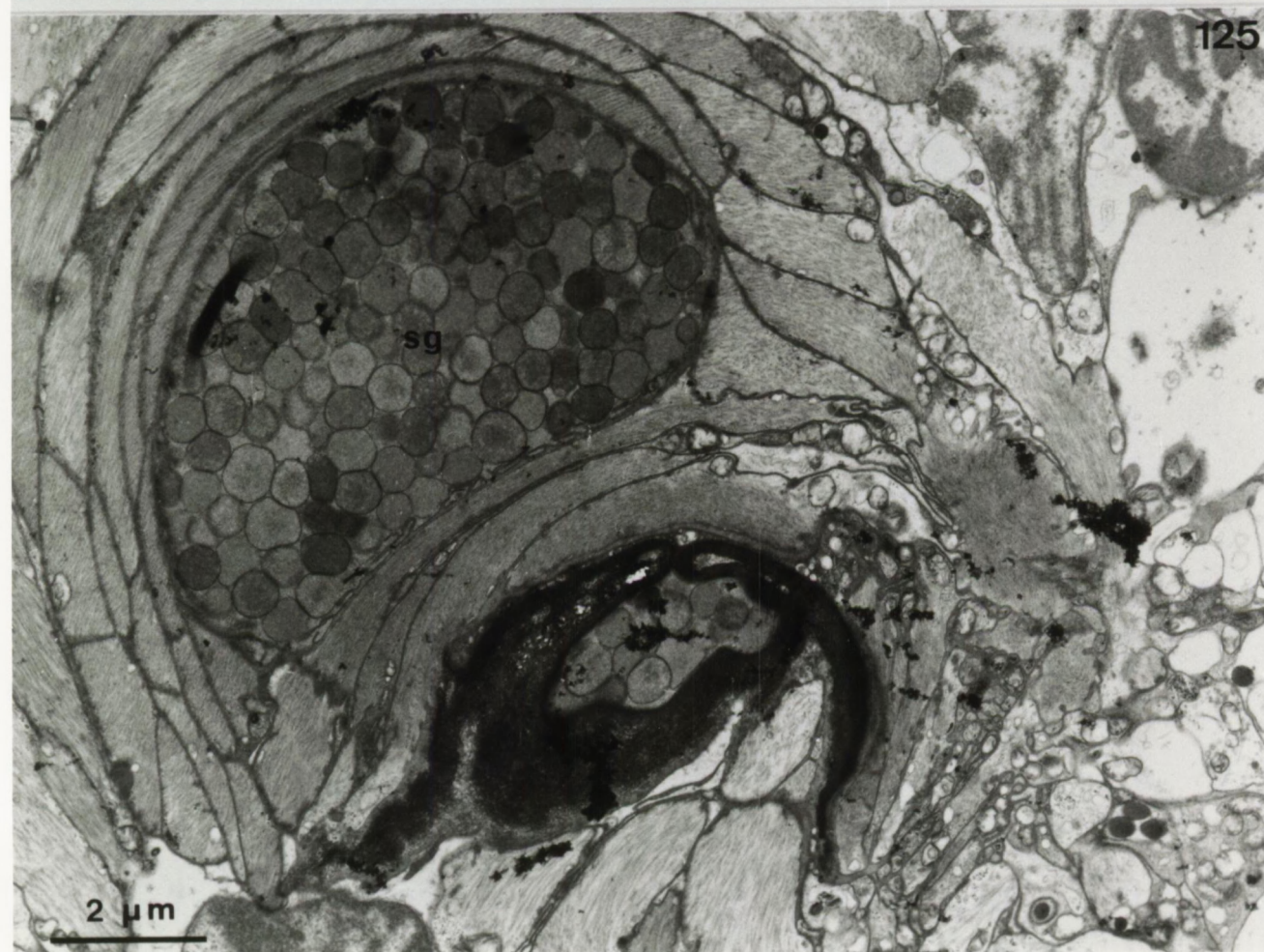
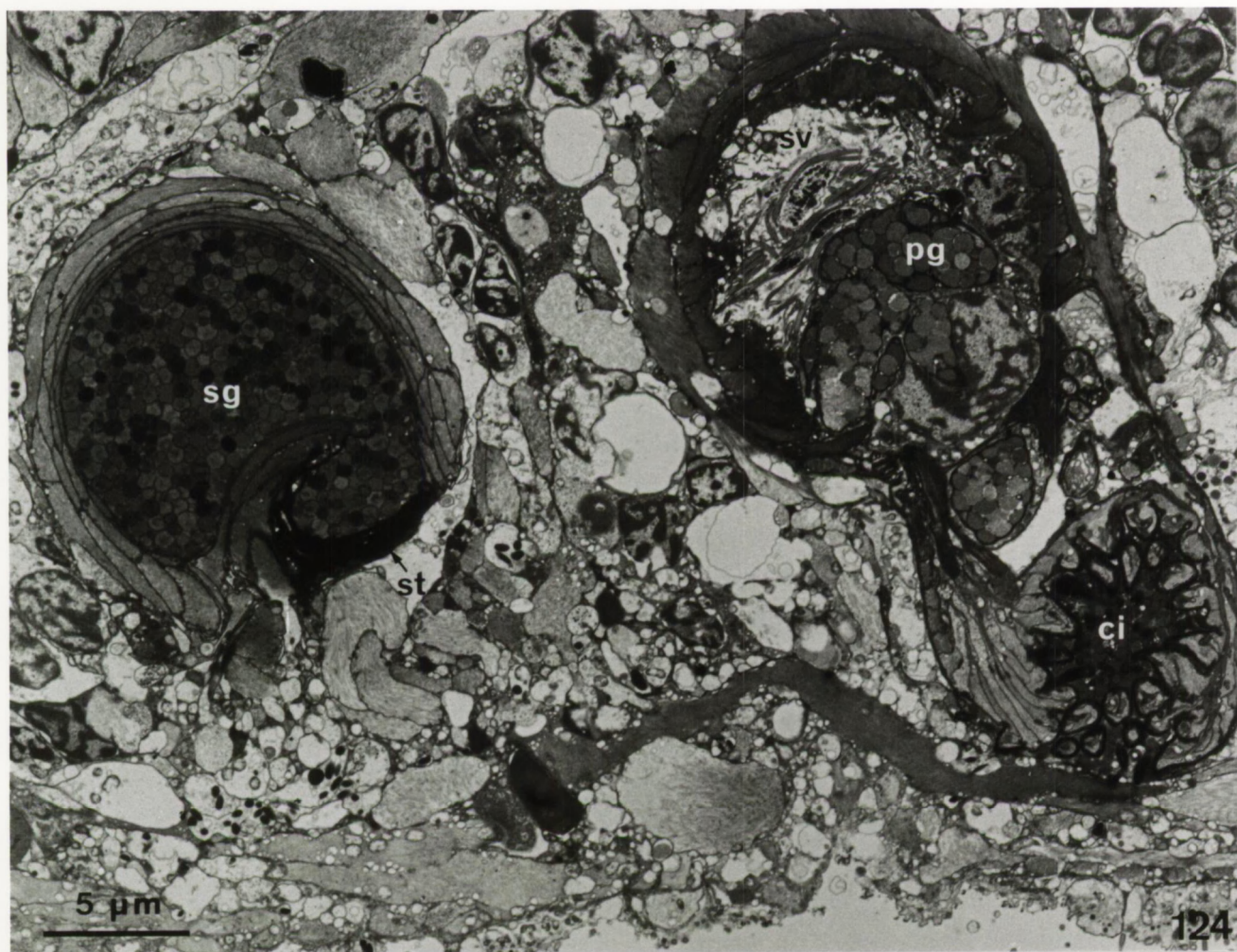
Afb. 123. : Stiletwand aan de binnenzijde van het stilet.



Dupliminona corsicana

Afb. 124. : Doorsnede door het kopulatieorgaan met cirrus en
het accessoirisch prostatoid orgaan met stilet.

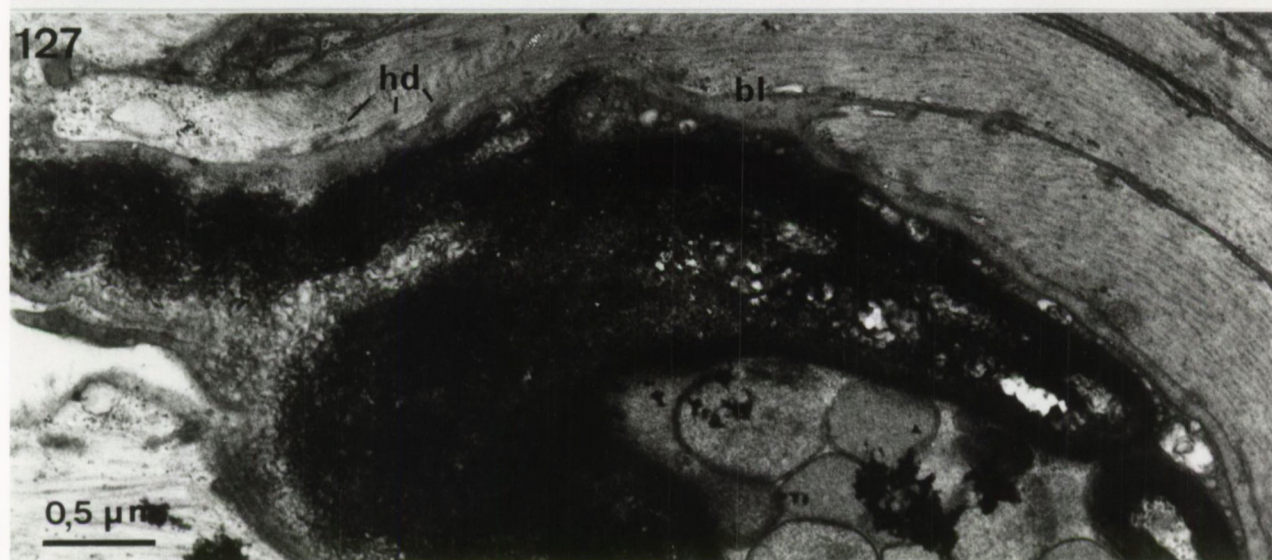
Afb. 125. : Dwarze doorsnede door de basis van het stilet.
Het stilet heeft de vorm van een goot.



Dupliminona corsicana

Afb. 126. : Basis van het stilet. De oppervlaktelaag van het stilet is kontinu met de basale lamina van de sekreetvesikel.

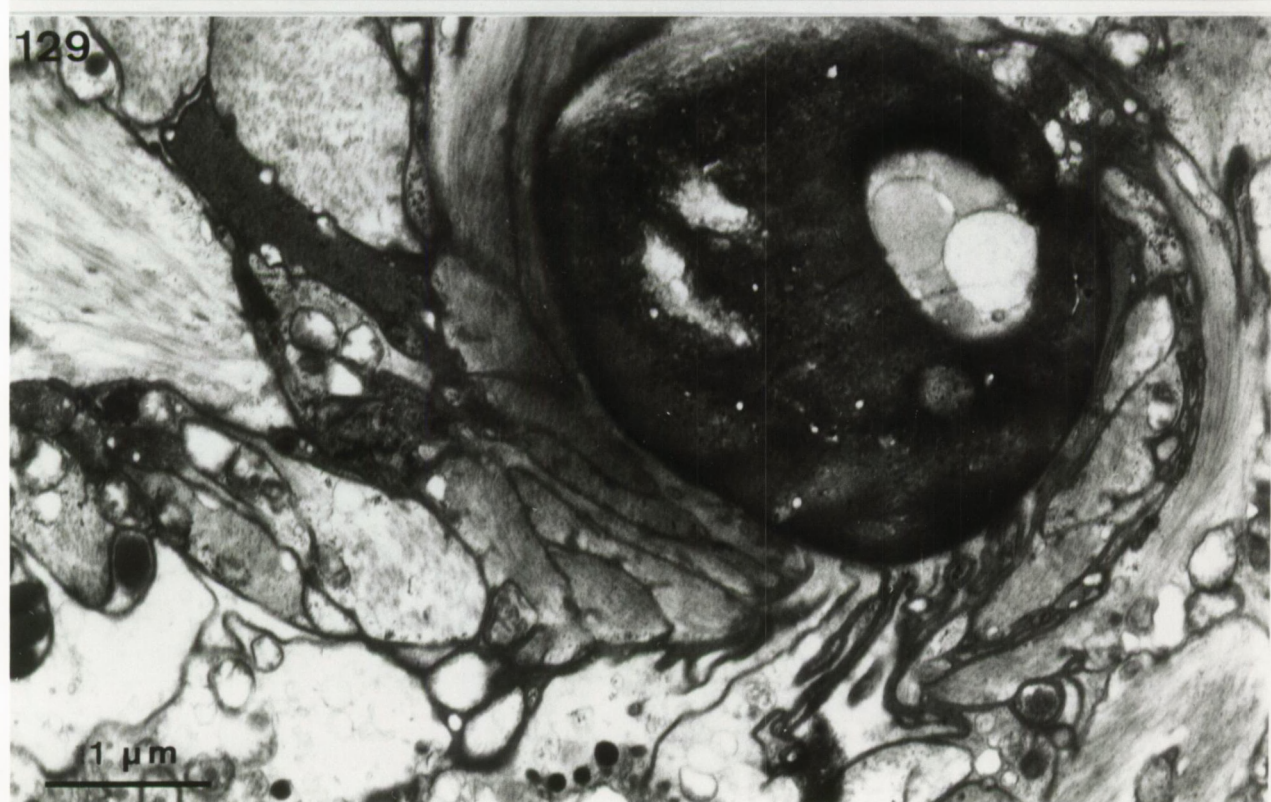
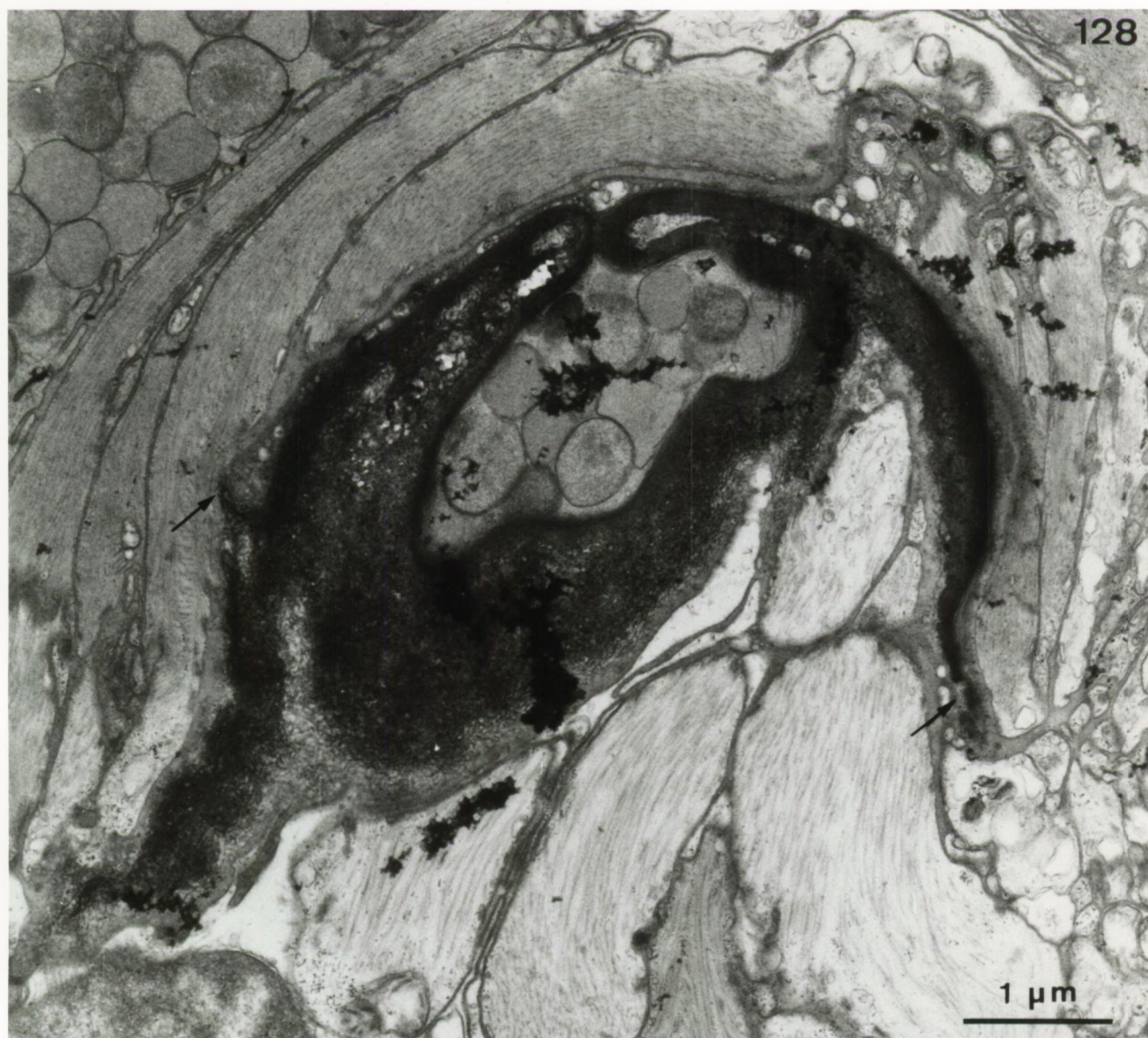
Afb. 127. : Het stilet bestaat uit grof fibrillair elektronendens materiaal dat naar de oppervlakte toe versmelt tot een homogene laag.



Dupliminona corsicana

Afb. 128. : Stilet verder distaalwaarts. Pijltjes duiden aan waar de oppervlaktelaag van het stilet kontinu is met de basale lamina van de vesikel.

Afb. 129. : Dwarse doorsnede door de top van het stilet. De stiletwand is veel dikker en bestaat uit homogeen materiaal.

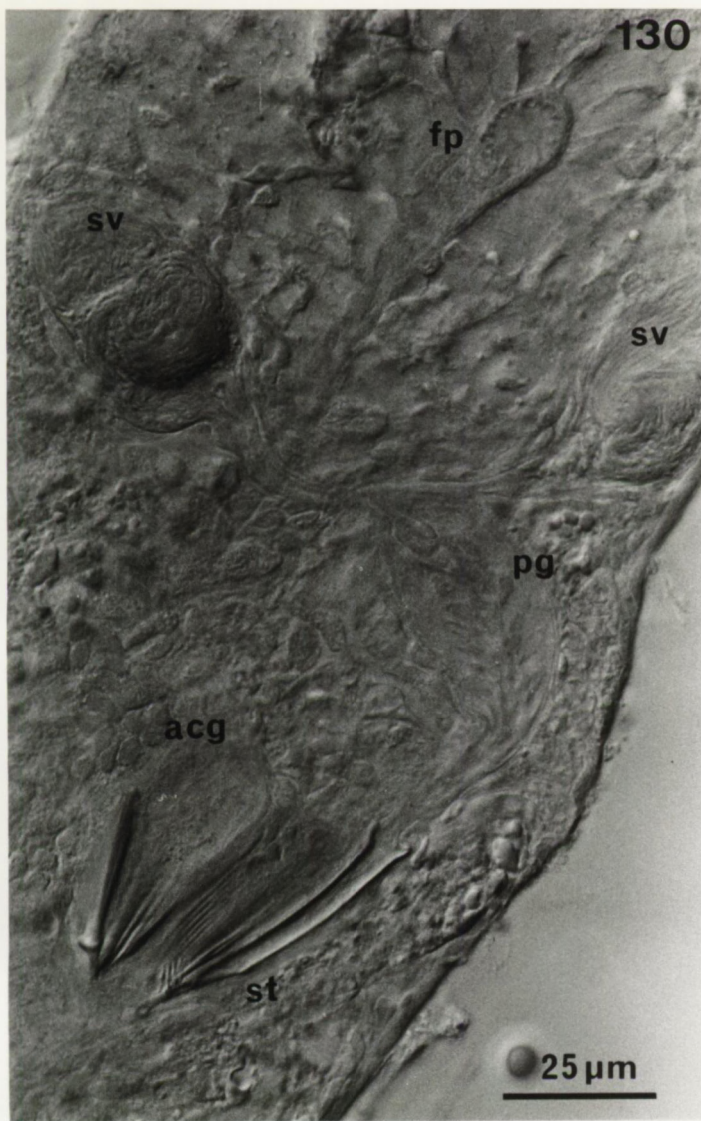


Archimonocelis oostendensis

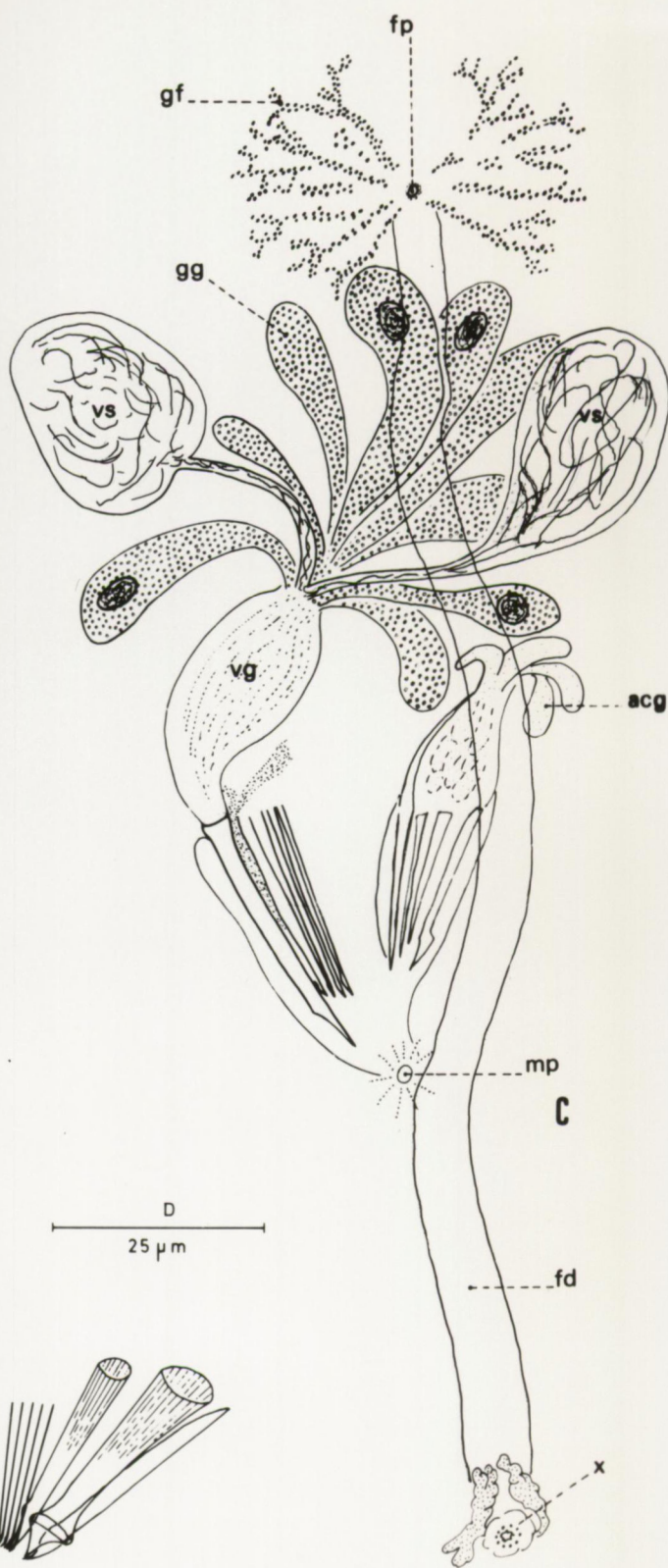
Afb. 130. : Kopulatieorgaan met stilet en naalden.

Fig. 14. : Kopulatieorgaan (naar P. Martens 1981)
(acg : accessorische klieren; fd : vrouwelijk kanaal; fp : vrouwelijke porus; gf : klieren van vrouwelijk kanaal; gg : glands; mp : mannelijke porus; v : vagina; vg : prostaatvesikel; vs : vesicula seminalis).

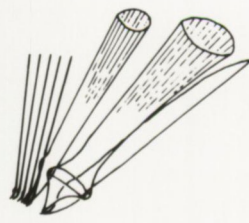
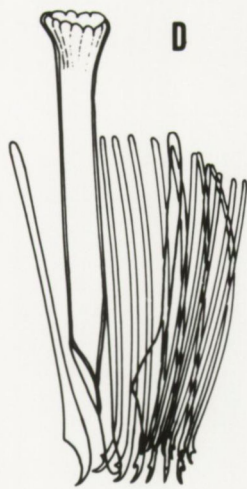
Fig. 15. : Stilet en naalden.



F 14



F 15



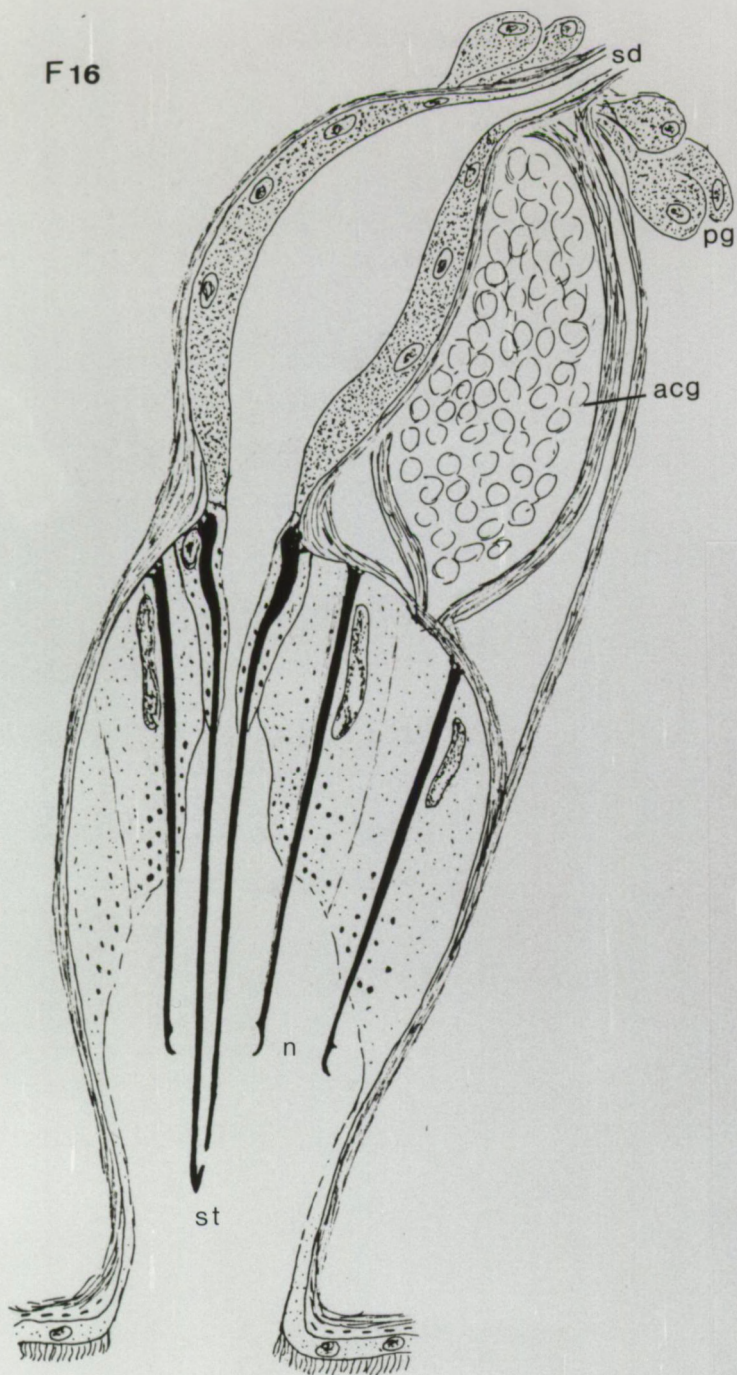
Afb. 131. : Kopulatieorgaan bij *Archimonocelis* sp.

Fig. 16. : *Archimonocelis* sp.

Fig. 17. : *A. oostendensis*

Rekonstruktie van het kopulatieorgaan (schematisch).

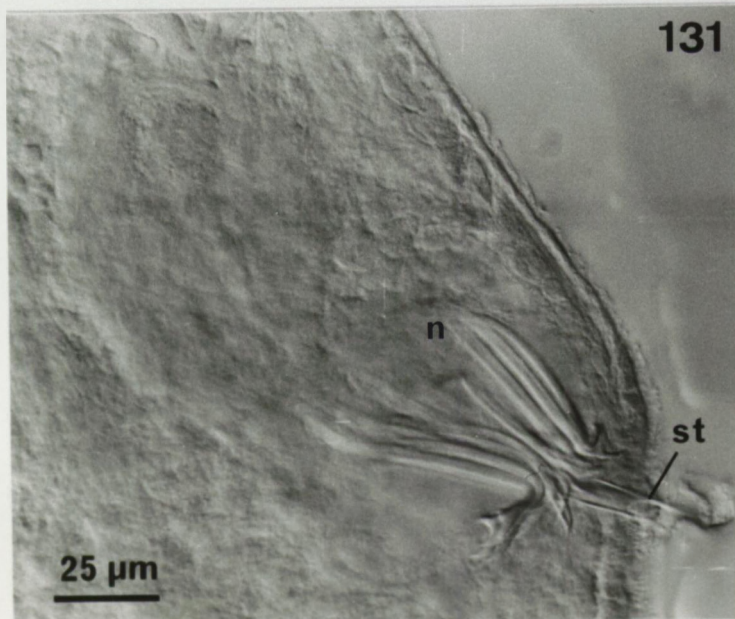
F16



F17

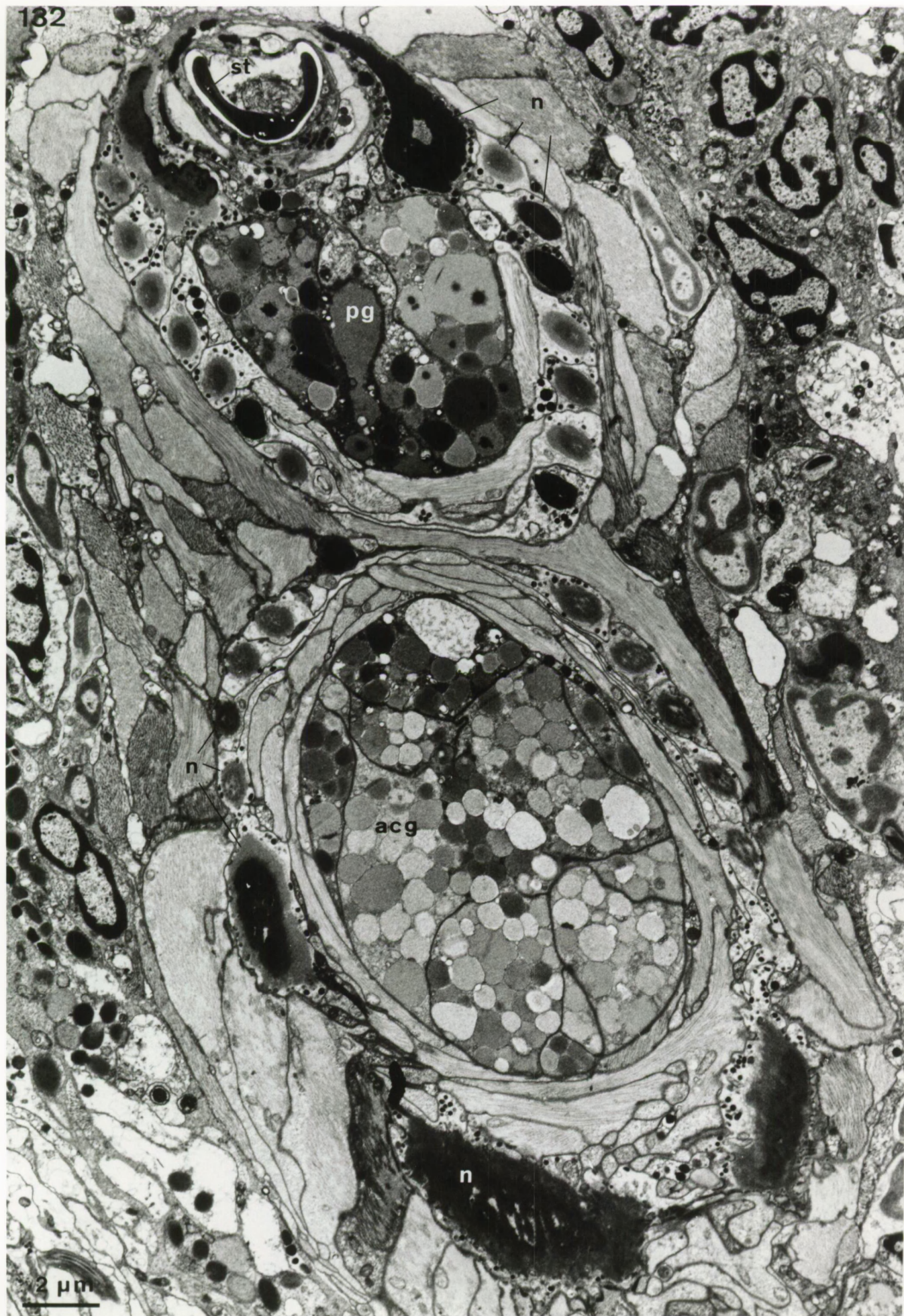


131



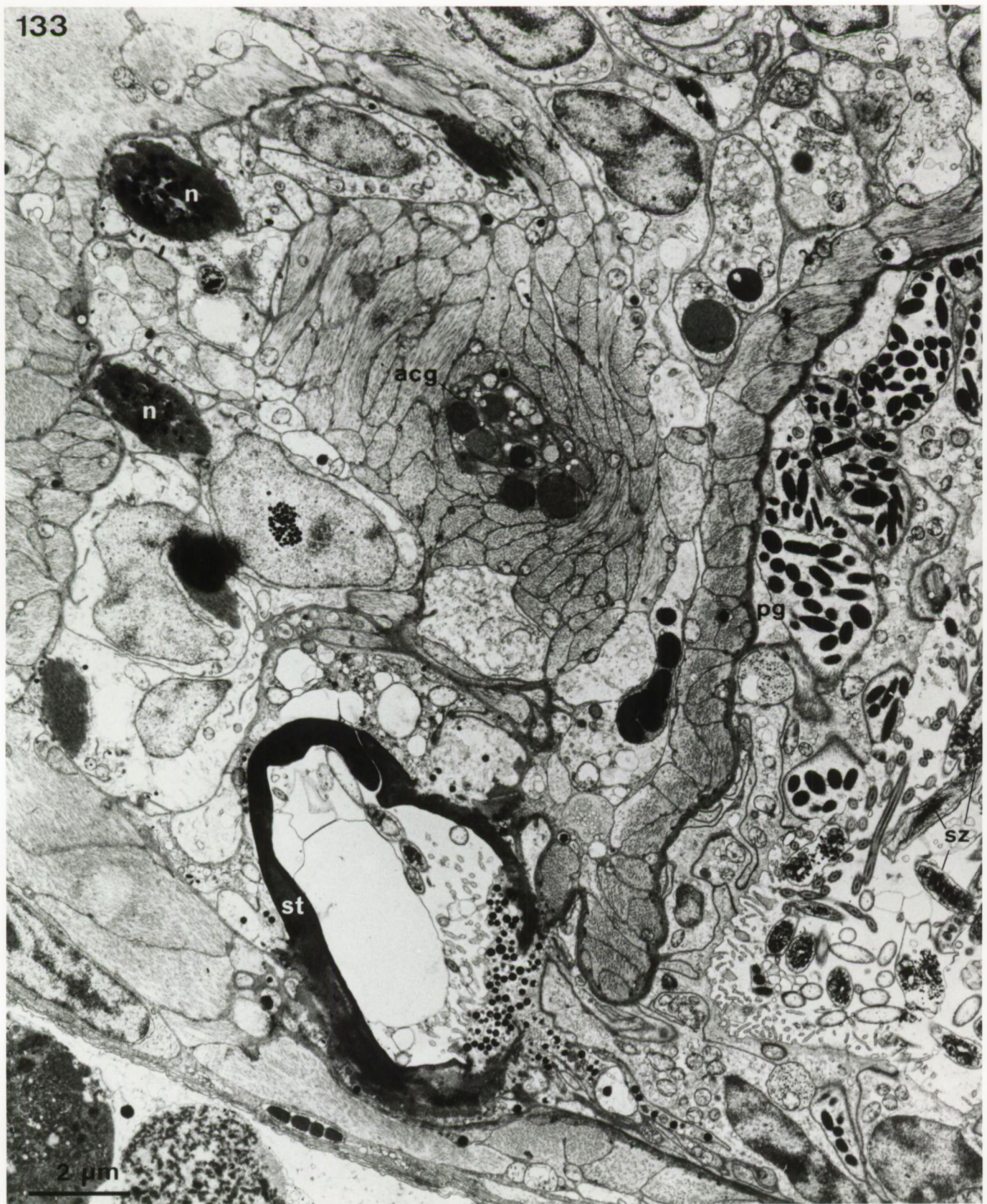
Afb. 132. : *Archimonocelis oostendensis*

Doorsnede van het kopulatieorgaan. Aan weerszijden van het stilet is een grote naald aanwezig, terwijl 14 fijne naalden de prostaatvesikel omringen. De accessorische prostaatvesikel is eveneens omringd door 14 naalden.



Afb. 133. : *Archimonocelis* sp.

Doorsnede door de kopulatorische bulbus. Prostaat-
klieren monden uit in het distale deel van de
ductus seminalis. De accessorisches prostaatvesikel
wordt omringd door 9 naalden waarvan er hier 5
zichtbaar zijn.



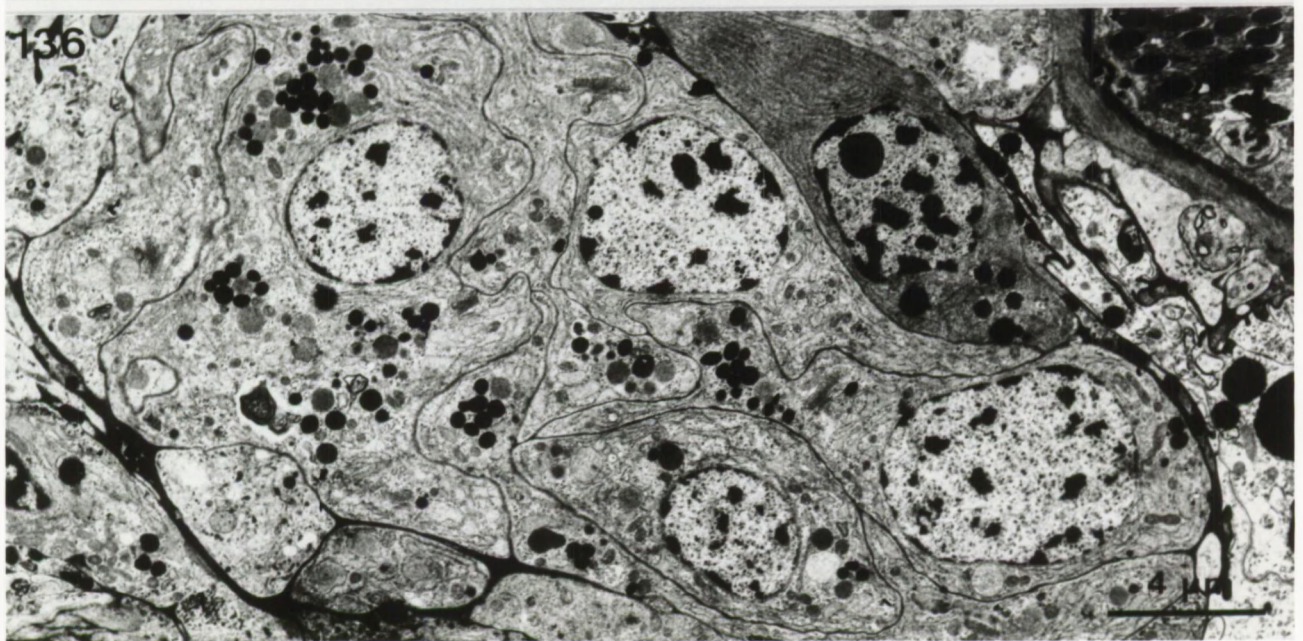
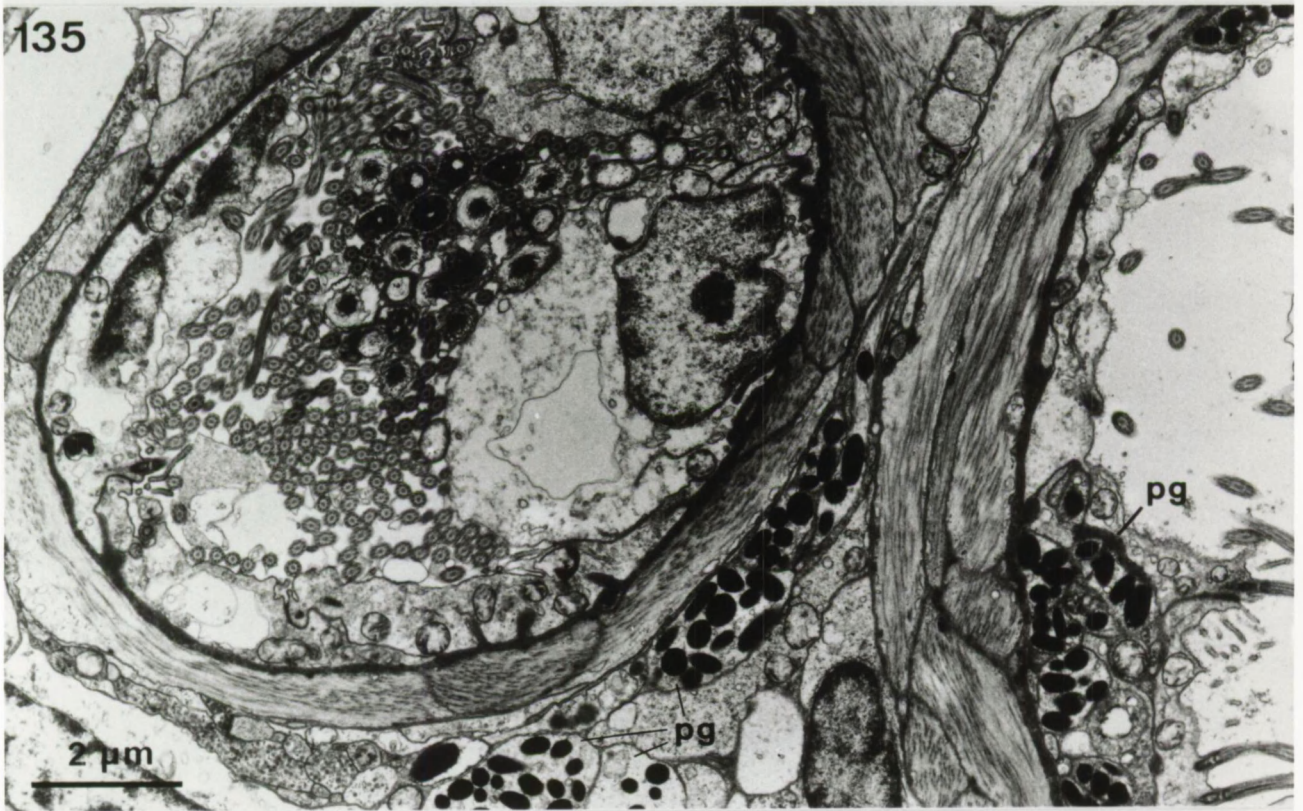
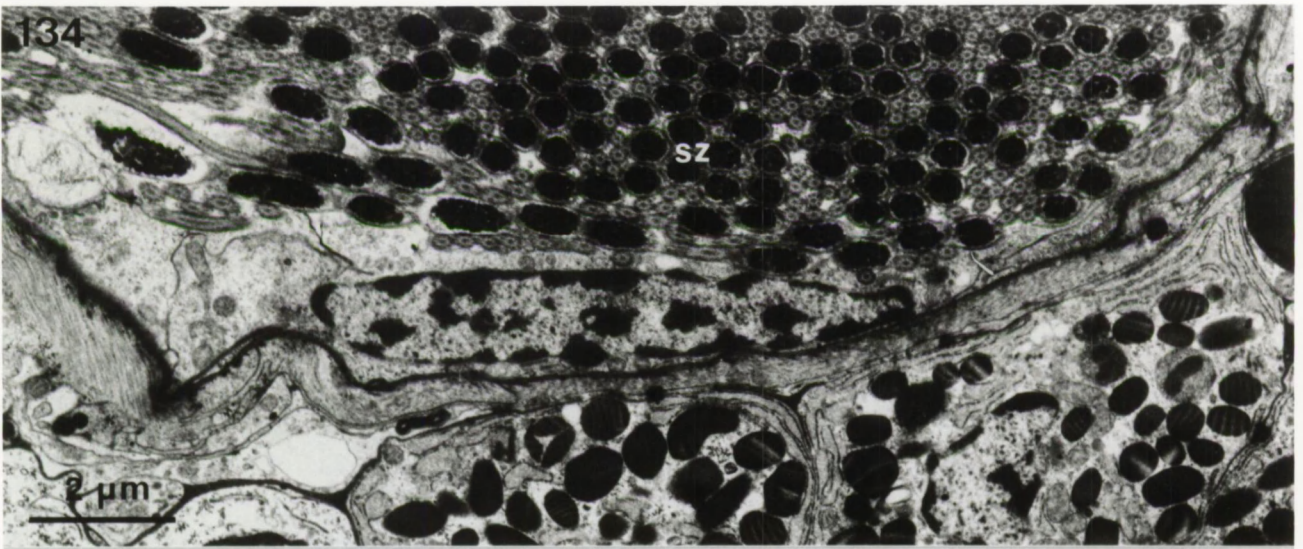
Afb. 134. : *Archimonocelis oostendensis*

De vesicula seminalis is begrensd met een afgeplat,
gecilleerd epitheel.

Afb. 135. : Doorsnede van de ductus seminalis bij *Archimonocelis*
sp.

Afb. 136. : *Archimonocelis oostendensis*

Kerndragende cellichamen van de prostaatklieren.
De cellen worden gekenmerkt door een uitgebreid
ruw endoplasmatisch reticulum en de sekreetgranula.

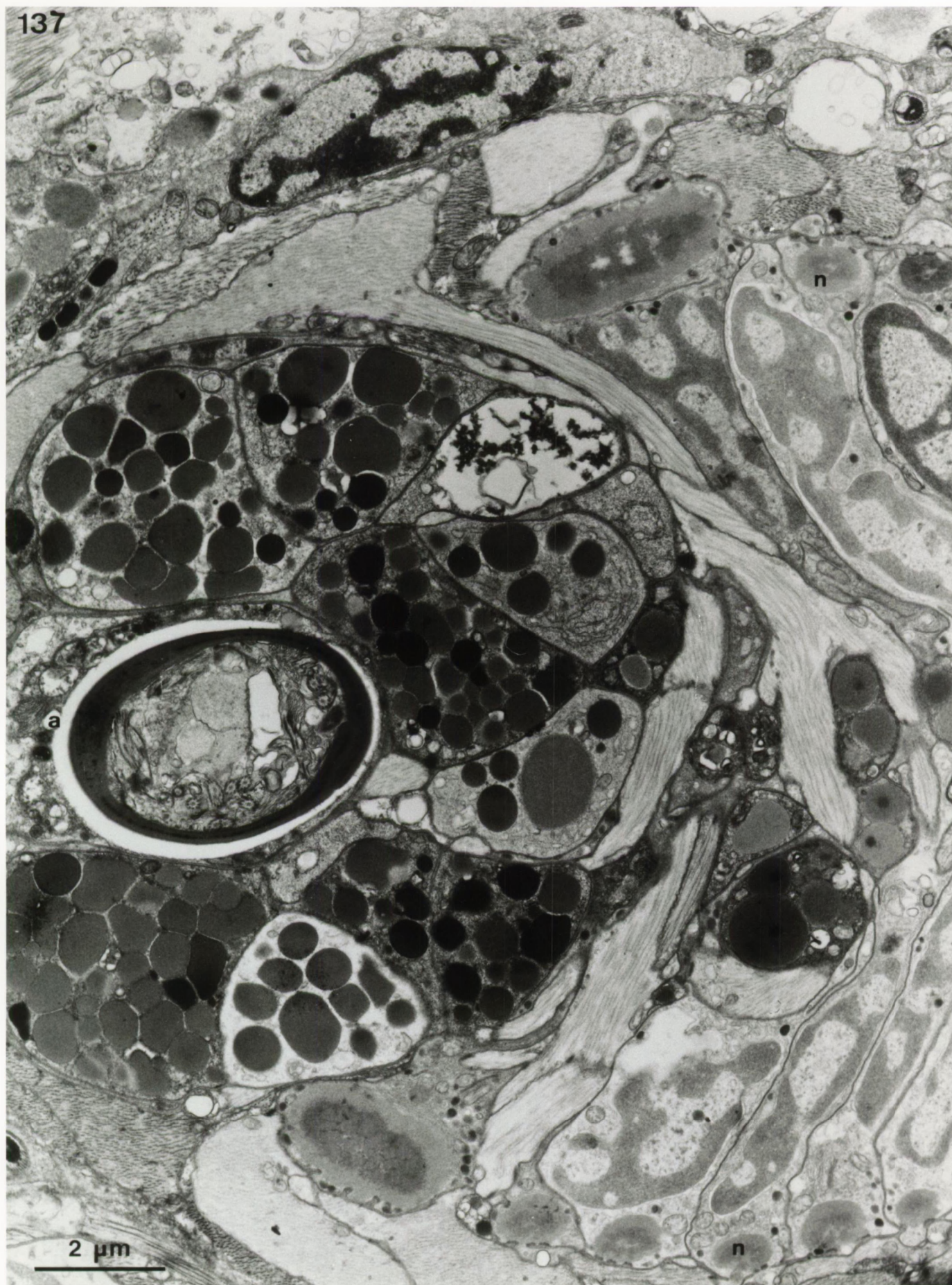


Afb. 137. : *Archimonocelis oostendensis*

De celnekkers van de prostaatklieren monden uit
in het atrium naast het stilet.

Bemerkt tevens de smalle maar hoge naaldcellen
rechtsonder in de afbeelding.

137

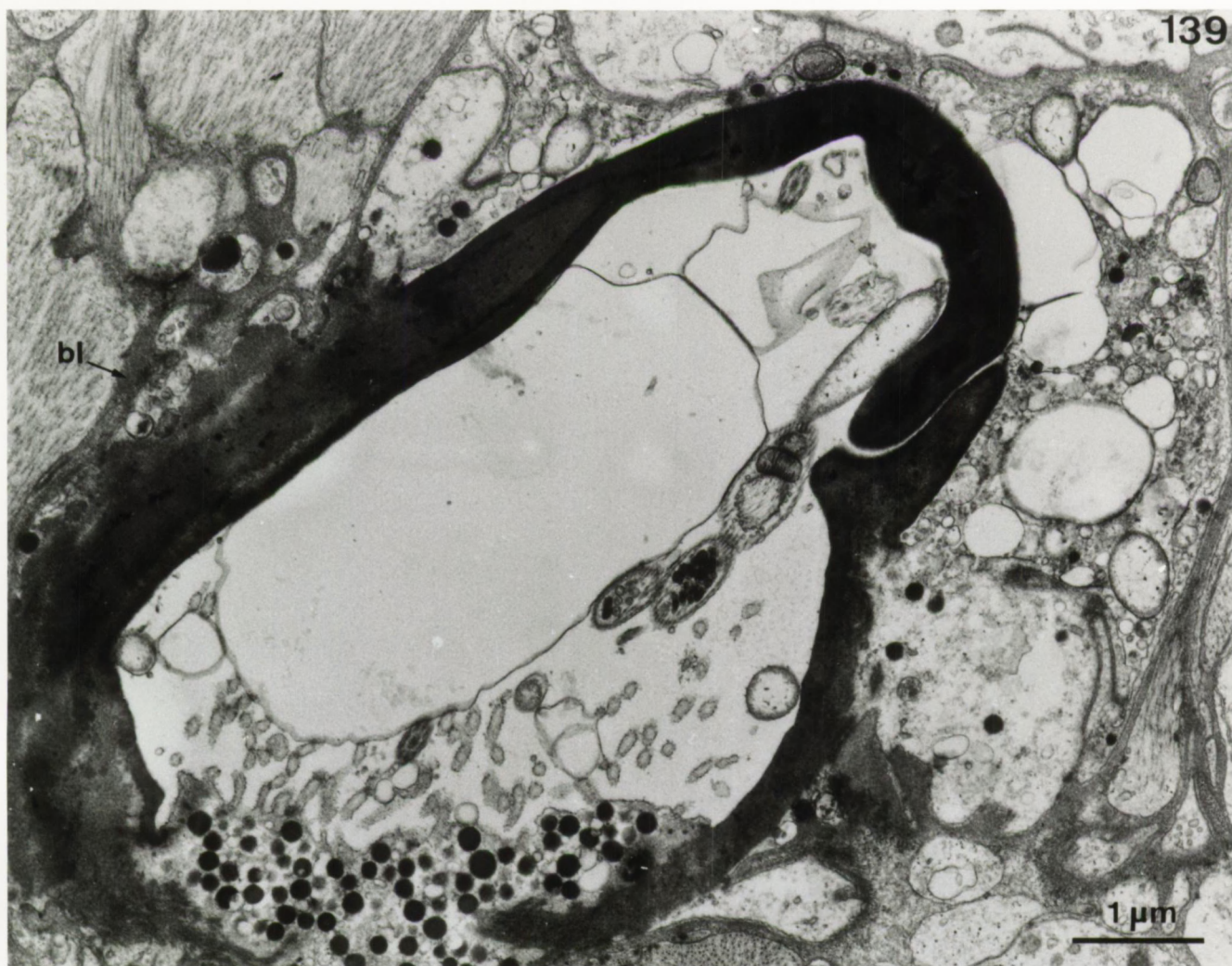


Archimonocelis sp.

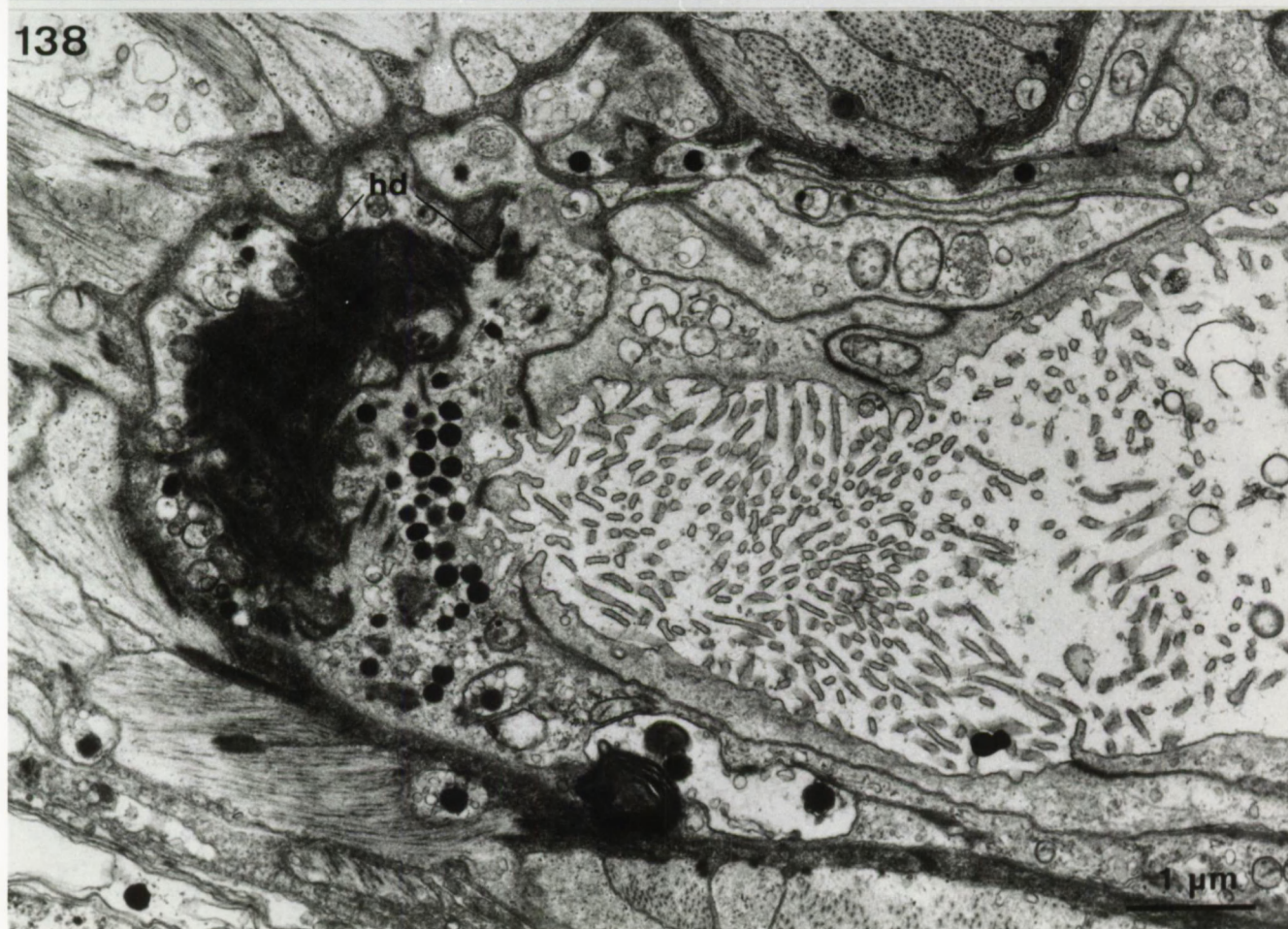
Afb. 138. : De basis van het stilet bestaat uit fibrillair materiaal dat aan de randen diffuus verspreid ligt in het cytoplasma van de matrixcel.

Afb. 139. : Verder distaalwaarts steekt het stilet uit boven de cel. De structuur bestaat uit een fijn fibrillaire matrix, waarin dense condensaties verspreid liggen, en een homogene dense oppervlaktelaag.

139



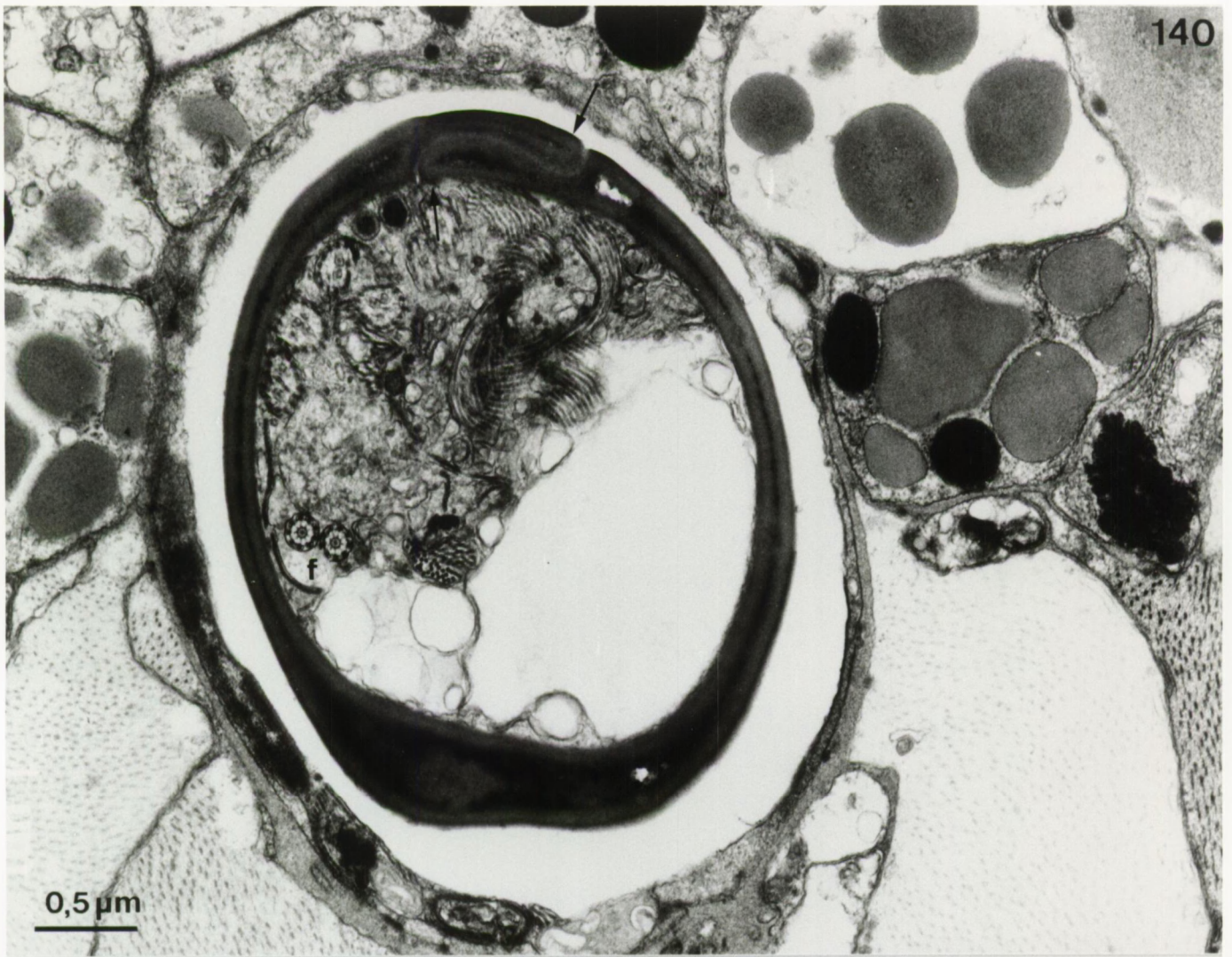
138



Afb. 140. : *Archimonocelis oostendensis*

Afb. 141. : *Archimonocelis* sp.

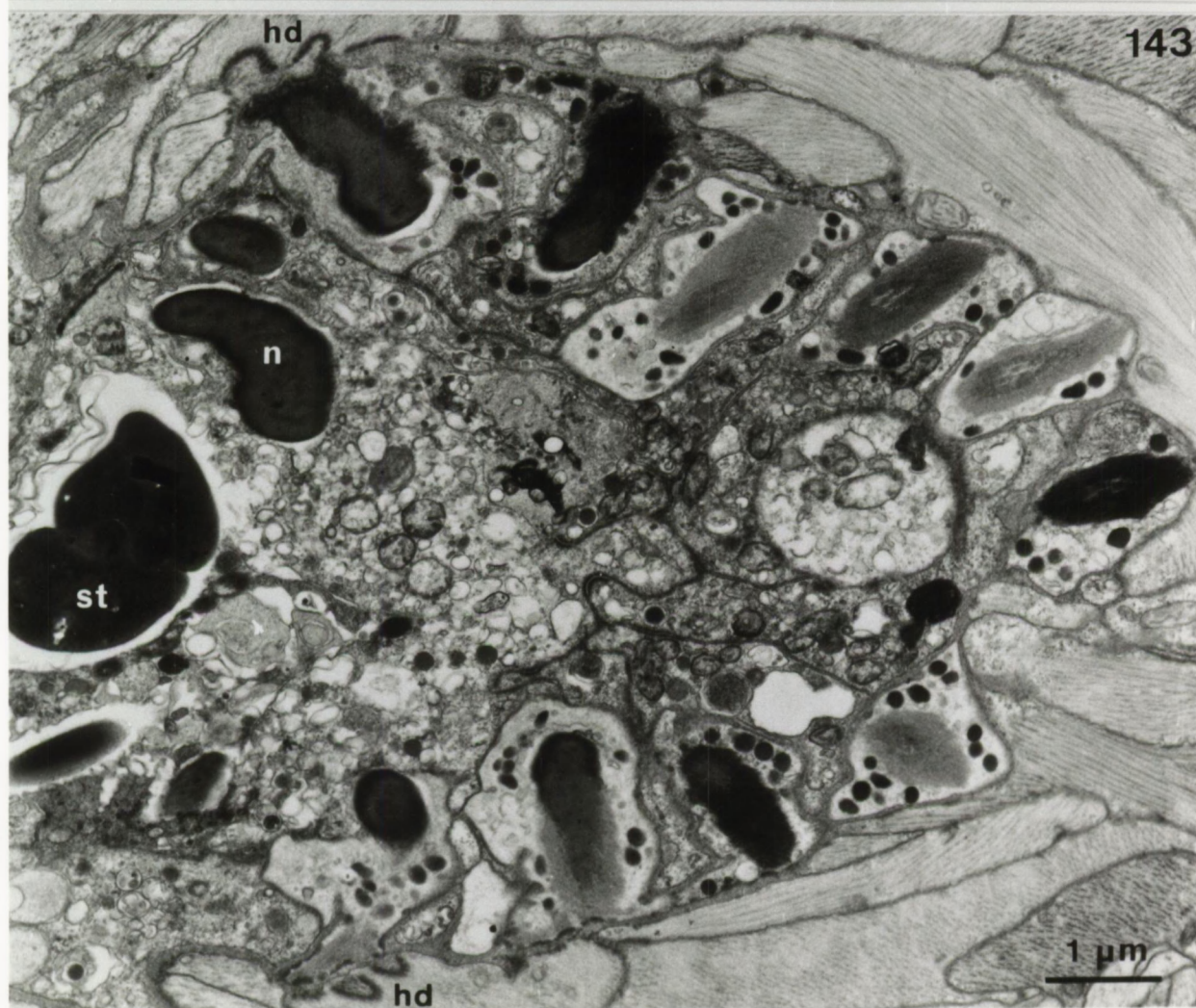
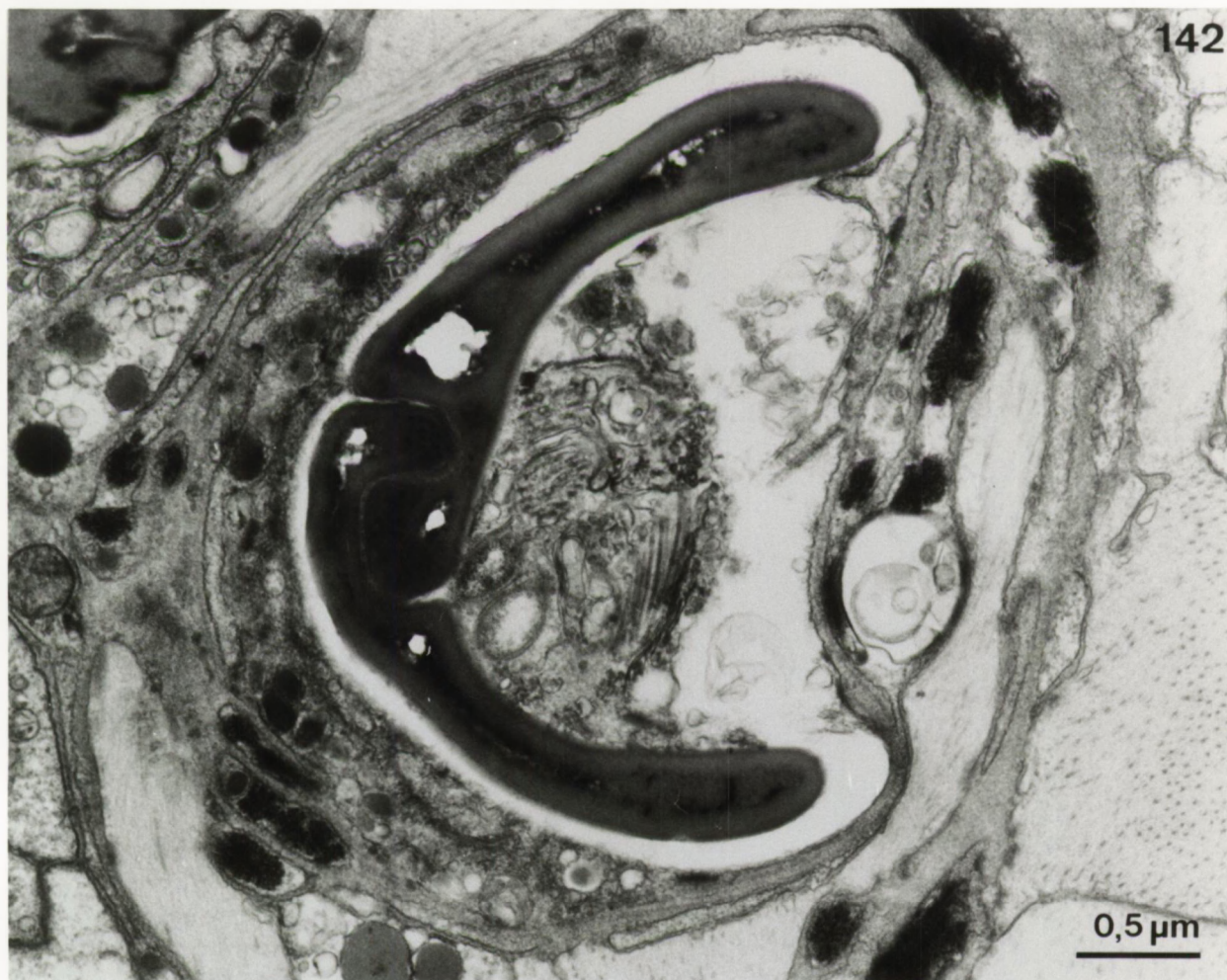
In dwarse doorsnede heeft het stilet de vorm van een goot waarvan de laterale randen elkaar overlappen en passend ineensluiten (pijl).



Archimonocelis oostendensis

Afb. 142. : Dwarse doorsnede van het stilet ter hoogte van de opening.

Afb. 143. : De top van het stilet bestaat uit twee in elkaar passende helften. Bemerk tevens de centrale bundel fibrillen in sommige naalden.



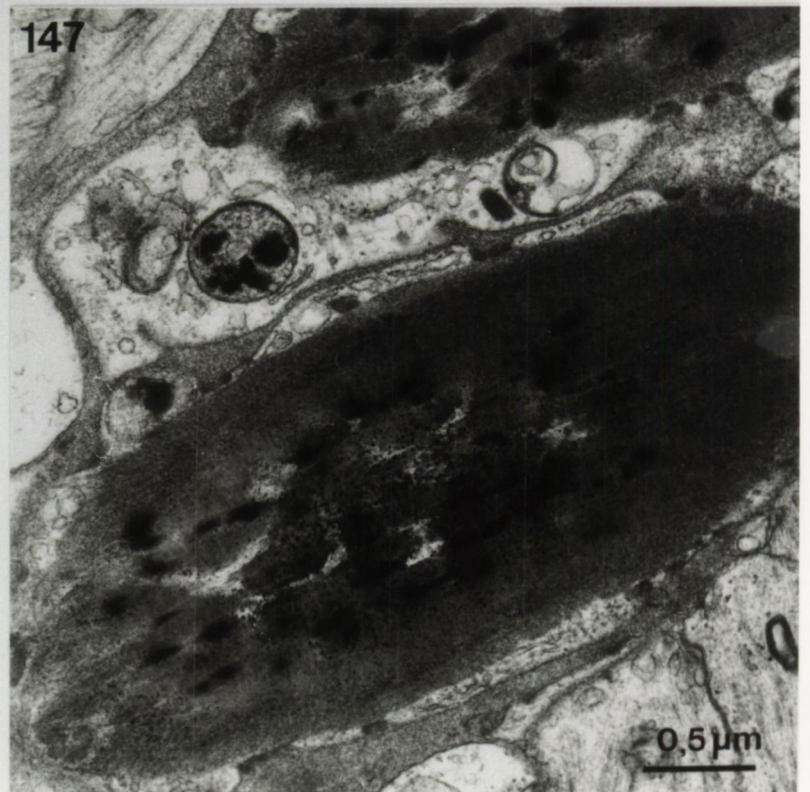
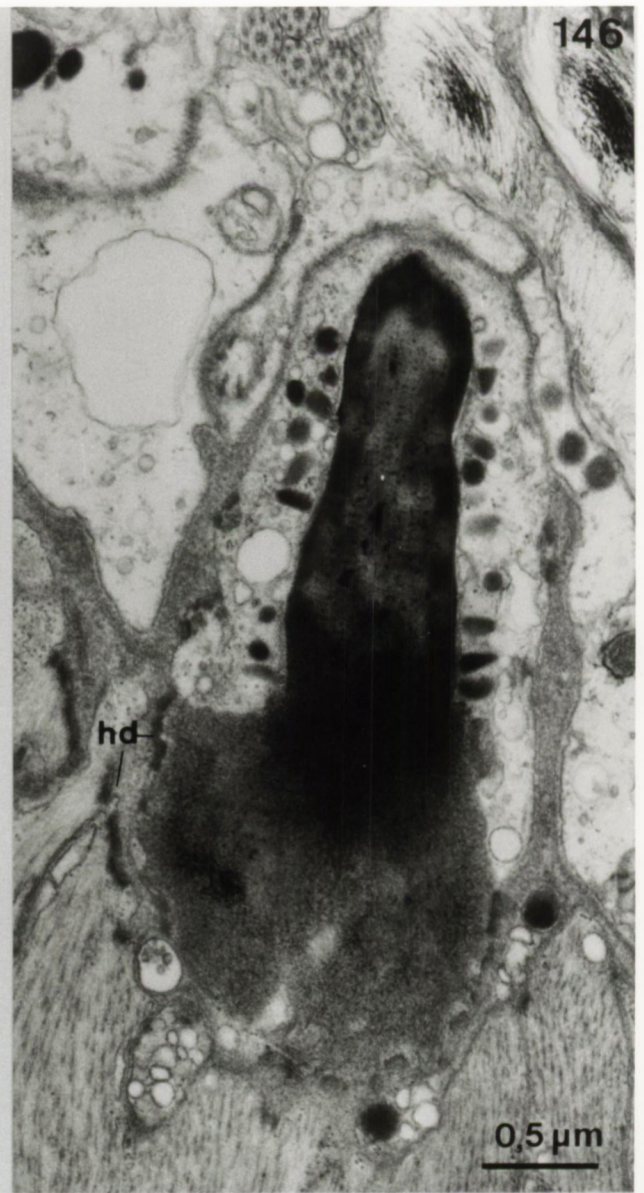
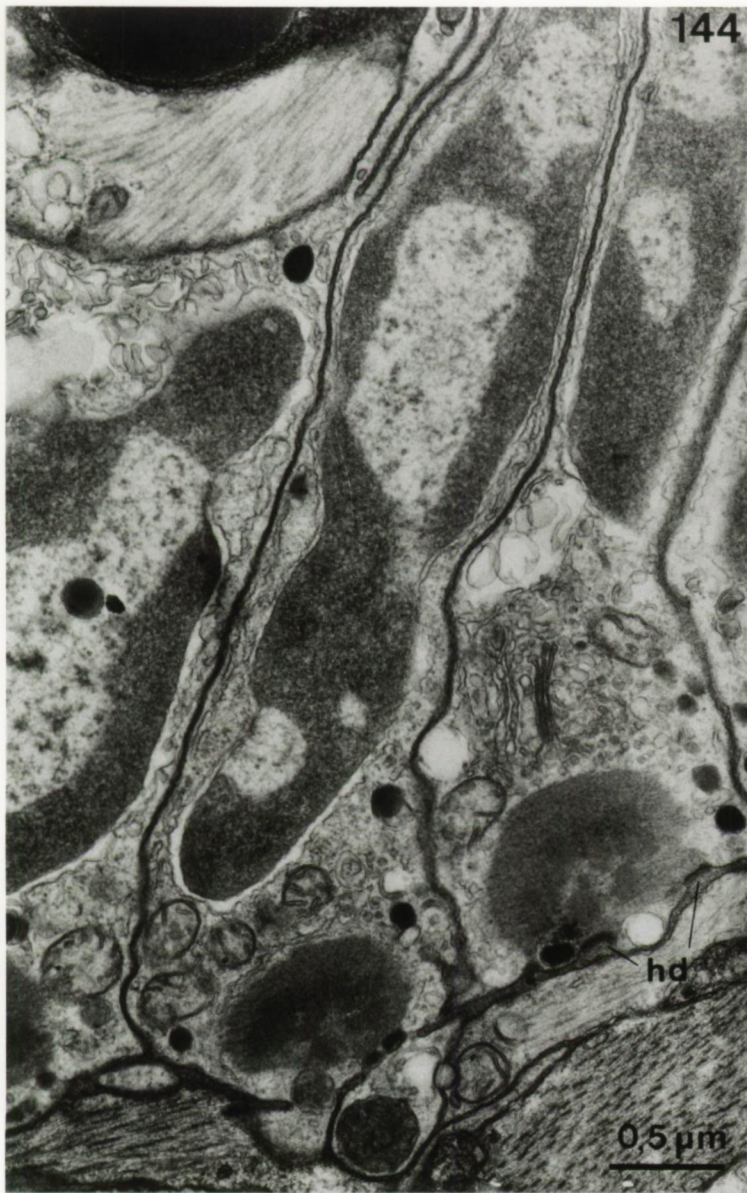
Archimonocelis oostendensis

Afb. 144. : De cellen die een naald bevatten worden gekenmerkt door een grote langgerekte kern. Onder de basis van de naalden is de celmembraan met hemidesmosomen vastgehecht aan de basale lamina.

Afb. 145. : De naalden bestaan uit een centrale bundel fibrillen omgeven door grof fibrillair materiaal. De fibrillen vertonen een dwarsbinding.

Afb. 146. : Verder distaalwaarts bestaat de naald uit een fijn fibrillaire matrix, waarin dense substructuren verspreid liggen, en een homogene oppervlaktelaag.

Afb. 147. : Naalden bij *Archimonocelis* sp.



Cirriifera aculeata

Afb. 148. : Cirrus met haakvormig gebogen stekels. Bemerkt de grote meest proximaal gelegen stekel met gevorkte basis.

Afb. 149. : Dwarse doorsnede door de kopulatorische bulbus met de uitmonding van de prostaatklieren.

Afb. 150. : Sagittale doorsnede waarop de organisatie van de genitale organen zichtbaar is.

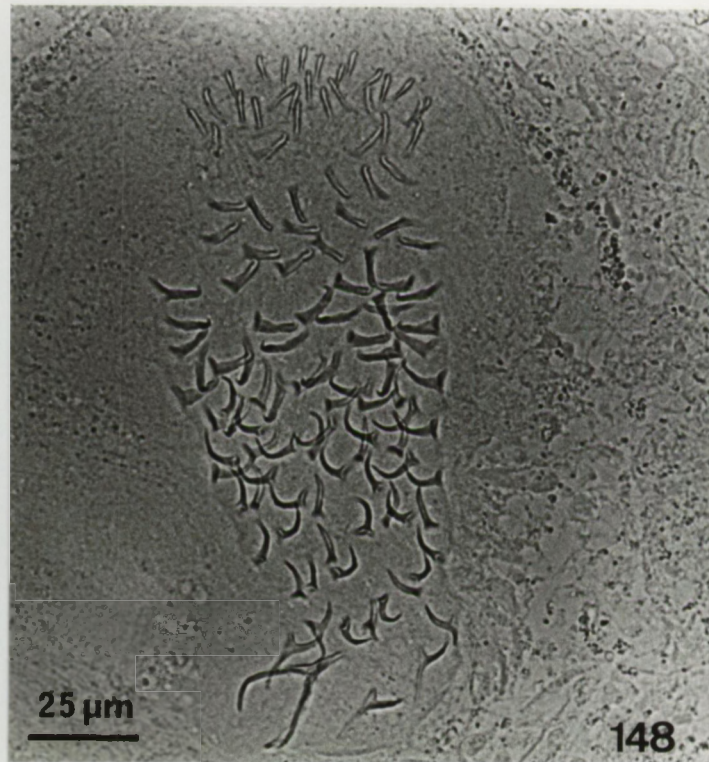
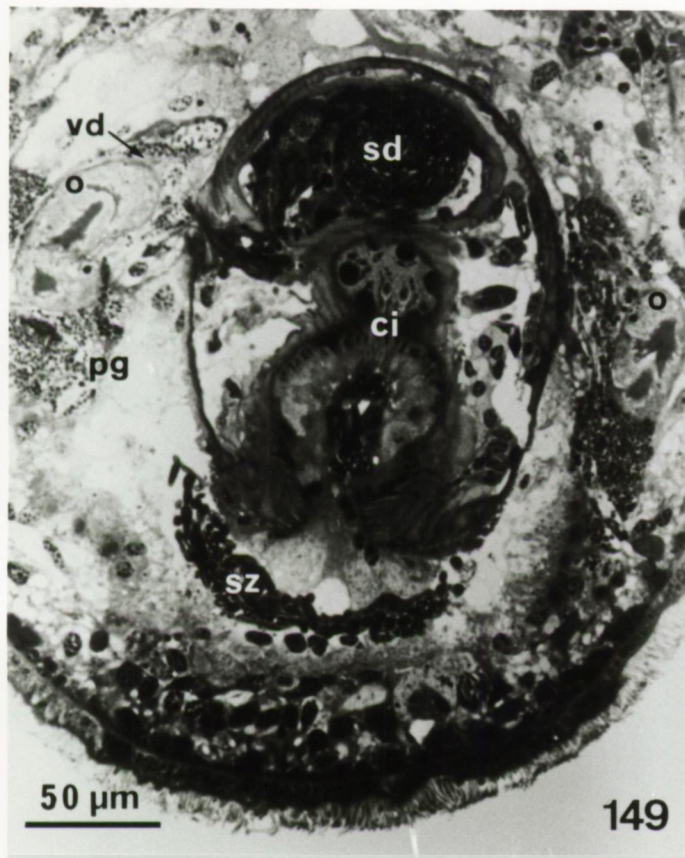
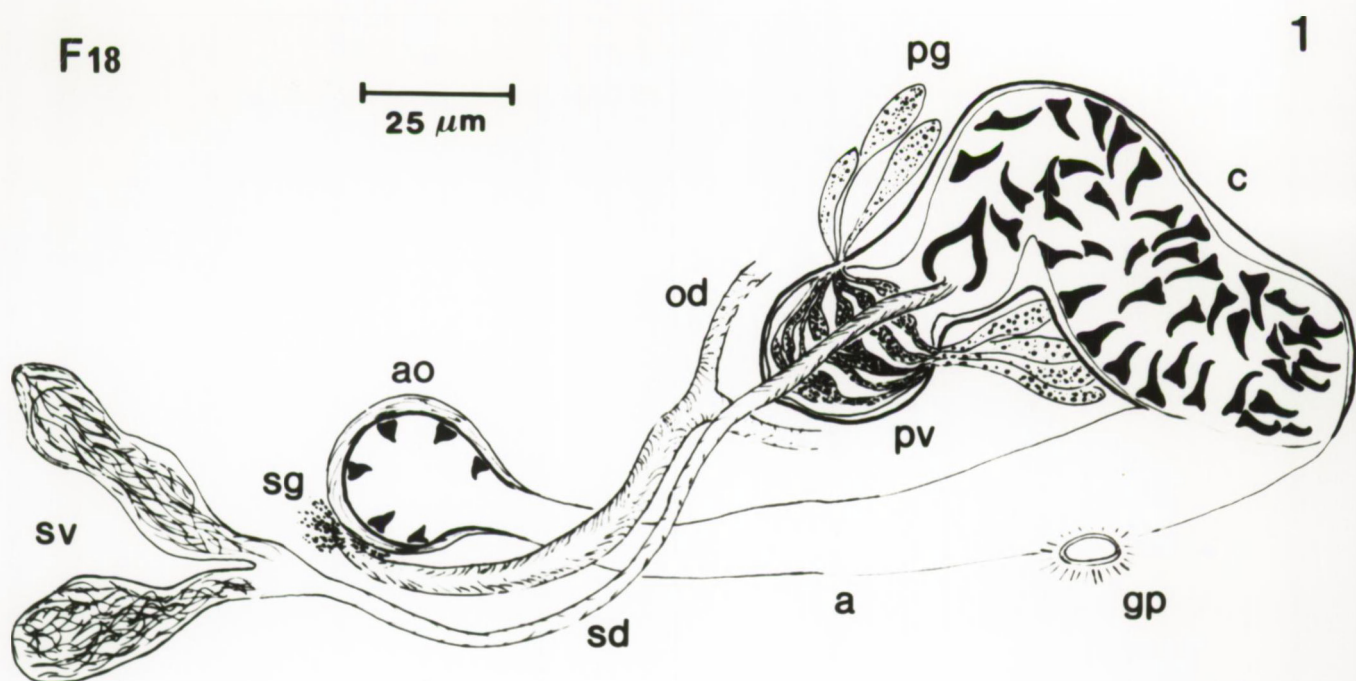


Fig. 18. : *Cirriifera aculeata*

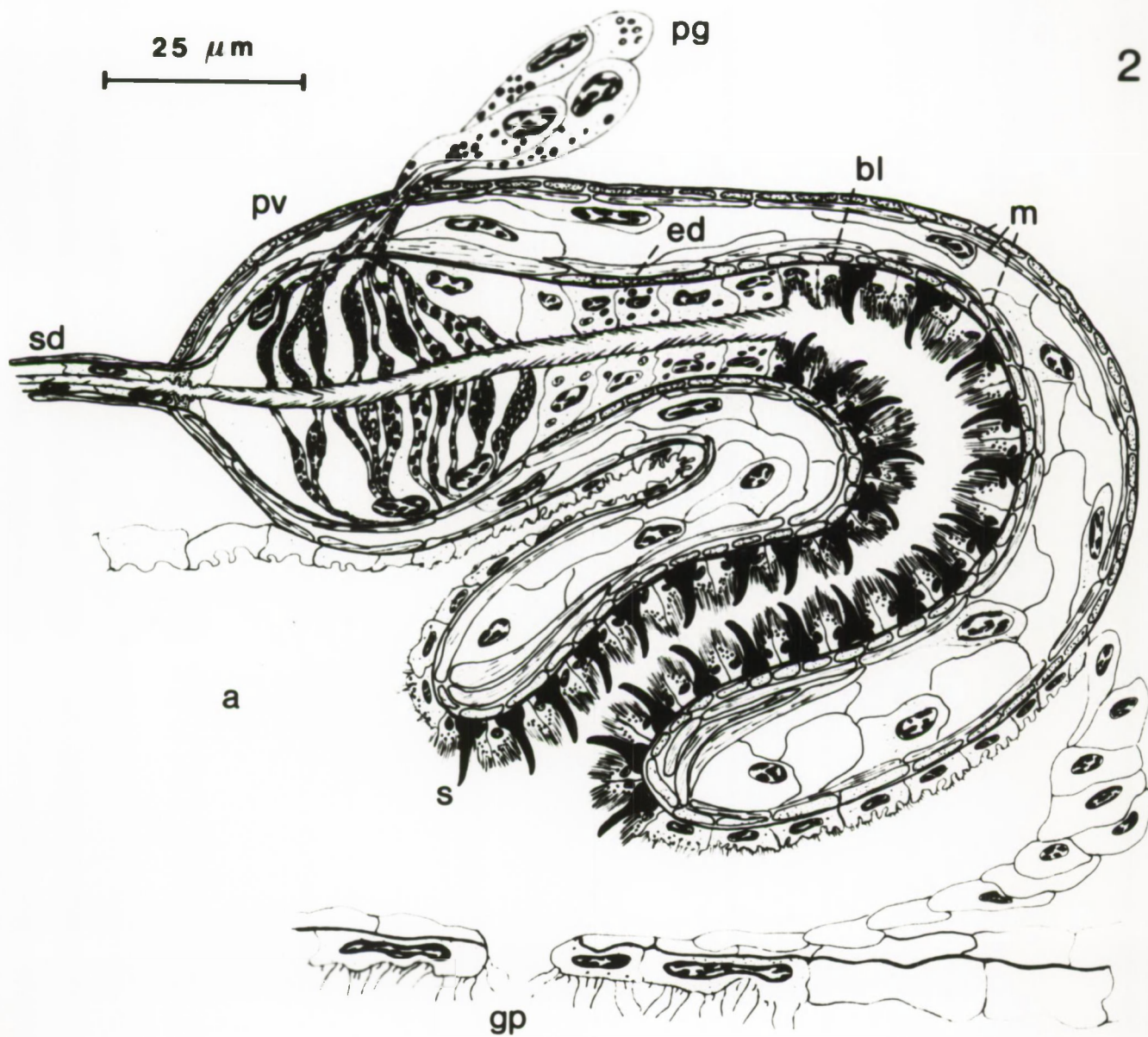
1. Organisatie van de genitale organen.
2. Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.

F18

25 μ m



25 μ m



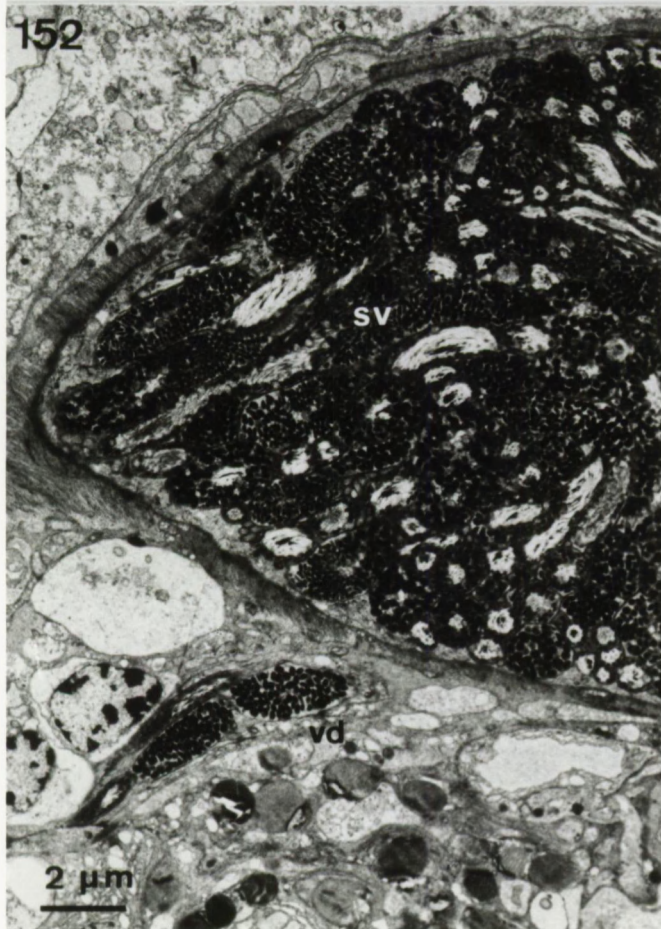
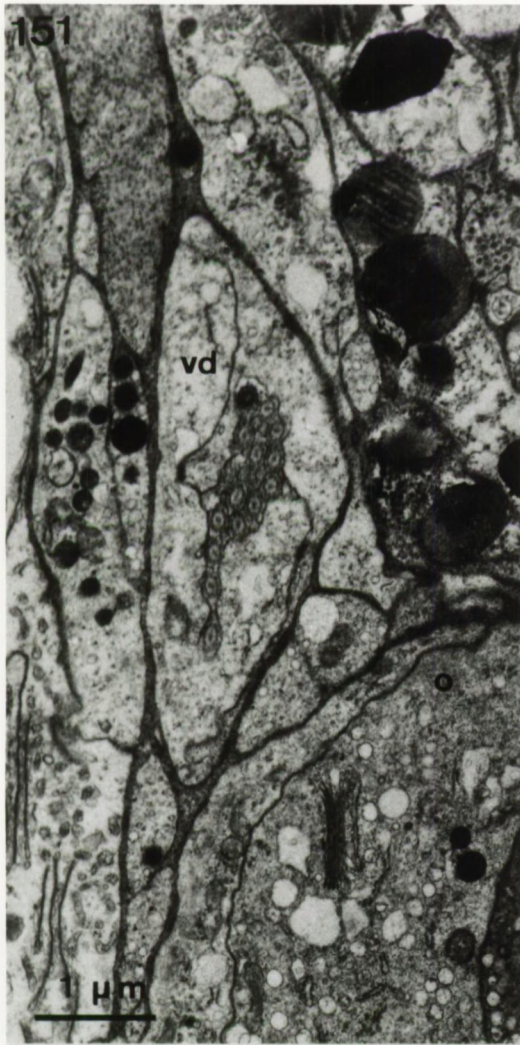
Cirriifera aculeata

Afb. 151. : Vas deferens naast de ovidukt.

Afb. 152. : Vas deferens net voor uitmonding vooraan in de
vesicula seminalis.

Afb. 153. : Vesicula seminalis waarvan het epitheel diepe
invaginaties vertoont welke opgevuld zijn met
spermatozoiden.

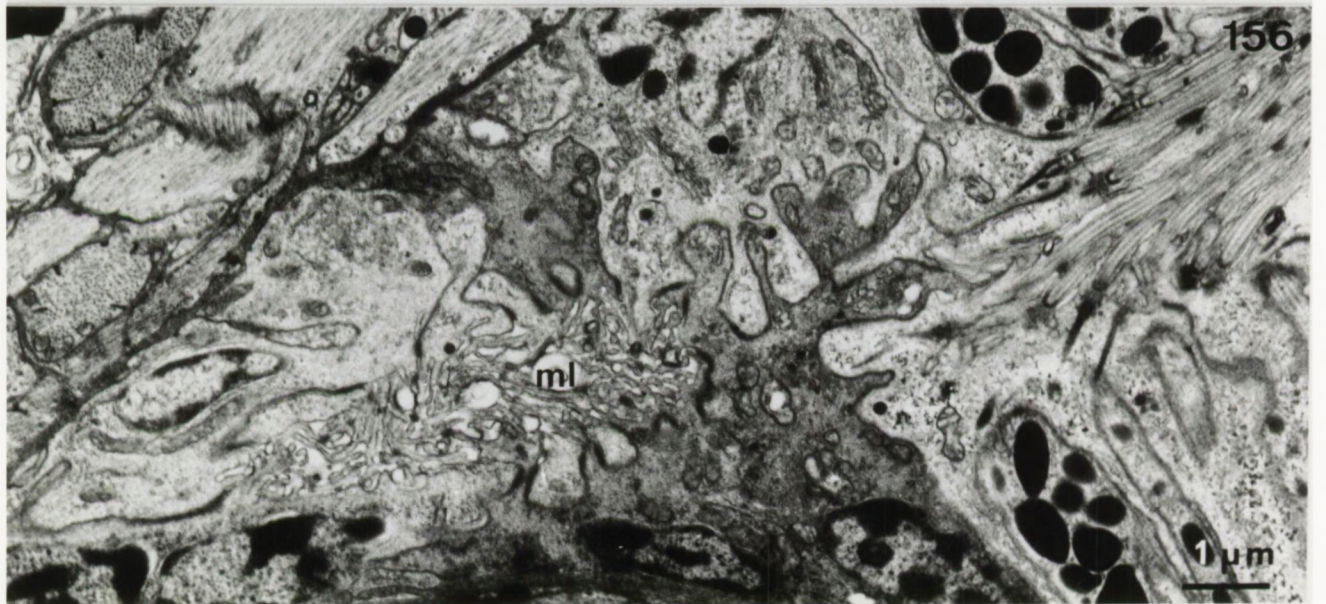
Afb. 154. : Ductus seminalis.



Cirrifera aculeata

Afb. 155. : Doorsnede van het kopulatieorgaan waarvan de ductus seminalis, de prostaatvesikel en begin van de cirrus zichtbaar zijn.

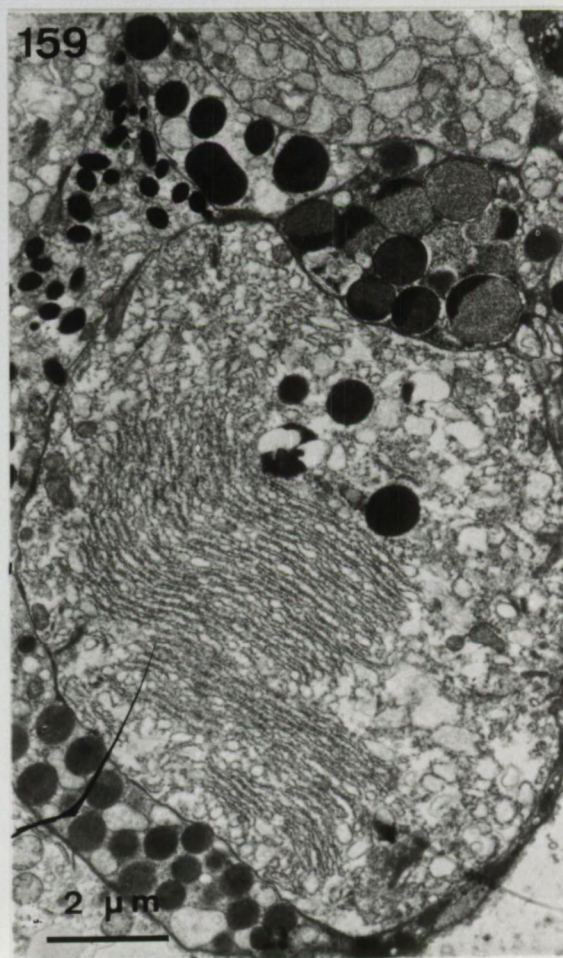
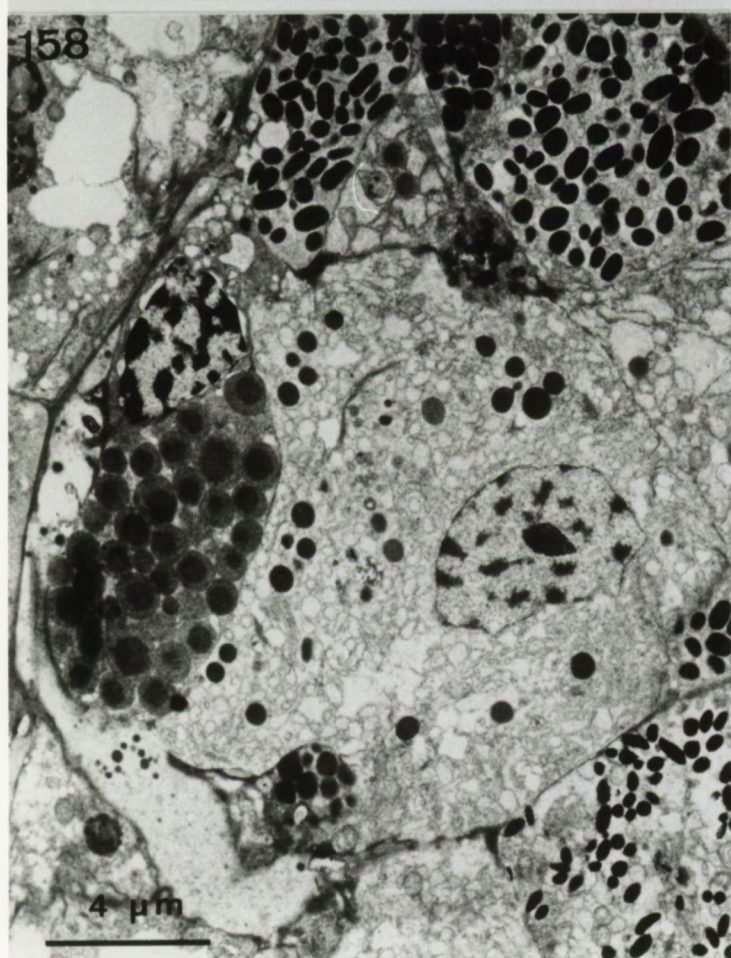
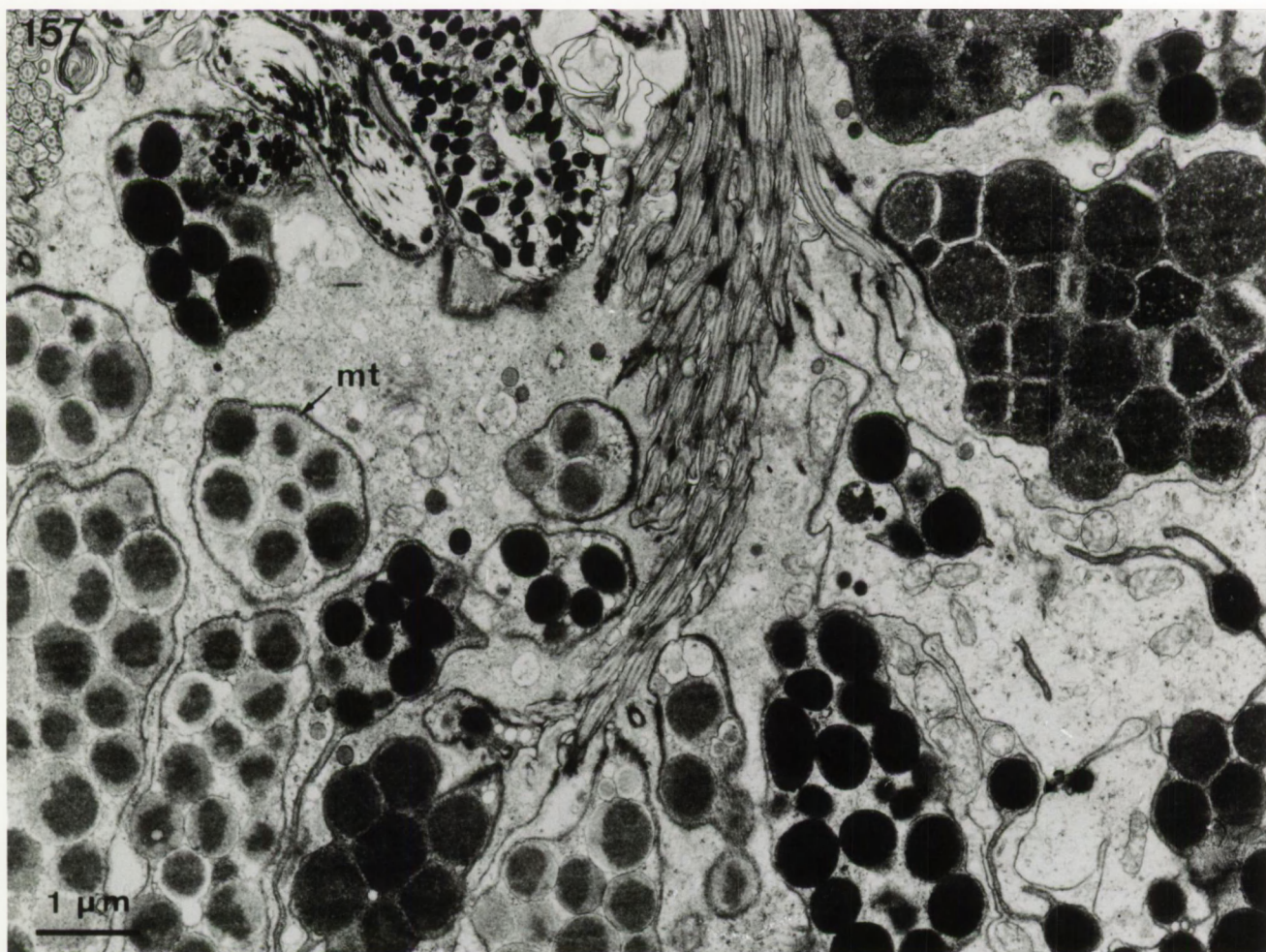
Afb. 156. : Het laatste deel van de ductus seminalis is begrensd met onregelmatige epitheelcellen afgeboord met microvilli.



Cirrifera aculeata

Afb. 157. : De celnekkens van de prostaatklieren zijn verstevigd door een perifere laag mikrotubuli en bevatten verschillende types van sekreetgranula.

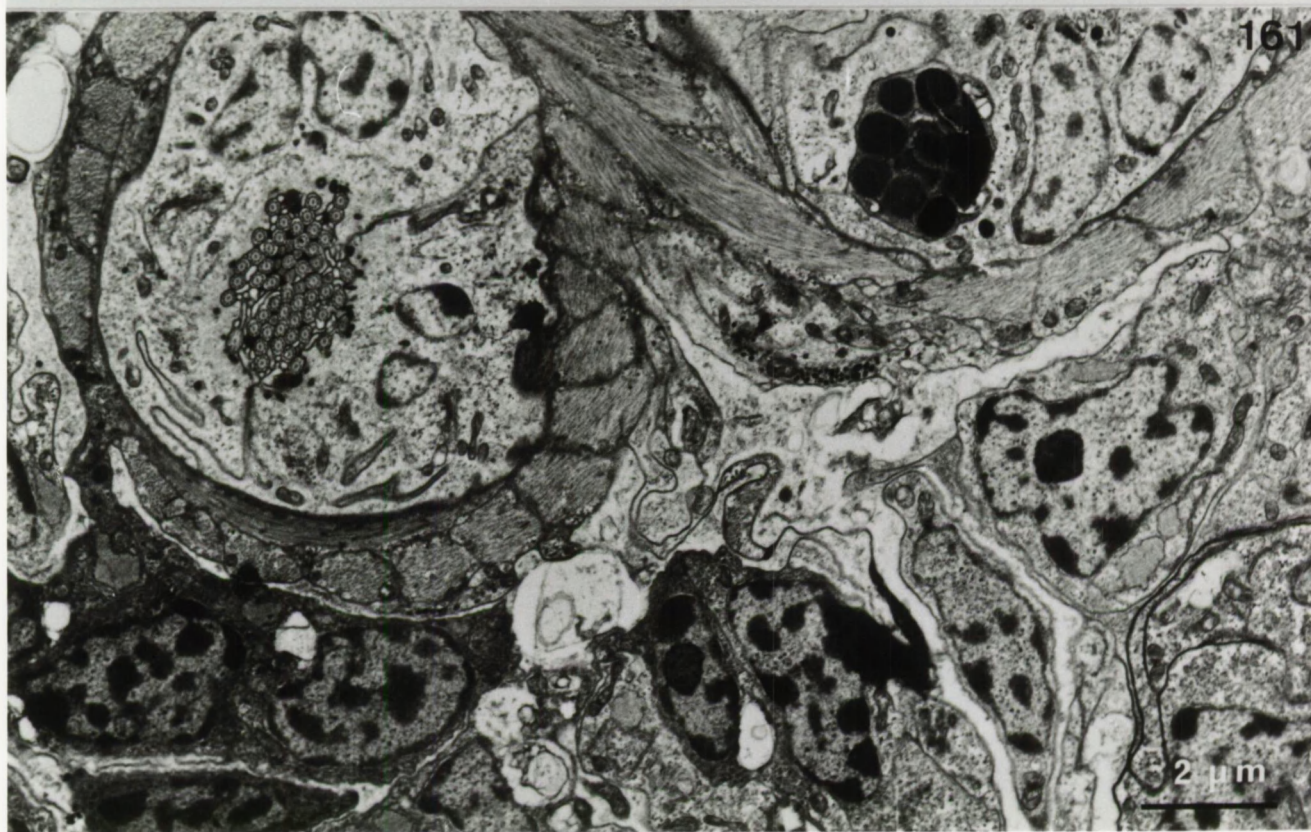
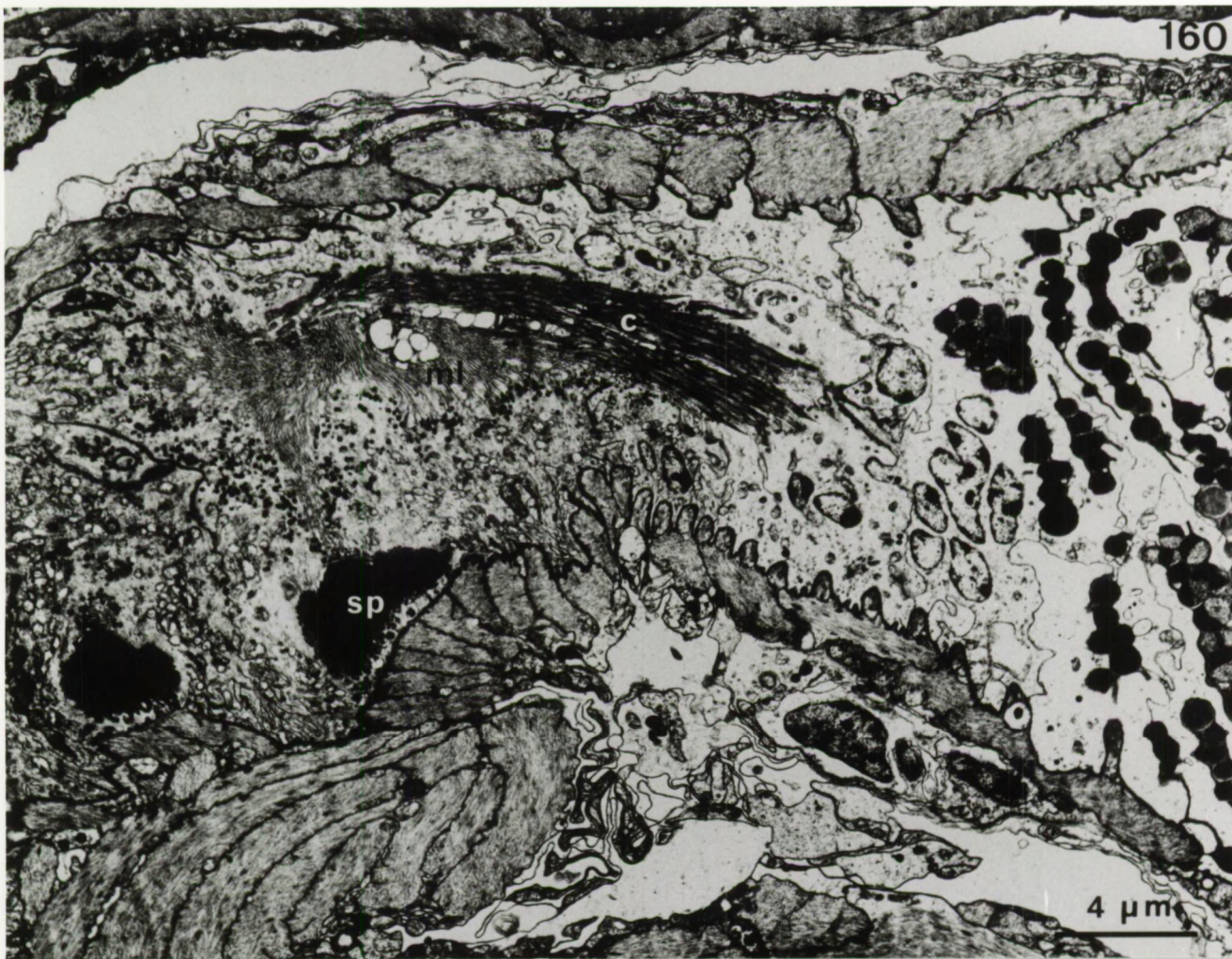
Afb. 158. en 159. : Cellen van de prostaatklieren gekenmerkt door een zeer uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum en de sekreetgranula.



Cirrifera aculeata

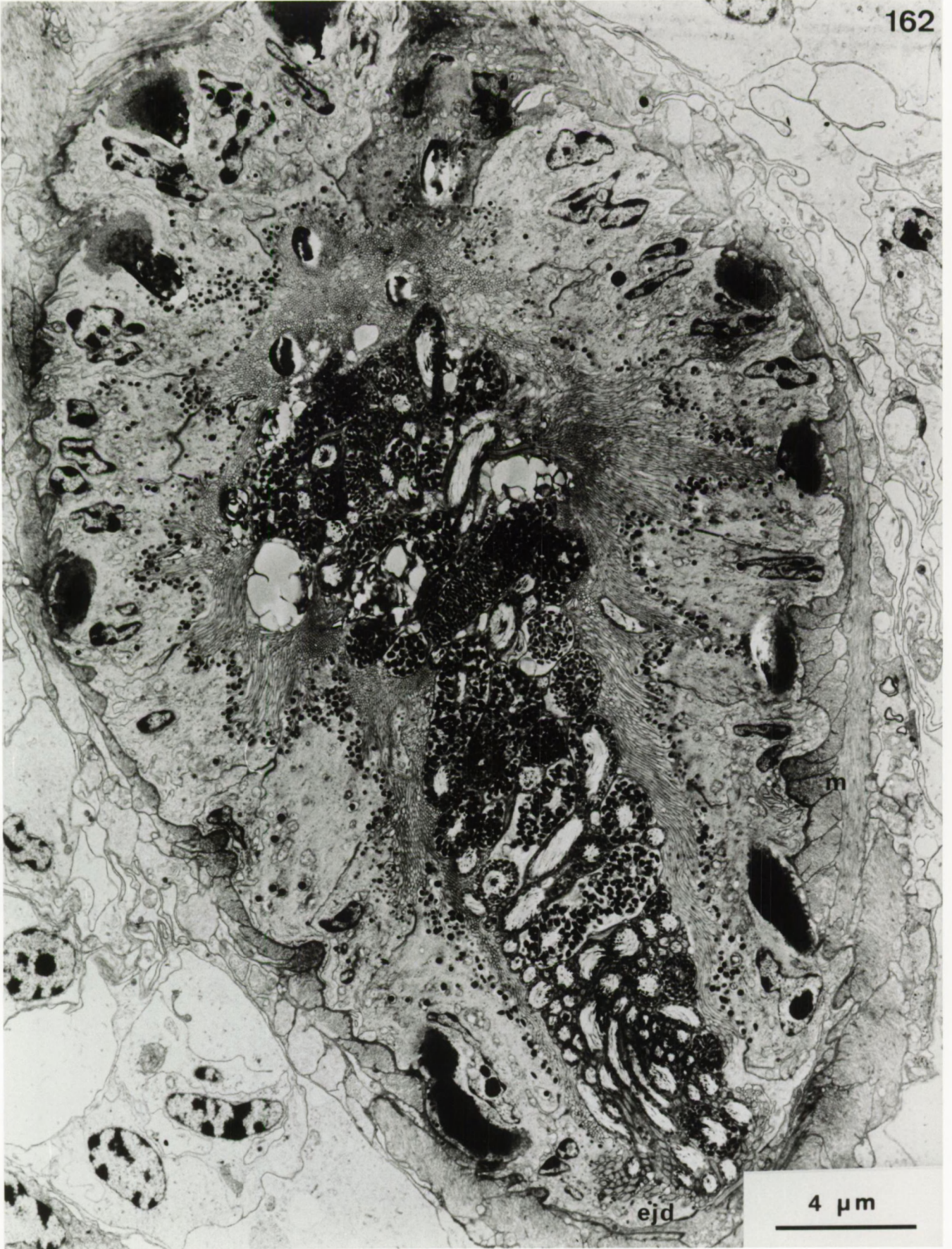
Afb. 160. : Transitie ductus ejaculatorius-cirrus, gepaard gaande met de overgang van een epitheel met cilia van de ductus in een epitheel met microvilli van de cirrus.

Afb. 161. : Ductus ejaculatorius ter hoogte van de overgang naar de cirrus. Tussen de cilia zijn microvilli aanwezig. De ductus wordt omgeven door inwendige ringspieren en uitwendige longitudinale spieren.



Afb. 162. : *Cirrifera aculeata*

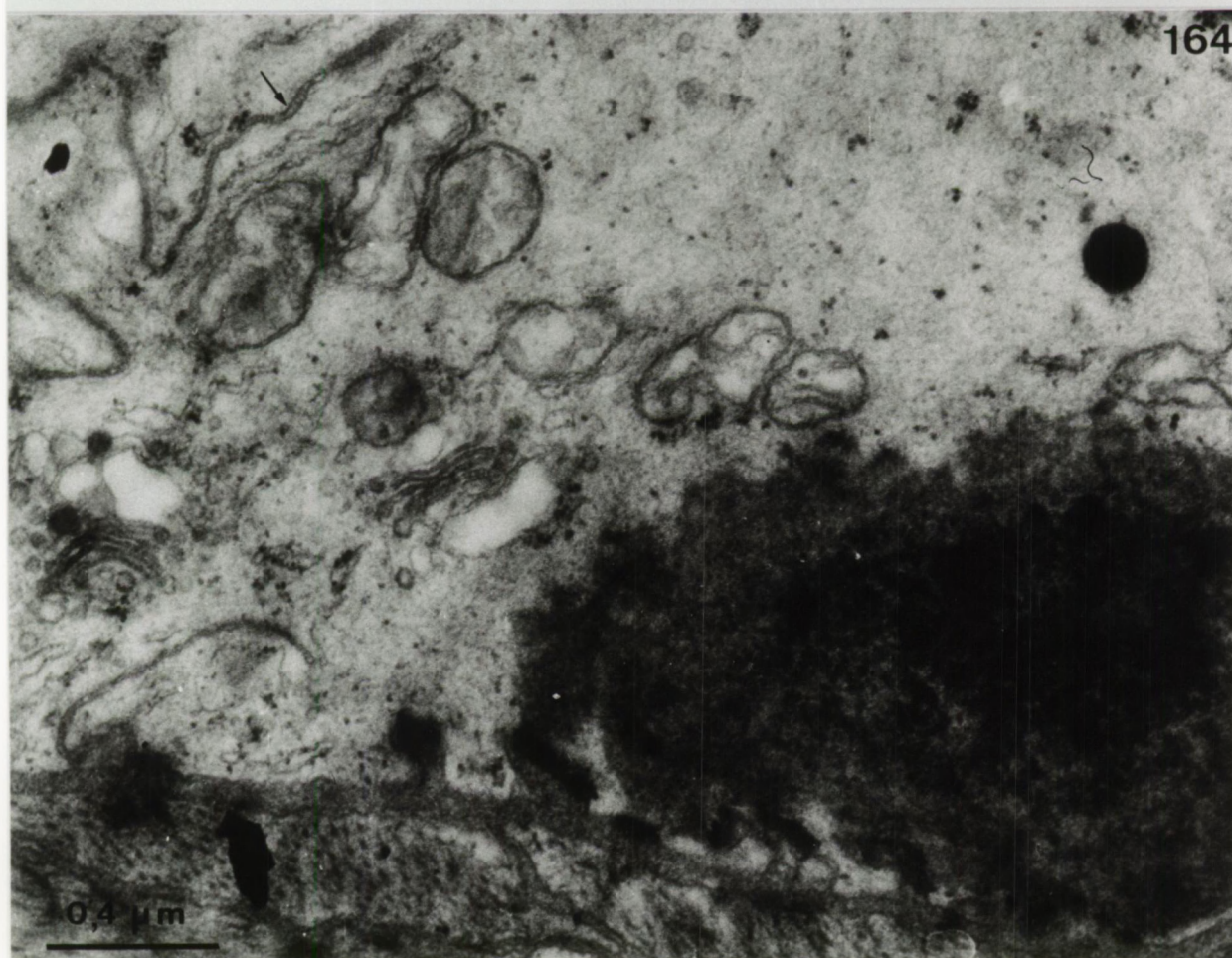
Sagittale doorsnede door de cirrus. De kuip-
vormige epitheelcellen bevatten elk een stekel
en zijn afgeboord met lange microvilli. Bemer-
k onderaan de laatste cellen van de ductus ejacu-
latorius voorzien van cilia.



Cirriifera aculeata

Afb. 163. : Kuipvormige epitheelcel van de cirrus met een stekel. Onder de basis van de stekel zijn talrijke hemidesmosomen aanwezig tussen de basale celmembraan en de basale lamina.

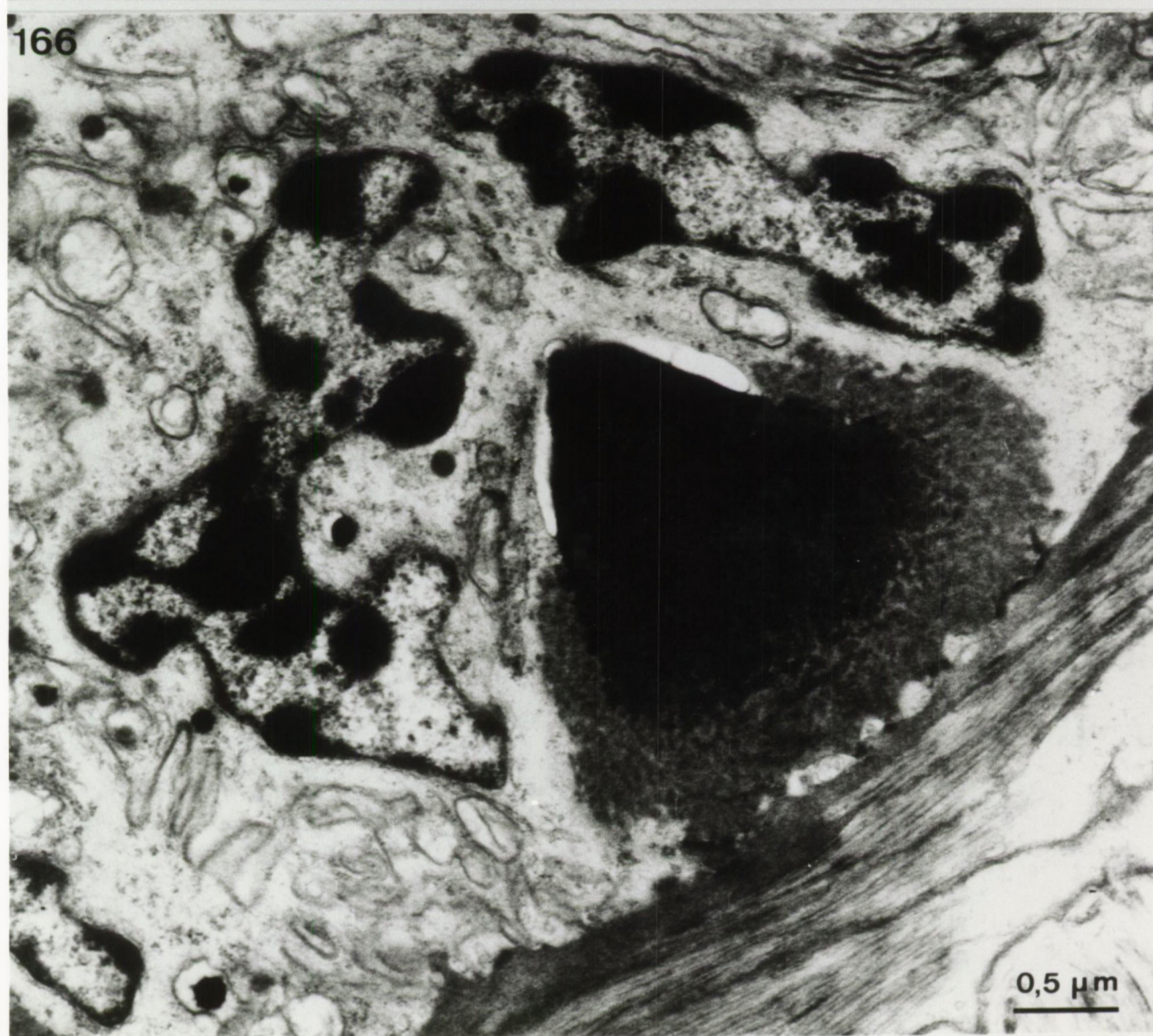
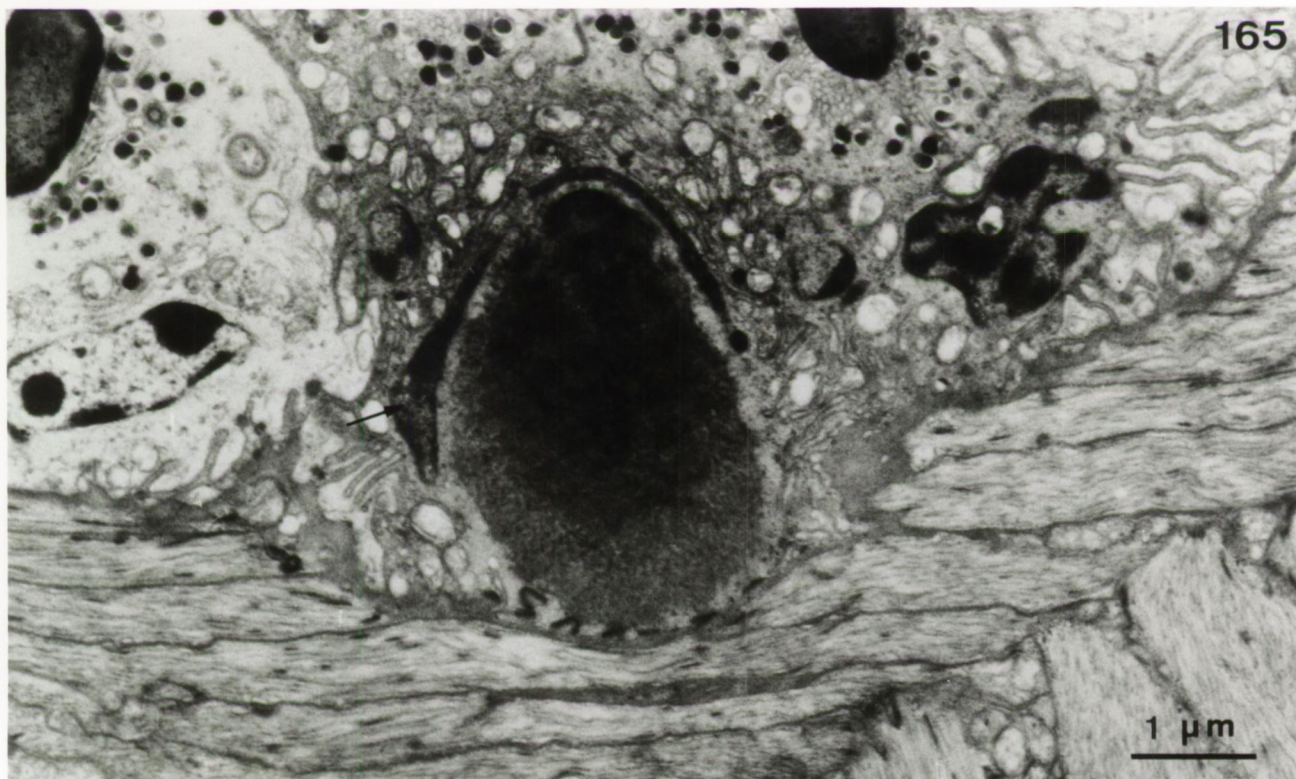
Afb. 164. : Basale celgedeelte van een epitheelcel van de cirrus. Het flocculente stekelmateriaal is kontinu met het fibrillaire netwerk in het cytoplasma.



Cirriifera aculeata

Afb. 165. : Tangentiële doorsnede van een stekel. De gelobde kern ligt in de vorm van een hoefijzer rondom de basis van de stekel. Bemerkt de talrijke mitochondriën en de sterk kronkelende celmembranen van de epitheelcel.

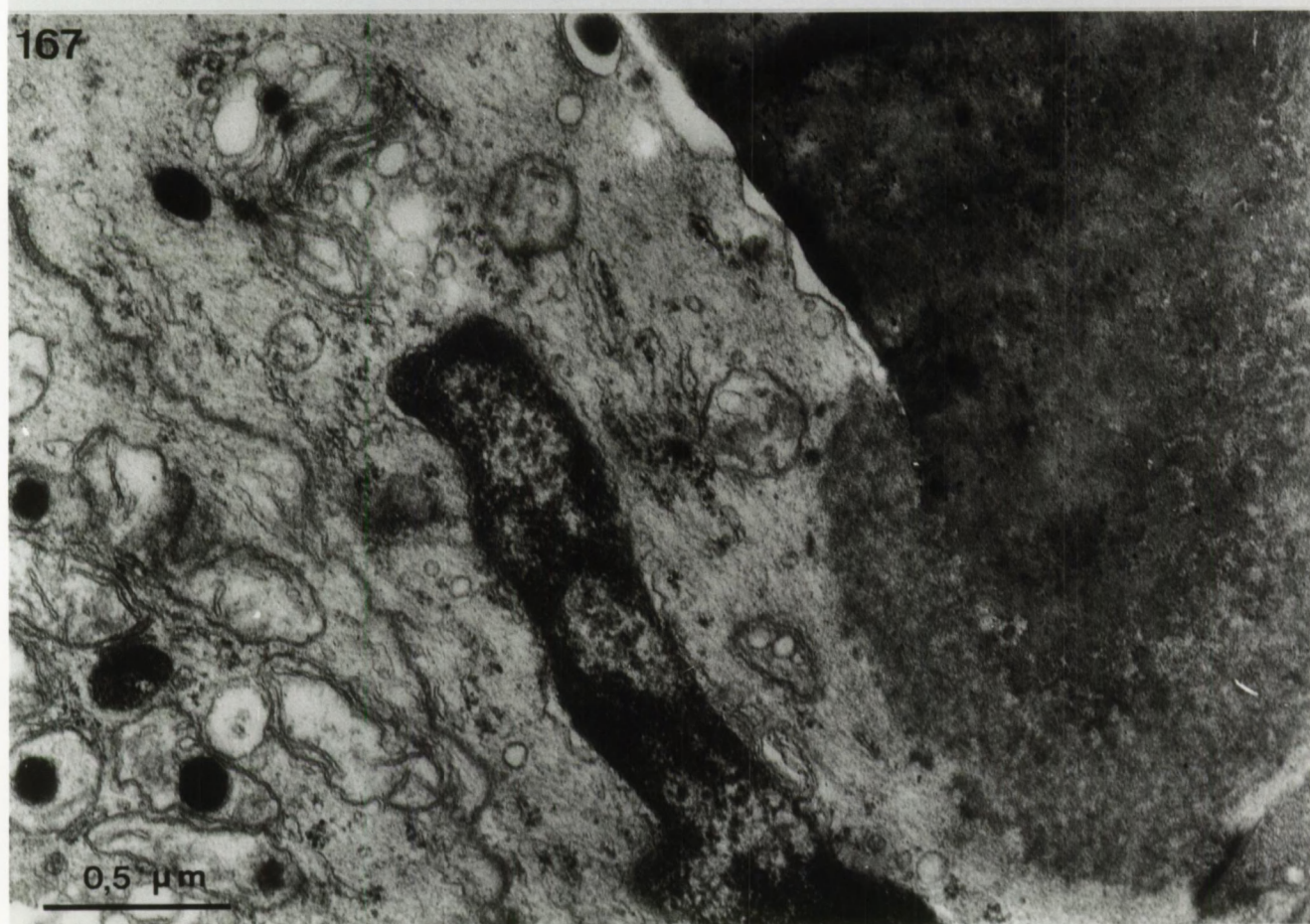
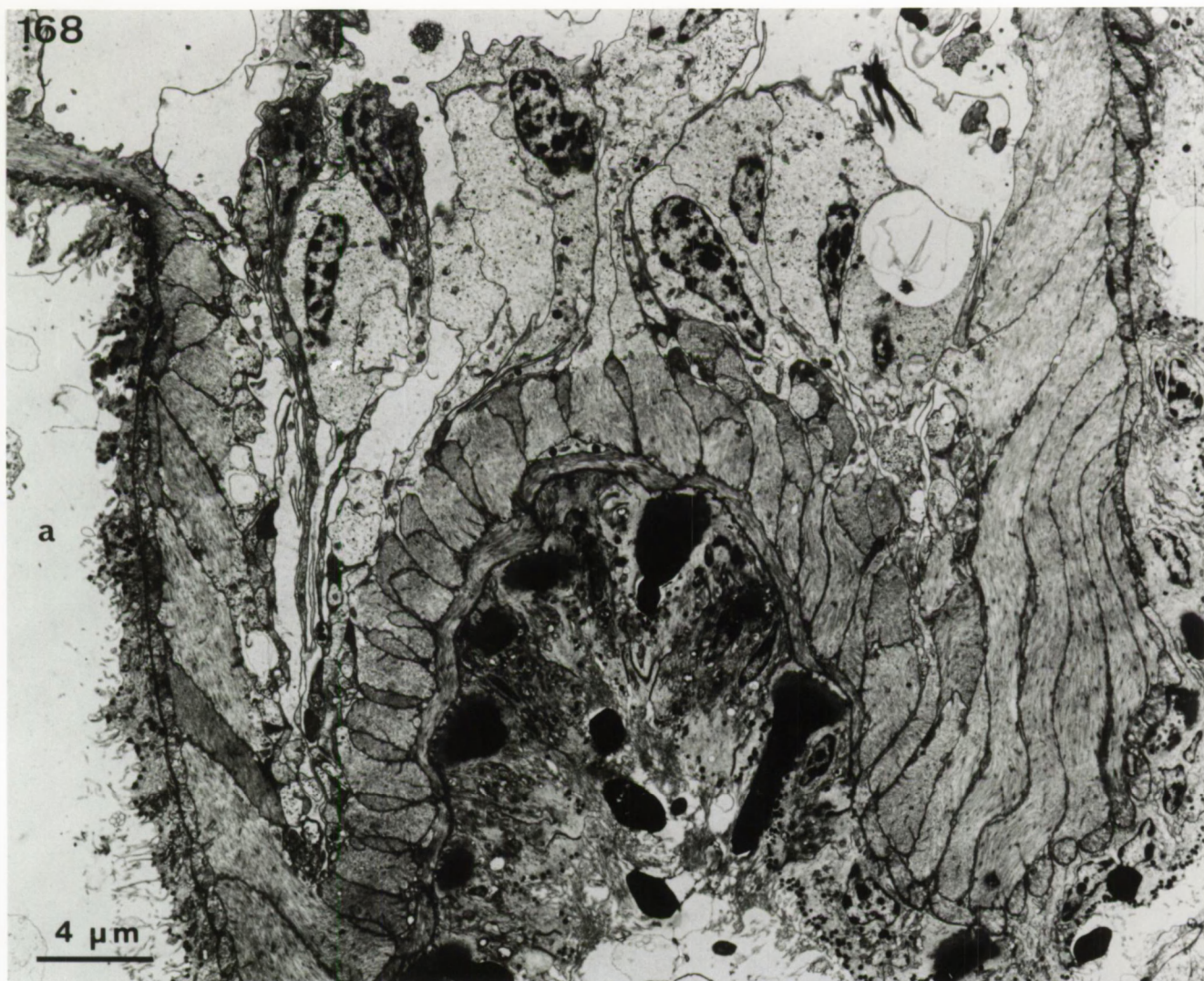
Afb. 166. : De plasmamembraan loopt verder op het uitstekend gedeelte van de stekel. In het stekelmateriaal zijn drie zones merkbaar : minder dichts flocculent materiaal aan de basis, dichte homogene centrale zone en de zeer dichte oppervlaktelaag.



Cirrifera aculeata

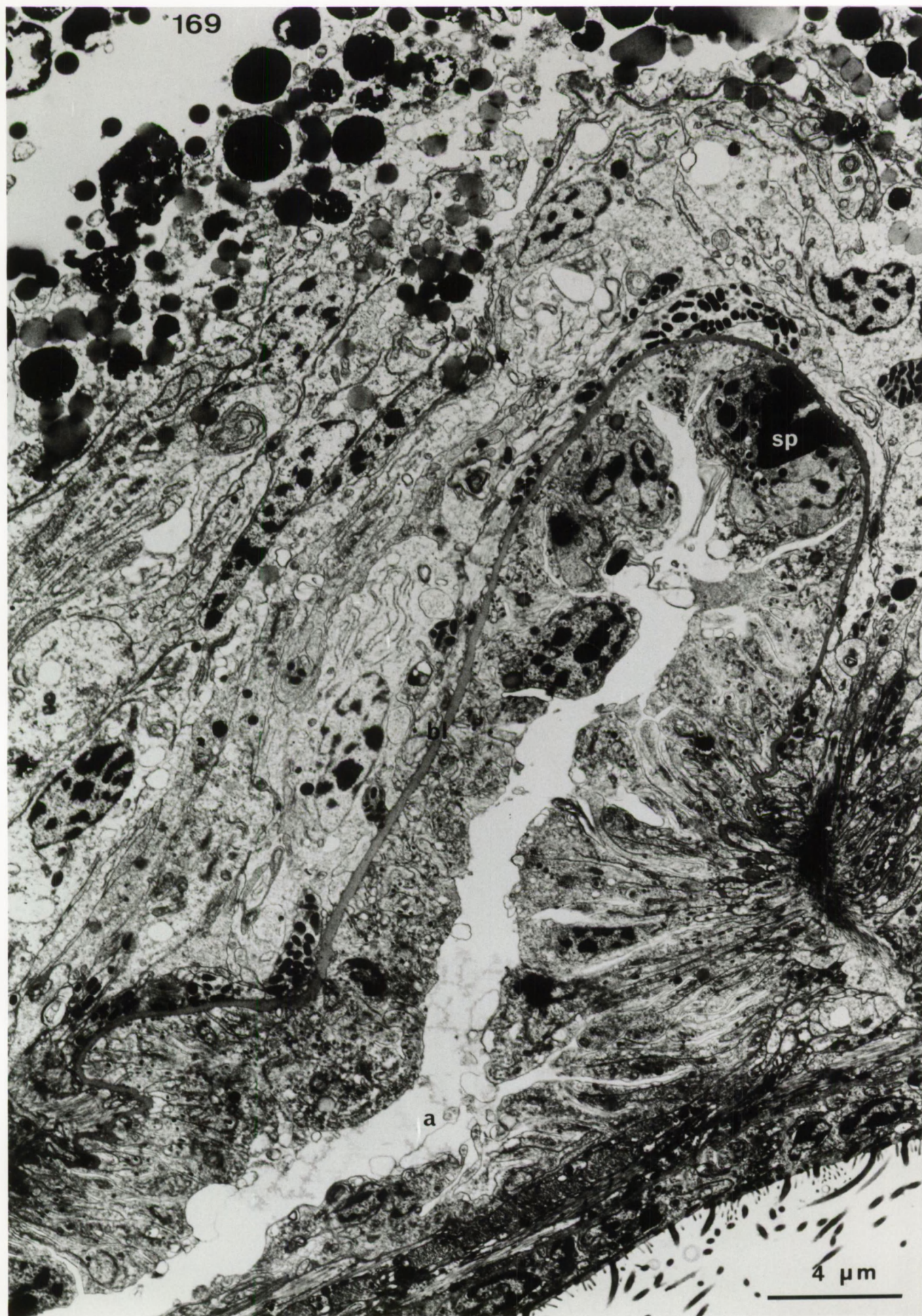
Afb. 167. : Basale celgedeelte van een stekel. Het materiaal aan de basis is kontinu met het fibrillaire netwerk in het cytoplasma. Densere substructuren zijn zichtbaar in de homogene centrale matrix. Vaak worden sekretorische granula waargenomen in de mitochondriën.

Afb. 168. : De kernhoudende celdelen van de spieren van de cirrus liggen binnen de bulbus. In het atrium zijn de epitheelcellen onregelmatig van vorm en sterk afgeplat.



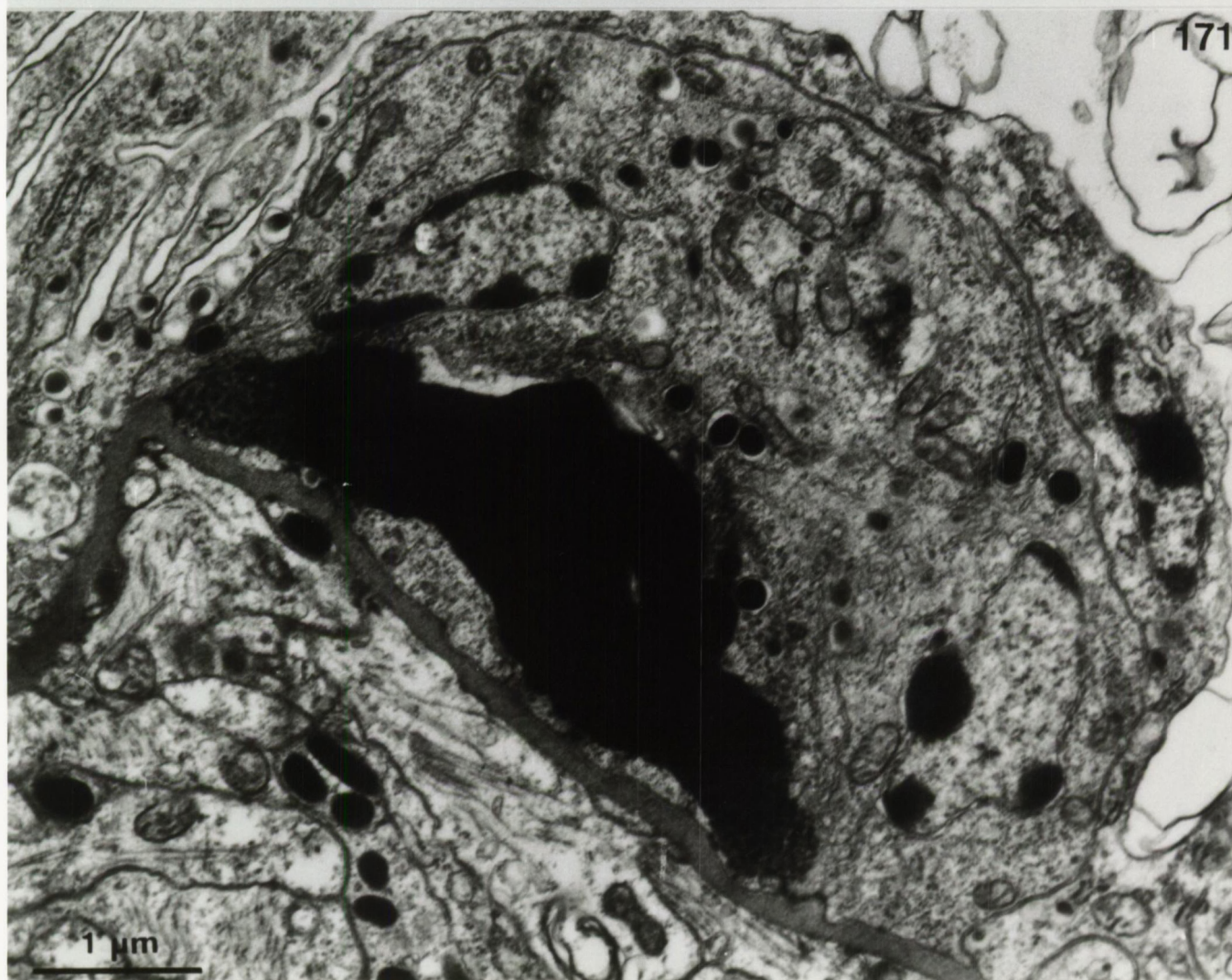
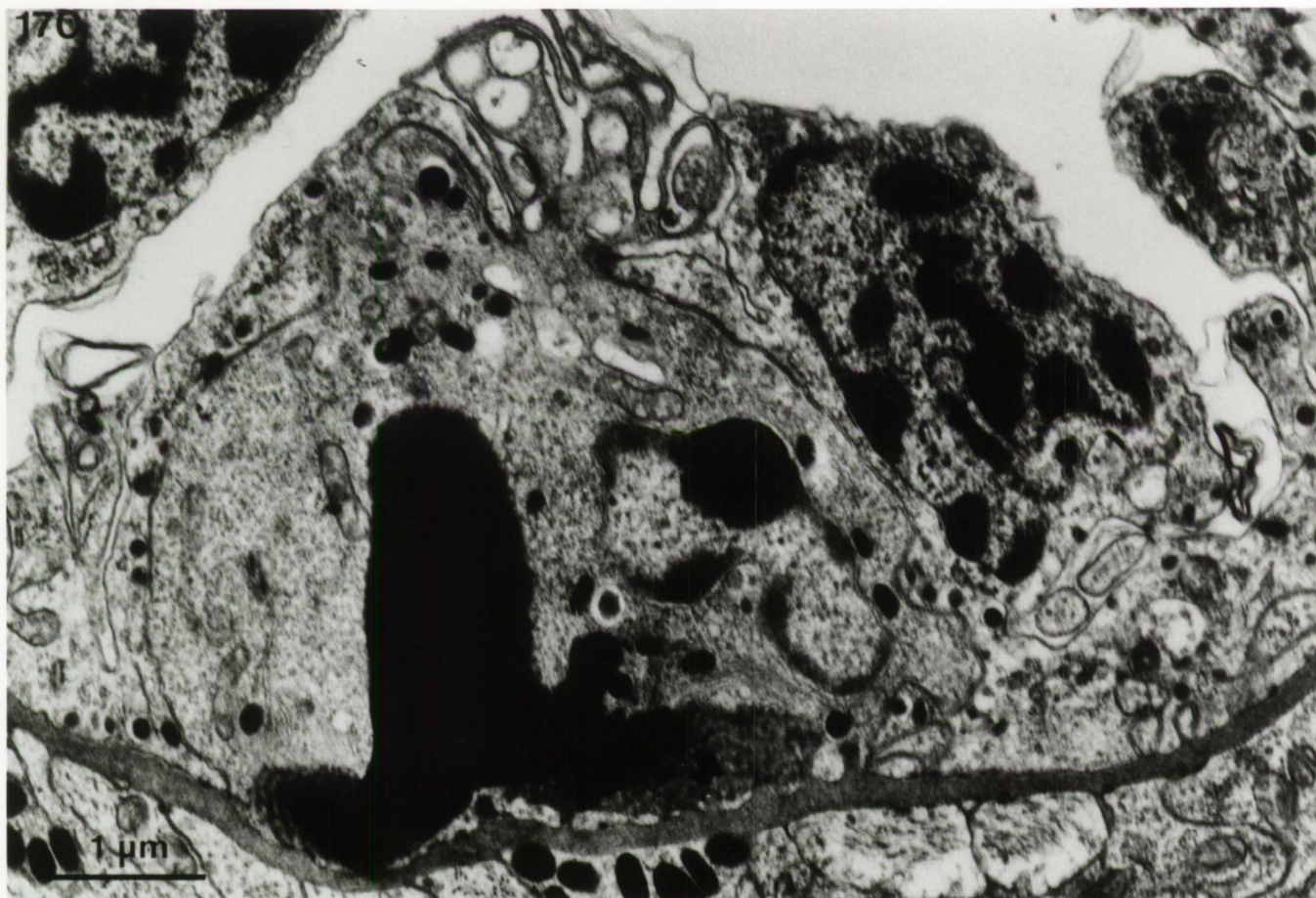
Afb. 169. : *Cirrifer a aculeata*

Doorsnede van het atriale orgaan. In de evaginatie zijn gespecialiseerde cellen aanwezig die een stekel bevatten.



Afb. 170. en 171. : *Cirriifera aculeata*

Stekelcellen van het atriale orgaan. De bolvormige stekelcel wordt bedekt door de naastliggende epitheelcellen. Het flocculente materiaal aan de basis van de stekel is kontinu met het fibrillaire netwerk in het cytoplasma.

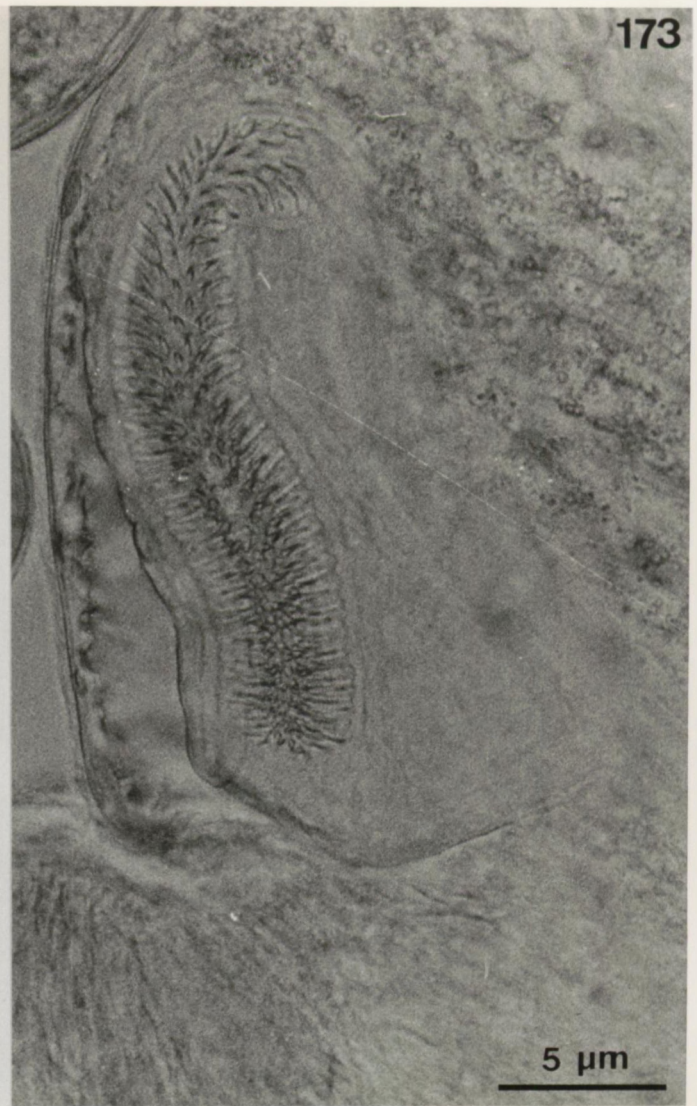


Cirrifera sp.

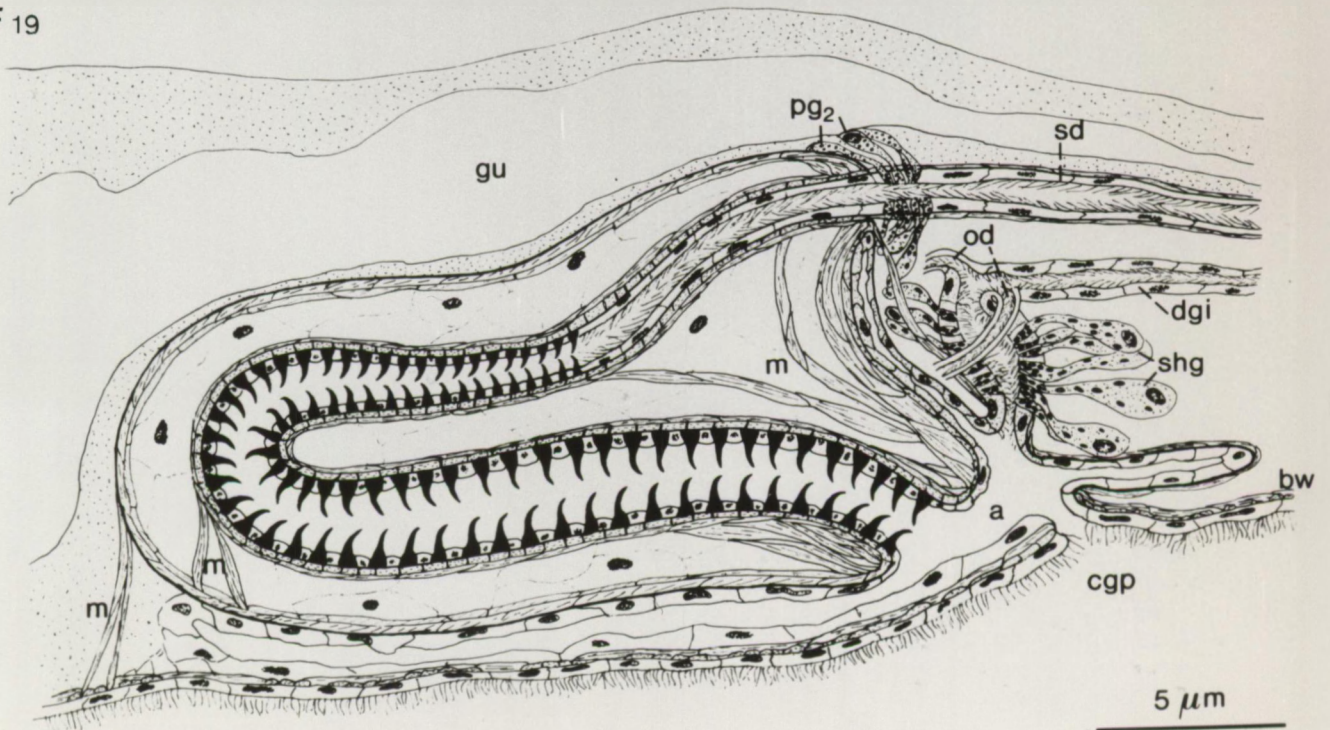
Afb. 172. : Lichtmikroskopische opname van het kopulatieorgaan.
Bemerk de prostaatvesikel caudaal van de kopulatorische bulbus.

Afb. 173. : Cirrus met stekels.

Fig. 19. : Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.



F 19



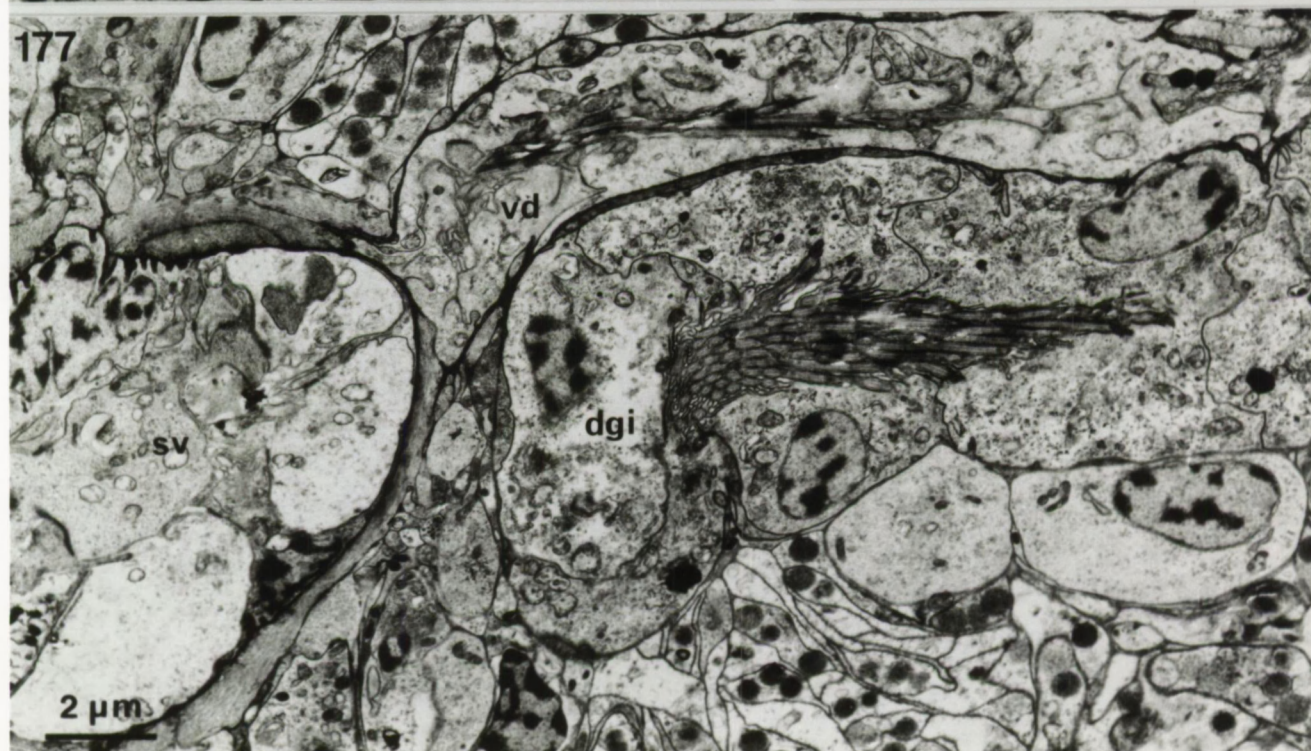
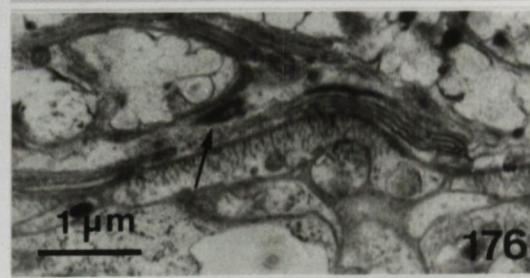
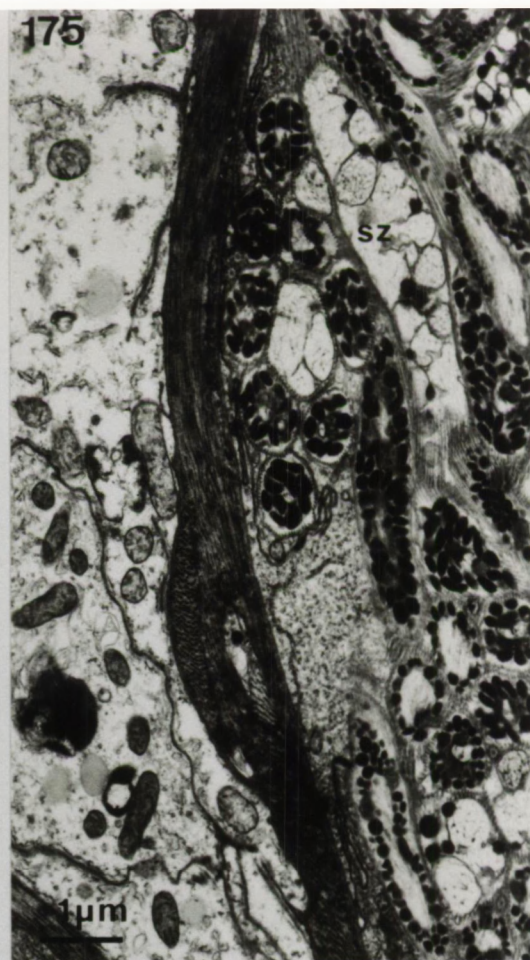
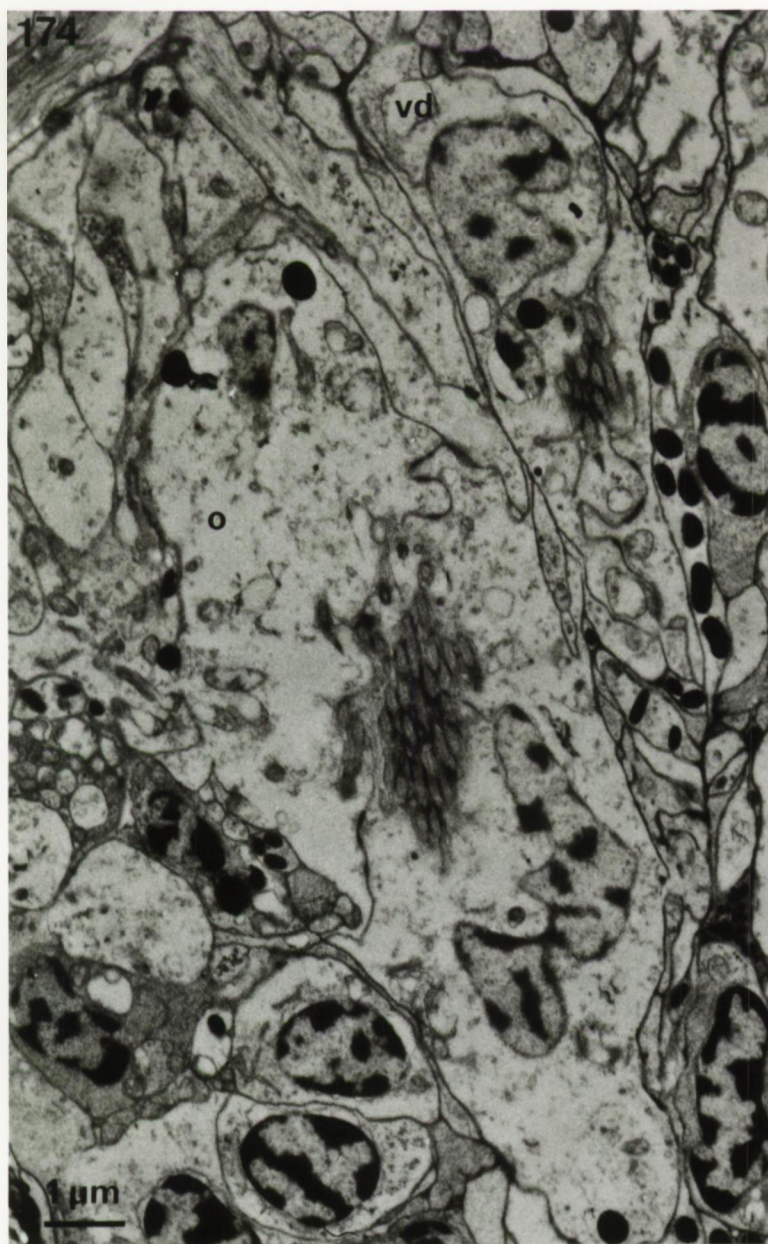
Cirrifera sp.

Afb. 174. : Dwarse doorsnede van vas deferens tegen de ovidukt.

Afb. 175. : De epitheelcellen van de vesicula seminalis vertonen diepe invaginaties die opgevuld zijn met spermatozoa.

Afb. 176. : De laterale celmembranen van de epitheelcellen van de vesicula seminalis hebben een sterk geplooid verloop. Bemerk tevens het basaal lichaam van een cilium (pijl).

Afb. 177. : De gemeenschappelijke vas deferens mondt uit in het vooreinde van de vesicula seminalis. De ductus genito intestinalis buigt hier ventraalwaarts om uit te monden in het darmlumen.



Cirriifera sp.

Afb. 178. : Ductus seminalis parallel lopend aan de vas deferens. Bemerk dat de ciliën in de vas deferens condaalwaarts naar de vesicula seminalis gericht zijn, terwijl zij in de ductus seminalis nostraalwaarts naar het kopulatieorgaan toe gericht staan.

Afb. 179. : Prostaatvesikel waarvan de epitheelcellen doordrongen worden door de celnekken van de prostaatklieren.

178



179

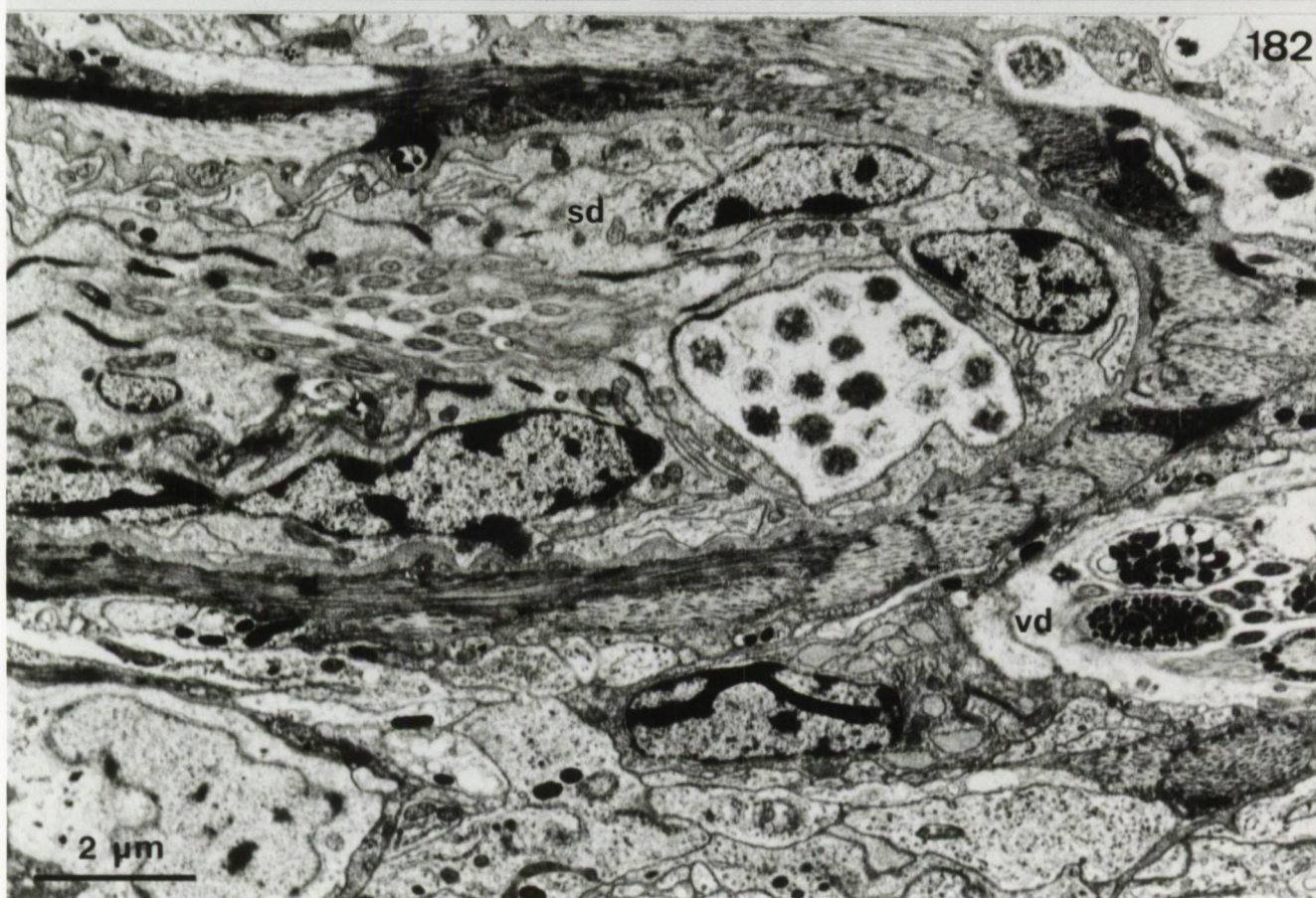
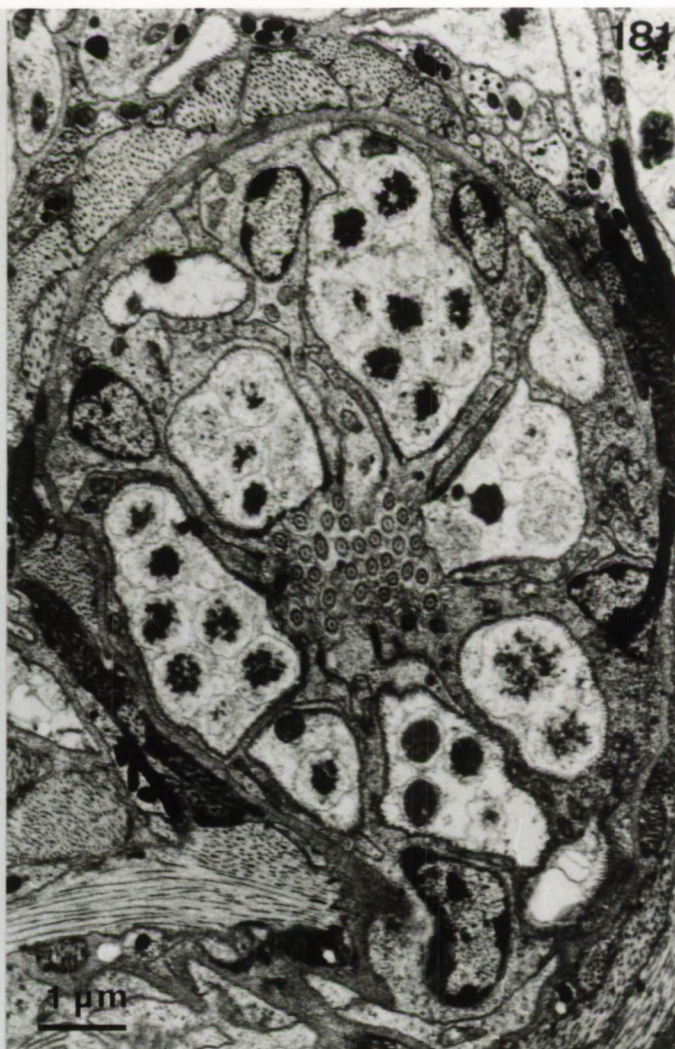
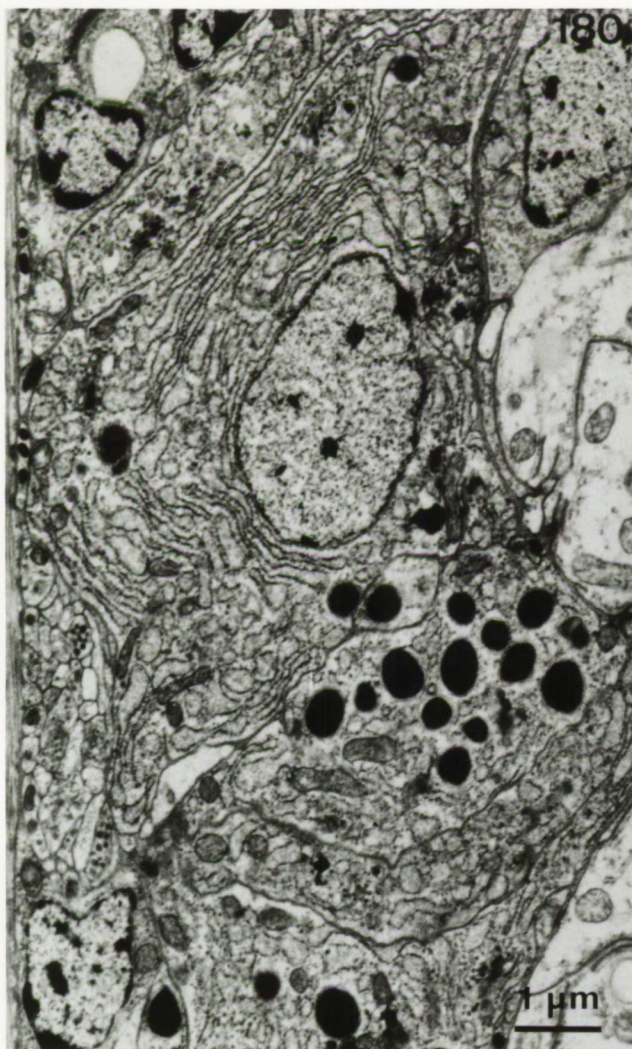


Cirrifera sp.

Afb. 180. : Cellen van de prostaatklieren met een zeer uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum en sekreetgranula.

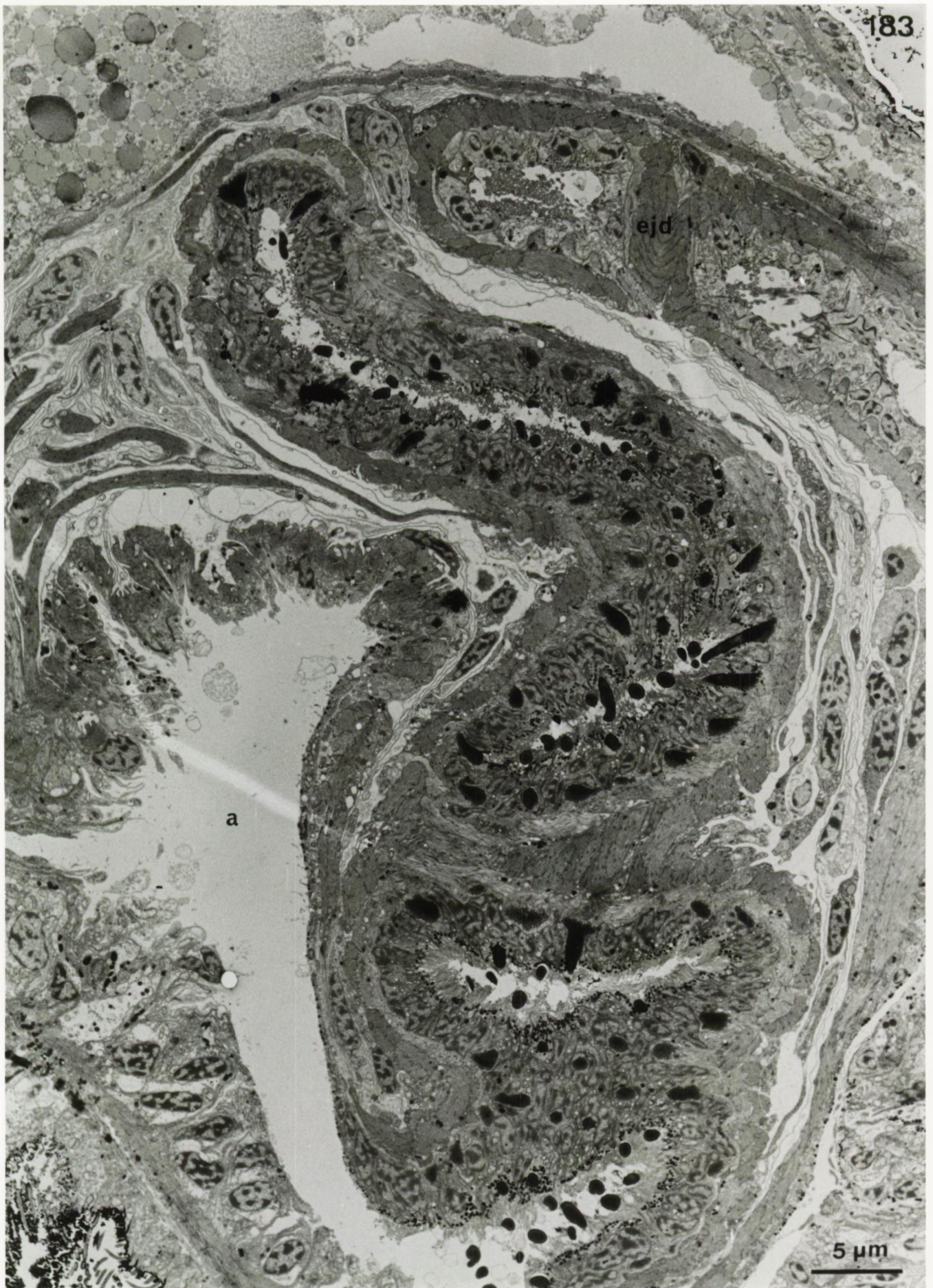
Afb. 181. : Net vóór de kopulatorische bulbus mondt een tweede reeks prostaatklieren uit in de ductus seminalis.

Afb. 182. : De ductus seminalis is begrensd met afgeplatte epitheelcellen waarvan de celmembranen een sterk kronkelend verloop vertonen.



Afb. 183. : *Cirriifera* sp.

Doorsnede van de kopulatorische bulbus met een
lange cirrus die uitsteekt in het atrium.



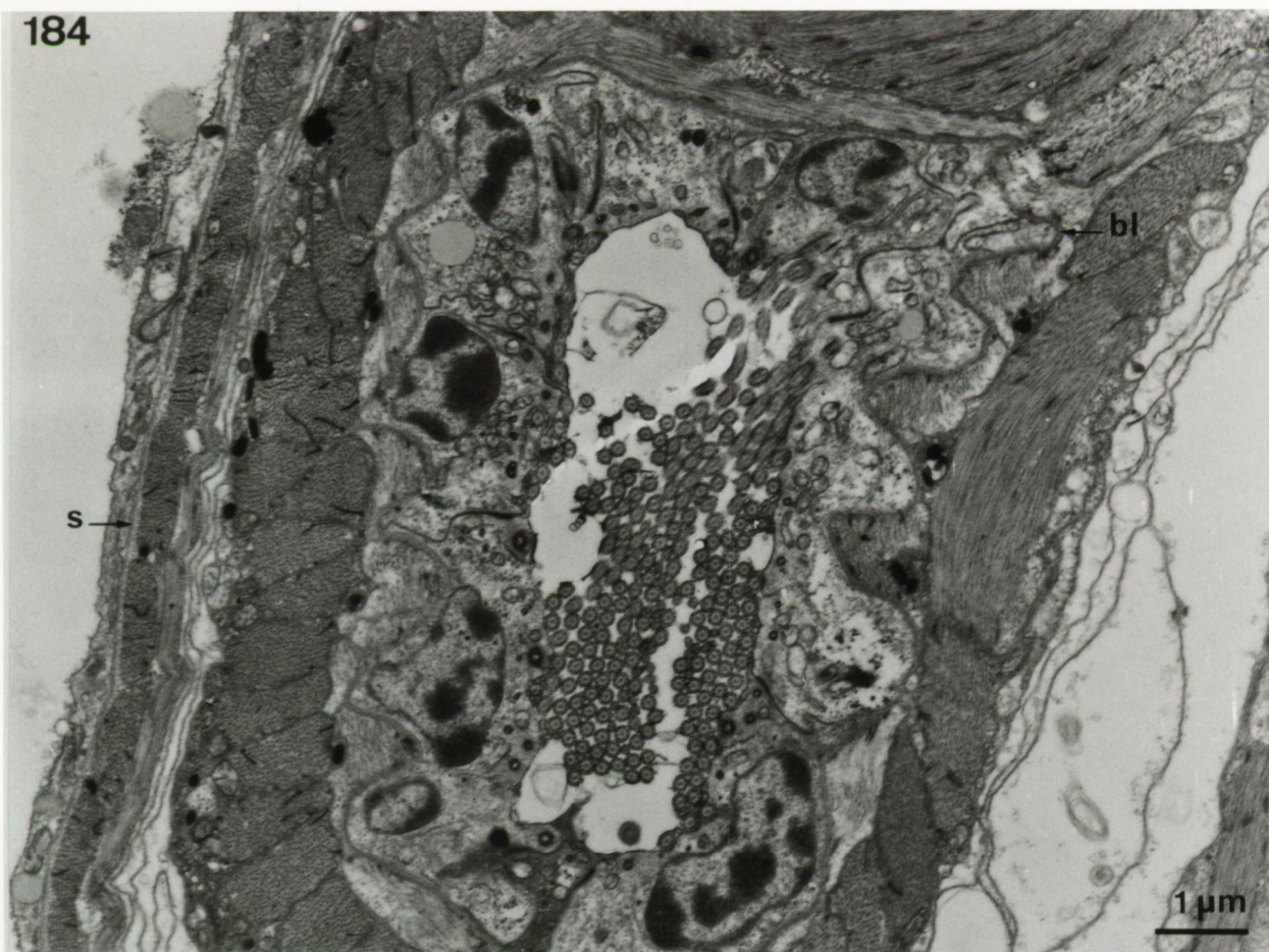
Cirrifera sp.

Afb. 184. : Ductus ejaculatorius omgeven door twee spierlagen.

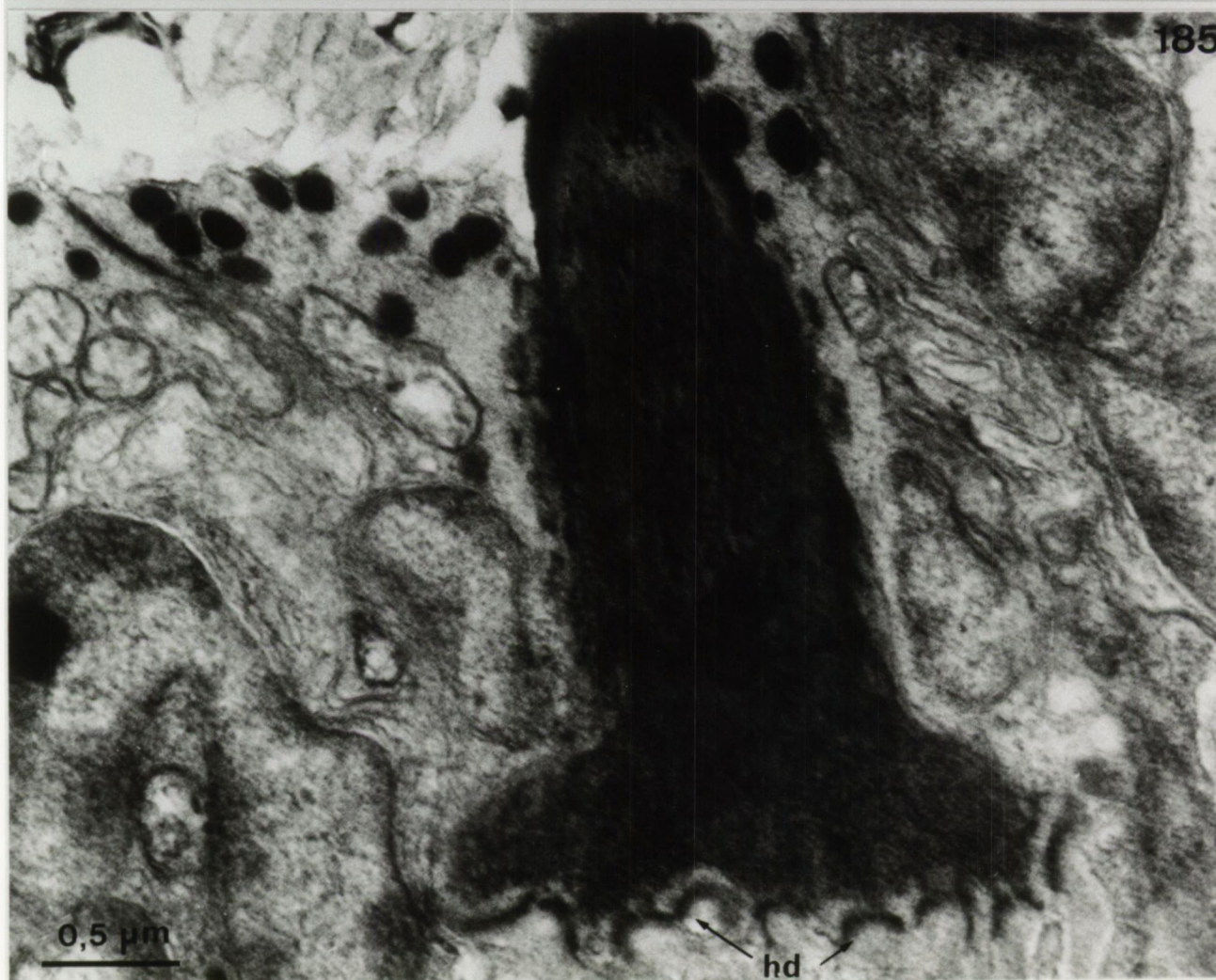
Afb. 185. : Epitheelcel van de cirrus met een stekel.

Het materiaal van de stekelbasis is kontinu met
het fibrillaire netwerk in het cytoplasma.

184



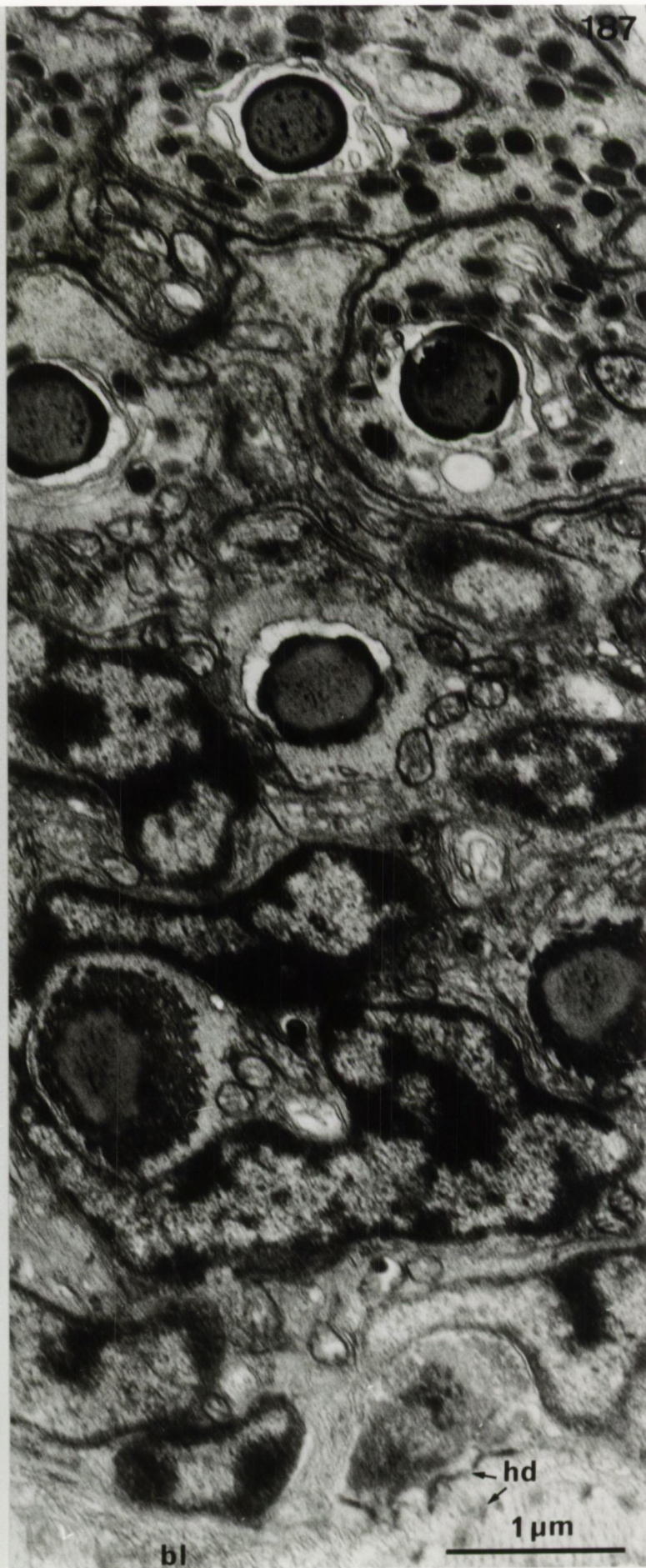
185



Cirrifera sp.

Afb. 186. : Epitheelcel van de cirrus met een stekel.

Afb. 187. : Doorsnede door de cirrus waarin stekelcellen op verschillende niveau's getroffen zijn. De kern ligt als een hoefijzer rond de basis van de stekel. In het stekelmateriaal zijn drie zones merkbaar : flocculent materiaal aan de basis, een homogene centrale matrix waarin dense substructuren voorkomen en een dense oppervlakte-laag.



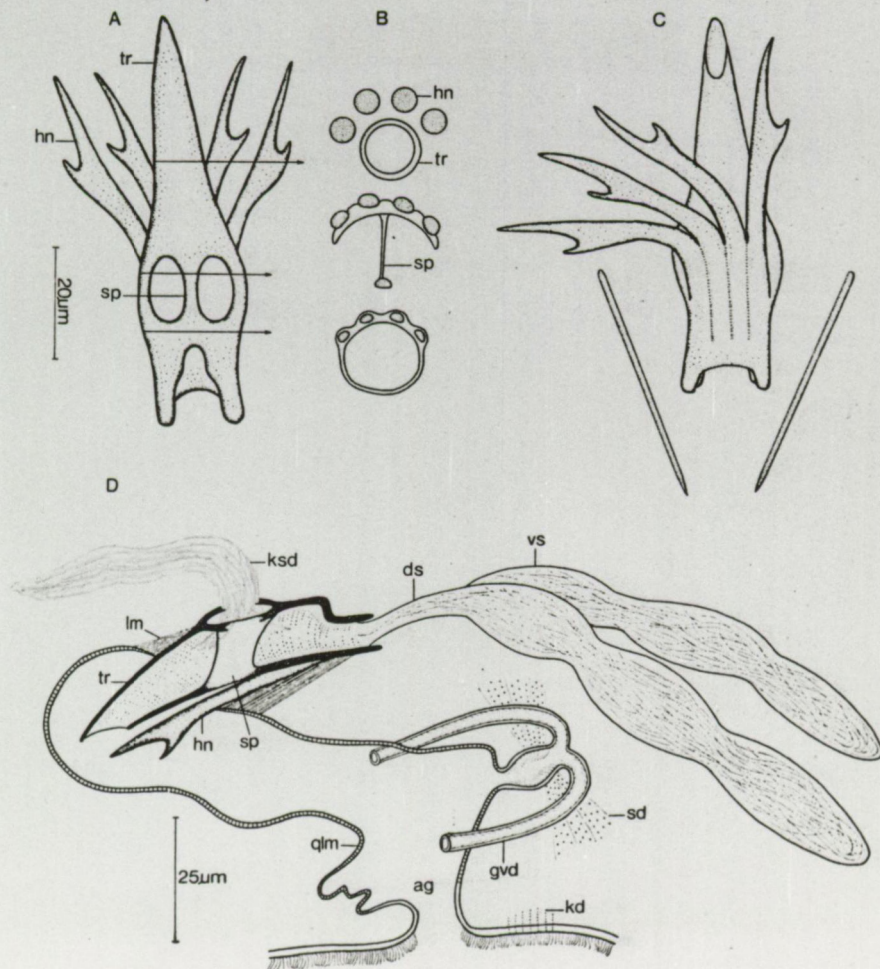
Carenscoilia biformis

Afb. 188. en 189. : Lichtmikroskopische afbeelding van de stiletstructuur.

Fig. 20. : A. Stiletstructuur aan dorsale zijde.
B. Dwarse doorsneden door het stilet, overeenkomend met de pijltjes in A.
C. Stiletstructuur aan ventrale zijde.
D. Rekonstruktie van het kopulatieorgaan.
(Sopott 1972) (ag : genitaal atrium; ds : ductus seminalis; gvd : germovitellodukt; hn : naald; kd : kitklieren; ksd : prostaatklieren; lm : longitudinale spieren; qlm : ringspieren; sd : schaal- klieren; sp : tussenschot; tr : stilet; vs : vesicula seminalis).



F20



Afb. 190. : *Carenscoilia biformis*

Sagittale doorsnede door het kopulatieorgaan
waarvan stilet en naalden uitsteken in het
atrium.



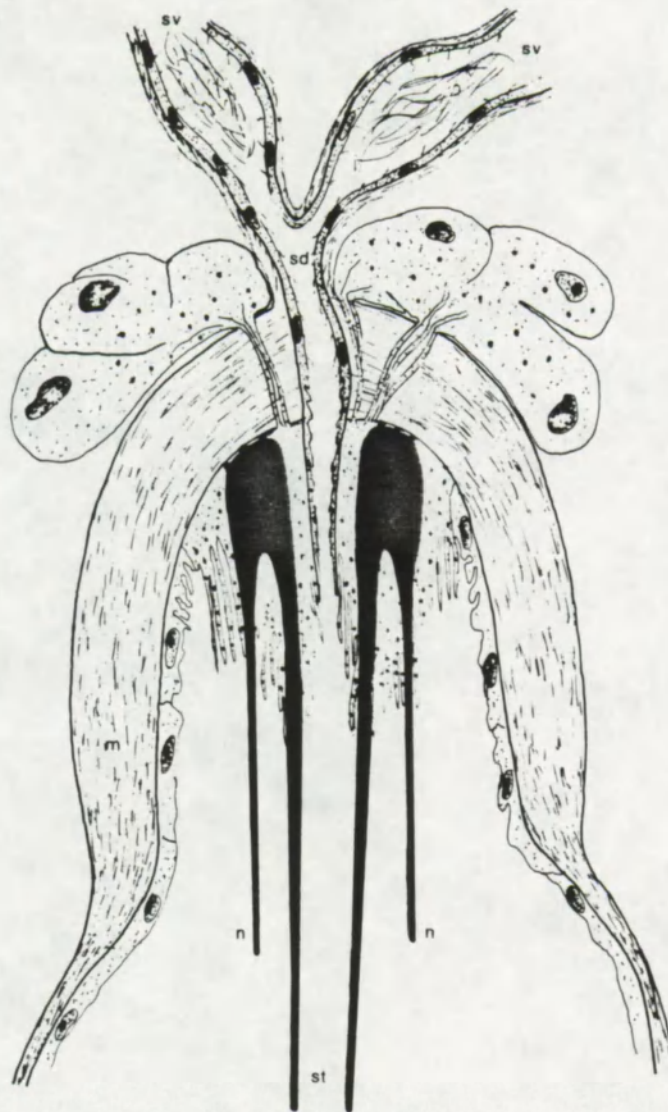


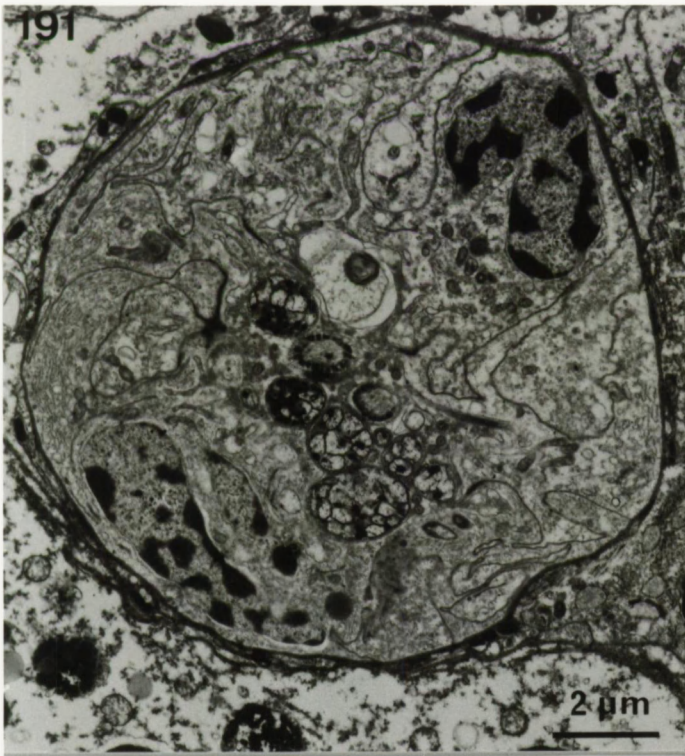
Fig. 21. : *Carenscoilia biforamen*

Rekonstruktie van de kopulatiestructuur (schematisch).

Carenscoilia biformis

Afb. 191. en 192. : Ductus seminalis een eind voorbij de vesicula seminalis en vlak vóór het kopulatieorgaan. Naar het stilet toe is het epitheel van de ductus meer afgeplat en worden de cilia vervangen door microvilli.

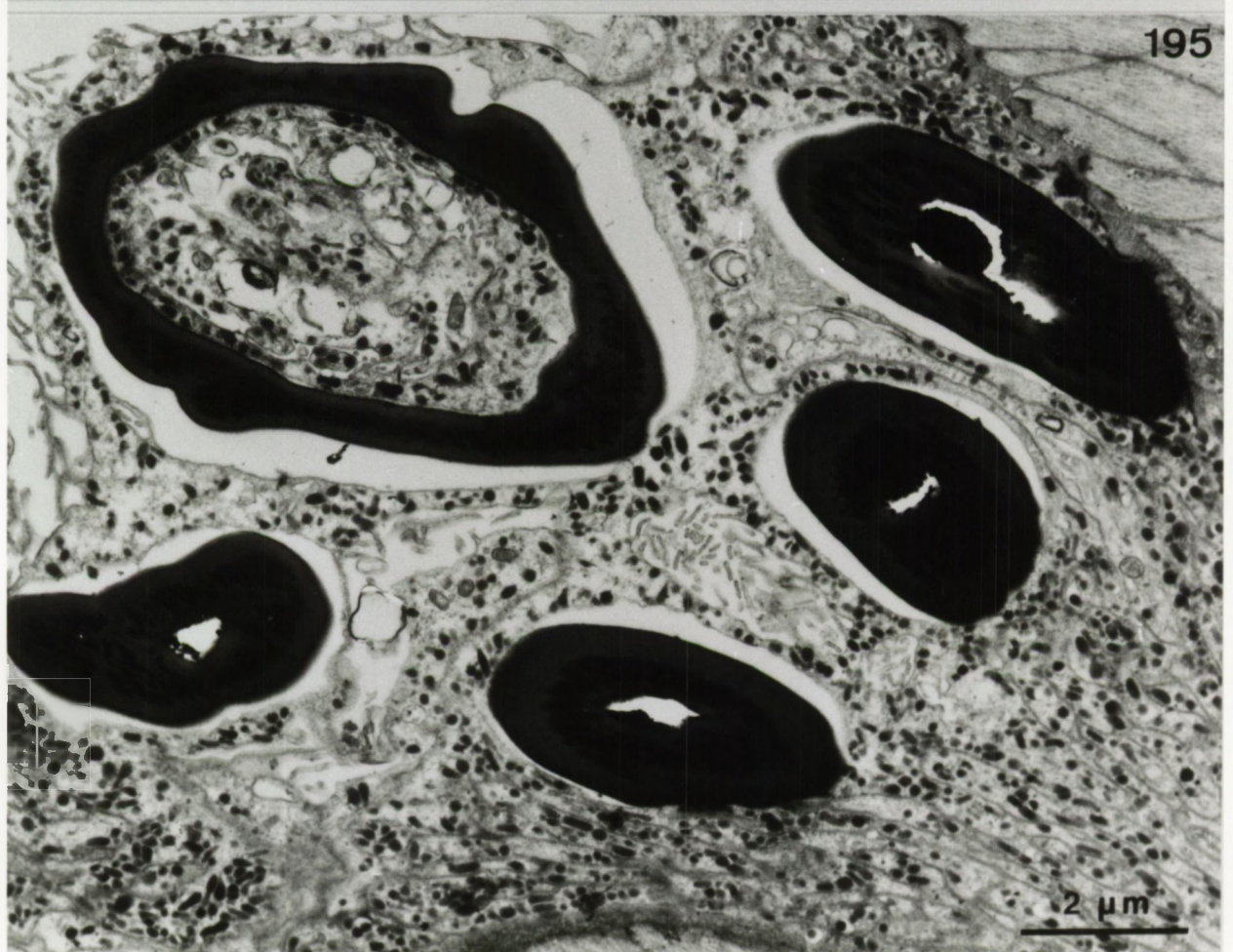
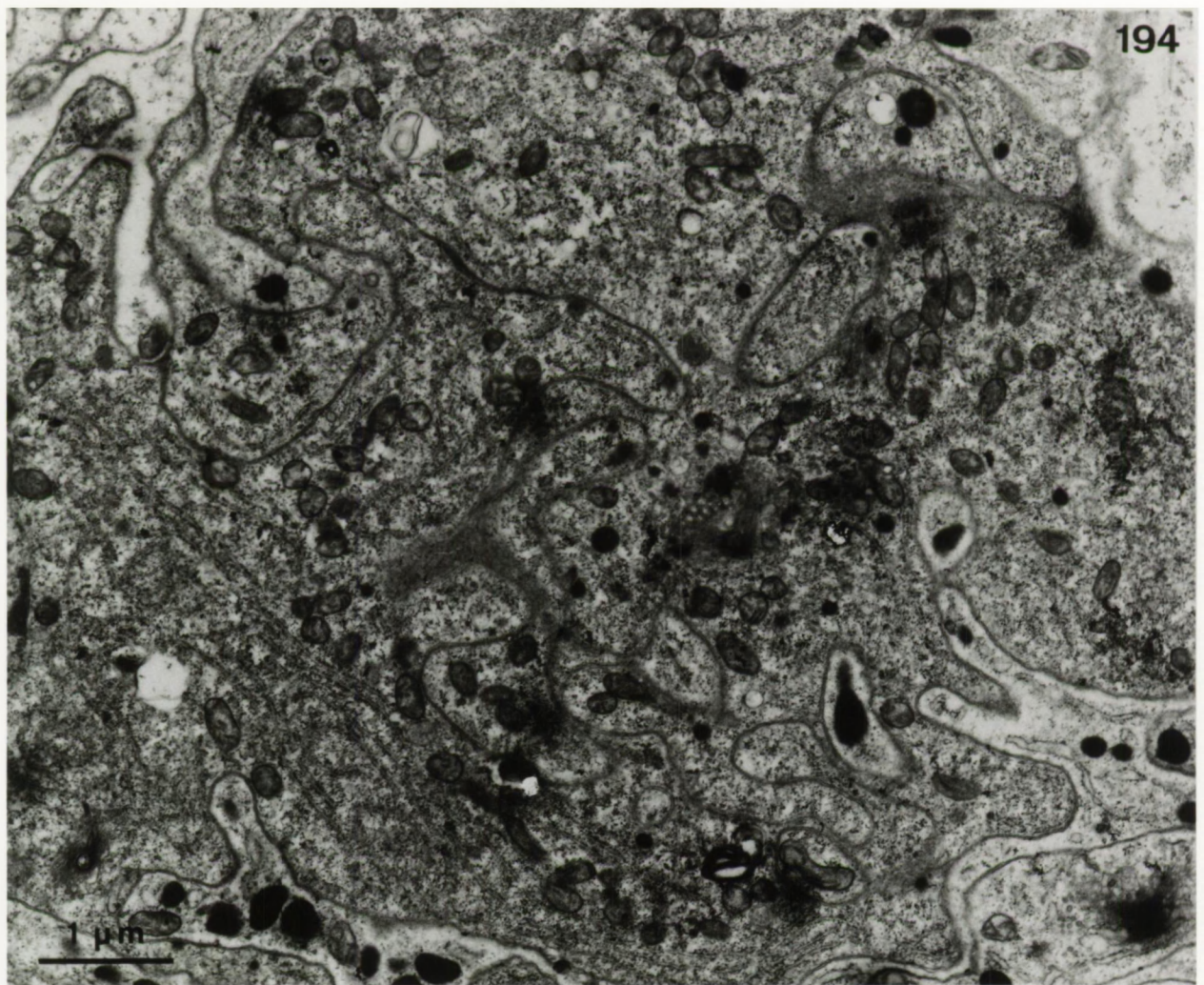
Afb. 193. : Doorsnede van het stilet waarin één van de openingen voor de prostaatklieren getroffen is. De stiletstructuur is opgebouwd in een syncytium dat het proximale deel van het atrium begrenst. De kernhoudende celdelen liggen onder de spiermantel en vormen lange cytoplasmastrengen naar het atrium toe (pijljes).



Carenscoilia biformis

Afb. 194. : Cellichamen van het syncytium waarin het stilet is opgebouwd. De cellen bevatten een dens gekorrelt cytoplasma, talrijke ribosomen en mitochondriën, uitgebreid ruw endoplasmatisch reticulum en kleine dense granula.

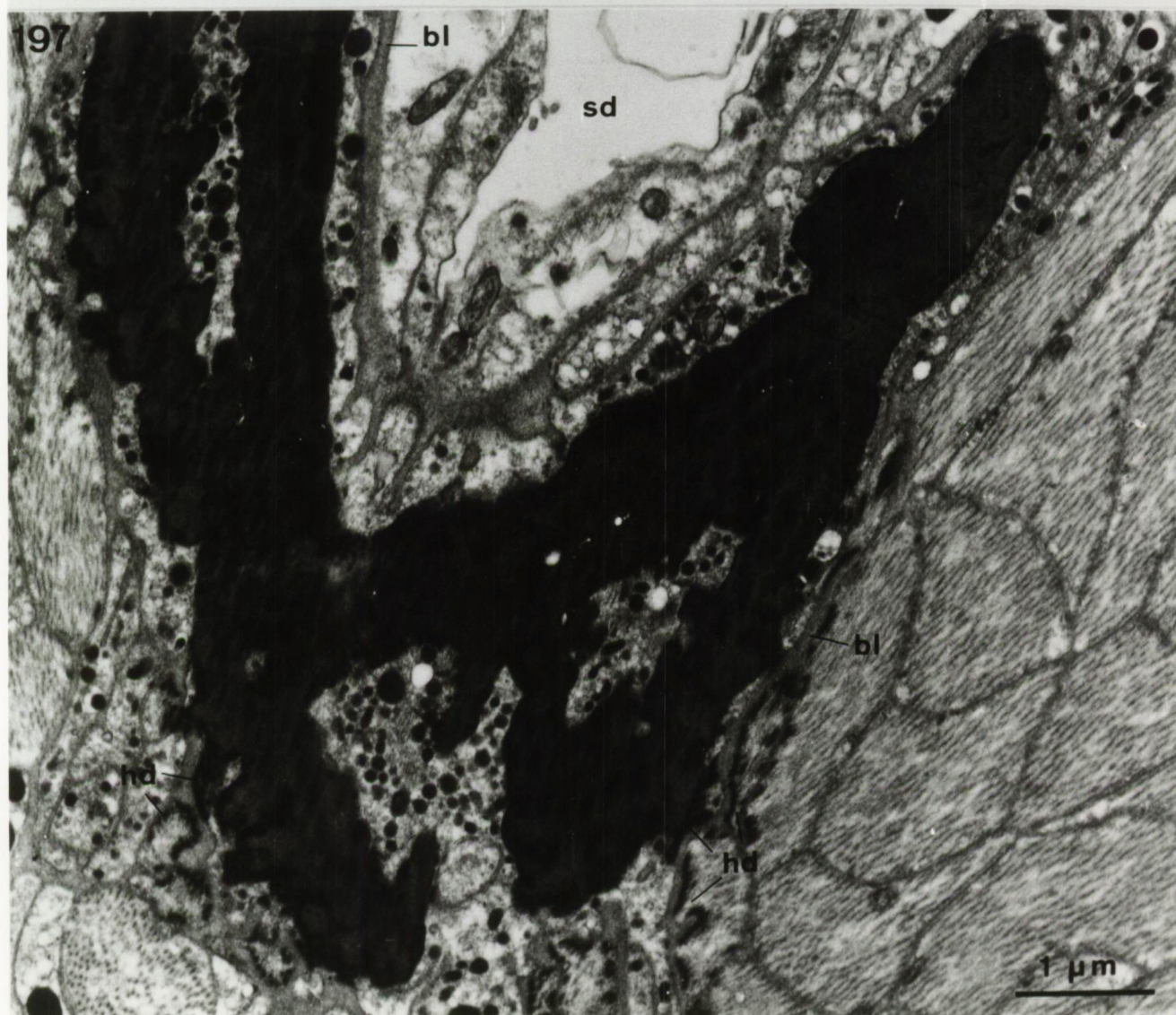
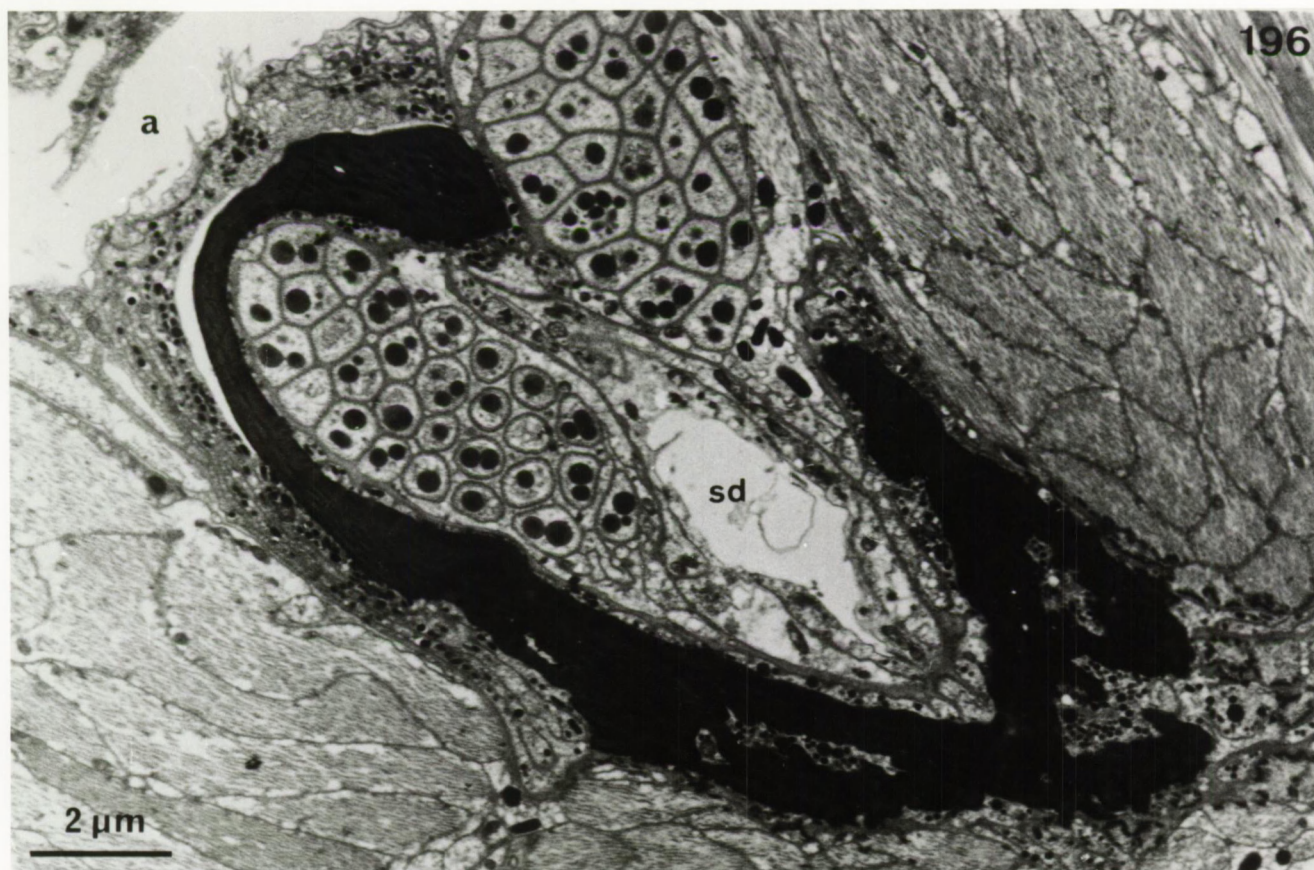
Afb. 195. : Stilet en naalden uitstekend in het atrium. Bemerkt de centrale bundel fibrillen in de harde structuren.



Carenscoilia biformis

Afb. 196. : De celnekkens van de prostaatklieren bereiken het lumen in het stilet via een opening in de stiletwand. De nekkens zijn verstevigd met een perifere rij mikrotubuli.

Afb. 197. : De basis van het stilet ligt vrij in het cytoplasma. Onder de basis komen talrijke hemidesmosomen voor tussen de basale celmembranen en de basale lamina.



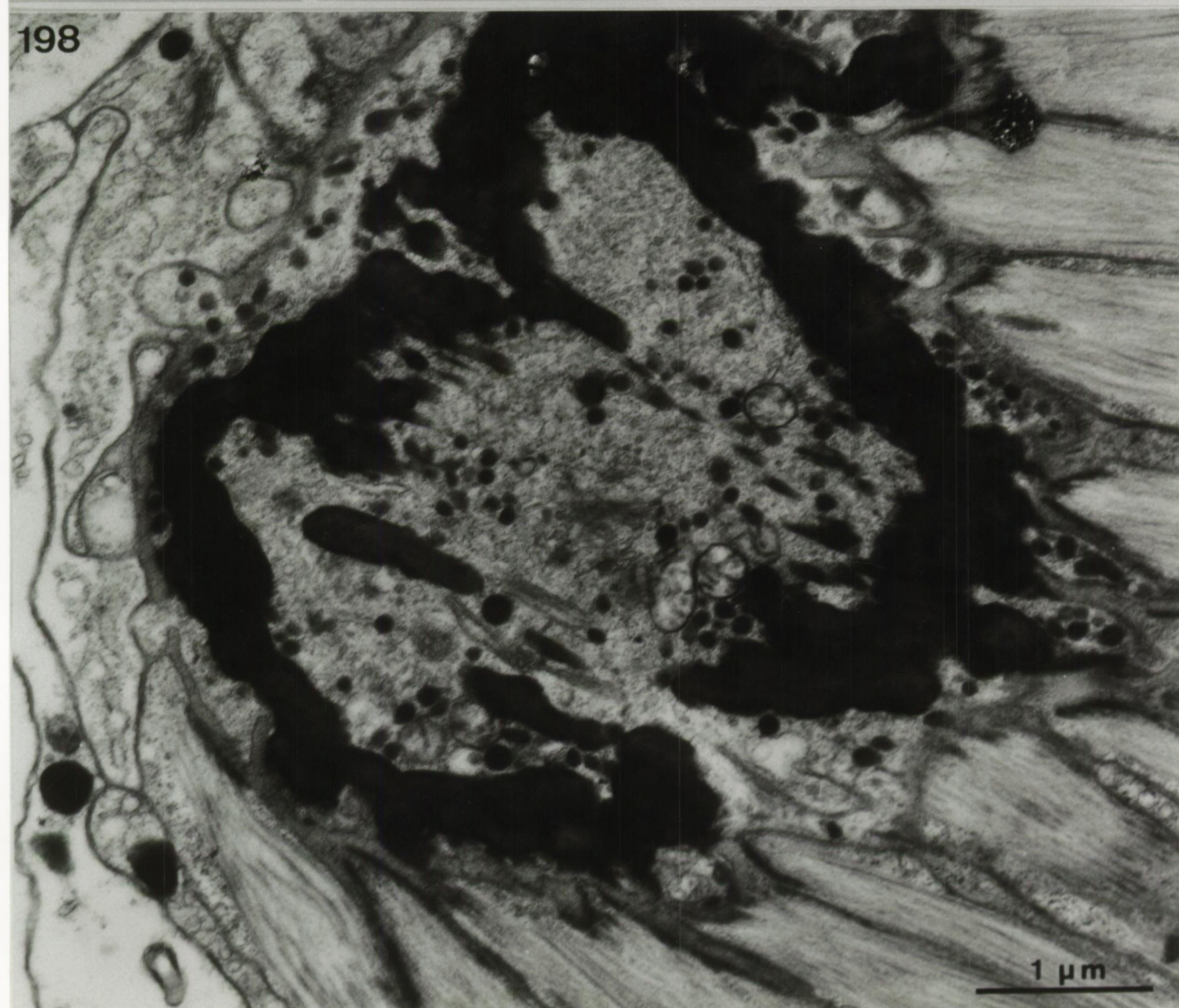
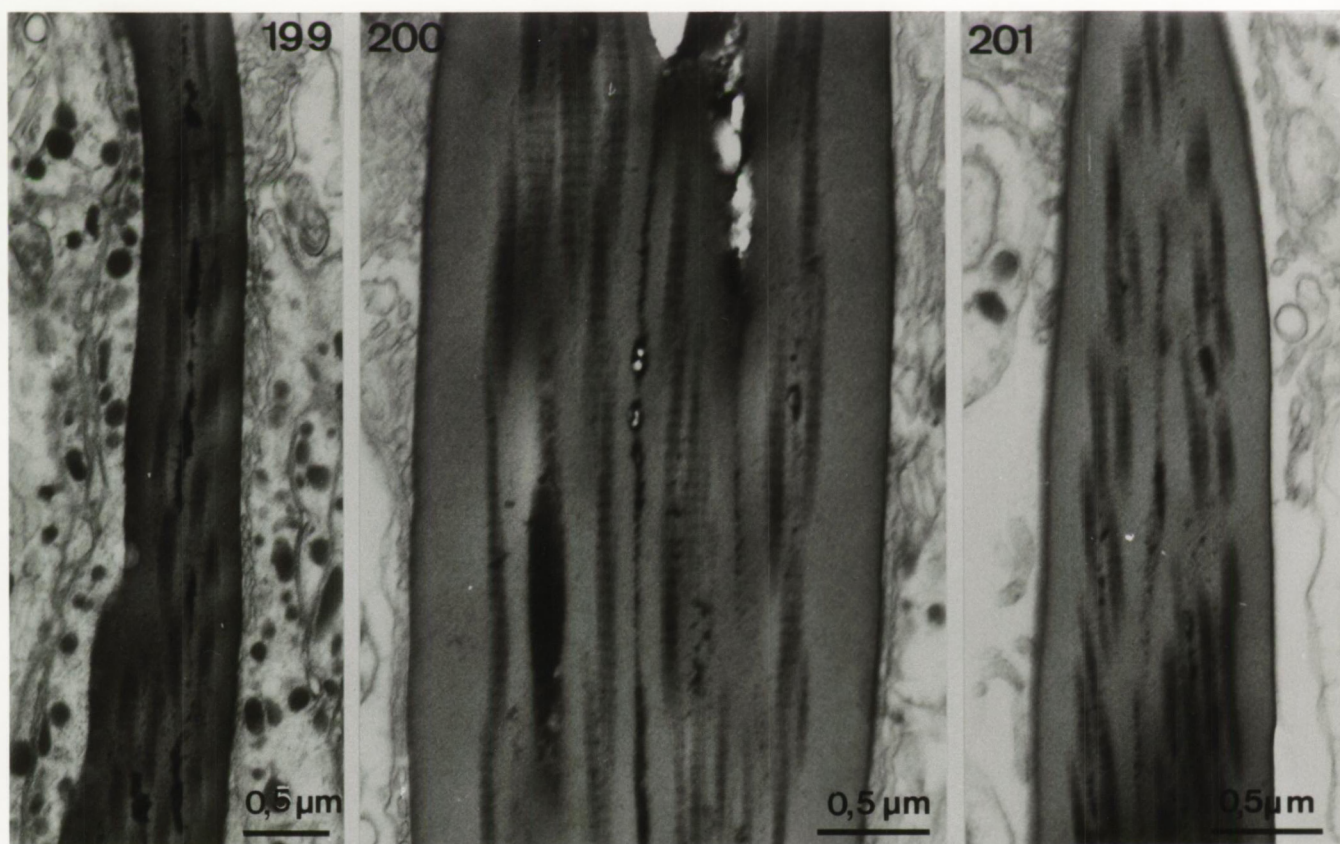
Carenscoilia biformis

Afb. 198. : Dwarse doorsnede door de basis van het stilet.
Het elektronendens materiaal akkumuleert rechtstreeks uit het cytoplasma van de matrixcel.

Afb. 199. en 200. : Wand van het stilet.

Afb. 201. : Naald

De harde structuren bestaan uit fibrillen ingebed in een homogene matrix die omgeven is met een dense oppervlaktelaag. De fibrillen vertonen een dwarsbonding.



Carenscoilia biformis

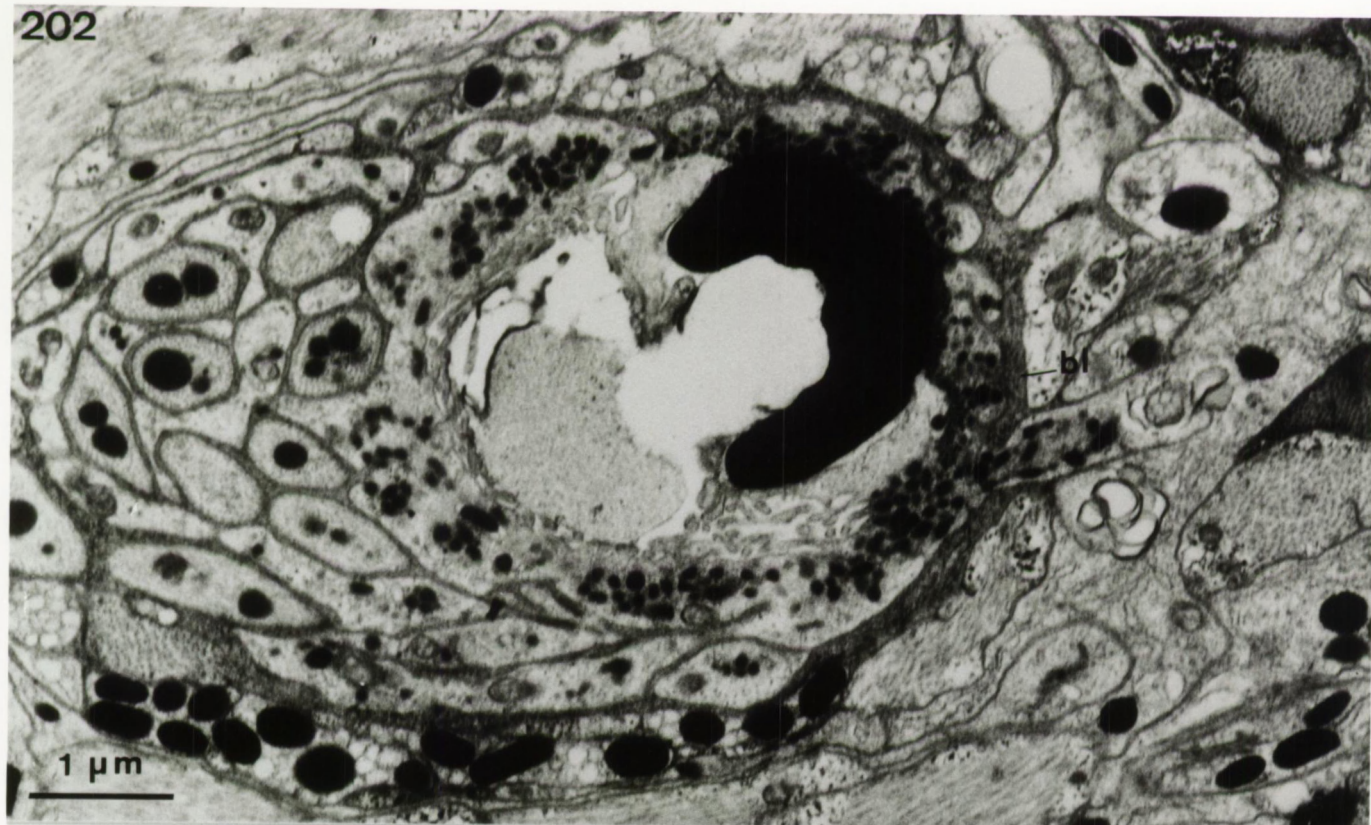
Afb. 202. : Een accessorische naald opgebouwd in een dens gekorrelde epitheelcel waarvan het kernhoudend cellichaam onder de basale lamina ligt.

Afb. 203. : Doorsnede van een accessorische naald ter hoogte van de basis. Het elektronendense materiaal akkumuleert rechtstreeks uit het cytoplasma.

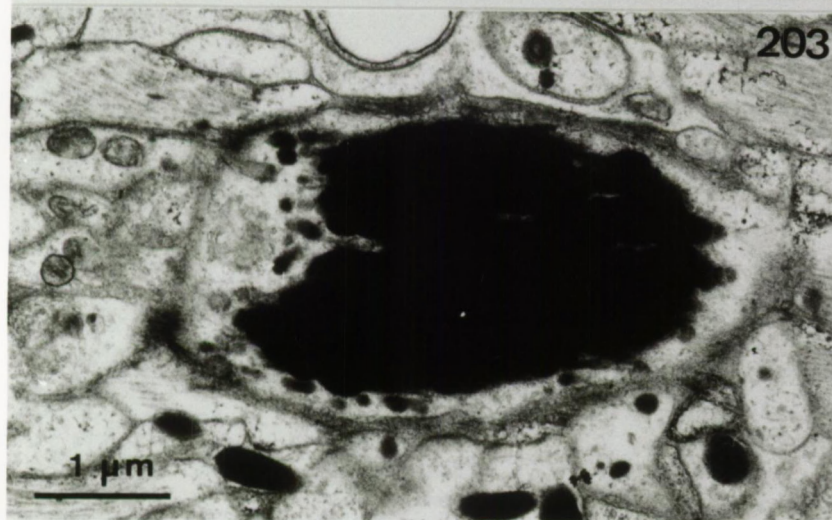
Afb. 204. : Verder naar de top toe krijgt de naald een gootvormige bouw. De structuur bestaat uit fibrillen omgeven door een homogene matrix, en een dense oppervlaktelaag.

Afb. 205. : Aan de top van de naald is de goot meer gesloten. De wand bevat nog slechts 1 rij fibrillen.

202



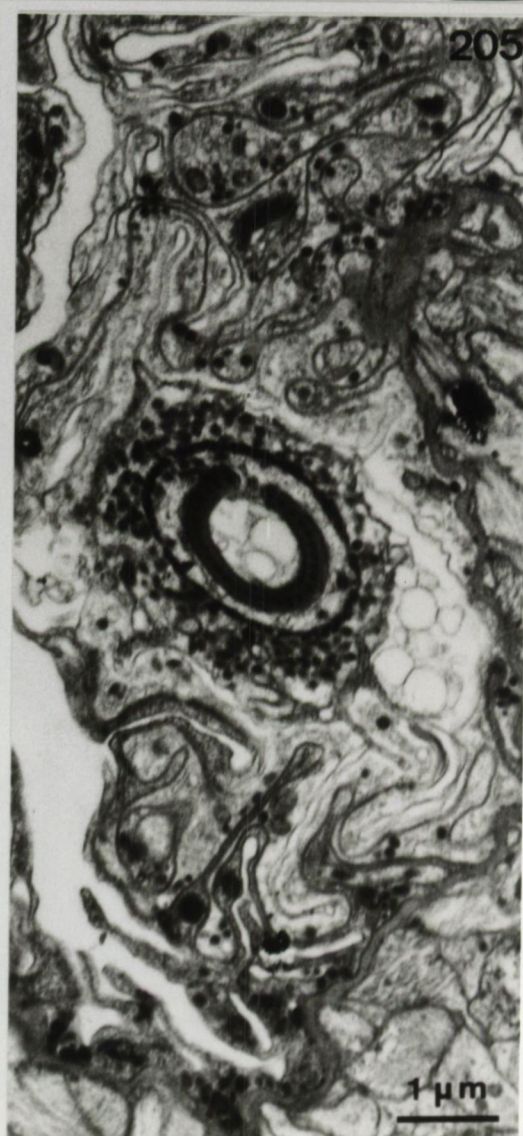
203



204



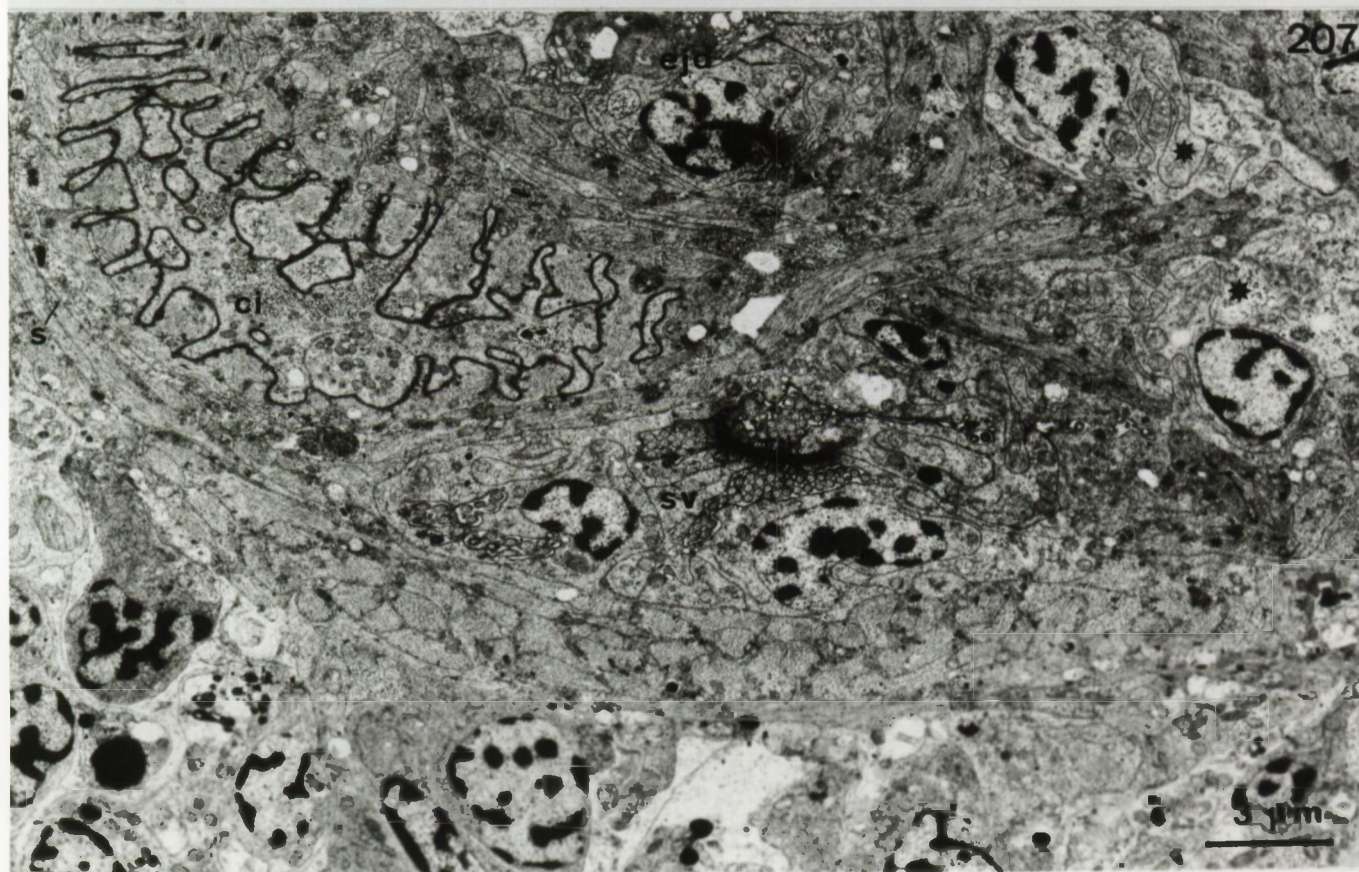
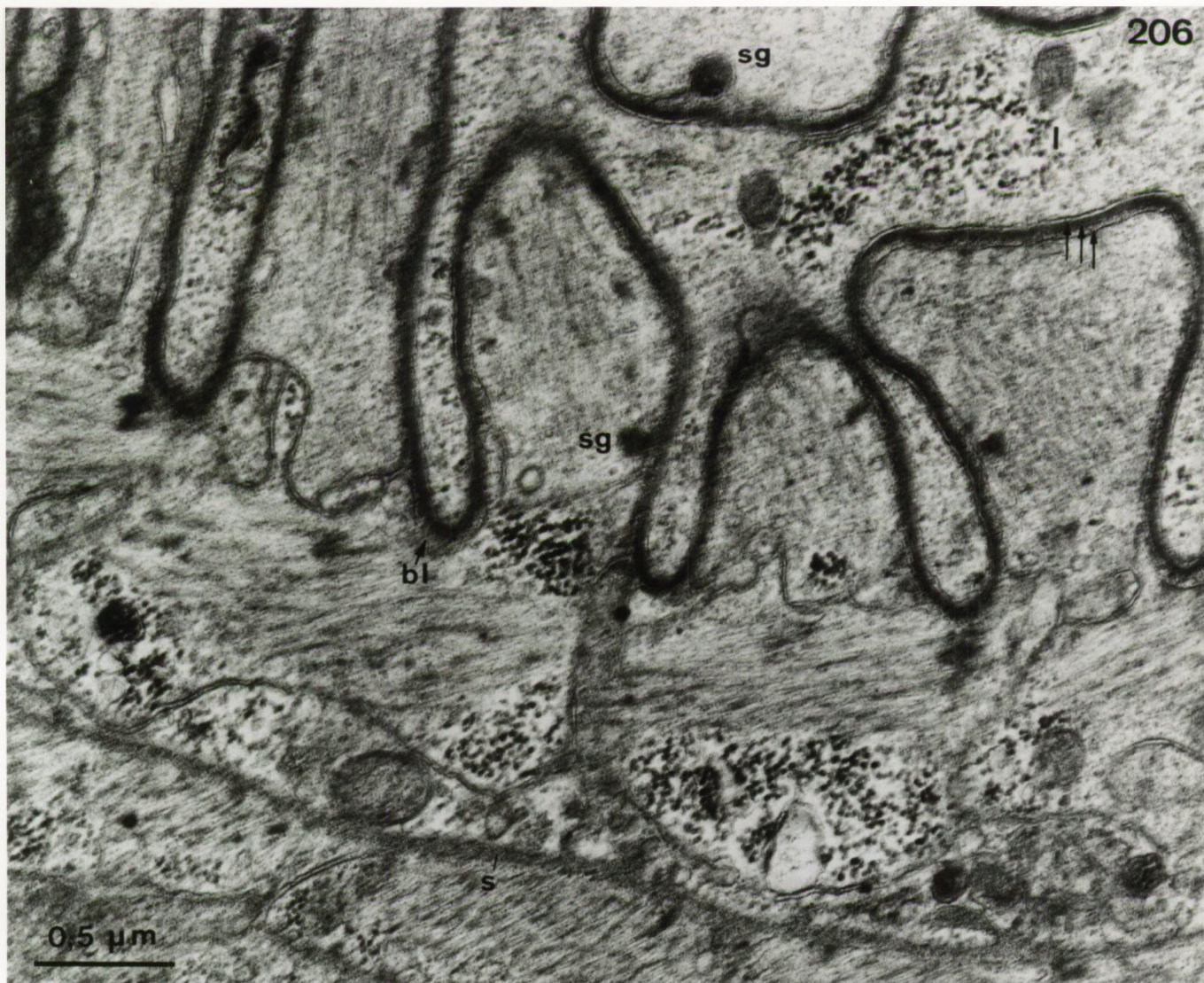
205



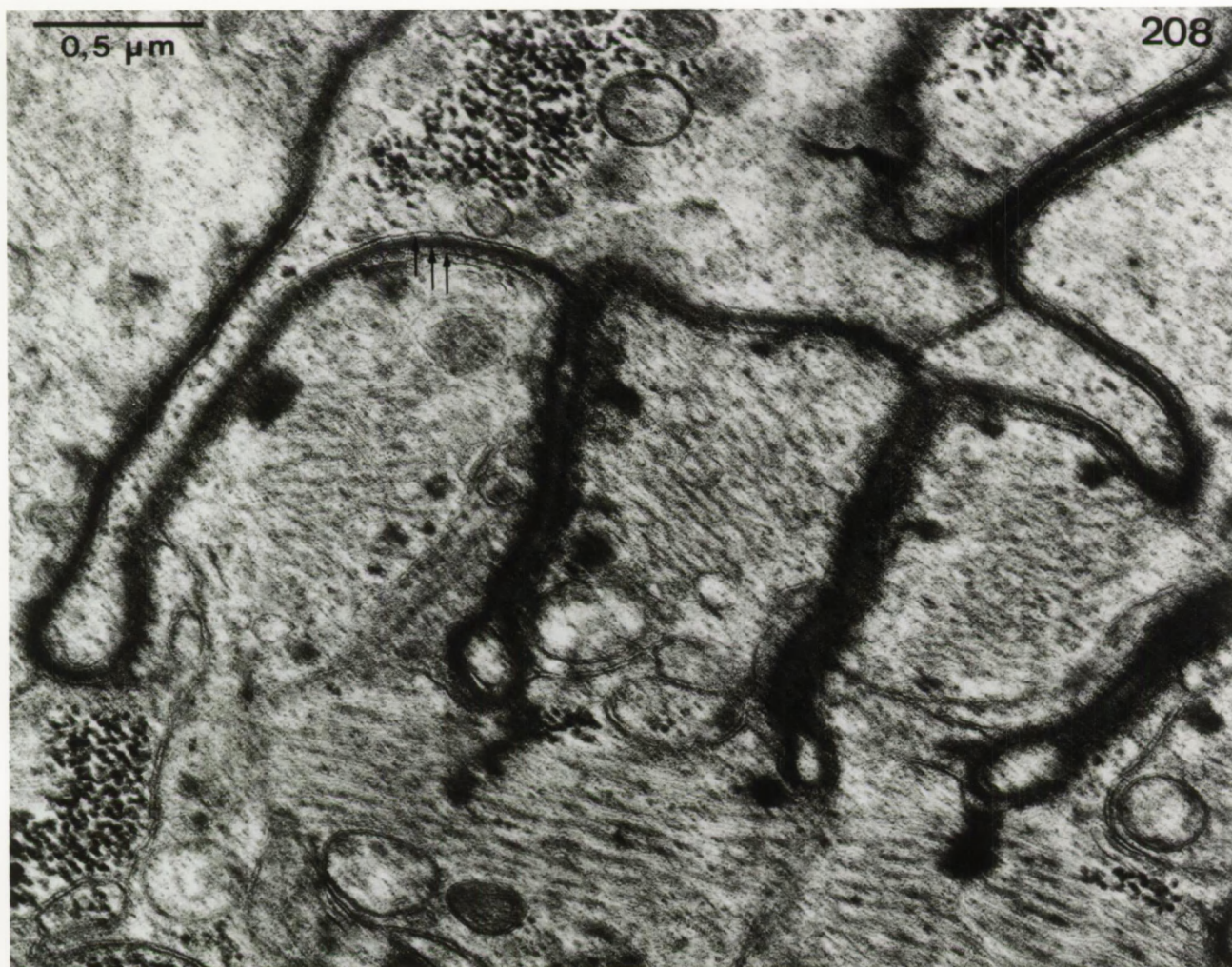
Promonotus schultzei

Afb. 206. : Cirrus bij sub-adult specimen. De stekels in opbouw zijn zichtbaar als gelobde structuren opgevuld met spieren. Bemerkt de dichte granula nabij de basale lamina en in de spieren.

Afb. 207. : Kopulatorische bulbus van een sub-adult specimen.
* duiden kernhoudende celdelen van de cirrus-spieren aan.

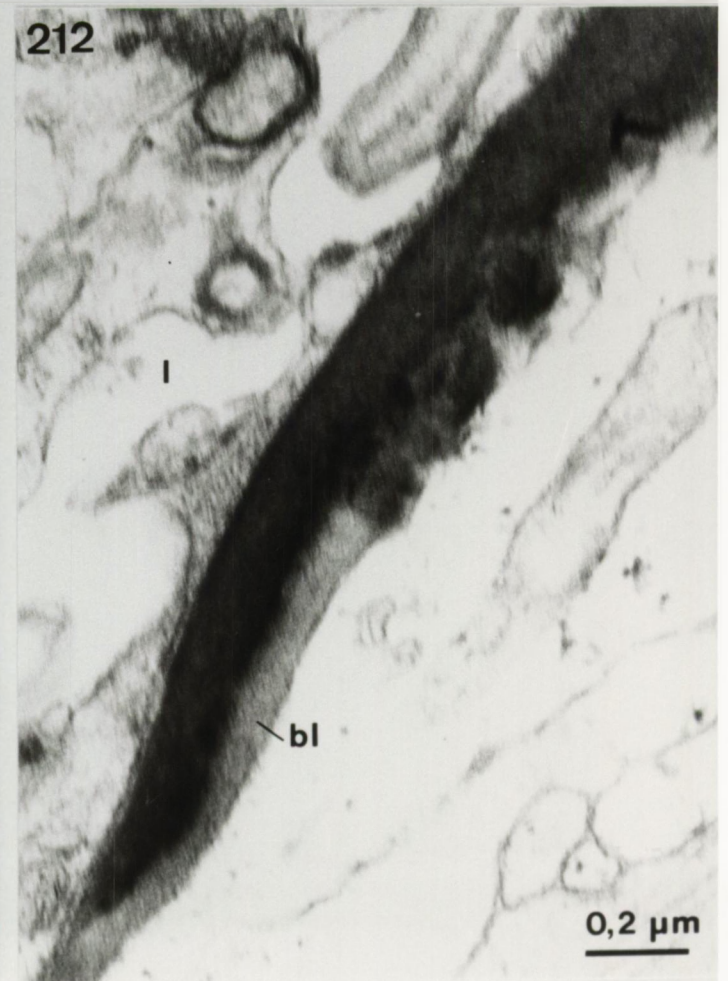
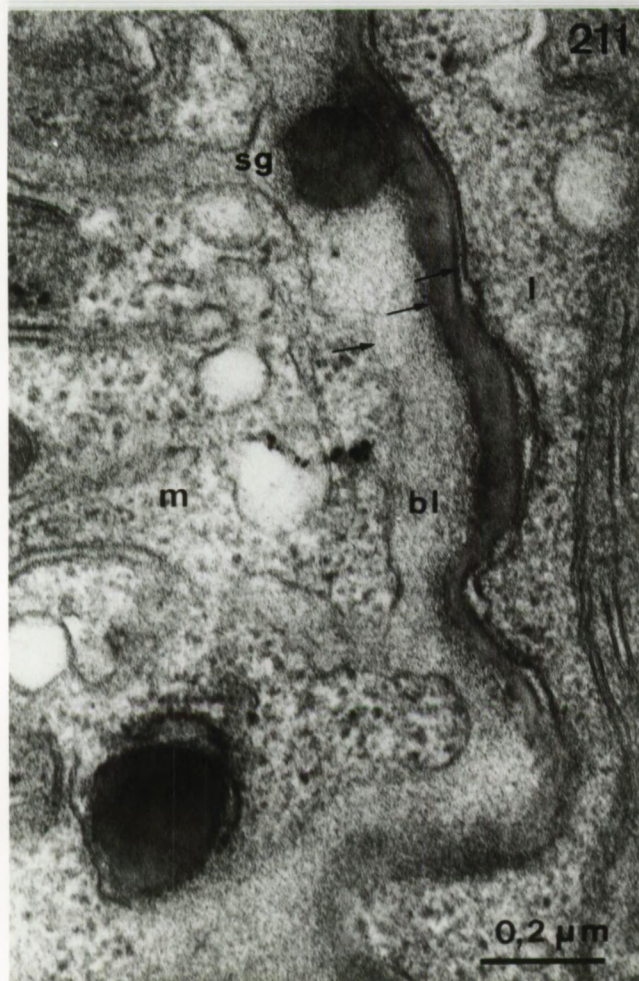
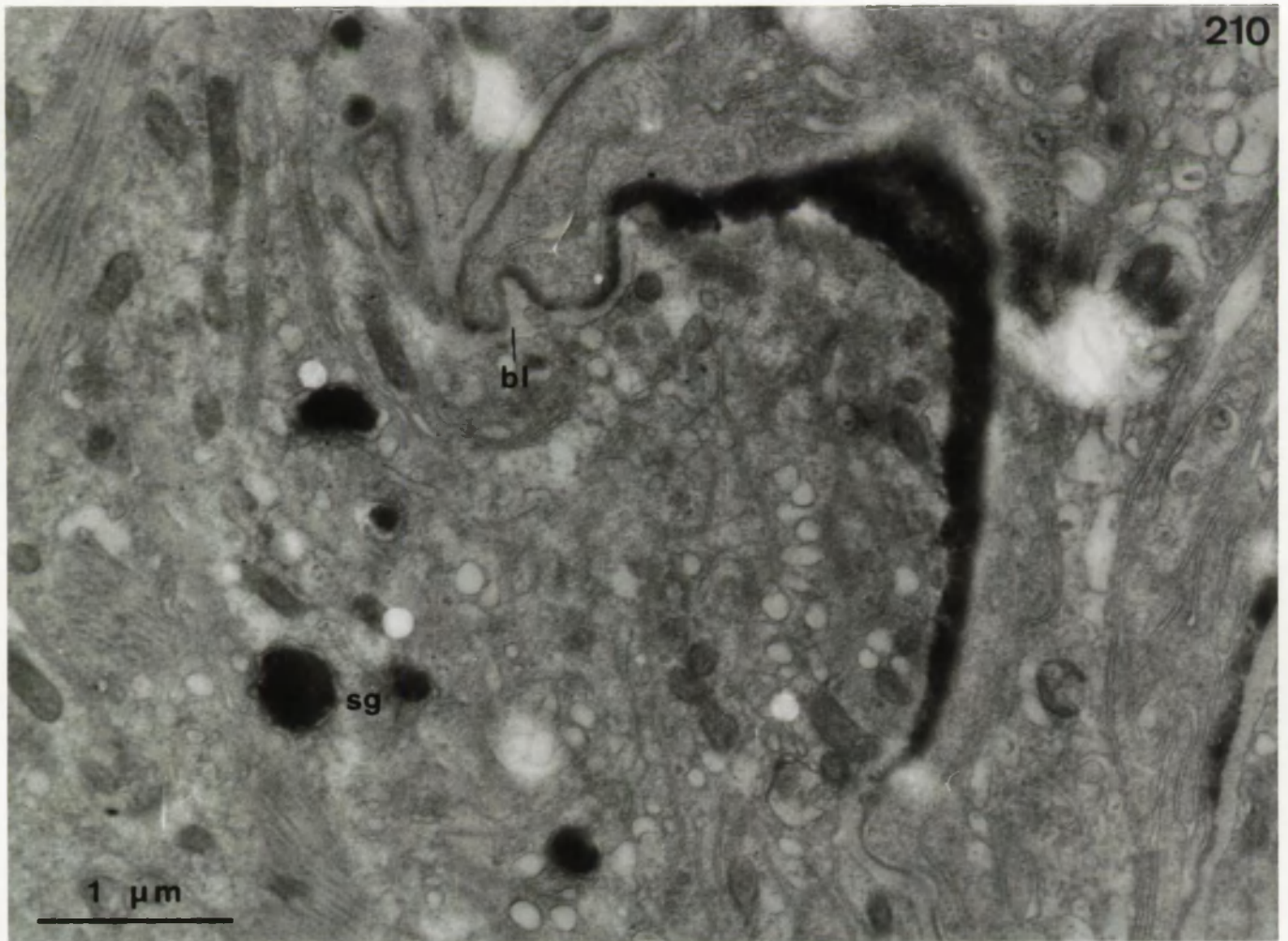


Afb. 208. en 209. : Cirrusstekels bij sub-adult specimen van *Promonotus schultzei*. De basale lamina vertoont een gelaagde structuur. Bemerk tevens de elektronendense sekreetgranula in de spieren van de cirrus.



Afb. 210. en 211. : Doorsnede van de cirrus bij sub-adult specimen van *Archilopsis unipunctata*. De spieren van de cirrus bevatten elektronendense granula die afgezet worden in de basale lamina. Pijlen duiden de drie lagen aan in de basale lamina.

Afb. 212. : Vergroting van een stekel bij *Archiloa westbladi*. Het elektronendense materiaal van de granula afgezet in de basale lamina wordt opengespreid in de middenlaag die de stekel vormt.



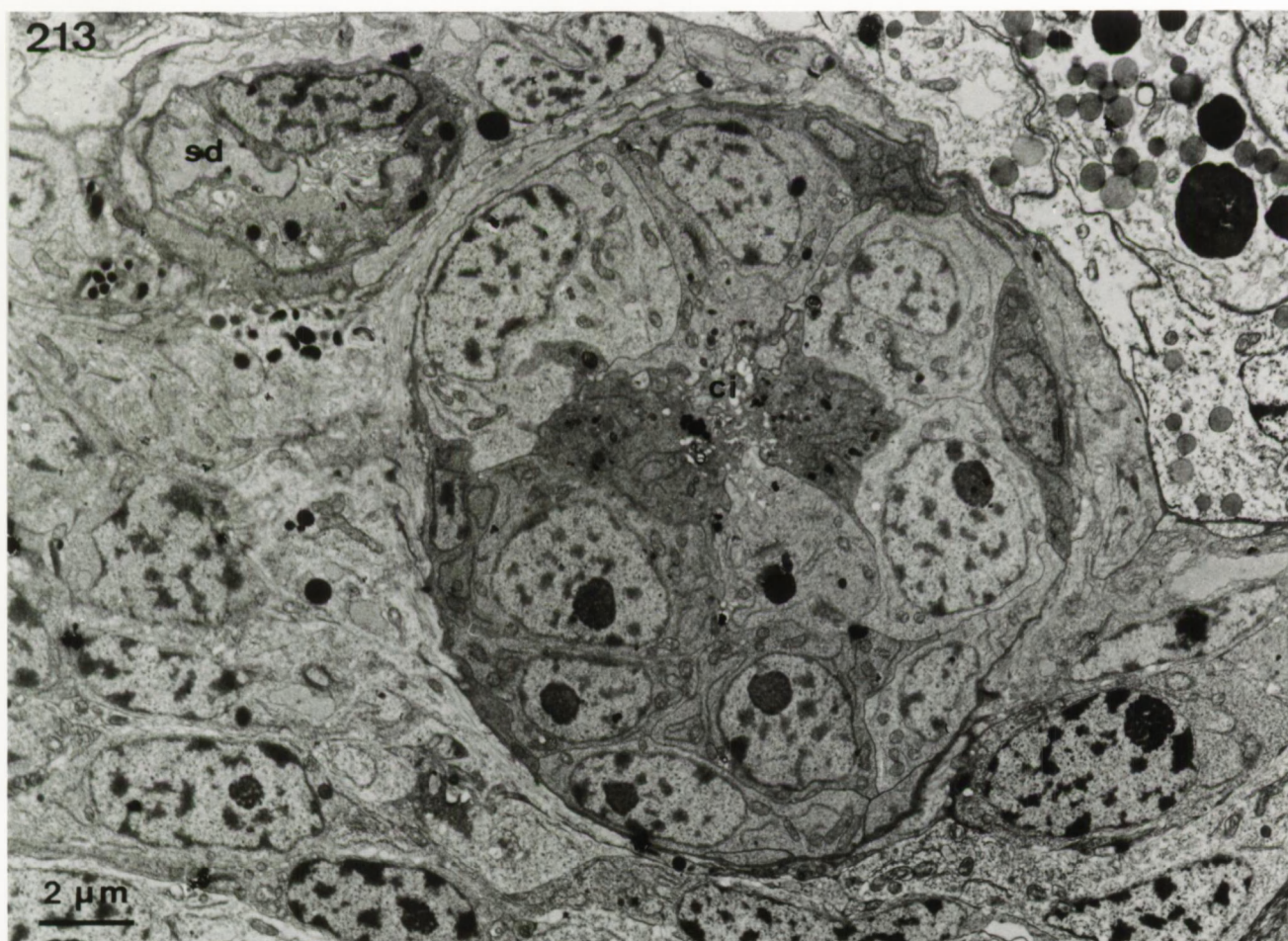
Afb. 213. : *Cirrifera aculeata*

Afb. 214. : *Cirrifera* sp.

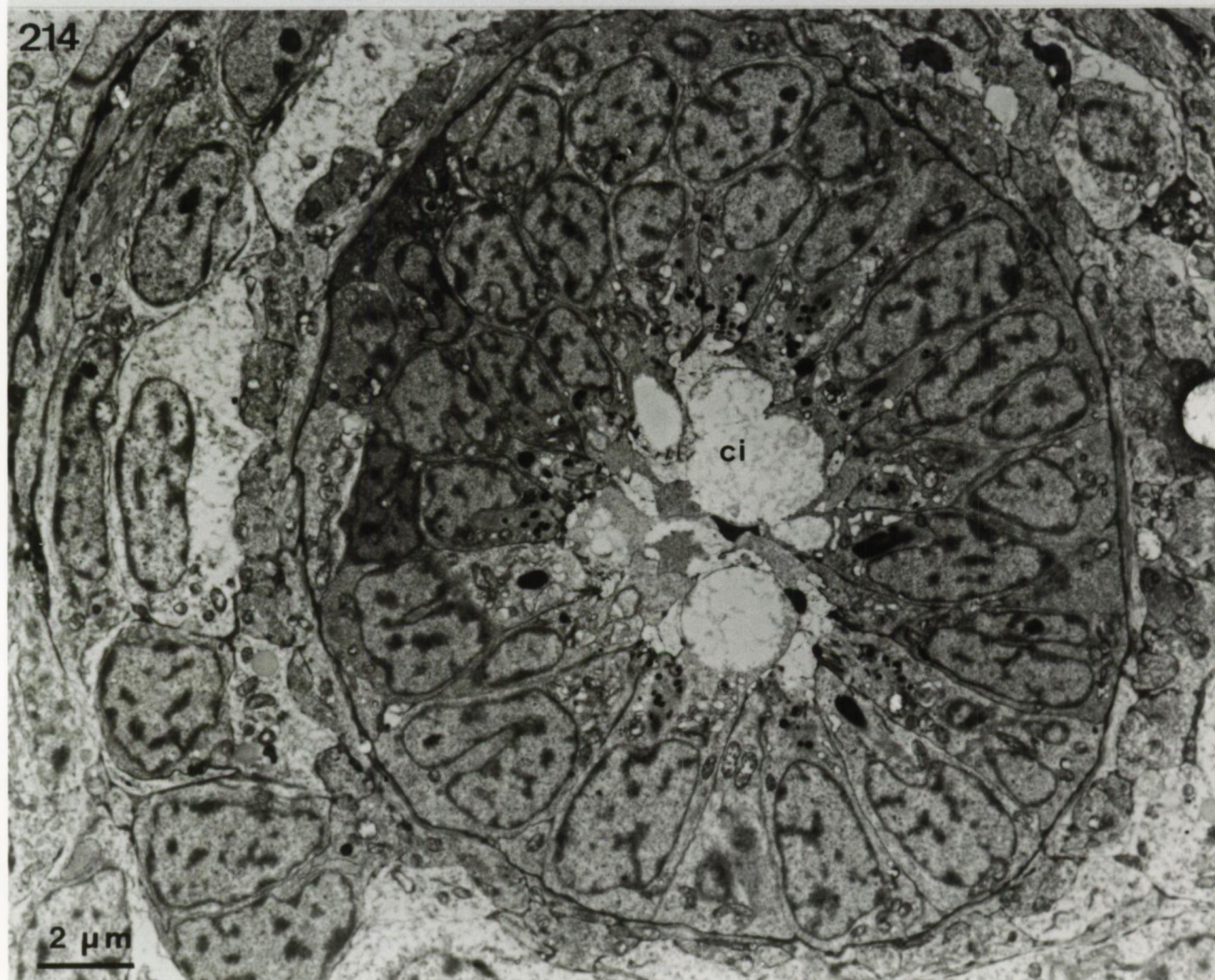
Dwarse doorsneden van de cirrus bij sub-adulte
specimens.

Het epitheel van de cirrus bestaat uit hoge
kubische cellen met een grote kern.

213



214



Afb. 215. : *Cirrifera aculeata*

Cirrus in een verder ontwikkelingsstadium. De stekels in opbouw zijn zichtbaar als intracellulaire elektronendense condensaties.

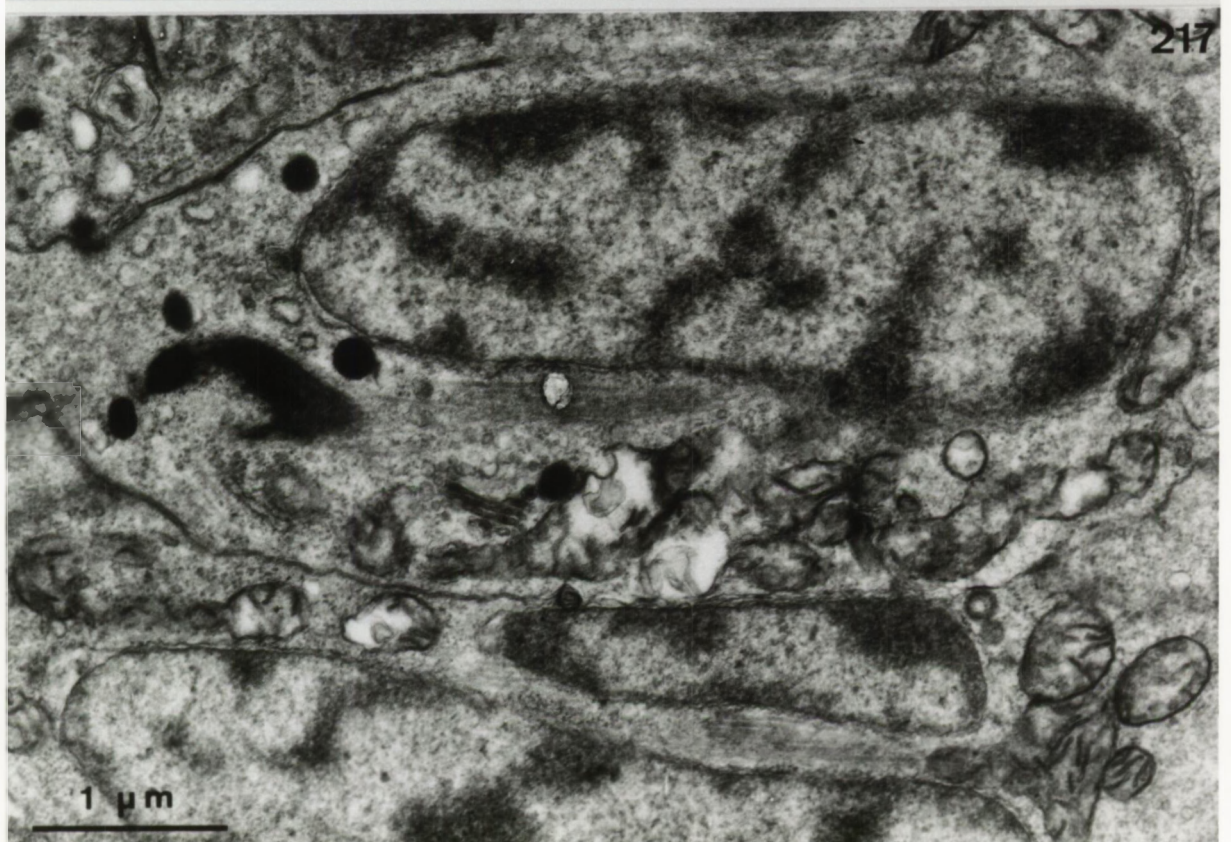
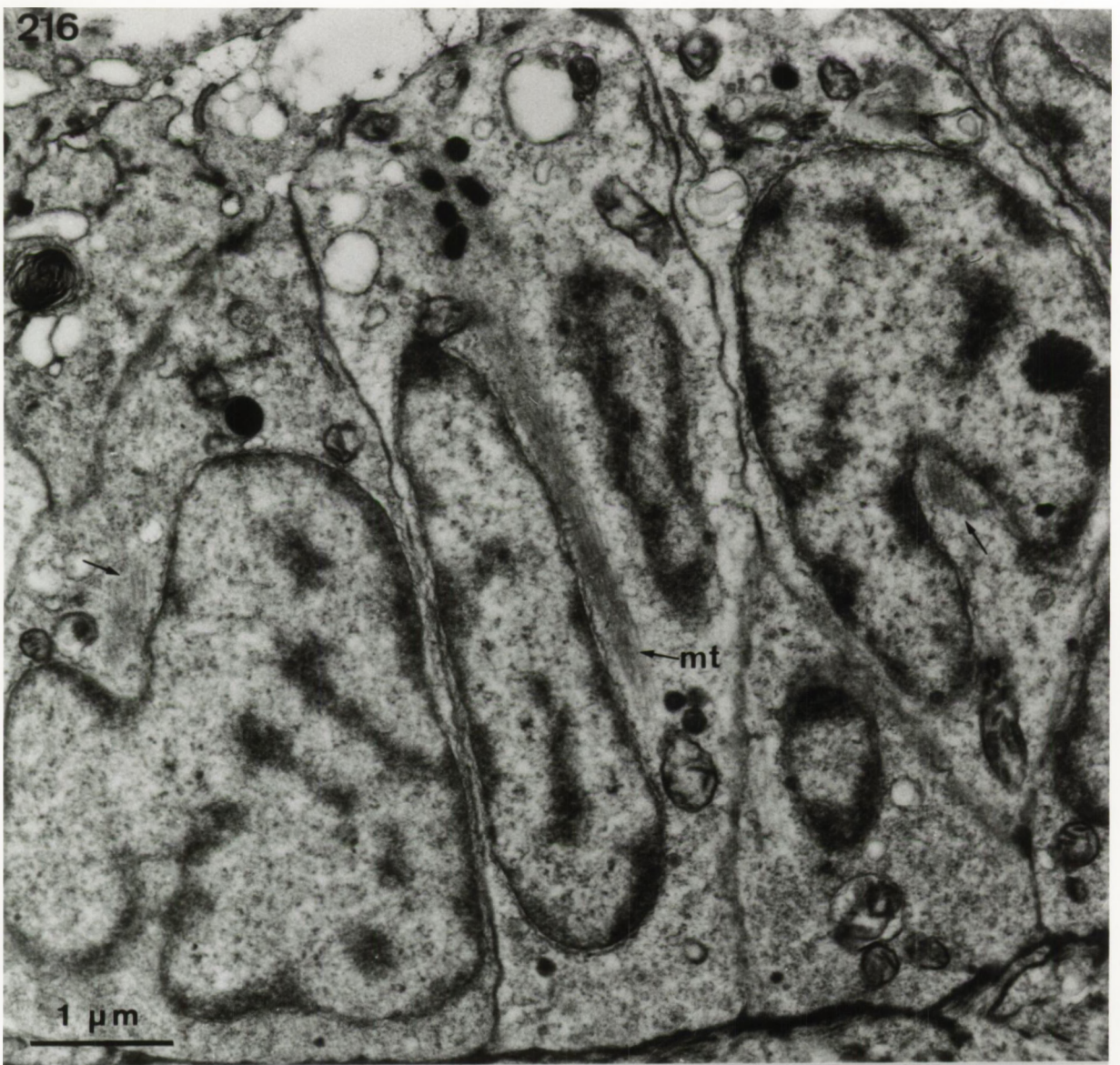
215



Cirrifera sp.

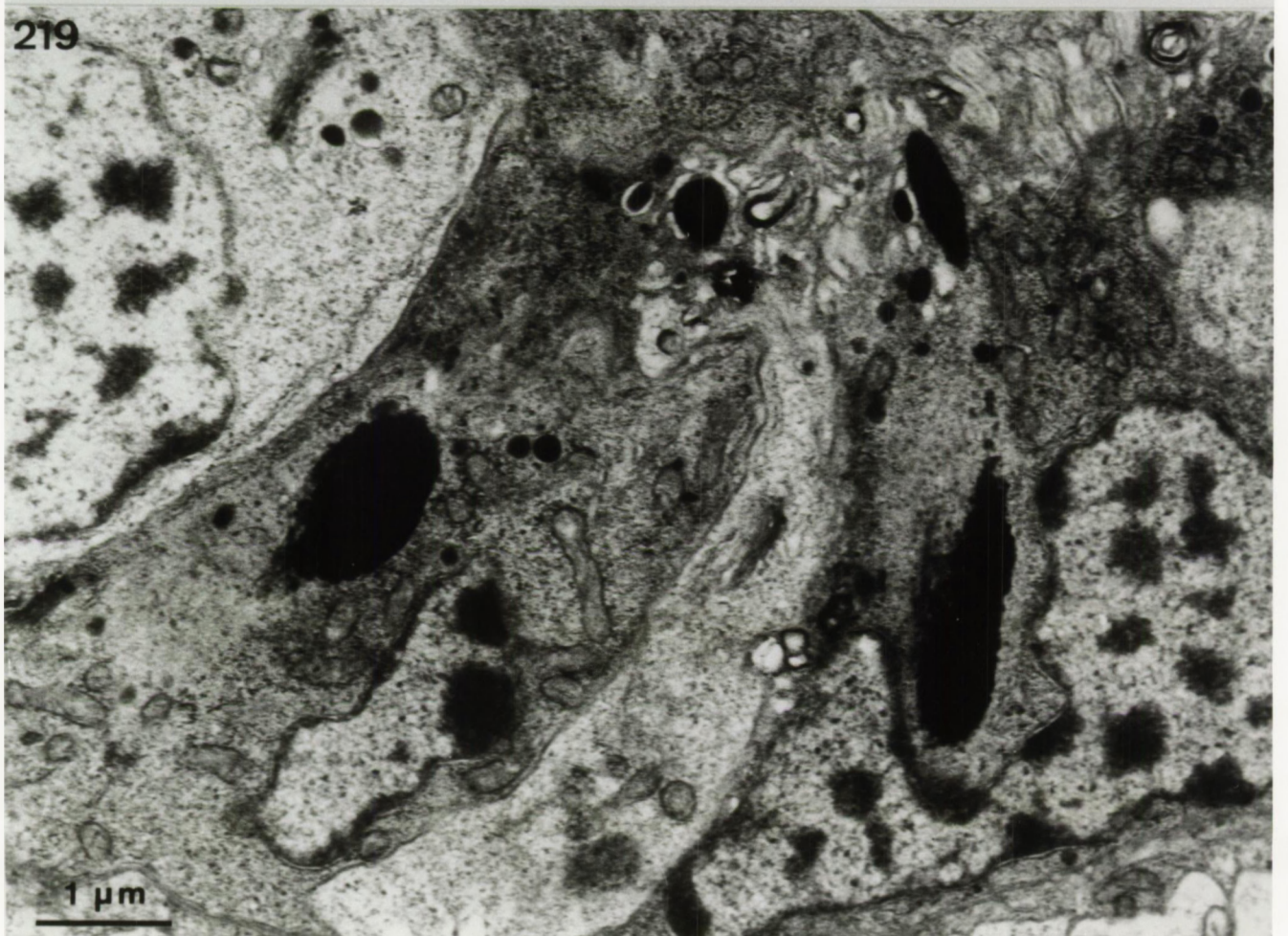
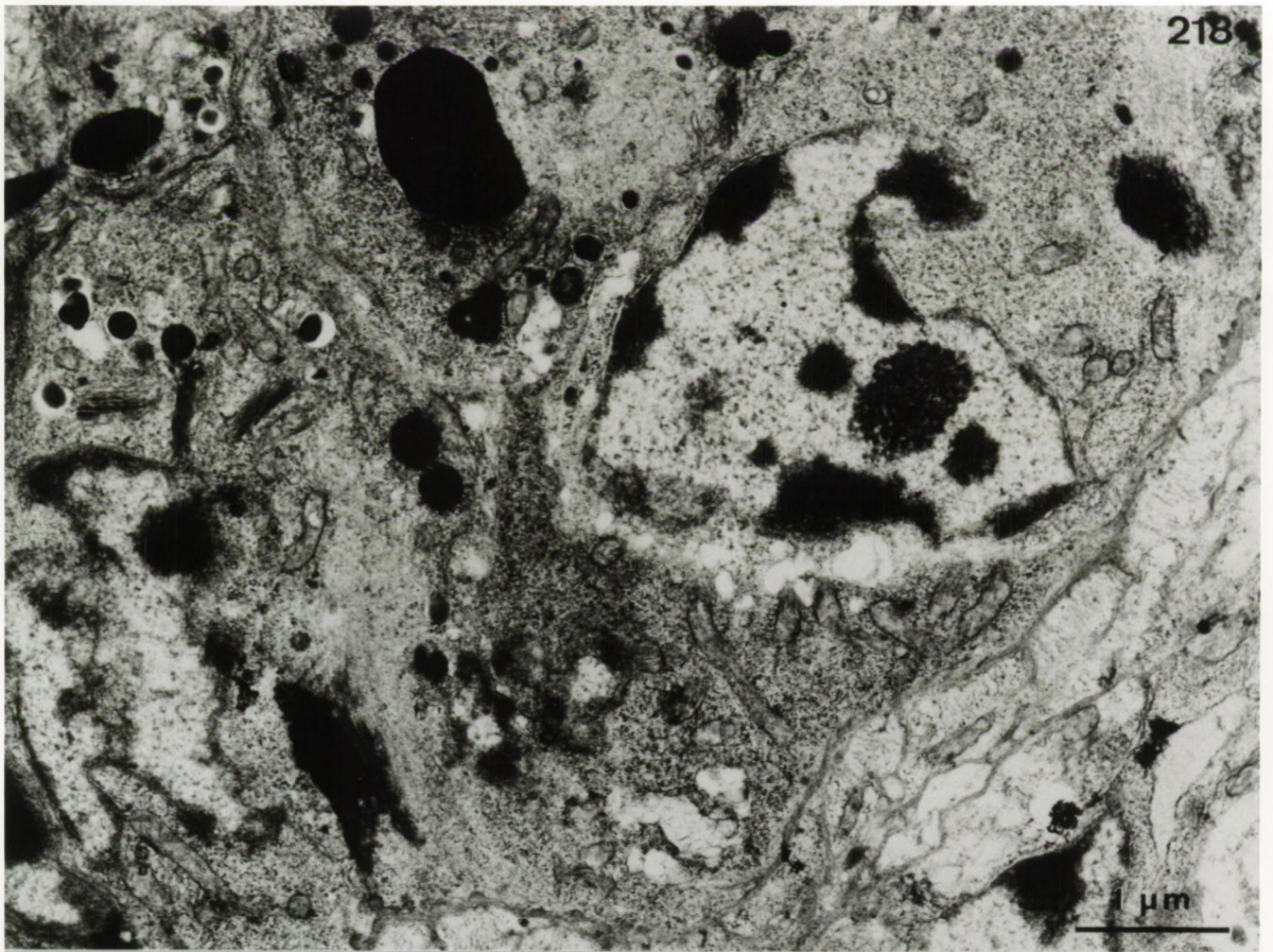
Afb. 216. : Epitheelcellen van de cirrus bij sub-adult specimen. De aanleg van de stekels is zichtbaar als een centraal gelegen bundel mikrotubuli (pijltjes). Apikaal van deze bundel liggen elektronendense condensaties.

Afb. 217. : De elektronendense condensatie apikaal in de cel versmelten tot een homogene massa.



Afb. 218. en 219. : *Cirrifera aculeata*

Epitheelcellen van de cirrus bij sub-adult specimen. Het cytoplasma bevat talrijke ribosomen, mitochondriën en Golgi-complexen.

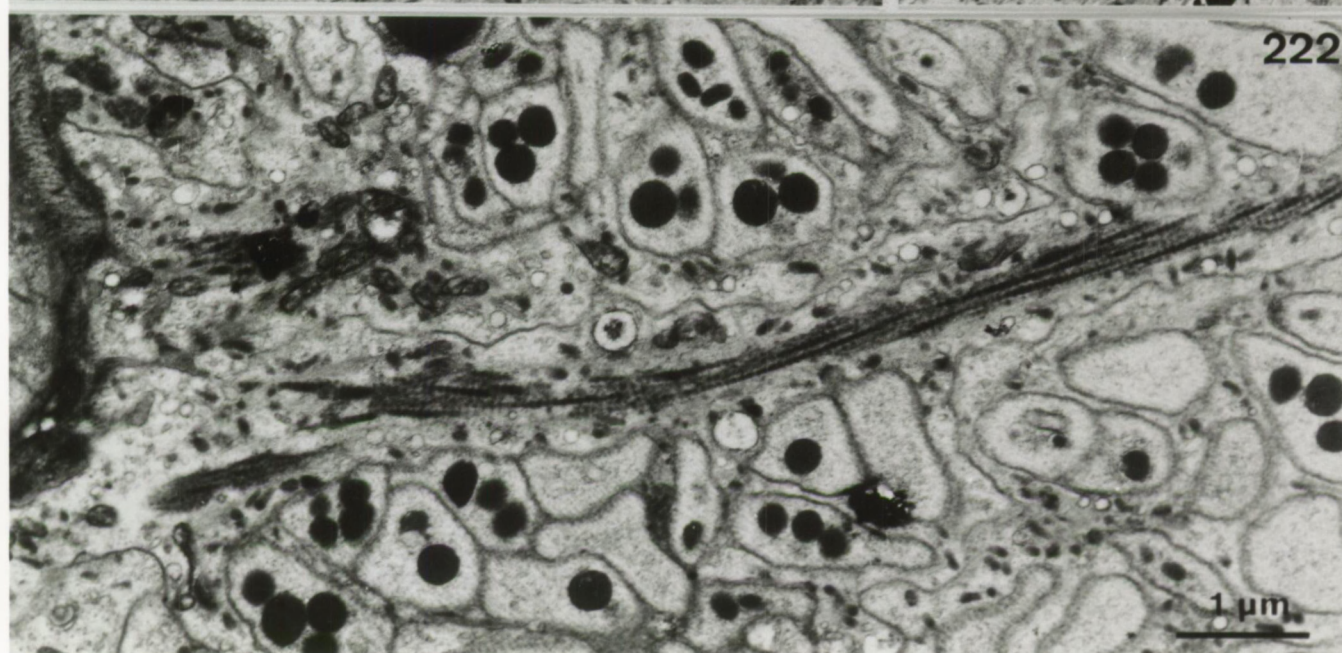
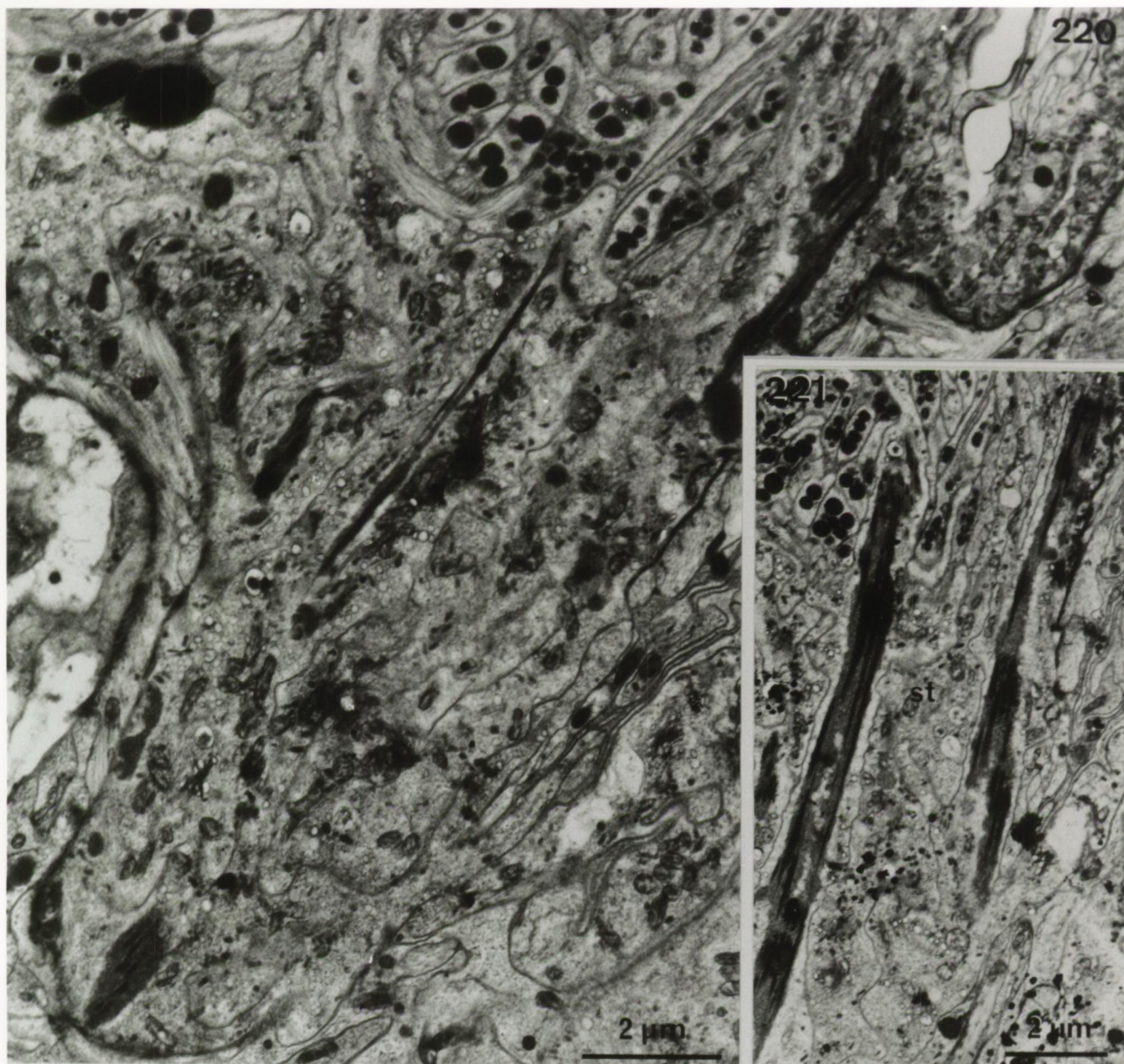


Carenscoilia biformis

Afb. 220. : Aanleg van de stiletstructuur. De cytoplasmatische matrix waarin het stilet wordt opgebouwd bevat talrijke mitochondriën, Golgi-complexen en kleine dense condensaties.

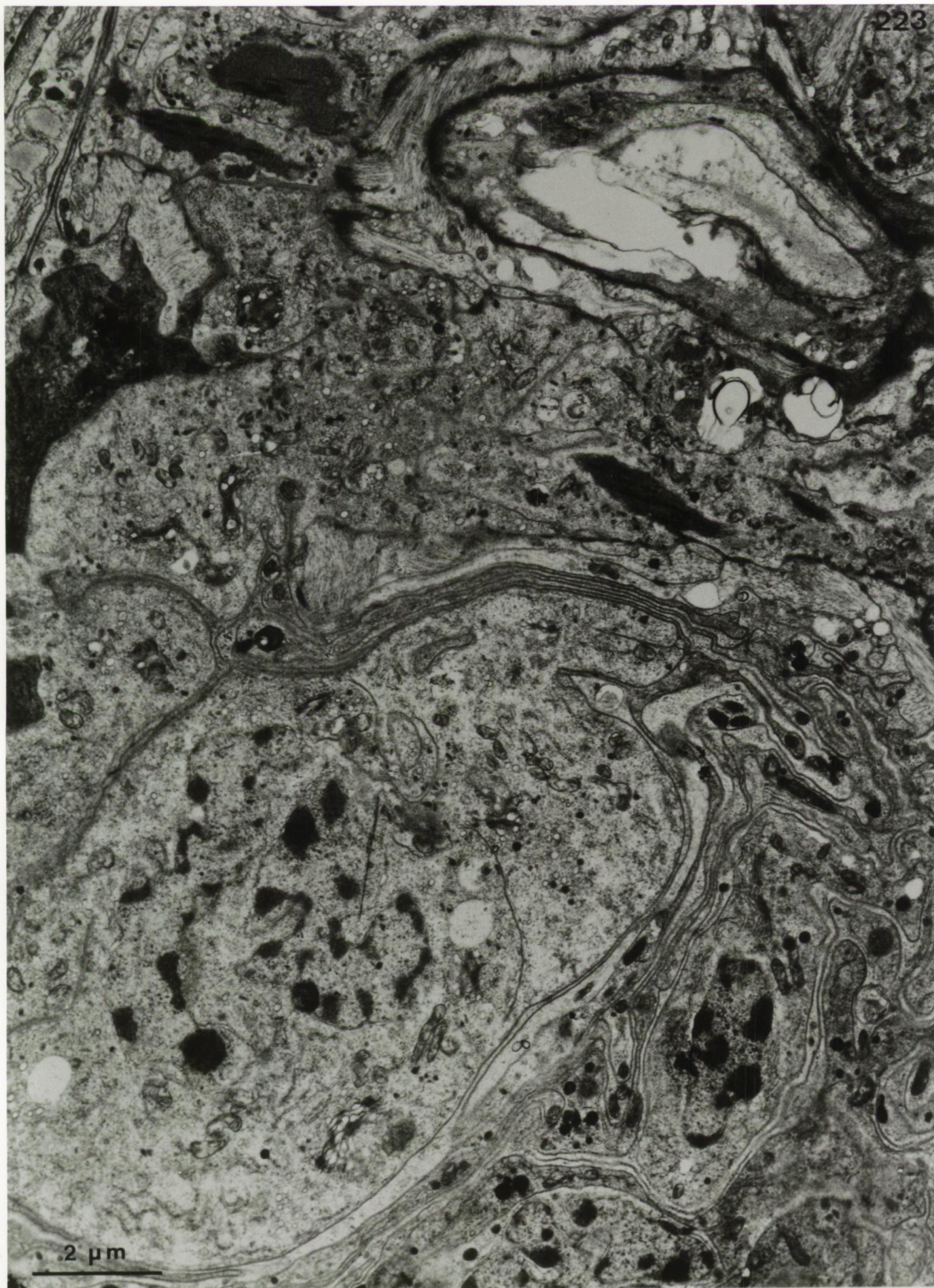
Afb. 221. : De aanleg van de stiletstructuur is zichtbaar als bundels fibrillen die over de hele lengte omgeven zijn met elektronendens materiaal.

Afb. 222. : De bouw van het stilet begint met de aanleg van bundels fibrillen die een dwarsbonding vertonen. De kleine dense condensaties zijn vooral nabij de fibrillen geakkumuleerd.



Afb. 223. : Sub-adult specimen van *Carenscoilia biformis*

De kernhoudende celdelen van de cytoplasmatische matrix waarin het stilet wordt opgebouwd liggen onder de spieren van de bulbus. Het cytoplasma bevat talrijke Golgi-complexen, mitochondriën en kleine dense condensaties.



Afb. 224. en 225. : *Archiloa petiti*

224. : Behandeling met pronase (4 uur).

De basale lamina waarin de stekels zijn gevormd
is niet aangetast.

225. : Behandeling met collagenase (4 uur).

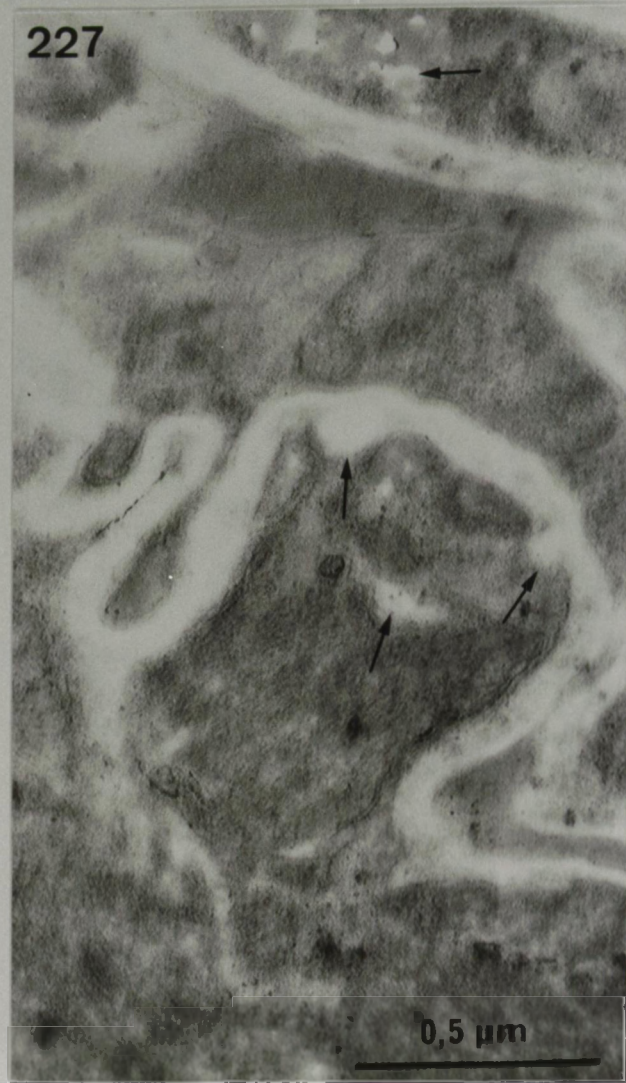
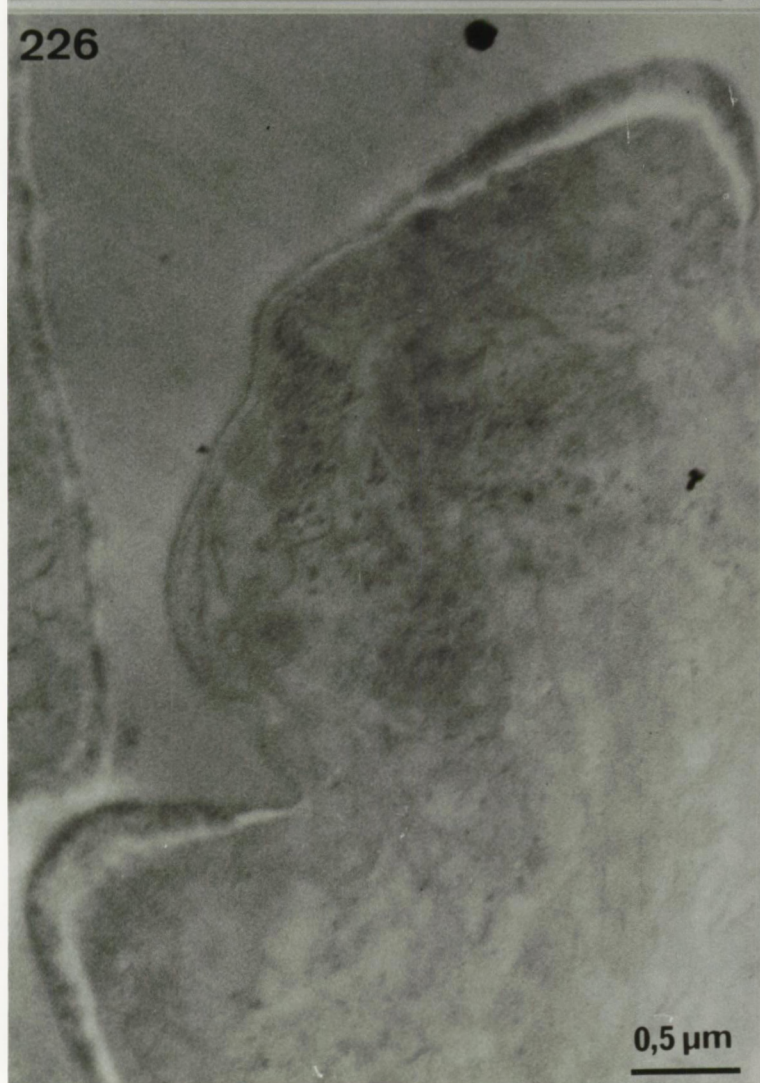
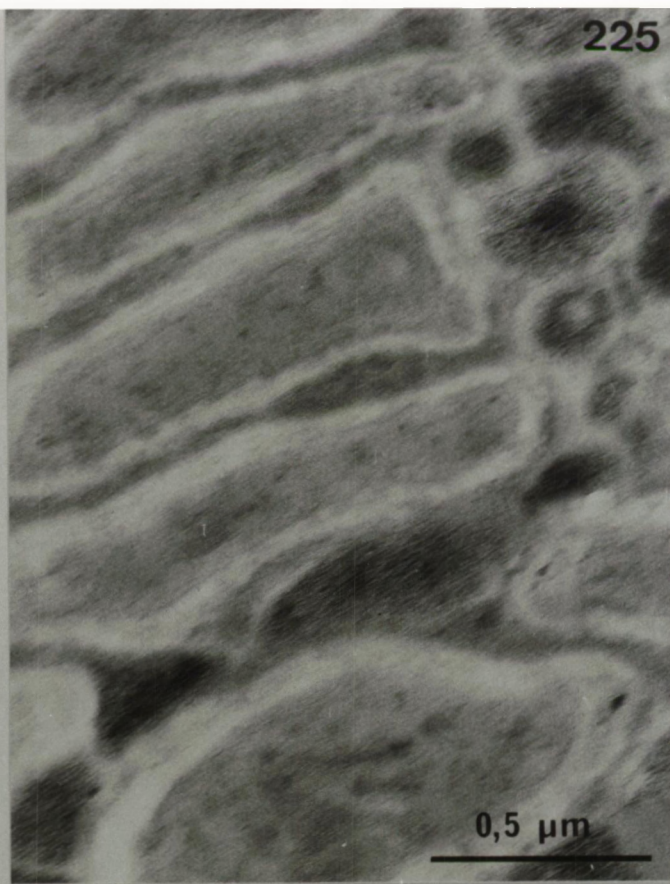
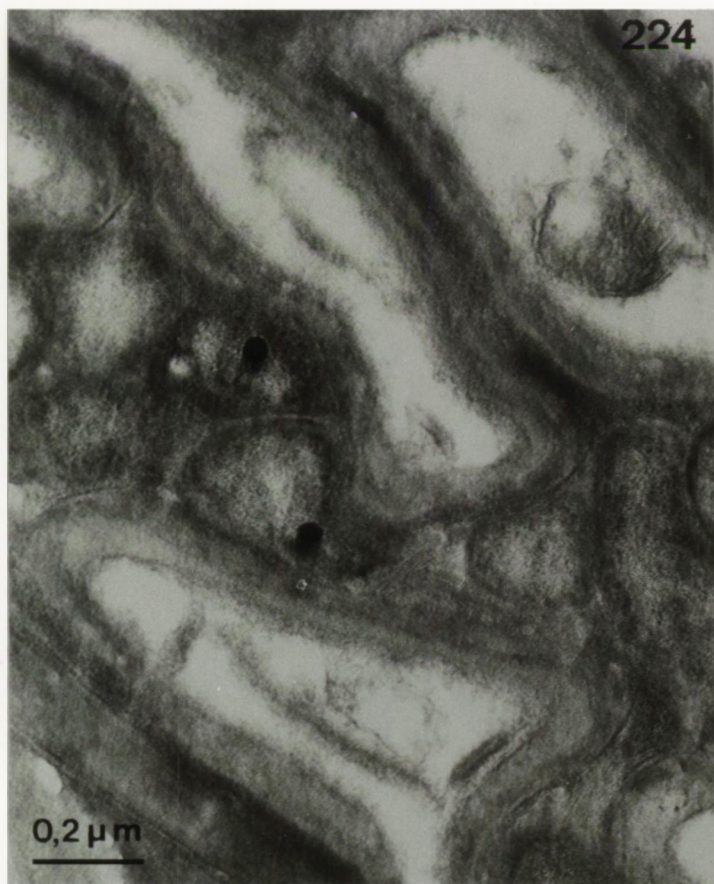
De stekels zijn bijna geheel verdwenen.

Afb. 226. en 227. : *Archilopsis unipunctata*

226. : Effect van collagenase bij kortere behandelings-
tijd (2 uur) : de inwendige laag van de basale
lamina is verdwenen, terwijl de stekellaag zelf
slechts weinig aangetast is.

227. : Behandeling met collagenase (4 uur).

De stekels zijn bijna geheel verdwenen, zoals
ook de sekreetgranula die in de onderliggende
spieren en in de inwendige laag van de basale
lamina voorkomen (pijlen).



Afb. 228. : *Archilopsis unipunctata*

Behandeling met zilverprotefnaat na kortstondige
inwerking van collagenase (2 uur).

De stekellaag zelf vertoont een sterke positiviteit
duidend op aanwezigheid van polysacchariden.

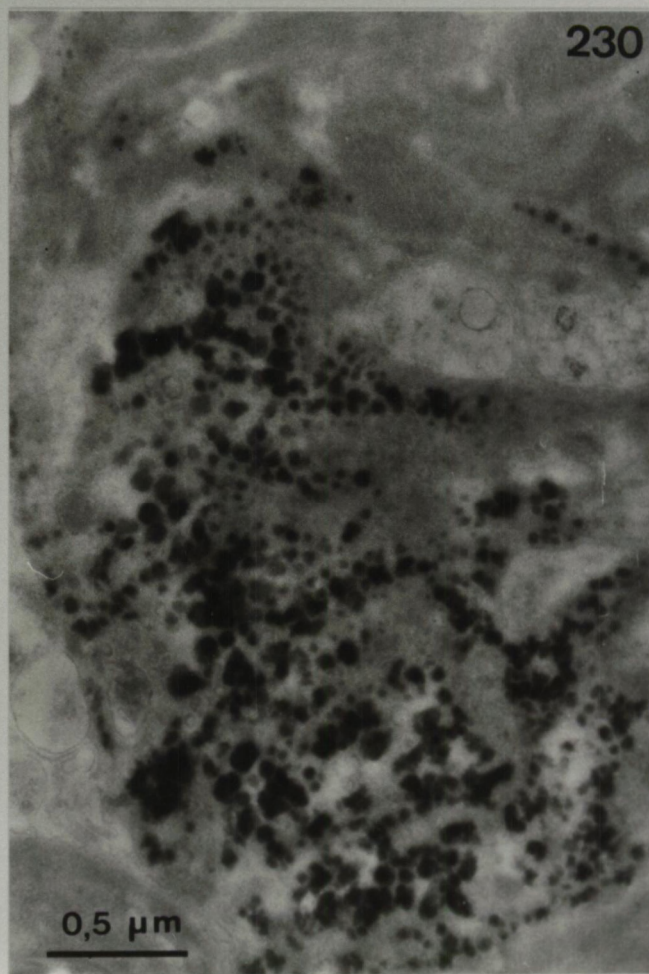
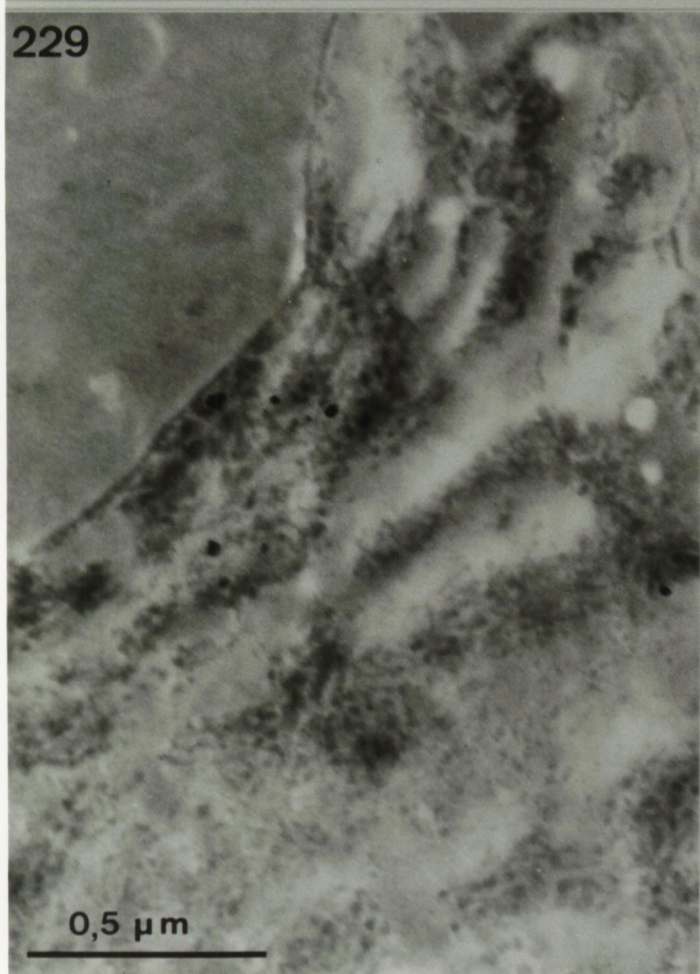
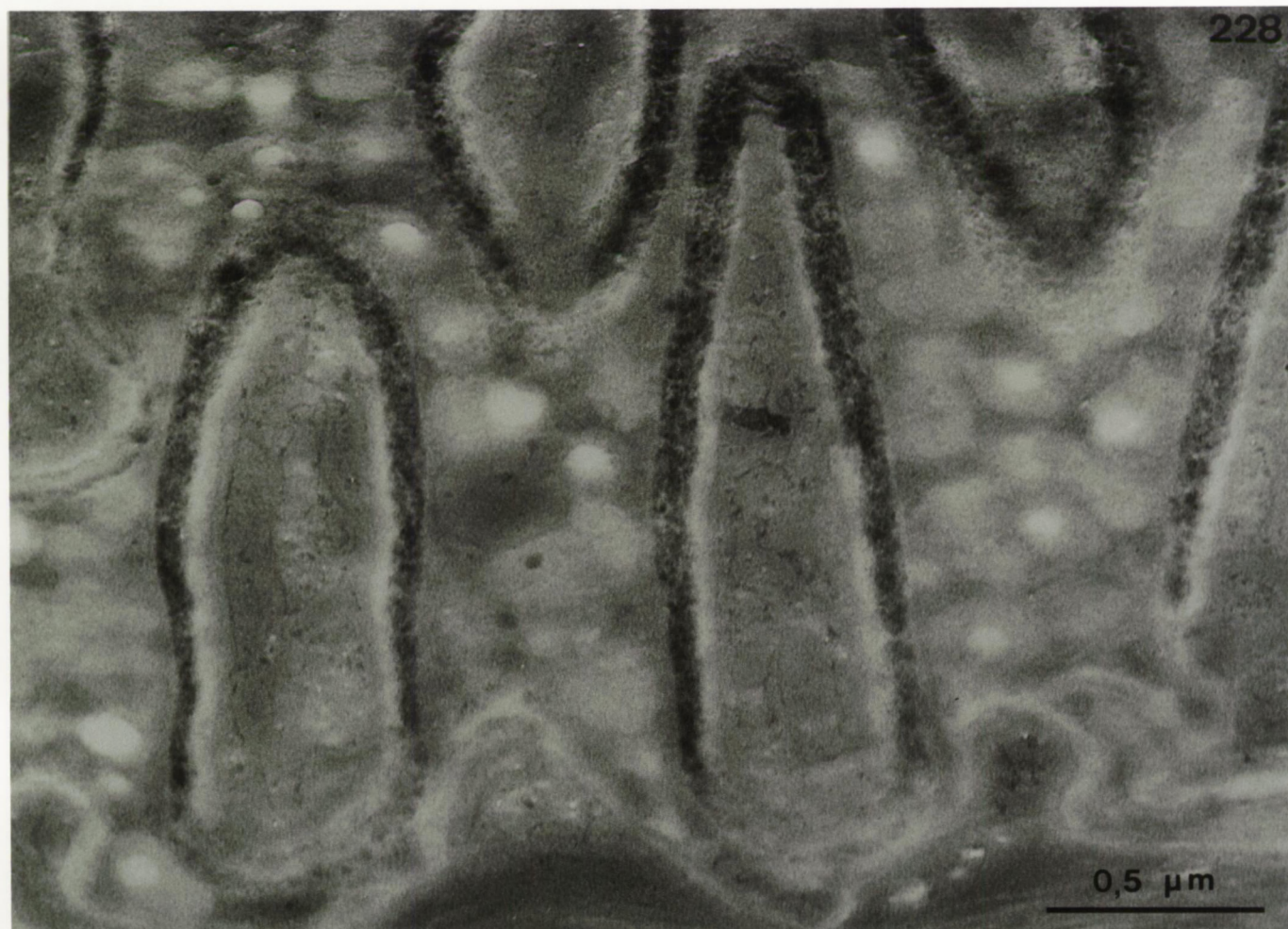
Afb. 229. en 230. : *Ectocotyla multitesticulata*

229. : Behandeling met zilverprotefnaat na inwerking
van collagenase (2 uur).

Het stiletmateriaal is sterk aangetast door colla-
genase en vertoont tevens een sterke positiviteit
voor polysacchariden.

230. : Inwerking van pronase (4 uur).

Het stiletmateriaal is slechts weinig aangetast.



Cirriifera sp.

Afb. 231. : Behandeling met pronase (4 uur).

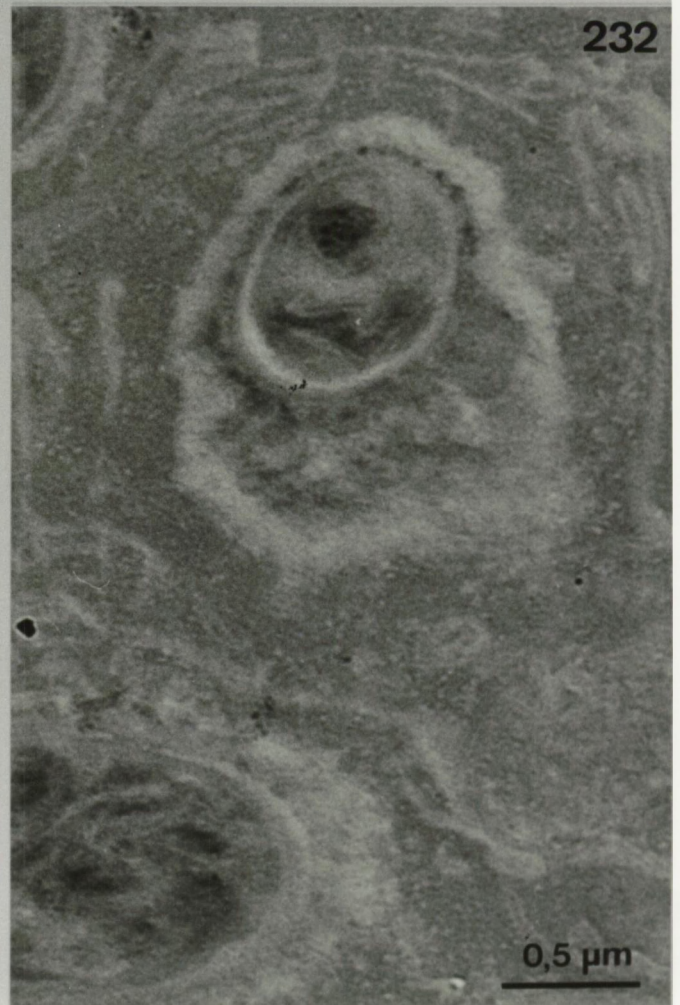
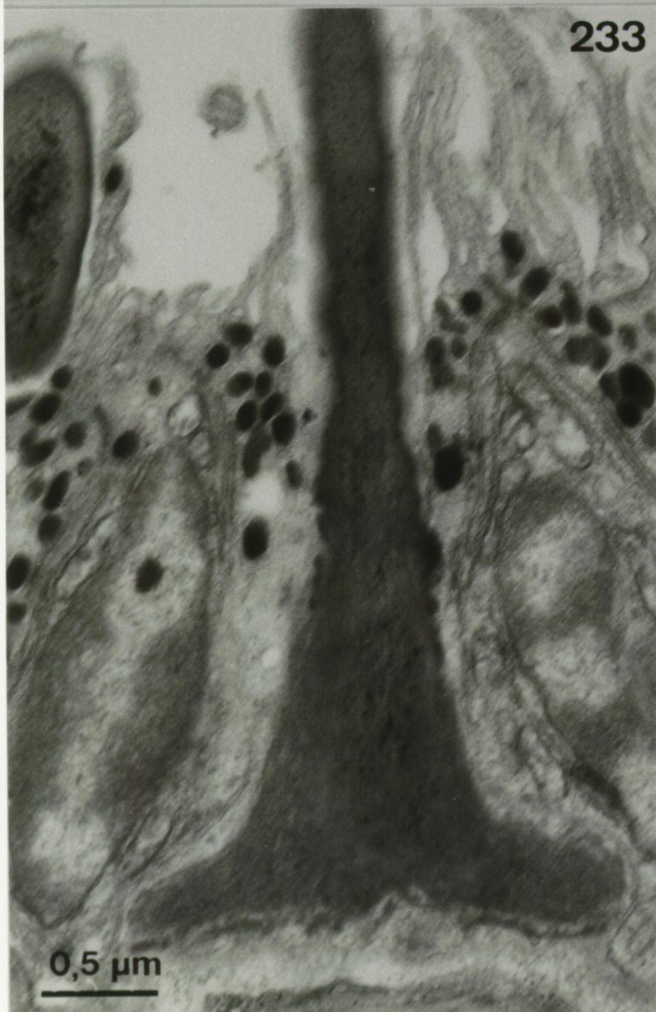
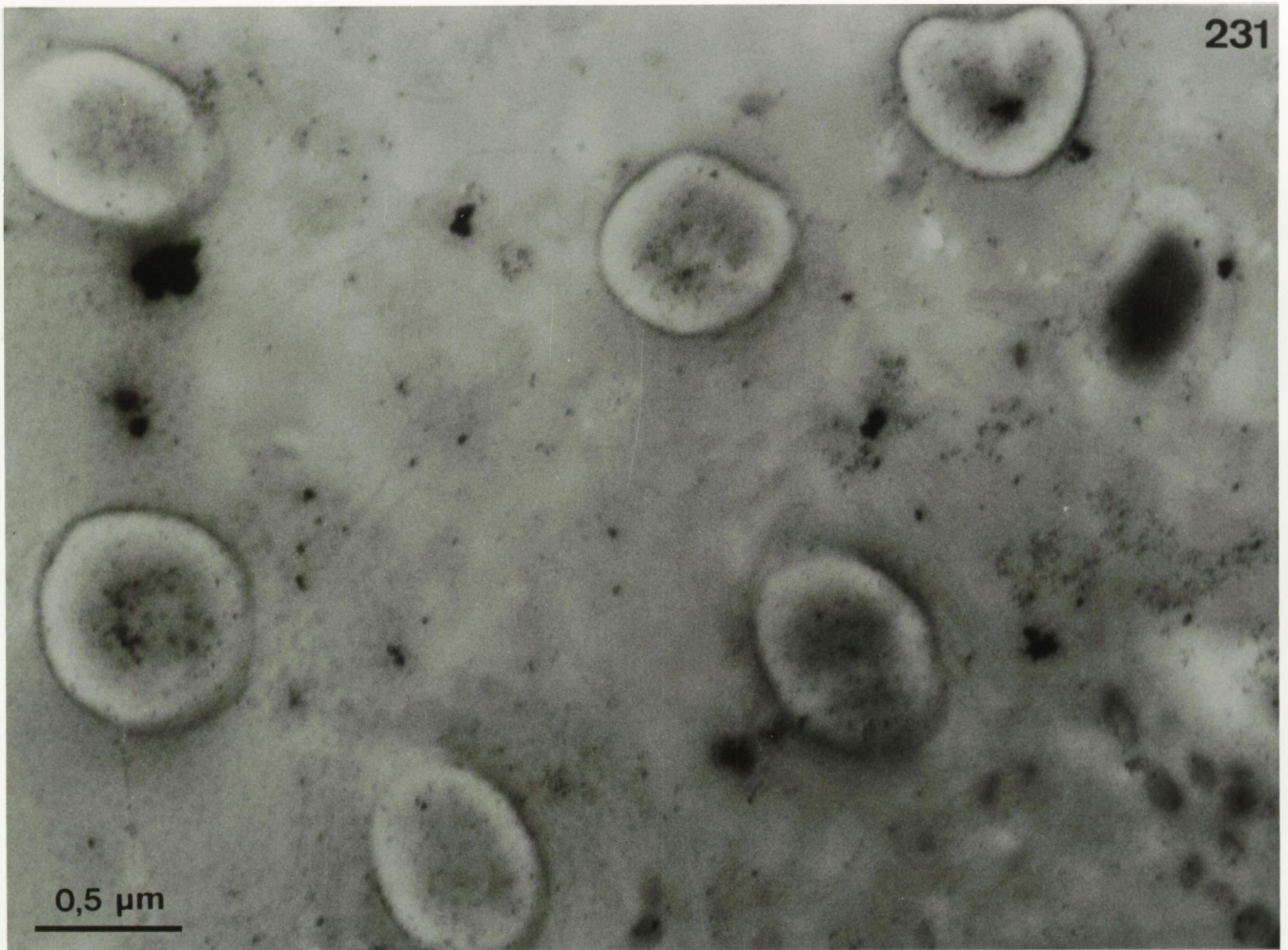
Het materiaal in de stekels is sterk aangetast,
de oppervlaktelaag niet. Bemerkt rechts onderaan
dat de sekreetgranula die apikaal in de stekelcel
liggen weinig invloed hebben ondergaan.

Afb. 232. : Behandeling met pronase (3 uur).

Aan de basis van de stekel is het flocculente
materiaal verdwenen, terwijl de centrale matrix
minder aangetast is.

Afb. 233. : Behandeling met collagenase (3 uur).

Het stekelmateriaal vertoont geen invloed van
deze inwerking.



Carenscoilia biformis

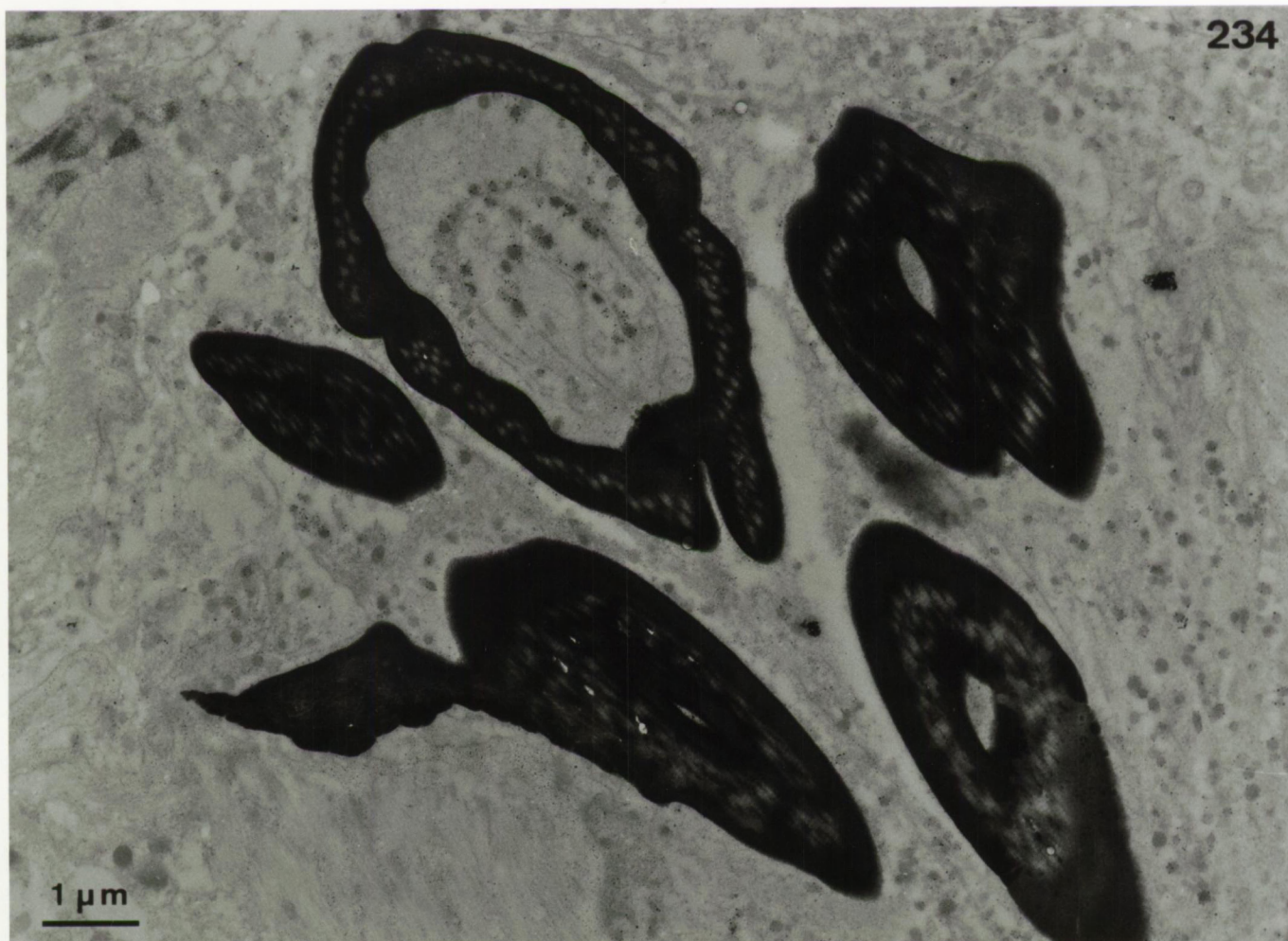
Afb. 234. en 235. : Inwerking van collagenase, respectievelijk 3 uur en 4 uur.

De dwarsgestreepte fibrillen in het stilet en de naalden zijn verdwenen. De omliggende matrix vertoont geen invloed. De kleine sekreetgranula in het omgevende cytoplasma worden eveneens niet aangetast (in 234).

Afb. 236. : Epidermiscellen na inwerking van collagenase (3 uur).
De dwarsgestreepte ciliaire wortels zijn verdwenen.

Afb. 237. : Epidermiscellen zonder inwerking van collagenase.

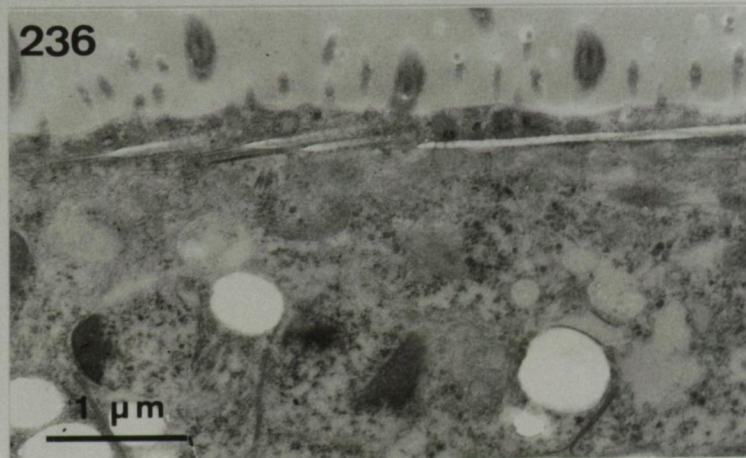
234



235



236



237

