

Entomologica Austriaca	16	19-25	Linz, 20.3.2009
------------------------	----	-------	-----------------

## **Morphologie der Stinkdrüsen bei *Trogulus tricarinatus* (LINNÉ, 1767) (Opiliones, Trogulidae)**

M. SCHAIDER & G. RASPOTNIG

**A b s t r a c t :** **Morphology of scent glands in *Trogulus tricarinatus* (LINNÉ, 1767) (Opiliones, Trogulidae).** Prosomal sac-like scent glands are characteristic of all Opiliones but detailed data, with respect to morphology and chemistry, are only known for a few taxonomic groups. In the present paper, we report on the morphology and functional anatomy of scent glands in *Trogulus tricarinatus*, a representative of Troguloidea whose scent gland biology is completely unknown yet: Scent glands were investigated by means of semi thin sections and subsequently 3D-reconstructed. According to these results, scent glands in *T. tricarinatus* comprise large paired sacs that consist of an anterior non-glandular part and a posterior glandular part. Lumina contain solid balls of condensed secretion. In adults, the openings (ozopores), located nearly dorsal to legs I, lead into an external secretion atrium, a cavity between the cuticle and a covering layer of adjacent cuticular papillae, with a narrow slit remaining open and finally leading to the body outside.

So far, this kind of scent gland construction is unique in Opiliones: Secretion, possibly set free by sublimation of solid secretion balls, has to pass the external atrium before reaching the environment. A construction like this is not consistent with a generally postulated defensive function of scent glands and may represent a highly-derivative and functionally modified state of scent glands in soil-dwelling Trogulidae.

**K e y w o r d s :** exocrine glands, chemical defense, opilionids, Palpatores, Dyspnoi.

### **Einleitung**

Prosomale paarige Wehrdrüsen (synonym "Stinkdrüsen") sind nicht nur ein wichtiges synapomorphes Merkmal aller Opiliones (MARTENS 1978), sondern sie repräsentieren auch das größte und auffälligste exokrine System dieser Tiergruppe. Morphologische, chemische und biologisch-funktionelle Daten zu Stinkdrüsen sind mittlerweile zu einer Vielzahl von Weberknecht-Arten vorhanden (Zusammenfassung bei GNASPINI & HARA 2007): so wird diesen Drüsen insbesondere bei den Laniatores (ESTABLE et al. 1955; EISNER et al. 2004; HARA & GNASPINI 2003) und den Cyphophthalmi (GUTJAHR et al. 2006; RASPOTNIG et al. 2005) eindeutig chemische Abwehrfunktion zugeordnet. Bei den Palpatores dagegen – obwohl auch hier einige Untersuchungen zu bestimmten Arten existieren – sind diese Drüsen unauffälliger ausgebildet, und auch die für Weberknecht-Stinkdrüsen mittlerweile generell postulierte Wehrfunktion erscheint zumindest bei eini-

gen Palpatores fragwürdig. Hinweise auf deutlich abweichende Funktionen stammen z.B. aus Verhaltensbeobachtungen mit Palpatores-Arten, die auch nach mechanischer Reizung nur "ungern" oder überhaupt kein Sekret freisetzen (KAESTNER 1931-1941). Insbesondere bei vielen Vertretern aus der Gruppe der Dyspnoi, die die beiden Überfamilien Ischyropsalidoidea und Troguloidea umfasst, scheint Sekretabgabe auch bei noch so starker Reizung "verpönt" zu sein (PABST 1953). Bei den Ischyropsalididen *Ischyropsalis luteipes*, *I. pyrenaea* und *I. strandi* wurden zudem auch feste Sekretballen anstatt flüssigen Sekretes festgestellt (JUBERTHIE et al. 1991) – dies stellt nicht nur eine Besonderheit für Weberknecht-Stinkdrüsen dar, sondern muss als sehr untypischer Charakter von (potentiellen) Wehrdrüsen bei Arthropoden angesehen werden.

Um weitere Daten zu diesem Phänomen zu erhalten, wurden in der vorliegenden Arbeit die morphologischen und anatomischen Gegebenheiten der Stinkdrüsen von *Trogulus tricarinatus* untersucht. *T. tricarinatus* ist ein weiterer Vertreter der Dyspnoi, der allerdings die Schwestergruppe der Ischyropsalidoidea repräsentiert, nämlich die Troguloidea. Über die Stinkdrüsen dieser Gruppe sind bisher weder morphologische noch chemische Daten vorhanden.

## Material und Methoden

Adulte und juvenile Individuen beider Geschlechter von *Trogulus tricarinatus* (LINNÉ, 1767) (Opiliones, Trogulidae) wurden aus Gesiebeproben der Laubstreuschicht aus verschiedenen Gebieten Kärntens und der Steiermark (Österreich) einerseits händisch, andererseits mit Hilfe von Berlese-Tullgren-Apparaten gesammelt. Die Individuen wurden in Bouin nach Romeis (BÖCK 1989) für 24 Stunden fixiert, ausgewaschen, entwässert und in LR-white soft grade (London Resin Company Ltd., Berkshire, England via Gröpl, Tulln) eingebettet. Mit Glasmessern und einem Rotationsmikrotom (2065 Supercut, Leica Jung, Wien) wurden 2,5 µm dicke Querschnitte von *T. tricarinatus* hergestellt und diese anschließend mit Toluidinblau (Lactan, Graz) gefärbt. Die fertigen Präparate wurden mit Euparal eingedeckelt. Die Rekonstruktion der Drüsen erfolgte nach HONOMICHL et al. (1982) und mit Hilfe einer 3D-Rekonstruktions-Software (Amira 4.1).

## Ergebnisse

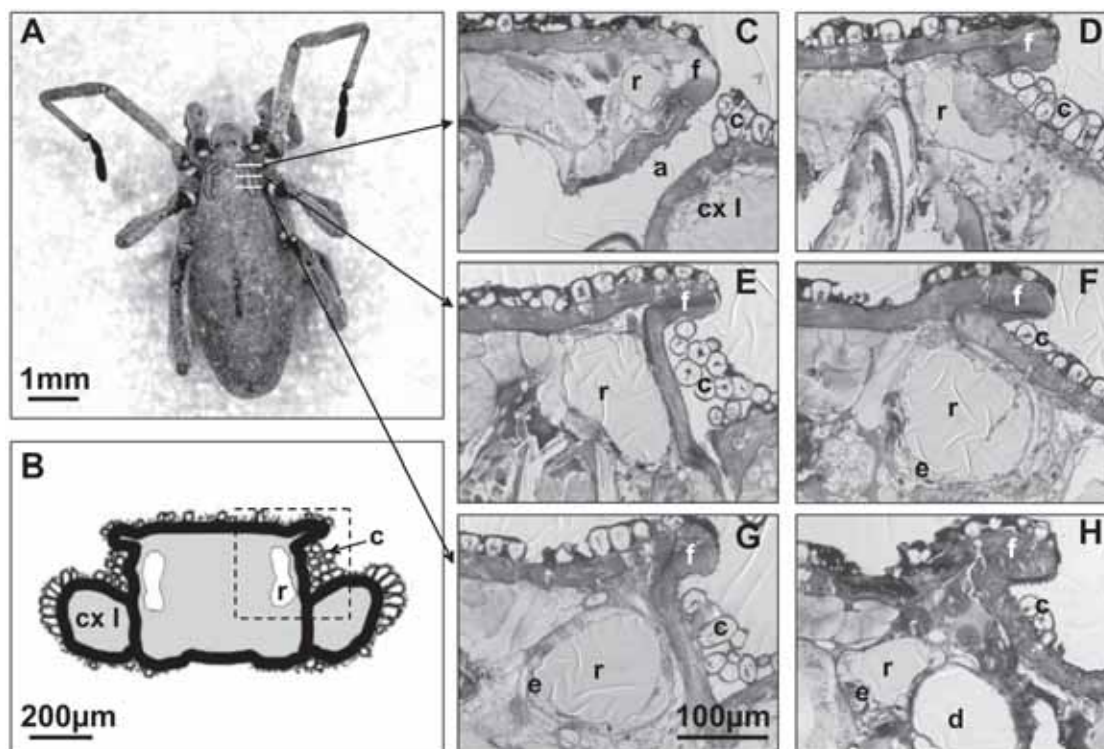
Die paarigen Wehrdrüsen von *Trogulus tricarinatus* liegen lateral im Prosoma direkt unter dem Integument (Abb. 1B). Sie haben die Form s-förmiger Säcke, die auf der Höhe des 1. Laufbeinpaares beginnen und sich über eine Länge von 500-700 µm (entspricht etwa 10-15 % der Körperlänge) nach hinten erstrecken (Abb. 1A). Die Drüsen sind in beiden Geschlechtern und bei juvenilen Tieren ausgebildet.

### Reservoir mit Sekretballen

Das sackförmige Reservoir der Stinkdrüsen (Abb. 2C) ist innen komplett bzw. lückenlos mit einer Intima ausgekleidet. Diese Intima springt in Falten (insbesondere im hinteren Drüsenabschnitt) ins Lumen der Drüsen vor; sie wird von bestimmten Epithelzellen des Reservoirs abgeschieden. Das Reservoir epithel selbst ist immer einschichtig.

Das Reservoir umfasst zwei deutlich unterschiedliche Abschnitte: 1) einen vorderen nicht-sekretorischen Abschnitt, der nur sehr flache Epithelzellen aufweist; 2) einen hinteren sekretorischen Abschnitt, der ein dickes, sekretorisches Epithel zeigt (Abb. 1C-H). In diesem hinteren, sekretorischen Anteil ist das Plasma der jetzt mit großen Zellkernen ausgestatteten, kubischen Epithelzellen durch Granula und Vesikel stark strukturiert.

Im Lumen des hinteren Reservoirabschnitts sind einzelne (bis zu vier Stück pro Reservoir), ballenartige Strukturen mit einem Durchmesser von 40-100  $\mu\text{m}$  zu finden (Abb. 2B).



**Abb. 1:** Topographie und Morphologie der Stinkdrüsen von *Trogulus tricarinatus*. (A) Adultes Individuum von *T. tricarinatus*, Dorsalansicht. Übersicht zur Lage, Form und Ausdehnung der Stinkdrüsen. Die Schnittebenen der histologischen Abbildungen (C-H) sind weiß eingezeichnet. (B) Querschnitt durch das Prosoma von *T. tricarinatus* auf Höhe der Stinkdrüsen, Übersicht, schematisch. Das Viereck markiert den Ausschnitt der in C-H gezeigten histologischen Schnitte. (C-H) Querschnitte (2,5  $\mu\text{m}$  Schnittdicke) durch die Stinkdrüsen der rechten Körperhälfte von *T. tricarinatus* in gleichmäßigen Abständen von jeweils 140  $\mu\text{m}$  von vorne (C) nach hinten (H). Zeichenerklärung: a – Atrium (externer Sekretraum), c – cuticuläre Papillen bzw. Drüsenwärtchen, d – Mitteldarmdivertikel, e – Stinkdrüsenepithel, f – dorsale Integumentfalte, r – Stinkdrüsenreservoir, cx I – Coxa I.

### Drüsenöffnung und externer Sekretraum: "Atrium"

Im vordersten Abschnitt der Drüsen führt ein 50-70  $\mu\text{m}$  langer Ausführkanal ventrolateral zur Ozopore (Abb. 2A), die in Aufsicht oval ist und einen (maximalen) Durchmesser von etwa 50  $\mu\text{m}$  aufweist. Sie liegt knapp dorsal des 1. Laufbeines.

Die Ozoporen sind bei adulten Tieren von außen nicht sichtbar; sie werden durch einen externen Vorraum verdeckt. Dieser Vorraum bildet ein "Sekretatrium" und wird dorsal von einer dorso-lateralen Integumentfalte (Rand des Carapax), ventral von den Coxen des 1. Laufbeinpaars und lateral (d.h. nach außen hin) von einer Schicht aus "Drüsen-

wärzchen" (sensu SCHWANGART 1907) begrenzt. Diese Drüsenwärzchen sind cuticuläre Papillen, die bei den adulten Tieren einen der Cuticula aufgelagerten äußersten Teil des komplex gebauten Integuments darstellen. Die Begrenzung des Atrium nach lateral-außen besteht damit aus weitgehend hohlen, aber stabilen, miteinander verkitteten Säulchen, die insbesondere von den Coxen der Laufbeine I aufragen. Zwischen der dorsalen Integumentfalte und dem aufragenden Wall aus Papillen bleibt nur ein schmaler, waagrechtlicher Spalt frei (Weite ca. 5-40  $\mu\text{m}$ ; Länge über 100 bis 200  $\mu\text{m}$ ). Außerdem ist dieser externe Sekretvorraum auch nach vorne hin offen und über eine nach ventro-mediane und nach vorne verlaufende Rinne mit der Chelicerenregion verbunden. Der externe Sekretraum ist in der Abbildung 2A dargestellt; die funktionelle Anatomie der Drüsen in Bezug auf diesen Sekretraum zeigt die Rekonstruktion in der Abbildung 2D.

Der externe Sekretraum hatte bei den bisher untersuchten Tieren folgende Dimensionen: Länge 140-190  $\mu\text{m}$ , Breite etwa 200  $\mu\text{m}$  und Höhe ca. 40-110  $\mu\text{m}$ . Die Innenseite des Raumes ist stets mit cuticulären Dornen und Zacken besetzt.

"Drüsenwärzchen" und damit auch das externe Atrium fehlen bei den Jungtieren.

## Diskussion

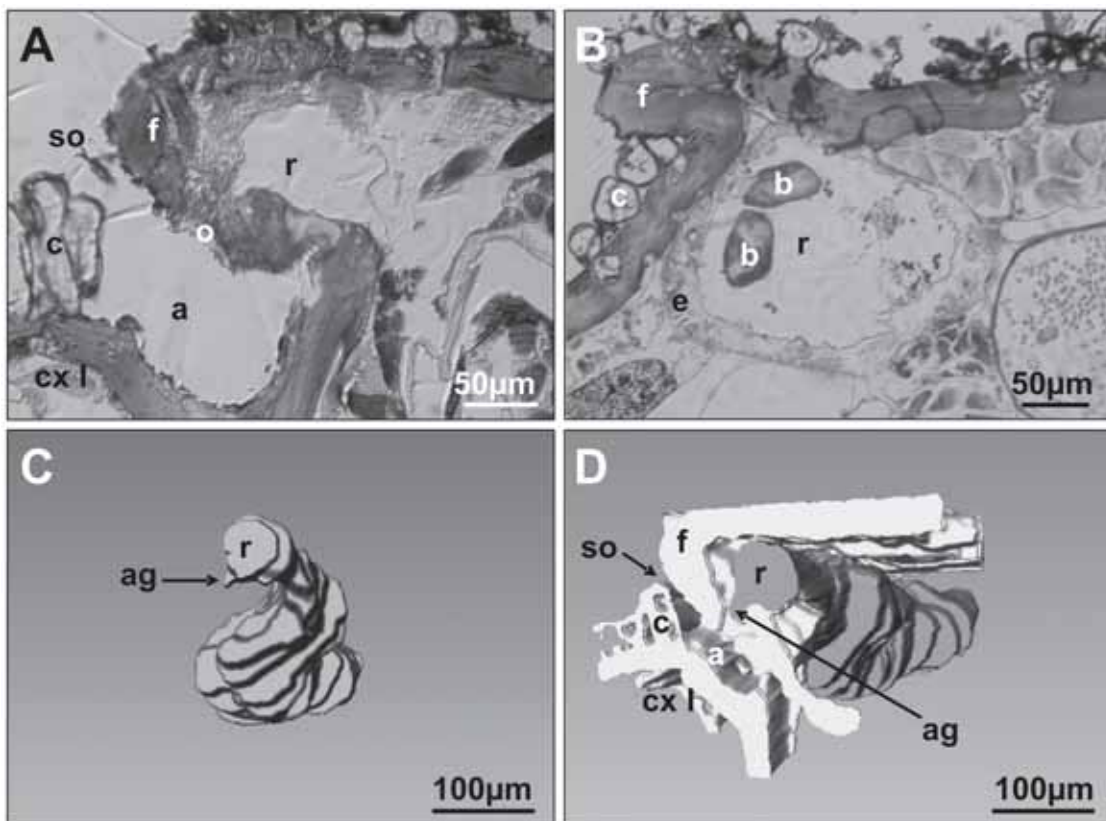
### Interne und externe Organisation der Stinkdrüsen bei *Trogulus tricarinatus*

Nur der sackartige Aufbau der Stinkdrüsen von *Trogulus tricarinatus* – falls sie bei Troguliden überhaupt so genannt werden sollen – stimmt mit den bisherigen Beschreibungen bei anderen Weberknechtarten überein: Bei den Cyphophthalmi am Beispiel von *Cyphophthalmus duricorius* (GUTJAHR et al. 2006) und bei palpatoriden Eupnoi am Beispiel von *Leiobunum*-Arten (CLAWSON 1988) konnte ebenfalls ein anteriores nicht-sekretorisches Areal von einem posterioren sekretorischen Areal der Drüsensäcke unterschieden werden.

Die flachen Epithelzellen im nicht-sekretorischen Abschnitt der Drüsen stellen offensichtlich nichts anderes als modifizierte Epithelzellen dar, deren Hauptaufgabe in der Absonderung einer Intima besteht. Diese Zellen kommen auch im sekretorischen Abschnitt der Drüsen von *T. tricarinatus* neben großen, granulierten – offensichtlich sekretorisch tätigen – eigentlichen Drüsenzellen vor (vgl. CLAWSON 1988). Im Fall von *C. duricorius* wurden diese Zellen auch ultrastrukturell untersucht und als stoffwechselaktiv charakterisiert; sie enthalten viele Mitochondrien, Lipidtropfen und verschiedene Granula (GUTJAHR et al. 2006); Ähnliches dürfte auf die großen Epithelzellen bei *T. tricarinatus* zutreffen.

Im Gegensatz zu dieser weitgehend typischen, internen Struktur der Stinkdrüsen von *T. tricarinatus* weicht die externe Organisation deutlich vom üblichen Stinkdrüsentyp bei Weberknechten ab: dies betrifft vor allem das externe Sekretatrium, das bisher bei keinem anderen Weberknecht beschrieben worden ist. Das Sekret der Stinkdrüsen müsste damit erst diesen Vorraum passieren, bevor es durch relativ schmale schlitzförmige (sekundäre) Öffnung des Sekretatriums an die Körperaußenseite bzw. in die Umgebung gelangen könnte. Eine leichte und schnelle Sekretabgabe, wie sie für exokrine Wehrdrüsen typisch und auch notwendig ist, wäre dadurch unmöglich.





**Abb. 2:** Besonderheiten und funktionelle Anatomie der Stinkdrüsen von *Troglus tricarinatus*. (A) Besonderheit Nr. 1 "Atrium": Schnitt durch die Stinkdrüse der linken Körperhälfte von *T. tricarinatus* zeigt das – die Porenöffnung umgebende – Atrium (externer Sekretraum). Öffnung des Atriums nach außen (Spalt zwischen Wall aus cuticulären Papillen und dorsaler Integumentfalte) sichtbar. (B) Besonderheit Nr. 2 "Sekretballen": Schnitt durch das sekretorische Areal im hinteren Bereich der Stinkdrüse der linken Körperhälfte von *T. tricarinatus*. Das Reservoir enthält feste, gut anfärbare Sekretballen. (C) 3D-Rekonstruktion des Drüsensacks der rechten Körperhälfte, Ansicht von schräg vorne. (D) 3D-Rekonstruktion der Stinkdrüse der rechten Körperhälfte und des umgebenden Integuments; Ansicht von schräg vorne. Der Ausführungsgang der Drüse mündet über die Stinkdrüsenpore (Ozopore) ins Atrium, das sich über einen schmalen Spalt zwischen dem Wall aus cuticulären Papillen und dorsaler Integumentfalte dorsolaterad nach außen öffnet (sekundäre Öffnung des Atriums). Zeichenerklärung: a – Atrium (externer Sekretraum), ag – Ausführungsgang, b – Sekretballen, c – cuticuläre Papillen bzw. Drüsenwärtchen, e – Stinkdrüsenepithel, f – dorsale Integumentfalte, o – Ozopore, so – sekundäre Öffnung des Atriums, r – Stinkdrüsenreservoir, cx I – Coxa I.

### Funktionswandel der Stinkdrüsen bei *Troglus tricarinatus*?

Ein weiterer ungewöhnlicher Aspekt der Drüsen bei *T. tricarinatus* betrifft die Produktion von offensichtlich festem Sekret: Sekretballen treten im hinteren, mit sekretorischem Epithel versehenen Bereich der Drüsen auf und scheinen im Wesentlichen den festen Sekretstrukturen bei *Ischyropsalis* ssp. zu entsprechen (JUBERTHIE et al. 1991). Damit könnten die Dyspnoi möglicherweise generell den evolutiv ungewöhnlichen Weg von der Produktion und Speicherung flüssigen Sekretes (wie bei anderen Weberknecht-Taxa) hin zur Bildung fester Sekrete beschritten haben. Die schon in der Einleitung erwähnte und auch von PABST (1953) beschriebene "Zurückhaltung" bei der Sekretabgabe bei Troguliden hat damit auch eine fassbare Basis bekommen.

Sekretabgabe könnte damit, wie schon für die Ischyropsalididae vermutet (JUBERTHIE et al. 1991), in gasförmiger Form, durch Sublimation der festen Ballen, von statten gehen. Im Sinne der üblicherweise für Stinkdrüsensekrete postulierten Abwehrfunktion könnte eine gasförmige Sekretabgabe zur Bildung eines externen, chemischen Schutzschildes um den Körper des Emitters führen und damit zur Abwehr gegen Fressfeinde – aber auch gegen Bakterien und Pilze – beitragen (GNASPINI & HARA 2007).

Andererseits scheint 1) die Bildung festen Sekretes wie auch 2) die ungewöhnliche Ausbildung eines Sekretvorraumes und 3) durch mechanische Reizung nicht induzierbare Sekret- bzw. Duftabgabe übereinstimmend auf einen Funktionswandel der Stinkdrüsen bei *T. tricarinatus* hinzudeuten. So vermutete zum Beispiel schon PABST (1953), dass das Stinkdrüsensekret der Trogulidae als Sexualpheromon dienen könnte. Auch JUBERTHIE et al. (1991) zogen bei *Ischyropsalis* ssp. eher eine biologische Rolle der Stinkdrüsen in der innerartlichen Kommunikation (z. B. Markierung von Territorien oder Aggregationspheromone) als die übliche chemische Abwehrfunktion in Betracht. Selbst im Fall der typischen Abwehrdrüsen der Laniatores wurden kürzlich zusätzliche pheromonale Funktionen beschrieben (MACHADO et al. 2002).

Tatsächlich sind zumindest die adulten Trogulidae durch ihre mineral-inkrustierte Körperoberfläche bzw. ihr mit cuticulären Papillen oder "Drüsenwärtchen" besetztes Integument sowohl gut getarnt als auch mechanisch gut geschützt, sodass auch im evolutionsbiologischen Sinn auf energetisch aufwändige, chemische Verteidigung durch Abwehrsekrete (zugunsten anderer Funktionen) eventuell verzichtet werden konnte. Die tatsächliche Funktion sowie die Chemie der festen Stinkdrüsensekrete von *T. tricarinatus* bleiben bis dato allerdings unbekannt und sind Gegenstand laufender Untersuchungen.

### Danksagung

Die vorliegende Studie wurde vom Österreichischen Wissenschaftsfonds, Projekt Nr. 18486, gefördert.

### Zusammenfassung

Prosomale sackförmige Stinkdrüsen kennzeichnen alle Opiliones; detaillierte Daten zu diesen Drüsen – was ihre Morphologie und Chemie anbelangt – sind jedoch nur für wenige Weberknechtgruppen verfügbar. In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir die Morphologie und Anatomie der Stinkdrüsen von *Trogulus tricarinatus*, einem Vertreter der Troguloidea, deren Stinkdrüsen-Biologie derzeit noch vollkommen unbekannt ist: das Stinkdrüsen-System dieser Art wurde anhand von Semi-Dünnschnitten studiert und dreidimensional rekonstruiert. Demnach handelt es sich um große, paarige Drüsensäcke, die aus einem vorderen nicht-sekretorischen und einem hinteren sekretorischen Abschnitt bestehen. Die Lumina enthalten feste Sekretballen. Die Drüsenöffnung, knapp dorsal des 1. Beinpaares, führt in einen externen Sekretvorraum, der im Wesentlichen von einer Schicht aus cuticulären Papillen ("Drüsenwärtchen") gebildet wird. Eine schlitzförmige Öffnung führt schließlich nach außen.

Eine solche Stinkdrüsen-Konstruktion ist bisher einzigartig: Sekret, das möglicherweise gasförmig durch Sublimation fester Sekretballen freigesetzt wird, muss dieses externe Atrium passieren, bevor es die Körperaußenseite erreicht. Diese Konstruktion widerspricht der generell postulierten Wehrfunktion der Stinkdrüsen und dürfte einem stark abgewandelten und funktionsmodifizierten Stinkdrüsen-Typus bei bodenbewohnenden Troguliden entsprechen.

## Literatur

- BÖCK P. (1989): Romeis Mikroskopische Technik. 17. Auflage. — Verlag Urban und Schwarzenberg, München: 97.
- CLAWSON R.L. (1988): Morphology of defense glands of the opilionids (Daddy Longlegs) *Leiobunum vittatum* and *L. flavum* (Arachnida: Opiliones: Palpatores: Phalangiidae). — *Journal of Morphology* **196**: 363-381.
- EISNER T., ROSSINI C., GONZÁLEZ A. & M. EISNER (2004): Chemical defense of an opilionid (*Acanthopachylus aculeatus*). — *Journal of Experimental Biology* **207**: 1313-1321.
- ESTABLE C., ARDAO M.I., BRASIL N.P. & L.F. FIESER (1955): Gonyleptidine. — *Journal of the American Chemical Society* **77**: 4942.
- GNASPINI P. & M. R. HARA (2007). Defense Mechanisms. — In: PINTO-DA-ROCHA R., MACHADO G. & G. GIRIBET (eds), Harvestmen: The Biology of Opiliones (R. Pinto-da-Rocha, G. Machado & G. Giribet, eds), Harvard University Press, Cambridge, MA: 374-399.
- GUTJAHN M., SCHUSTER R. & G. ALBERTI (2006): Ultrastructure of dermal and defense glands in *Cyphophthalmus duricorius* JOSEPH, 1868 (Opiliones: Sironidae). — In: DELTSHEV C. & P. STOEV (eds), European Arachnology 2005, Acta Zoologica Bulgarica (Bulgaria) Suppl. No. **1**: 41-48.
- HARA M.R. & P. GNASPINI (2003): Comparative study of the defensive behavior and morphology of the gland opening area among harvestmen (Arachnida, Opiliones, Gonyleptidae) under a phylogenetic perspective. — *Arthropod Structure and Development* **32**: 257-275.
- HONOMICHL K., RISLER H. & R. RUPPRECHT (1982): Wissenschaftliches Zeichnen in der Biologie und verwandten Disziplinen. — Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- JUBERTHIE C., LOPEZ A. & L. JUBERTHIE-JUPEAU (1991): Les glandes odorantes des Ischyropsalidae souterrains (Opilions): ultrastructure et role. — *Mémoires de Biospéologie* **18**: 39-46.
- KAESTNER A. (1931-1941): Opiliones. — In: KRUMBACH T. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie 3/2/1, Chelicerata. Walter De Gruyter & Co., Berlin: 300-393.
- MACHADO G., BONATO V. & P.S. OLIVEIRA (2002): Alarm communication: a new function for the scent-gland secretion in harvestmen (Arachnida: Opiliones). — *Naturwissenschaften* **89**: 357-360.
- MARTENS J. (1978): Spinnentiere, Arachnida. Weberknechte, Opiliones. Die Tierwelt Deutschlands, 64. Teil. — Gustav Fischer Verlag Jena.
- PABST W. (1953): Zur Biologie der mitteleuropäischen Trogluliden. — *Zoologische Jahrbücher/Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere* **82**: 2-46.
- RASPOTNIG G., FAULER G., LEIS M. & H.-J. LEIS (2005): Chemical profiles of scent gland secretions in the cyphophthalmid opilionid harvestmen, *Siro duricorius* and *S. exilis*. — *Journal of Chemical Ecology* **31**: 1353-1368.
- SCHWANGART F. (1907): Beiträge zur Morphologie und Systematik der Opilioniden. 1. Über das Integument der Troglulidae. — *Zoologischer Anzeiger* **31**: 161-183.

Anschrift der Verfasser: Mag. Miriam SCHAIDER  
Priv.-Doz. Dr. Günther RASPOTNIG  
Institut für Zoologie,  
Karl-Franzens-Universität Graz  
Universitätsplatz 2, A-8010 Graz  
E-Mail: [miriamschaider@hotmail.com](mailto:miriamschaider@hotmail.com);  
[guenther.raspotnig@uni-graz.at](mailto:guenther.raspotnig@uni-graz.at)