

UEBER DIE FORMVERAENDERUNGEN DES GOLGI-  
-APPARATES WAEHREND DER SPERMIOGENESE  
VON *AUSTRALORBIS GLABRATUS OLIVACEUS*  
(*Mollusca, Pulmonata, Planorbidae*) \*

**RUDOLF BARTH**                      und                      **GETH JANSEN**  
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(Mit 96 Figuren)

EINLEITUNG

Um unsere histologischen und besonders cytologischen Kenntnisse der Planorbiden zu erweitern, beobachteten wir den Entwicklungsgang der maennlichen Gameten und hier besonders die Formveraenderungen, die der Golgi-Apparat (im folgenden nur mit GA bezeichnet) im Laufe der Spermio-genese erleidet. Ueber die Vorgaenge an der chromatischen Substanz waehrend der Ausbildung der Spermien aus den primordialen Spermio-genen liegt fuer verschiedene Mollusken eine umfangreiche Literatur vor, die weit ueber hundert Jahre zurueck reicht, wie z.B. die Arbeit von VON SIEBOLD (1836). Wie dieser berichtet ebenfalls MEVES (1903) ueber *Paludina*, wobei er besonders die aeltere Literatur diskutiert. Desgleichen sind hier die Arbeiten von PROWAZEK (1901) und ANCEL (1902) ueber *Helix pomatia* zu nennen. Aus neuerer Zeit liegen zahlreiche Arbeiten vor, die zum Teil unter weitgehender Benutzung frueherer Ergebnisse unsere Kenntnisse ueber die Reifungsvorgaenge der maennlichen Gameten der Gastropoden ergaenzen, wie die Arbeiten von GATENBY (1917, 1918), SCHITZ (1920), JACOBS (1927), MERTON (1930) und PERROT (1930 u.f.). Aus den zahlreichen Darstellungen, die hier nicht alle aufgefuehrt werden koennen (aeltere Literatur siehe bei MERTON, MEVES und GATENBY, neuere im Literaturverzeichnis dieser Arbeit), gewinnen wir ein allgemeines Bild der Cytogenese und Histo-genese der Spermien der Mollusken. Ueber die Planorbiden insbesondere liegen ausser den ausfuehrlichen morphologischen und anatomischen Arbeiten von ABDEL-MALEK (1954a und 1954b) und PARAENSE & DES-LANDES (1955 u.a.) nur wenige Darstellungen des feineren Baus der Organe dieser Gruppe vor; besonders macht sich das Fehlen einer

---

\* Erhalten am Oktober 5, 1960.

Mit Unterstuetzung des Conselho Nacional de Pesquisas.

eingehenderen Bearbeitung der Spermiogenese bemerkbar. PAN (1958) gibt neuerdings eine kurze cytologische Beschreibung der Keimzellen, der sich die Arbeiten von AZEVEDO & GONÇALVES (1956) und BARTH & JANSSEN (1959, 1960) anschliessen.

Wir werden im folgenden versuchen aus den vorliegenden Erkenntnissen und aus eigenen Beobachtungen uns ein Bild von der Cytogenese und Histogenese der Spermien von *Australorbis glabratus olivaceus* zu machen, wobei wir insbesondere auf die Formveraenderungen des GA eingehen wollen, da uns dieser als charakteristischer Zellbestandteil erscheint, dessen Zusammensetzung in den verschiedenen Stadien der Gametenentwicklung einem Wechsel unterworfen ist, wodurch uns vielleicht ein Mittel zur Differenzierung der Arten in die Hand gegeben werden kann. Hierzu jedoch sind weitere vergleichende Untersuchungen an anderen Arten des Genus notwendig.

Auch ueber den GA handeln zahlreiche Arbeiten, unter denen besonders die Zusammenfassung der Kenntnisse bis 1927 durch JACOBS zu nennen ist, wo sich auch eine Aufstellung und Besprechung der aelteren Literatur findet. Eigenartigerweise wird diese Arbeit in den neueren Darstellungen nicht beruecksichtigt. Es ist fuer uns von besonderem Interesse, wenn dieser Autor feststellt: Die auf den GA bezueglichen "cytologischen Forschungen etwa der letzten 30 Jahre lassen es als erwiesen erscheinen, dass die genannte Zellstruktur in der Tat ein konstanter Bestandteil zumindest jeder nicht degenerativ veraenderten tierischen Zelle ist". 1927 war die Frage nach der Existenz des GA in der lebenden Zelle noch mehr oder weniger offen. Er war von KARPOVA (1925) und AVEL (1925a und b) beim Studium der Spermiogenese von *Helix* und von SOKOLOV (1926) in den maennlichen Sexualzellen von *Obisium muscorum* Leach (*Pseudoscorpionidae*) in nicht gefaerbten lebenden Zellen beobachtet worden. Durch die optischen Moeglichkeiten des Phasenkontrasts ist heute jeder Zweifel an der Existenz des Organells ausgeschlossen. Ein Vergleich des Bildes im Phasenkontrast mit dem des fixierten und gefaerbten GA zeigt, dass, abgesehen von den ueblichen Schrumpfungen, bei Anwendung beider Methoden alle Strukturen uebereinstimmen; dasselbe gilt auch fuer die Vitalfaerbungen mit Janusgruen und Neutralrot.

Hierauf weisen auch NATH & GUPTA (1956) hin, indem sie in ihrer Arbeit darauf aufmerksam machen, dass die Osmiumsaeure-Eisenhaematoxylin-Methode keine Artefakte bildet "and such preparations are even more valuable in the study of spermatogenesis than those of living cells because they are stained and permanent, thus enabling the details to be worked out at leisure".

Ueber die Technik der Darstellung des GA stellt JACOBS (lit. cit.) prinzipielle Betrachtungen an und gibt der Osmiummethode den Vorzug vor der Silberimpraegnierung.

Bezueglich der Technik, besonders der Vitalfaerbungen, finden wir auch ausfuehrliche Darstellungen bei BAKER (1944) und bei KARPOVA (1925). In neueren Arbeiten ueber den GA wird besonders Wert auf die



Lebendbeobachtungen im Phasenkontrast gelegt. WATTS (1952) gelang es mit dieser Methode bereits in den primordialen Spermioyonien von *Arion subfuscus* den GA zu beobachten und ihn in kontinuierlicher Reihe bis zu den Spermiden zu verfolgen. Diese Autorin sah mit Phasenkontrast (geprueft durch Schnittpraeparate) schon in den Urspermioyonien "one or two granules of Golgi material", die sich in spaeteren Stadien vermehren, waehrend der Vermehrungs- und Reifeteilungen in Gruppen auf die Tochterzellen verteilt werden und so in die Spermiden gelangen. Dem gegenueber wird neuerdings fuer die Pulmonaten *Anadenus* und *Euaustenia* von NATH & GUPTA (1956) angegeben, dass der GA dreimal sich waehrend der Cytogenese aus den Mitochondrien neubildet und zweimal in diesen untergeht. Ausserdem haben sie ihn nicht in den Spermioyonien-Generationen feststellen koennen. Waehrend WATTS den GA bereits im primordialen Spermioyonium als existent nachwies, glauben NATH & GUPTA feststellen zu koennen, dass das Organell erst in der Spermioocyte aus den Mitochondrien gebildet wird. Auch BAKER (1944) beschreibt bei *Helix aspera* den GA nur in der Spermioocyte und Spermide; ueber die Form und chemische Zusammensetzung finden sich naechere Angaben bei diesem Autor. In einer frueheren Arbeit (BARTH & JANSEN, 1960) schlossen wir uns der Ansicht von NATH & GUPTA (1956) an, da fuer das Studium des Merton'schen "Kinoplasma" der GA nicht speziell bearbeitet wurde. Nach unseren vorliegenden Beobachtungen, die sich auf die weiter unten angefuehrten Methoden stuetzen, muessen wir uns von dieser Ansicht distanzieren.

Wenn wir ueber Existenz, Form, Umwandlungen und Chemismus bereits Unterlagen in der Literatur vorfinden, so ist die Frage nach der Funktion des GA und seiner Bedeutung fuer das Leben der Zelle noch sehr in Dunkel gehuellt. Dass er mit der Sekretion in Druesenzellen in engem Zusammenhang steht, ist schon nach den Arbeiten von NASSONOW (1923), JASSWOIN (1925), BOWEN (1926) und JACOBS (1927) bekannt und von letzterem diskutiert worden, wobei dieser zu folgendem Schluss kommt: "Sekretbildung und GA stehen in einer bedeutenden Anzahl untersuchter Druesen in einem gewissen Zusammenhang ueber dessen wirkliche Natur sich jedoch noch garnichts aussagen laesst". In den Arbeiten von KARPOVA, JACOBS und BAKER (lit. cit.) wird darauf aufmerksam gemacht, dass die chemische Zusammensetzung des GA der der Mitochondrien sehr nahe steht, was die Autoren aus der Affinitaet der Teile des GA zu Vitalfarben und Osmiumsaeure schliessen. Auch die Mitochondrien stehen mit der Sekretion in naeherem Zusammenhang. Wie aber der Mechanismus der Beteiligung der beiden Elemente an diesem Vorgang ist, wird von den genannten Autoren offen gelassen. Ob der Einfluss des GA auf die Sekretbildung mechanischer oder statischer Art oder aber chemischer Natur ist, laesst sich nicht aus den Arbeiten ersehen. Dagegen wissen wir heute, dass die Mitochondrien als Zentren der Dissimilation (FREY-WYSSLING, 1955) die Zellfermente liefern, worauf u.a. die oft beobachteten "Schrumpfhoeefe" (BARTH, 1953) histologisch hinweisen. Diese Hoefe, die so gross werden koennen,

dass das Mitochondrium sich scheinbar fast voellig auflöst, zeigen an, dass eine grosse Fluessigkeitsmenge in das Protoplasma abgegeben wurde. Diese Erscheinung ist aber am GA in den Bildern der Arbeit von JASSWOIN (lit. cit.) ueber den GA in den *Tubuli contorti* von Amphibien nicht zu erkennen und konnten von uns in den Zellen des Hepatopankreas von *Australorbis* auch nicht festgestellt werden. In den Stadien der Gametenbildung ist eine solche Beobachtung ebenfalls nicht zu machen und zwar zeigen sich diese Erscheinungen weder am GA noch an den Mitochondrien in den Zellen des Ovotestis.

Eine andere Funktion des GA wird in der Literatur des oeffteren besprochen: Es handelt sich um den Zusammenhang zwischen GA, Centriolen und Idiozom. Die stark faerbbaeren Teile des GA, die Dictyosome (Lepidosome von BAKER, 1944), liegen in Form von kleinen Staebchen, Faeden oder Platten einer schwaecher impraegnierbaren und weniger stark faerbbaeren, homogenen Substanz auf, die von verschiedenen Autoren (MEVES, 1903; BOWEN, 1926) als Idiozom oder "idiosome" bezeichnet wird und auch als "Sphaere des Centriols" bekannt ist, da in ihr nach verschiedenen Autoren, waehrend gewisser Stadien der Spermioocyte und der Spermioogonie, das Centriol oder die Centriole eingebettet liegen sollen. Die Substanz entspricht dem "Archoplasma" von GATENBY (1917) und KARPOVA (1925) und der "chromophoben" Substanz von BOWEN (1922). Dieser Zusammenhang scheint aber nicht in allen Faellen zu bestehen, da SOKOLOW (1926) bei Pseudoskorpioniden "keine regelmaessige Beziehung zwischen Centriol und GA feststellen konnte". Auch bei *Australorbis* haben wir die Einlagerung des Centriols in die chromophobe Substanz waehrend der gesamten Spermioogenese mit keiner Methode nachweisen koennen.

Eine weitere Funktion des GA ist seit den Arbeiten BOWENS und GATENBYS und seiner Schule bekannt geworden. Es ist dies die Bildung des Acrosoms waehrend der Spermiohistogenese. Dieser Vorgang ist sowohl an fixierten und impraegnieren Schnittpraeparaten, wie auch in vital gefaerbtem Material (neuerdings von NATH & GUPTA, 1956, im Phasenkontrast) nachgewiesen worden und liess sich an unserem Material von *Australorbis* in gleicher Weise mit allen Methoden demonstrieren.

Wie BARTH & JANSEN (1960) neuerdings beobachteten, gleitet eine umfangreiche Protoplasma-masse, die mit der von MERTON (1930) als "Kinoplasma" bezeichneten homologisiert, jedoch anders interpretiert wurde, im Laufe der Ausbildung der Spiralfaeden des Spermienmittelstuecks ueber die ganze vom Centriolfaden bestimmte Laenge des Mittelstuecks. Diese Materialmenge birgt in sich, ausser den Mitochondrien, die die beiden Spiralfaeden bilden, den GA, der vorher das Acrosom abgegeben hat. Bei der Wanderung des "Mitochondrienplasmas" zum Schwanz, liegt der Golgiapparat immer etwas vor der Stelle, an der die Mitochondrien sich in Spiralfaeden umwandeln. Da dieser Vorgang ohne Ausnahme in dieser Weise ablaeuft und der GA erst



unmittelbar vor dem Ende des Mittelstuecks, also am distalen Centriol, abgestossen wird, liegt die Vermutung nahe, dass er auch an der endgueltigen Bildung der Spermiengeissel beteiligt ist. In welcher Weise jedoch diese Beteiligung vonstatten geht, bleibt vorerst ungeklaert, da sie keineswegs substantieller Art sein kann, da die Masse des GA sich waehrend der Wanderung nicht aendert. Es ist somit mehr an eine regulatorische Aufgabe zu denken, die vielleicht mit dem Aneinanderreihen und faedigen Zerfliessen der Mitochondrien in Verbindung steht.

## METHODEN

An optischen Mitteln kamen, ausser der Beobachtung der Schnitte in durchfallendem Licht, Phasenkontrast, Halbdunkelfeld und Dunkelfeld mit der Phasenkontrasteinrichtung von Leitz zur Anwendung. Das Material zur Lebendbeobachtung wurde in der von NATH & GUPTA (1956) angegebenen isotonischen Loesung nach Baker beobachtet: Zu 100 ccm einer 0,7%igen Loesung von NaCl werden 0,2 ccm einer 10%igen Loesung von  $\text{CaCl}_2$  hinzugefuegt. Die Fluessigkeit erlaubt, bei Vermeidung von Konzentrationserhoehung durch Verdunsten, die Zellen lebend bis zu einer Dauer von zwei Stunden zu beobachten, bei laengerer Zeitdauer scheinen sich Vergiftungserscheinungen, die bis zum Tod der Zellen fuehren, bemerkbar zu machen. Die Vitalfaerbungen mit Janusgruen und Neutralrot wurden ebenfalls in der erwaehten isotonischen Loesung vorgenommen.

Zur Fixierung benutzten wir je nach Ziel der Untersuchung die Fluessigkeiten nach Bouin (alkoholische Loesung), Zenker, Heidenhain (Susa), Carnoy, Flemming, Champy und DaFano. Fuer die Beobachtung des GA und der Mitochondrien wurde reine Osmiumsaeure (tamponiert auf  $\text{p}_H$  7,25) verwendet. Als Faerbung wurden die ueblichen Methoden mit verschiedenen Haematoxylinen und kuenstlichen Beizenfarbstoffen durchgefuehrt. Fuer die feineren Untersuchungen geben wir in jedem Falle der Osmiumsaeure-Eisenhaematoxylin-Methode den Vorzug, wie es auch in anderen Arbeiten, wie von JACOBS (1927), angeraten wird. Fuer die Darstellung der "chromophoben" Substanz des GA im Schnitt wurde an mit Sublimat-haltigen Fixadoren (Susa nach Heidenhain) behandeltem Material die Azan-Faerbung nach Heidenhain mit nachfolgender Anwendung von Lichtgruen (1% in waessriger Loesung) waehrend einer Dauer von 10 Minuten durchgefuehrt. Hierdurch wird die genannte Substanz kraeftig gruen gefaerbt (bei reiner Azan-Faerbung nur schwach blau), so dass auch in Teilungsstadien die Gegenwart des GA nachgewiesen werden konnte. Die Dictyosome erscheinen stark reduziert, aber deutlich erkennbar als schmale unterbrochene rote Umrandung der chromophoben Masse. Die Ergebnisse an Schnitten wurden im Phasenkontrast an lebenden Zellen nachgeprueft.



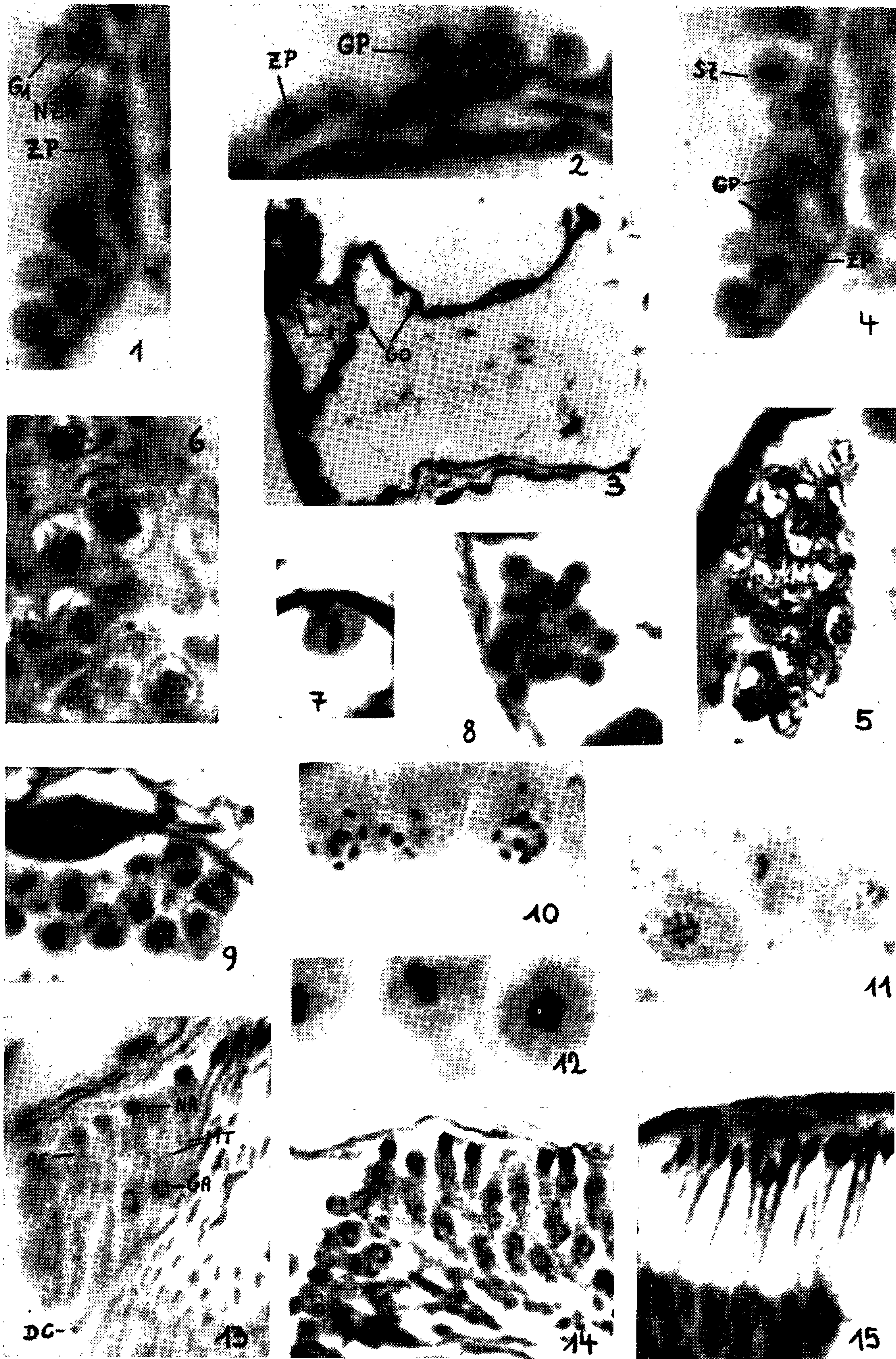


Fig. 1 — Keimlager (ZP) an der Follikelwand mit erster Telophase; G<sub>1</sub> = erstes Spermogonium, NZ = Naehrzelle. Epitélio embrionário (ZP) situado sôbre a parede do foliculo, com a primeira telófase; G<sub>1</sub> = espermiogônio primordial, NZ = célula nutridora. Fig. 2 — Keimlager an der Follikelwand; GP = proliferierende Zellen. ZP = Zellen des Keimlagers. Epitélio em-



## DIE CHROMATISCHEN VORGAENGE IN DER SPERMIOGENESE

1. *Spermiogonien.*

In der Arbeit von BARTH & JANSEN (1959) wird bereits kurz auf die Teilungsvorgaenge der Spermiogonien eingegangen. Wir schliessen diese Beobachtungen in die vorliegende Darstellung mit ein, um ein vollstaendiges Bild der Teilungsvorgaenge zu erhalten.

MERTON (1930) fand bei *Planorbis planorbis* und anderen europaeischen Arten dieser Gattung das Keimepithel an der Dorsalwand des Atriums, wie er den Beginn des Zwitterganges nennt, in den die Follikel des Ootestis einmuenden. Bei den von uns untersuchten Arten von *Australorbis* (*glabratus olivaceus*, *centimetralis* und *nigricans*) konnten wir an diesem Epithel keine Zellen finden, die auf ein Keimlager hinweisen koennen. Der Teil der Dorsalwand des Atriums, der zwischen der Muendung benachbarter Follikel liegt, wird von einem Pflasterepithel ausgekleidet, wie wir es auch an der Ventralwand und den Seiten des Ganges finden. Der Muendungsbereich jedes Follikels, und zwar ein Teil seines Eingangs und ein ebenso grosser Teil der Atriumwand, der die Muendungsstelle umgibt, wird von einem hochzelligen Wimperepithel eingenommen, dessen foerdernder Wimperschlag aus dem Follikel hinaus und vom Atrium zum Zwittergang gerichtet ist, wie es an lebendem Material im Phasenkontrast leicht zu beobachten ist. Dass die Urkeimzellen, wie es MERTON fuer *Planorbis* mitteilt, aus dem Atrium, ihrer Ursprungsstelle, in die Follikel aktiv einwandern, ist bei *Australorbis* wegen des Wimperepithels schlechterdings unmoeglich. Wir fanden das Keimlager in jedem Follikel, und zwar bei jungen Tieren ueber den grossten Teil — mit Ausnahme des blind geschlossenen Endes — sich erstreckend, bei aelteren Tieren aber auf den Anfangsteil des Follikels, im Anschluss an das Flimmerepithel, beschraenkt.

Die zur Entwicklung sich vorbereitenden Zellen proliferieren unter betraechtlichem Wachstum aus dem Keimlager hervor, und ihr Kern, wie auch ihre ganze Gestalt, runden sich dabei ab. Die Urkeimzellen

---

brionário situado sobre a parede do folículo; GP = células em proliferação; ZP = células do epitélio embrionário. Fig. 3 — Alter Follikel mit einigen restlichen Spermiogonien-Generationen (GO). Folículo esgotado com algumas gerações de espermiogônios restantes (GO). Fig. 4 — Keimlager mit "gestielter Zelle" (SZ) in Metaphase vor der Drehung der Spindelachse; GP = proliferierende Zellen; ZP = Zellen des Keimlagers. Epitélio embrionário com "cellula pedunculata" (SZ) em metáfase antes da torsão do eixo do fuso; GP = células em proliferação, ZP = células do epitélio embrionário. Fig. 5 — Spermiogonien-Generation im fruehen Bouquetstadium. Geração de espermiogônios no início do estado de "bouquet". Fig. 6 — Spermiogonien-Generation im spaeten Bouquetstadium. Geração de espermiogônios no fim do estado de "bouquet". Fig. 7 — Proliferierte Zelle des Keimlagers in der ersten Metaphase. Célula depois da proliferação na primeira metáfase. Fig. 8 — "Rosette" von Spermiogonien in Anaphase. "Rosetta" de espermiogônios em anáfase. Fig. 9 — Teile von 2 "Rosetten" von Spermiogonien in Metaphase. Partes de 2 "rosetas" de espermiogônios em metáfase. Fig. 10 — Spaete Diakinese der Spermioocyte. Diacinese avançada do espermiócito. Fig. 11 — Metaphase der Spermioocyten. Metáfase dos espermiócitos. Fig. 12 — Metaphase der Spermioocyten. Metáfase dos espermiócitos. Fig. 13 — Streckungsphase der Spermiden; AF = Axialfaden, DC = distales Centriol, GA = Golgi-Apparat, MT = Mitochondrien, NA = Nucleus mit Acrosom und proximalem Centriol. Fase de alongamento do espermídeo; AF = filamento axial, DC = Centriolo distal, GA = aparelho de Golgi, MT = mitocôndrios, NA = núcleo com acrosoma e centriolo proximal. Fig. 14 — Aelttere Streckungsphase der Spermiden. Fase de alongamento avançado do espermídeo. Fig. 15 — Bildung der Spiralfäden waehrend der Streckungsphase der Spermiden. Formação dos filamentos espirais durante a fase do alongamento do espermídeo.

selbst bilden ein Syncytium und besitzen scheibenfoermige Kerne (Fig. 1 und 2, ZP) mit einem grossen Nucleolus, der sich auch in den primordialislen Spermiogonien (GP) findet. Letztere bereiten sich anschliessend auf die erste mitotische Teilung vor. Diese mitotische Prophase laeuft in charakteristischer Weise in allen folgenden Vermehrungsteilungen ab.

Das im Ruhekern in einem feinfaedigen Innengeruest angeordnete, teilweise aber auch wandstaendige Chromatin (Fig. 25) verdichtet sich zu wenigen, schrittweise dicker werdenden Faeden (Fig. 26, mittlere Zelle), die teilweise noch miteinander vernetzt sind (Fig. 27). Die Zellen liegen mit ihrer Basalflaeche der Follikelwand mehr oder weniger breit auf, sie werden jedenfalls nicht in das Lumen des Schlauches ausgestossen, wie es von verschiedenen Autoren fuer andere Arten oder auch fuer die hier untersuchte Art mitgeteilt wird (WATTS fuer *Arion*, AZEVEDO & GONÇALVES fuer *Australorbis glabratus*). Es kommt nicht selten vor, dass durch den Fixierungs-Schock oder durch mechanische Beeinflussung beim Praeparieren oder Schneiden einzelne Zellen von der Follikelwand abgerissen werden, oder aber es wird der Eindruck frei im Lumen flottierender Zellen durch Tangentialschnitt der zusammenhaengenden Zellgenerationen hervorgerufen. Zumeist wird dort, wo die primordialislen Spermiogonien proliferierten, das Keimlager unterbrochen (Fig. 2); solche Stellen finden sich besonders in alten Tieren, wo die Follikelwaende oft auf grosse Strecken veroedet sind (Fig. 3). In jungen Tieren kann es eintreten, dass die primordialislen Spermiogonien ihre Verbindung zur Follikelwand durch das Syncytium hindurch vermittels eines stielartigen Protoplasmaauslaeuferes aufrecht erhalten (Fig. 4).

Die sich verdickenden Chromatinfaden isolieren sich jetzt voellig und ordnen sich zu einem typischen Bouquetstadium in Schleifen an, deren Enden dem basalen Pol zugewandt liegen. Hier findet sich auch der grosse Nucleolus (Fig. 28). Im Gegensatz zu den Bouquetschleifen der Prophase zur ersten Reifeteilung sind die Faeden hier einfach (Fig. 28). Von den ersteren sind sie — abgesehen von der geringeren Kerngroesse der Spermiogonien — auch durch ihre groessere Anzahl zu unterscheiden. Ein weiterer Unterschied, der von besonderem Interesse sein duerfte, besteht darin, dass der Saeurewert des Spermiogonienkerns wesentlich geringer ist als in den Spermiocytenkernen, da in jenem (in demselben Schnitt beobachtet), bei neutraler Osmiumsaeurefixierung und Eisenhaematoxylinfaerbung, die Chromosome viel intensiver gefaerbt bleiben als in dem der Spermiocyten. Ob diese Unterschiede im isoelektrischen Punkt beider Chromosomenstadien mit der Koppelung der aquivalenten Chromosome der Prophase der Spermiocyten in Zusammenhang gebracht werden kann, liegt nahe zu vermuten, ist aber vorerst in keiner Weise nachgewiesen. Bei dem "Bouquetstadium" der Spermiogonien handelt es sich nicht um ein solches, das mit dem der Spermiocyten verglichen werden kann, da hier keine Pseudoreduktion der Chromosomenzahl eintritt. Wir ziehen aus diesem Grunde hier vor, die Bezeichnung "Pseudobouquetstadium" oder kuerzer "Pseudosynapsis" zu benutzen.



In der Figur 29a ist ein Querschnitt durch ein Spermioogonium in Pseudosynapsis dargestellt, wobei auffaellt, dass die aufsteigenden Aeste in der Naehre des Nucleolus gedraengt liegen und duenner sind als die absteigenden, mehr peripher im Kern gelegenen Faeden. Laengsschnitte durch Spermioogonien-Generationen in der Pseudosynapsis zeigen die Fig. 5 und 6. Nach diesem Stadium, das relativ lange besteht, da es in grosser Anzahl in jedem Ovotestis zu beobachten ist, bilden sich schnell durch Verkuerzen der Faeden die Chromosome aus. Sie liegen in der Aequatorialplatte so dicht (Fig. 30), dass nur auf Quetschpraeparaten ihre Anzahl (36) festgestellt werden kann.

Die Aequatorialplatte steht zur Zeit der Metaphase senkrecht auf der Follikelwand (Fig. 7). Waehrend der Anaphase jedoch verlagert sie sich in der Weise, dass die Spindelachse aus der parallelen Lage in die senkrechte uebergeht (Fig. 26; Fig. 1, G<sub>1</sub>, NZ). In dieser Lage vollendet sich die erste Teilung (Fig. 31). Von den beiden neuentstandenen Zellen bleibt eine in breiter Verbindung mit der Follikelwand und stellt die zukuenftige Basal- oder Naehrzelle dar. Ueber ihre Entwicklung und ihren Funktionsablauf wurden bereits in der Arbeit von BARTH & JANSEN (1959) Beobachtungen bekannt gegeben, die sich an die von MERTON anschliessen. Wir beobachteten die lebende Naehrzelle im Phasenkontrast. Da bei aelteren Zellen das Innere zeitweise bedeutende Mengen an Protoplasma und Naehrstoffen, sowie phagocytierten Substanzen enthaelt, ist die Phasenverschiebung relativ gross. Die durch Zerzupfen der Follikel in isotonischer Loesung isolierten Naehrzellen, die bei dieser Behandlung ihre anhaengenden reproduktiven Zellen verlieren oder wenigstens teilweise davon befreit werden, zeigen die schon von MERTON charakterisierte Pseudopodienbildung und eine langsame amoeboider Bewegung. Aus der sehr geringen Phasenverschiebung in den Pseudopodien ist zu schliessen, dass an deren Bildung ausschliesslich undifferenziertes Protoplasma beteiligt ist. In der Figur 32 ist eine solche Zelle in 6 verschiedenen Bewegungsstadien mit je drei Minuten zeitlichem Abstand dargestellt.

Die zweite nach der beschriebenen Teilung entstehende Zelle ist die Mutterzelle der folgenden Spermioogonien-Generationen. Sie bildet durch eine basale Anastomose mit der Naehrzelle eine direkte Verbindung (Fig. 31). Nach einer kurzen Zwischenphase bereitet sie sich auf die erste Vermehrungsteilung vor. Streng genommen ist sie nicht das eigentliche primordiale Spermioogonium, sondern als solches muss jede aus dem Keimlager sich individualisierende Zelle betrachtet werden. Die Mutterzelle bildet ihre Spindel parallel zur Oberflaeche der Naehrzelle und damit parallel zur Follikelwand aus. Diese Lagerung der Spindelachse finden wir von hier ab in allen folgenden Vermehrungs- und Reifungsteilungen, so dass alle Zellgenerationen sich nur in einer Flaeche ausbreiten koennen, die der Oberflaeche der Naehrzelle entspricht. Diese waechst nun in die Breite und wird niedriger, einen stetig



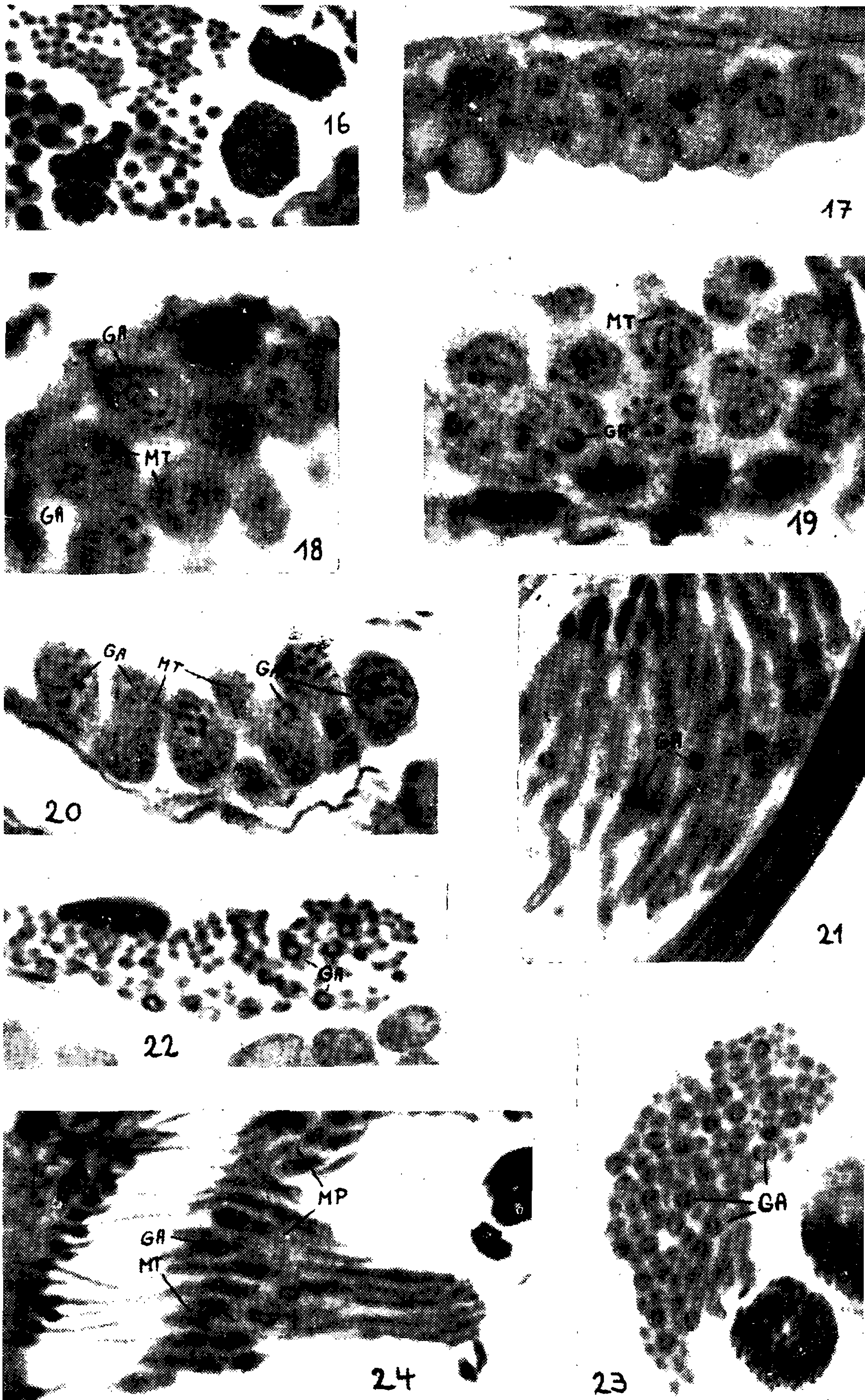


Fig. 16 — Gruppen von Spermien im Querschnitt in verschiedenen Kondensationsstadien. Grupos de espermios, em corte transversal, em diferentes fases de condensação. Fig. 17 — Golgi-Apparat und Mitochondrien in Spermiocyten am Ende der Wachstumsphase. Aparelho de Golgi e mitocôndrios no fim da fase de crescimento. Fig. 18 und 19 — Golgi Apparat (GA)



wachsenden Diskus darstellend, dessen Kern sich entsprechend der Abflachung der Zelle ebenfalls in eine, oft an den Raendern gelappte Scheibe umwandelt. Die beiden neuen Zellen des 4-Zellenstadiums bleiben ebenfalls durch Anastomosen mit der Naehrzelle verbunden (Fig. 33). Diese Vermehrungsteilungen wiederholen sich bis zur Bildung von 32 Spermioyonien. Hierzu sind, anfangend mit der aus dem Keimlager proliferierenden Urkeimzelle, im ganzen 6 Teilungen notwendig, die alle in der gleichen Weise, wie oben geschildert, ablaufen. Alle neugebildeten Zellen bleiben mit der Naehrzelle in Verbindung. Diese wird in den ersten Stadien durch Anastomosen hergestellt, die letzten 4 Phasen mit 16 und 32 Spermioyonien, bzw. 32 Spermioyten, und mit 64 Praespermiden und 128 Spermiden bilden keine direkten Plasmaverbindungen mit der Naehrzelle, sondern liegen mit breiter Basis deren Oberflaeche an. Die spaeteren Entwicklungsstadien der Spermiden dringen mit dem Acrosom in die Naehrzelle ein oder haken sich in dieser fest, indem sie die obere Zellmembran einbuchten (BARTH & JANSEN, 1959). In den Figuren 33 und 34 und den Fig. 8 und 9 sind Vermehrungsteilungen der Spermioyonien wieder gegeben. Die Morula-foermige Gestalt jeder Zellgeneration beruht auf der starken Woeibung der Oberflaeche der Naehrzelle in diesen jungen Stadien.

Nicht selten beobachtet man in den Follikeln eine Anzahl von 256 Spermien in einer Generation, so dass in diesem Falle eine zusaetzliche Spermioyonteilung eingeschoben worden ist.

Die Feststellung der Anzahl der Teilungen erfolgte auf folgende regressive Weise: Es wurden mit dem Zeichenapparat die Spermien eines Querschnittes durch ein Buendel aufgezeichnet und ausgezaehlt. Da jede Generation von reproduktiven Zellen eine Potenz von 2 darstellt, ist die naechst tiefere Potenzzahl von 2 die Anzahl der Praespermiden. Wurden 128 Spermien gezaehlt, so sind 64 Praespermiden vorhanden und, dementsprechend 32 Spermioyten, die sich durch zwei Reifeteilungen in 128 Spermien verwandeln. Diese 32 Spermioyten sind durch 5 Aequationsteilungen aus der Mutterzelle entstanden, die einer ebensolchen Teilung ihre Entstehung aus der Urkeimzelle (proliferierende Zelle) verdankt. Ihre Schwesterzelle ist die Naehrzelle. Im Verlauf der Spermioyogenese treten bei *Australorbis glabratus olivaceus* demnach 8

---

und Mitochondrien (MT) waehrend der Diakinese. Aparelho de Golgi (GA) e mitocôndrios (MT) durante a diacinese. Fig. 20 — Golgi-Apparat (GA) in Aufloesung am Ende der Diakinese; MT = Mitochondrien. Aparelho de Golgi (GA) em desintegração no fim da diacinese; MT = mitocôndrios. Fig. 21 — Golgi-Apparat (GA) im Streckungsstadium der Spermiden im Laengsschnitt. Aparelho de Golgi (GA) no estado de alongamento do espermideo em corte longitudinal. Fig. 22 und 23 — Golgi-Apparat im Streckungsstadium der Spermiden im Querschnitt. Aparelho de Golgi no estado de alongamento do espermideo em corte transversal. Fig. 24 — Golgi-Apparat im Streckungsstadium der Spermide im Laengsschnitt. Spaeteres Stadium zu Beginn der Wanderung des "Mitochondrienplasmas" (MP); MT = Mitochondrien. Aparelho de Golgi no estado de alongamento do espermideo em corte longitudinal. Estado mais avançado, durante o início da migração do "protoplasma dos mitocôndrios" (MP); MT = mitocôndrios.

Zellteilungen auf. Die erste Teilung hat zwar eine Zellvermehrung, aber keine Spermiogonienvermehrung zur Folge. Das Schema der Figur 35 verdeutlicht diese Vorgaenge.

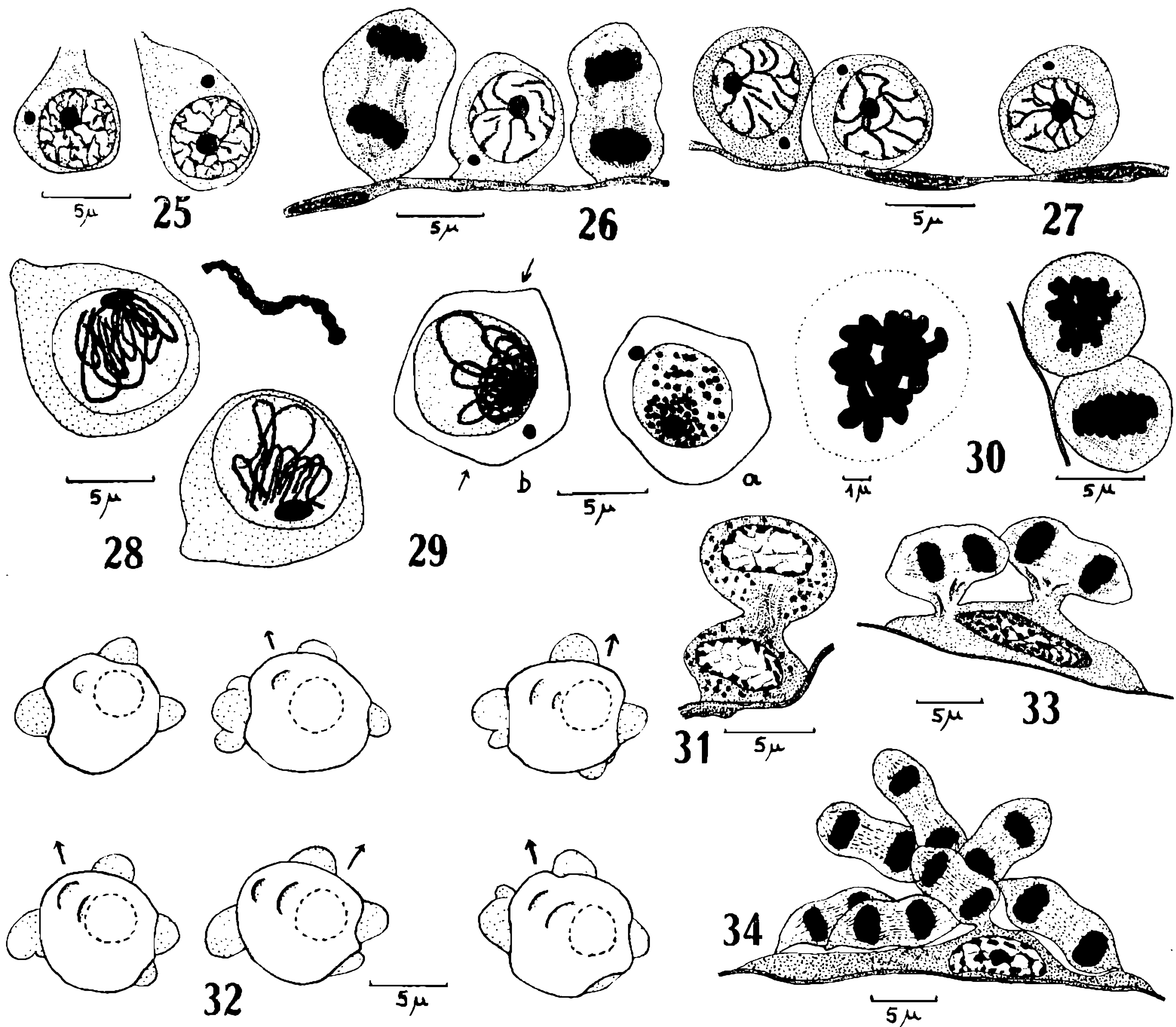


Fig. 25 — Zwei Spermiogonien im Ruhestadium. Dois espermiogônios em estado de repouso. Fig. 26 — Primordiale Spermiogonien (proliferierende Zellen); eine in Prophase, zwei in Anaphase. Espermiogônios primordiais (células em proliferação); um em prófase, dois em anáfase. Fig. 27 — Primordiale Spermiogonien (proliferierende Zellen) in Prophase. Espermiogônios primordiais (células em proliferação) em prófase. Fig. 28 — Zwei Spermiogonien im Pseudobouquetstadium. Oben rechts Teil einer Schleife stark vergrößert. Dois espermiogônios em estado de "pseudobouquet". Em cima, parte de uma alça fortemente aumentada. Fig. 29 — Spermiogonien im Pseudobouquetstadium. a = Querschnitt der Zelle in Richtung der Pfeile in b. Espermiogônios em estado de "pseudobouquet". a = corte transversal da célula em direção das setas em b. Fig. 30 — Spermiogonien in Metaphase in Aufsicht und Seitenansicht. Espermiogônios em metafase, de cima e de lado. Fig. 31 — Telophase des primordialen Spermiogoniums mit Spindelrest und Mitochondrien. Telófase do espermiogônio primordial com restos do fuso e mitocôndrios. Fig. 32 — Sechs sich folgende Bewegungsstadien einer Naehrzelle (punktiert: Cytoplasma der Pseudopodien; gestrichelter Kreis: Lage des Zellkernes). Zeitdifferenz zwischen den Stadien jeweils drei Minuten. Phasenkontrast. Seis estádios consecuentes de locomoção de uma célula nutridora (pontilhado: citoplasma dos pseudopódios; círculo traçado: posição do núcleo celular). Intervalo entre os estádios, cada vez, três minutos. Contraste de fases. Fig. 33 — Zwei Spermiogonien der 8-Zellen-Generation in Anaphase auf der Naehrzelle. Dois espermiogônios da geração com 8 células em anáfase, dispostos sobre a célula nutridora. Fig. 34 — Sieben Spermiogonien der 16-Zellen-Generation in Anaphase auf der Naehrzelle. Sete espermiogônios da geração com 16 células em anáfase, dispostos sobre a célula nutridora.



## 2. *Spermioocyten und Reifungsteilungen.*

Nach der letzten Spermioogonienteilung tritt der Kern in ein laengeres Ruhestadium ein, wobei sein Chromatin fein verteilt in annaeherd gleich grossen Partikeln auf einem reich verzweigten Lingeruest liegt, das mit Eisenhaematoxylin wenig deutlich, mit Azan-Faerbung nach Sublimatfixierung wesentlich besser sichtbar gemacht werden kann. Waehrend der Ruhezeit des Chromatins waechst die junge Spermioocyte schnell an, wobei ihr Protoplasma weniger kondensiert erscheint, jedoch keine Vakuolen bildet. Auch der Kern nimmt an Groesse zu, vornehmlich durch Aufnahme von Fluessigkeit, jedoch wird das Chromatin auch volumoeser, was wohl auf einem Quellungs Vorgang beruht, da nach diesem Vorgang die Faerbbarkeit in starkem Masse nachlaesst. Die Anzahl der Strukturelemente der chromatischen Komponente des Kerns erhoehrt sich nicht. Am Ende der chromatischen Ruhephase finden wir das Bild der Figur 36. Der Kern mit einem grossen, scharf gezeichneten Nucleolus wird von dem lockeren Geflecht chromatintragender Faeden durchzogen, die miteinander anastomosieren und den Nucleolus ueberziehen, der, wie eine Nachpruefung im Phasenkontrast zeigt, hierdurch im Kernlumen aufgehengt ist. In Kernnaehe liegt, von einem schwach faerbbaeren Hof umgeben, das Doppelcentriol (Diplosom) und der "chromatoide Koerper", ueber dessen Natur und Funktion nichts Naeheres ausgesagt werden kann.

Die Chromatinfaden beginnen anschliessend mit einer laenger waehrenden Kondensations- und Kontraktionsphase, die sich anfangs im Stadium der groben Chromatinkoerner (Fig. 37) manifestiert, indem sich das Geruest der "diffusen Chromosome" des chromatischen Ruhestadiums in zahlreiche selbstaendige, nicht anastomosierende Teile zerlegt, auf denen sich das Chromatin zu gruesseren oder kleineren, unregelmassig verteilten Partikeln zusammenzieht und in sich kondensiert, was aus der jetzt staerkeren Faerbbarkeit zu schliessen ist. Wir versuchten, die Anzahl der Faeden dieses Stadiums zu zaehlen, und fanden ueber dreissig; die genaue Anzahl zu ermitteln, ist technisch schwierig, da die Faeden teilweise verzweigt sind. Da die haploide Chromosomenzahl 18 betraegt (AZEVEDO & GONÇALVES, 1956; BARTH & JANSEN, 1959), haben die jungen Spermioocyten 36 Chromosomen. Da sich andererseits die Faeden der groben Chromatinkoerper in Chromosome umwandeln, koennen wir annehmen, dass auch hier, wie in anderen Beispielen der Spermientwicklung anderer Tierarten, die Anzahl der Faeden mit dem diploiden Chromosomensatz uebereinstimmt.

Aus diesen, haeufig verzweigten Faeden mit unregelmassig angehaeuftem Chromatin, bilden sich durch Streckung und gleichmassige Verteilung des Chromatins duenne Faeden aus (Fig. 38), die sich vom Nucleolus abloesen, der nun zum basalen Pol der Spermioocyte wandert. Waehrenddessen bildet jeder Faden eine Schleife (Fig. 39a), deren beide Enden sich zum basalen Pol orientieren (Fig. 39b), wo sie sich um den Nucleolus lagern. Ein Querschnitt durch eine Zelle dieses

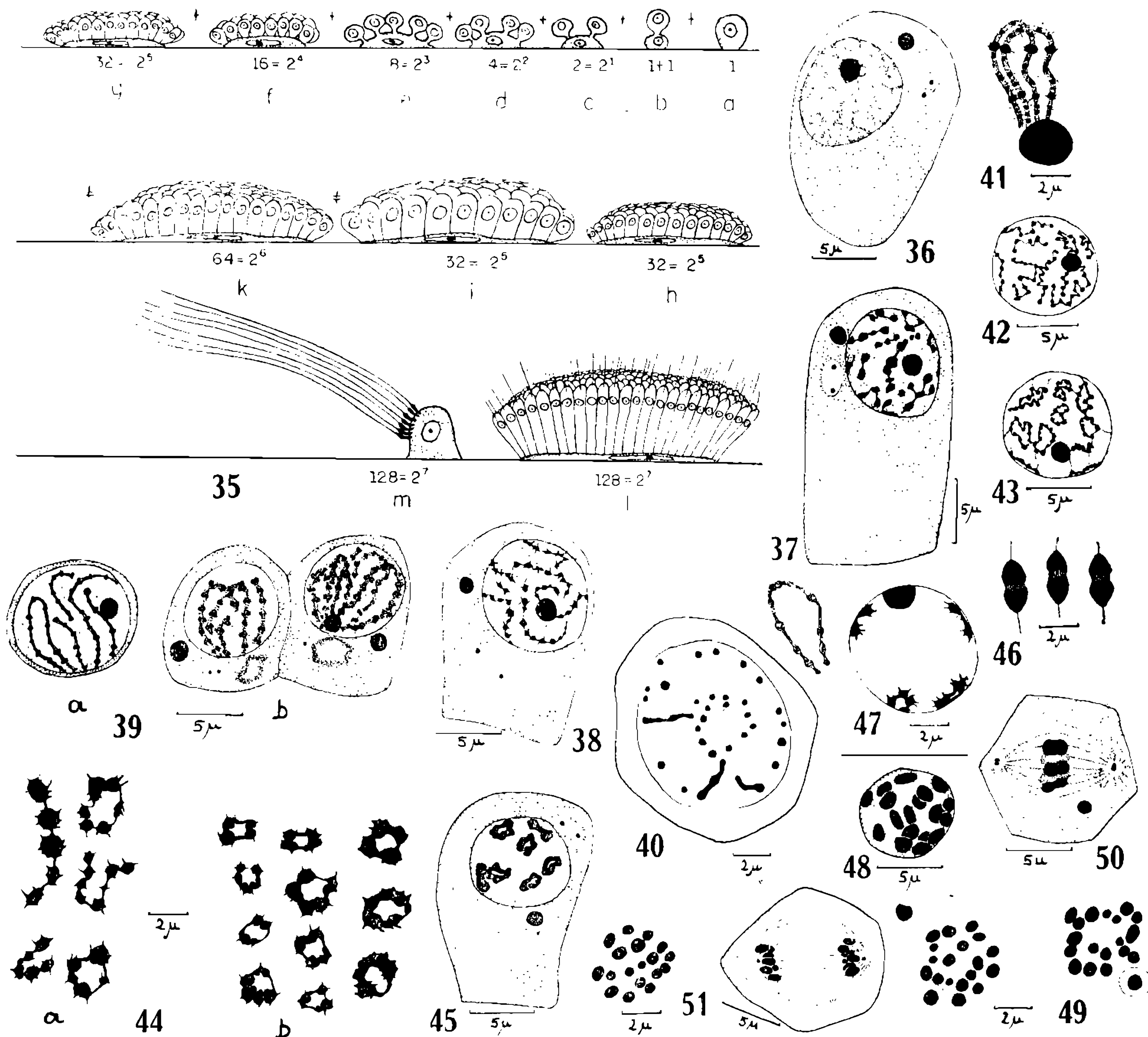


Fig. 35 — Schema der Teilungsvorgaenge waehrend der Spermiogenese. Einfaches Kreuz: Vermehrungsteilungen; doppeltes Kreuz: Reifungsteilungen. Esquema do mecanismo das divisões durante a espermiogênese. Cruz simples: divisões de multiplicação; cruz dupla: divisões de maturação. Fig. 36 — Spermiocyte im Stadium der diffusen Chromosome. Espermiócito em estado de cromossomas difusos. Fig. 37 — Spermiocyte im Stadium der Kondensation des Chromatins. Espermiócito em estado de condensação da cromatina. Fig. 38 — Spermiocyte im Stadium der groben Chromatinkoerper. Espermiócito, com corpúsculos cromáticos grosseiros. Fig. 39 — Spermiocyten im Bouquetstadium; a = Spaeteres Stadium bei fortgeschrittener Parallelkonjugation; b = Zwei juengere Stadien mit teilweise erhaltenem Golgi-Apparat. Espermiócitos em "bouquet"; a = conjugação paralela avançada; b = dois estados mais recentes, com aparelho de Golgi parcialmente conservado. Fig. 40 — Spermiocyte im Bouquetstadium im Querschnitt. Oben eine einzelne, noch nicht konjugierte Schleife. Corte transversal de espermiócito em "bouquet". Em cima uma alça isolada, ainda não conjugada. Fig. 41 — Beginnende Parallelkonjugation zweier aequivalenter Schleifen des Bouquetstadiums. Inicio da conjugação paralela de duas alças equivalentes do estado de "bouquet". Fig. 42 — Spermiocytenkern. Aufloesung des Bouquetstadiums. Núcleo do espermiócito, dissolução do estado de "bouquet". Fig. 43 — Spermiocytenkern. Beginn der Bildung der Tetradenringe. Núcleo do espermiócito. Inicio da formação dos anéis das tétrades. Fig. 44 — Tetradenentwicklung im Spermiocytenkern. a) fruehe; b) spaetere Stadien. Desenvolvimento das tétrades no interior do núcleo de espermiócito. a) estados iniciais; b) estados posteriores. Fig. 45 — Spermiocyte waehrend der Diakinese. Espermiócito durante a diacinese. Fig. 46 — Chromosome aus der fruehen Aequatorialplatte der ersten Reifeteilung. Cromossomas da placa equatorial inicial da primeira divisão de maturação. Fig. 47 — Spermiocyte. Periphäre Lage der Tetraden. Espermiócito. Posição periférica das tétrades. Fig. 48 — Spermiocyte. Fast reife Chromosome, kurz vor der Bildung der Aequatorialplatte der ersten Reifungsteilung. Espermiócito. Cromossomas quase maduros, imediatamente antes da formação da placa equatorial da primeira divisão de maturação. Fig. 49 — Anordnung der Chromosome in der Aequatorialplatte der ersten Reifungsteilung. Im punktierten Kreis: der chromatoide Koerper. Cromossomas na placa equatorial da primeira divisão de maturação. No círculo pontilhado: o corpo cromatóide. Fig. 50 — Metaphase der ersten Reifungsteilung. Metáfase da primeira divisão de maturação. Fig. 51 — Metaphase der zweiten Reifungsteilung, links Aufsicht auf die Aequatorialplatte, Metáfase da segunda divisão de maturação, à esquerda placa equatorial vista de cima.



Stadiums, wiedergegeben in Figur 40, zeigt die Lage der Schleifen in Bezug auf die Laengsachse der Spermioocyte. Dabei legen sich die korrespondierenden Chromosomenfaeden parallel aneinander (Fig. 41). Diese Konjugation scheint aber nicht in allen Faeden gleichzeitig aufzutreten. Wir fanden die grosse Schleife der Figur 41 haeufiger in Konjugation, die kleineren dagegen haben wir in diesem Stadium nicht beobachten koennen, so dass wir vermuten, dass dieser Vorgang bereits vor der Ausbildung des "Bouquets" ablaeuft; dann aber ueberlagern sich die sich ordnenden Faeden so stark, dass eine Unterscheidung nicht moeglich ist. Auch die konjungierenden grossen Schleifen sind nur selten in guenstiger Stellung gelegen.

Das Bouquetstadium erstreckt sich ueber einen laengeren Zeitraum, da es in einer grossen Anzahl von Zellgenerationen gleichzeitig gefunden wird. Es lassen sich jedoch gradulative Unterschiede in Bezug auf den Kondensationsgrad feststellen und zwar in der Form, dass juengere Schleifen aus weniger dichtem, aeltere aus dichterem Material bestehen. Auch sind die aelteren auffallend kuerzer als die juengeren, so als ob bereits in diesem Stadium die sich im folgenden staerker auswirkende Kontraktion der chromatischen Komponente des Kerns sich bemerkbar macht. Von dem Bouquetstadium der Spermioogonienteilungen (Pseudosynapsis) unterscheidet sich das der Spermioocyten (Synapsis) dadurch, dass die Zellen der letzteren mehrfach umfangreicher sind, da sie die Wachstumsphase fast beendet haben und dass die Anzahl der Chromosomenfaeden nur die Haelfte betraegt (Pseudoreduktion), ebenso dass die Faeden dicker sind und die Chromatinpartikel immer als Doppelkoerner erscheinen. Ausserdem bestehen noch grundlegende Unterschiede in der Form des GA beider Stadien, sowie der Beziehung der Zellen zur Naehrzelle. Ob in diesem Stadium der sekundae Laengsspalt gebildet wird, konnte nicht beobachtet werden.

Gegen Ende des Bouquetstadiums loest sich die polare Anordnung der Schleifen auf und sie verteilen sich regellos ueber das ganze Kerninnere. Dabei werden sie in einer charakteristischen Weise verformt, und zwar dadurch, dass an groesseren Chromomeren der Faden eine scharfe Knickung erfahrt (Fig. 42). Jedes dieser unregelmässig geformten Baender schliesst sich darauf, durch Zusammenlegen der beiden Enden, zu einer ebenso unregelmässigen, geschlossenen Form (Fig. 43), wobei die groesseren Chromomeren weiterhin sichtbar bleiben. Haeufig lassen sich hier chiasmaaehnliche Ueberkreuzungen beobachten, die aber ebenso gut auf Zufallerscheinungen der Lagerung oder Drehung der Figur wie auf das Vorhandensein eines Chromatinaustausches hindeuten koennen. Bei der Bildung der geschlossenen Figuren erfolgt eine deutliche Zusammenziehung des Chromatins in Folge Verkuerzung der Abstaende zwischen den Chromomeren, von denen duenne Faeden ausgehen, die hier und da die einzelnen Figuren untereinander verbinden, wie das auch schon im Bouquetstadium zu beobachten ist (Fig. 41, 43 und 44).

Die Verkuerzung der Abstaende zwischen den Chromomeren schreitet weiter fort, bis sich schliesslich die bekannten Tetradenringe bilden

(Fig. 44b), die bei weiterer Kontraktion und Kondensation (Fig. 45) die Chromosome der ersten Reifungsteilung darstellen (Fig. 46). Die Tetraden, die anfangs zumeist peripher liegen (Fig. 47 und 10), verteilen sich waehrend dieses Vorgangs ueber den ganzen Kernraum (Fig. 48). Gegen Ende der Verdichtungsphase wandert jedes der beiden, vorher im Diplosom zusammenliegenden Centriole zu einem der beiden Kernpole. Diese sind wie bei den Spermioyonien durch die Lage des Kerns in der Zelle festgelegt und liegen in der Querachse des Kerns, so dass sich die Spindel immer parallel zur Follikelwand einstellen muss. Welcher Faktor diese fruehzeitig orientierte Polaritaet des Kerns festlegt, ist unbekannt. Der Nucleolus hat sich gegen Ende der Kontraktionsphase aufgeloeset, ebenso verschwindet jetzt die Kernmembran.

Die nun frei in der Zelle liegenden 18 Chromosome werden von den Spindelfasern eingefangen und ordnen sich in der Aequatorialebene zur Metaphasenfigur an (Fig. 49 und 50, 11 und 12). Nach der Teilung der Zelle wird kein laengeres Ruhestadium angeschlossen, sondern es bildet sich sogleich die zweite Reifungsspindel (Fig. 51), die bereits waehrend der ersten Reifungsteilung dadurch vorbereitet wurde, dass die Centriole sich in der ersten Metaphase teilen (Fig. 50). Die nach der zweiten Metaphase entstandenen Spermiden treten in die Histogenese ein, an deren Ende die reifen Spermien stehen. Auch die zweite Reifungsspindel liegt parallel zur Follikelwand. Der Kerndurchmesser der Spermioocyte am Ende der Wachstumsphase verringert sich von  $10,2\mu$  auf  $4,9\mu$  in der jungen Spermide.

### 3. Spermiden.

Nach der Neuformung des Kerns in der jungen Spermide desintegrieren die Chromosome, wobei jedoch zwei kleine Chromatinkoerper in kondensierter Form noch laenger erhalten bleiben. Ob diese mit den Heterosomen zu homologisieren sind, ist eine offene Frage. Sie lassen sich durch die ersten Stadien der Histogenese bis zum Beginn der Streckungsperiode in den zukuenftigen Spermienkoepfen verfolgen, bis sie dem allgemeinen Chromatinzerfall anheim fallen.

Wie weiter unten bei Besprechung des GA des naeheren dargelegt wird, bildet dieser das Acrosom, das sich in Form einer kleinen Halbkugel auf den apikalen Pol des zukuenftigen Spermiums legt (Fig. 53c und 54) und sofort darauf zu einer scheibenfoermigen Platte auslaeuft (Fig. 53d und e). Diese, anfangs mehr oder weniger gleichmaessig duenn, sondert sich in einen aufragenden Seitenring und einen zentralen Hoecker, die beide auf einer duennen Grundplatte stehen (Fig. 55, 56 und 57b). Da der Kern waehrenddessen in den zukuenftigen apikalen Pol der Spermiden gewandert ist, legt sich die Acrosomplatte gegen die apikale Zellmembran, die ihrerseits der Naehrzelle direkt aufsitzt. Die apikale Kernmembran flacht sich ab (Fig. 55) und der zentrale Hoecker beginnt sich dornfoermig zu verlaengern (Fig. 58), so dass er gegen die obere Zellmembran stoest. So wie es den Anschein erweckt, weicht die Kernmembran, dem mechanisch auf sie wirkenden Wachstumsdruck



nachgebend, in das Kerninnere hinein, so dass eine zunehmend tiefer werdende Eindellung entsteht, deren Rand von dem peripheren Seitenring des Acrosoms gebildet wird (Fig. 55, 57a, 58, 59 und 60). Beim weiteren Wachstum ragt der zentrale Hoecker aus der Hoehlung hervor und bohrt sich in die Naehrzelle ein, so die Spermide fest an ihr verankernd. Ob der Haken, der sich leicht kruemmt, die beiden Zellmembranen durchbohrt oder vor sich herschiebt, liess sich mit optischen Mitteln nicht feststellen.

Das Chromatin des Spermidenkerns ist waehrenddessen in solcher Weise zerfallen, dass es nicht mehr in granulierter Form nachweisbar ist, mit Ausnahme der oben erwaehten, wahrscheinlich heterochromatischen Koerper. Der Kerninhalt zeigt nach Faerbung mit Eisenhaematoxylin eine blaeulichgraue Truebung, die basal und an der Peripherie mitunder staerker betont ist.

Die beiden Centriole liegen nach der letzten Telophase basal vom Kern, beginnen aber sofort nach der Rekonstruktion des Kerns sich in ein proximales und distales Centriol zu unterscheiden, indem das eine sich zum basalen Kernpol in Bewegung setzt, das andere aber zum basalen Zellpol wandert, wobei zwischen beiden ein duenner Faden gebildet wird (Fig. 94), der mit der Wanderung stetig weiter waechst. Das distale Korn verlagert sich mit dem Laengenwachstum der Spermide, nachdem es vorher schon einen duennen Faden in zentrifugaler Richtung gebildet hat, der die basale Zellmembran durchstoest und den zukuenftigen Schwanzfaden des Spermiums bildet (Fig. 60), waehrend der zwischen den beiden Centriolen sich bildende Faden dem zukuenftigen Halsteil oder Mittelstueck des Spermiums entspricht.

Waehrend der Zellkoerper in die Laenge waechst und sich der intrazellulaere Faden des Mittelstuecks dementsprechend verlaengert, behaelt der extrazellulaere Schwanzfaden seine Laenge von 55 bis 75 $\mu$  bei. Das proximale Centriol hat sich an die Kernbasis fest angelegt und entsendet, im Augenblick der Auflagerung des Acrosoms auf den apikalen Kernpol, einen duennen Faden in der vertikalen Achse des Kerns aus, der diesen bis zu seinem apikalen Pol durchzieht (Fig. 53d und 57).

Die Streckung der gesamten Zelle geht jetzt schnell vor sich (Fig. 13). Gleichzeitig beginnt auch der Kern sich zu strecken. Hierbei wird der apikale, bisher eingesenkte Kernpol, der der Naehrzelle aufsitzt, schmaeler und die Hoehlung flacht sich mehr und mehr aus (Fig. 61), bis zuletzt der Kern in eine Spitze auslaeuft, der das Acrosom, dessen Basis ebenfalls zusammengezogen wurde, als langausgezogener, leicht gekruemmter Kegel aufsitzt (Fig. 62). Das proximale Centriol teilt sich; ein Teil legt sich der Basis des Kerns kappenfoermig an, der andere bildet eine Scheibe, die durch einen kurzen Faden mit dem ersteren in Verbindung bleibt.

Die Streckung der Zelle hat gleichzeitig ihren Hoehepunkt erreicht (Fig. 14), wobei in Kernnaehe eine groessere Protoplasmamenge zurueckgeblieben ist, waehrend das Wachsen des Axialfadens des Mit-

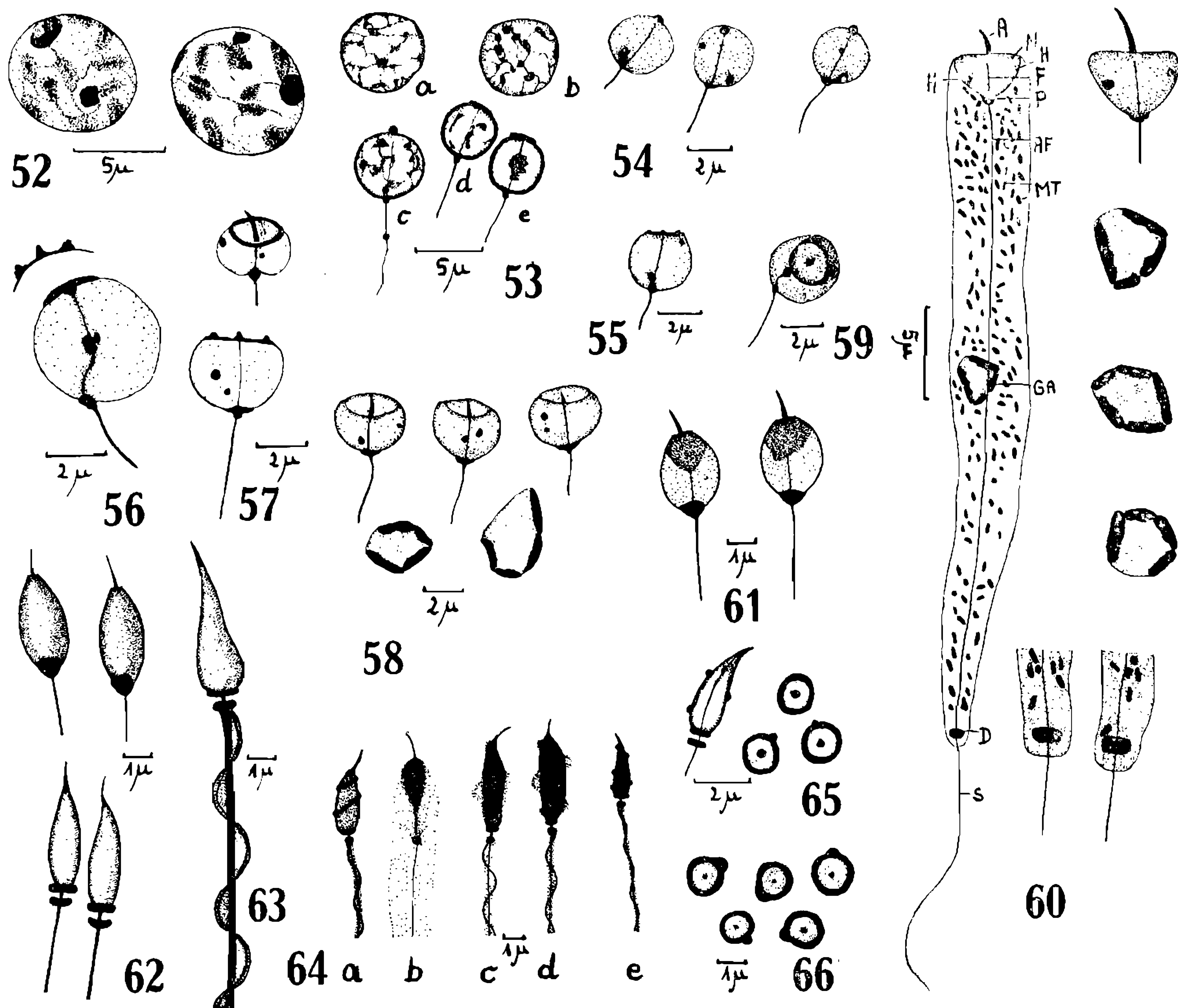


Fig. 52 — Zwei junge Spermidenkerne mit den zwei heteropycnotischen Chromosomen. Dois núcleos novos de espermídeo com os dois cromossomas heteropícnóticos. Fig. 53 — Spermidenkerne. a) und b): junge Stadien; c) bis e): ältere Stadien, bereits mit Acrosom und Axialfilament. Fortschreitende Auflösung der Chromatinkonkrete und Kondensation an der Kernwand. Núcleos de espermídeos. a) e b): estados novos; c) — e): estados mais avançados, já com acrosoma e filamento axial. Desintegração contínua dos copúsculos cromáticos e condensação sobre a parede nuclear. Fig. 54 — Drei Spermidenkerne mit Acrosom und dem den Kern durchstossenden Faden des proximalen Centriols. Três núcleos de espermídeos com acrosoma e filamento do centriolo proximal, penetrando no núcleo. Fig. 55 — Kern der Spermide mit beginnender Abflachung und Einsenkung der apikalen Polregion. Acrosom ausgebreitet und den Randwulst und den Zentralkegel zeigend. Núcleo de espermídeo no início do achatamento e abaixamento da região do pólo apical. Acrosoma espalhado, mostrando a saliência marginal e o cone central. Fig. 56 — Kern der Spermide mit sich ausbreitendem Acrosom. Oben Acrosom seitlich gesehen, späteres Stadium mit Randwulst und Zentralkegel. Núcleo de espermídeo com acrosoma, espalhando-se. Em cima acrosoma visto de lado, estado avançado com saliência marginal e cone central. Fig. 57 — Spermidenkerne. Oben: dreidimensional gezeichnet, um den Zentralkegel in der apikalen Einsenkung zu zeigen. Unten: optischer Längsschnitt eines früheren Stadiums mit abgeflachter Polregion und mit Zentralkegel und Randwulst des Acrosoms. Núcleos de espermídeos. Em cima: apresentação tridimensional, mostrando o cone central na escavação apical. Em baixo: corte ótico longitudinal de um estado novo com região polar plana, mostrando o cone central e a saliência marginal do acrosoma. Fig. 58 — Spermidenkerne mit tief eingesenktem Zentralkegel. Unten: zwei Anblicke des Golgiapparats aus denselben Zellen. Núcleos de espermídeos com cone central profundamente abaixado. Em baixo: dois aspectos do aparelho de Golgi das mesmas células. Fig. 59 — Spermidenkern mit tiefer Einsenkung des Zentralkegels. Núcleo de espermídeo com escavação profunda e cone central. Fig. 60 — Spermide. Links: ganze Zelle mit Acrosom (A), Kern (N) mit Zentralfaden (F) und den Resten der beiden heteropycnotischen Chromosome (H), proximalem Centriol (P), Axialfaden (AF), Mitochondrien (MT), Golgi-Apparat (GA), distalem Centriol (D) und Schwanzfilament (S). Oben rechts: Kern vergrößert; darunter: drei Anblicke des Golgi-Apparats; unten rechts: zwei Anblicke der Region des distalen Centriols. Espermídeo. À



telstuecks nur von einer geringen Menge von Protoplasma begleitet ist. Die Mitochondrien und der GA sind in der apikalen Protoplasmaansammlung verblieben. Es beginnt jetzt die Wanderung dieser als "Mitochondrienplasma" bezeichneten Formation laengs des sich endgueltig streckenden Axialfilaments des Mittelstuecks, wie es von BARTH & JANSEN (1960) beschrieben wurde. Dabei wandeln sich die Mitochondrien in die beiden Spiralfaeden des Mittelstuecks um (Fig. 15). Am Ende der Wanderung wird der GA eliminiert, und nach Bildung der Spiralfaeden kehrt der Rest des Protoplasmas mit einigen restlichen Mitochondrien zum apikalen Pol schnell zurueck, laesst jedoch ueber das ganze Mittelstueck verteilt einen Protoplasmanmantel zurueck. Der Protoplasmaest formt um den Kern herum eine Kugel, die abgeschnuert und von der Naehrzelle phagozytiert wird. Naeheres ueber diesen komplexen Vorgang findet sich in der zitierten Arbeit und braucht hier nicht wiederholt zu werden.

Die beiden Spiralfaeden haben eigenartigerweise keinen feststehenden Abstand voneinander, teils liegen sie sich auf dem Querschnitt gegeneueber, teils nur um 90° versetzt, teils aber auch unmittelbar nebeneinander (Fig. 63).

Das distale Centriol, das anfangs scheibenfoermig gestaltet war, formt sich am Ende der Streckungsphase des Axialfadens zu einem glockenfoermigen Koerper um, dessen nach oben gerichtete Oeffnung das Ende des Axialfadens aufnimmt. Dieser setzt sich im Inneren der Hoehlung fest, waehrend vom distalen Ende des Centriols der nackte Schwanzfaden abgeht (Fig. 67c).

Ueber die Oberflaeche des Kerns laeuft — entgegen dem Uhrzeigersinn — eine Spirale, die in juengeren Stadien sehr deutlich und hoch ist, an fast reifen Spermien aber niedriger und weniger deutlich erscheint. Der Vorgang der Ausbildung der Falte ist in Figur 64 dargestellt: Nach der Streckung und dem Abstoessen von GA und Protoplasmaeugeln beginnt im Kerninneren eine schnelle Kondensation des Chromatins. Diese faengt an der Kernspitze an, dort wo der Zentralfaden des proximalen Centriols diese erreicht (b), und setzt sich an diesem entlang bis zur Basis schnell fort. Hierbei wird eine betraechtliche

---

esquerda: célula intelra com acrosoma (A), núcleo (N) com filamento axial (F) e os restos dos dois cromossomas heteropicnóticos (H), centriolo proximal (P), filamento axial (AF), mitocôndrios (MT), aparelho de Golgi (GA), centriolo distal (D) e filamento caudal (S). Em cima, à direita: núcleo ampliado; em baixo: três aspectos do aparelho de Golgi; embaixo, à direita: dois aspectos da região do centriolo distal. Fig. 61 — Spermidenkerne. Beginn der Streckung. Núcleos de espermídeos. Início do alongamento. Fig. 62 — Oben: Streckung des Spermidenkerns; unten: weitere Streckung und Teilung des proximalen Centriols. Em cima, alongamento do núcleo do espermídeo; em baixo: alongamento avançado e divisão do centriolo proximal, Fig. 65 — Spermidenkopf mit doppeltem proximalen Centriol und doppeltem Spiralfaden. Núcleo de espermídeo com centriolo proximal duplo e dois fios espirais. Fig. 64 — Bildung der Spiralfalte des Spermidenkerns. a) staerker differenziert, um den Spiralswulst zu zeigen; b) beginnende Kondensation des Chromatins; c) und d) Ausbildung des Spiralswulstes; e) fast reifes Stadium. Formação da dobra espiral do núcleo de espermídeo. a) diferenciação forçada a fim de mostrar a saliência espiral; b) início da condensação da cromatina; c) e d) formação da saliência espiral; e) estado quase maduro. Fig. 65 — Spermidenkern am Ende der Streckungsphase. Links: Laengsschnitt; rechts: Querschnitt. Núcleo de espermídeo terminando a fase de alongamento. A esquerda: corte longitudinal; à direita: corte transversal. Fig. 66 — Spermidenkerne am Ende der Streckungsphase im Querschnitt mit Zentralfaden und Spiralswulst. Núcleos de espermídeos, terminando a fase de alongamento, em corte transversal, com fio central e saliência espiral.

Menge Kernflüssigkeit ausgeschieden, die aus dem Kern austritt. Die Kernmembran ist nun viel zu gross, um die kondensierte Chromatinmasse zu umschliessen, so dass sie sich in eine Falte legen muss (c), die bei weiterem Flüssigkeitsaustritt azentrierter wird (d) und zuletzt als Spiralling mit 2 bis  $2\frac{1}{4}$  Windungen den Kern umgibt (a, e). Aus welchem Grunde gerade die zweifache links gerichtete Windung entsteht, ist nicht ersichtlich (Fig. 65, 66).

Am Ende dieser Vorgänge erhalten wir einen Anblick, wie er in den Rekonstruktionen der Figur 67 wiedergegeben ist. Die endgültige Ausbildung des reifen Spermiums erfolgt durch weitere Kondensation von Kern und Protoplasmamantel wie es aus der Fig. 16 an Querschnitten der Mittelstücke hervorgeht.

### DIE FORMVERÄNDERUNGEN DES GOLGI-APPARATS UND DER MITOCHONDRIEN

Nachdem wir in den vorigen Abschnitten einen Aufriss der Cyto-genese und Histogenese der Spermien dargestellt haben, sollen im folgenden unsere Beobachtungen am GA und den Mitochondrien wiedergegeben werden, wobei wir uns der Entwicklung der Spermien als Basis bedienen müssen. Ueber die Zusammensetzung und physiologische Funktion der Mitochondrien gibt FREY-WYSSLING (1955) eine Zusammenfassung der bisherigen Kenntnisse. Die Aufgabe der Mitochondrien im Stoffwechsel der Zelle interessiert uns bezüglich der Spermigenese nur in geringem Masse; wir haben nur Wert auf die histogenetische Funktion zu legen, die ihnen in den Spermiden bei der Bildung der Spiralfäden des Mittelstücks zukommt. Ebenso verhält es sich mit dem GA. Ueber seine Zusammensetzung und Funktion, sowie ueber die Geschichte seiner Entdeckung und ueber seine Morphologie liegt eine umfangreiche Darstellung von MENDONÇA (1952) vor. Er zitiert fuer unsere Zwecke lediglich die Arbeit von PLATNER (1885) ueber die Sexualzellen der Mollusken, sowie die von HERMANN (1891) ueber diese Zellen von Invertebraten, geht aber nicht auf die Funktion des GA bei der Bildung des Acrosoms in der Spermidenphase ein.

Morphologie und Gestaltwechsel des GA bei der Spermigenese sind fuer jedes Entwicklungsstadium der maennlichen Gameten so charakteristisch, dass der Beobachter bereits an Hand von Form, Grosse und Zusammensetzung des GA feststellen kann, in welcher Phase die Entwicklung der Spermien sich befindet. Da das Aussehen des GA in den Spermigonien, Spermiozyten und Spermiden weitgehend von dem normalen retikulaeren Anblick, wie ihn z.B. PLATNER (1885), GOLGI (1898a und b) und JASSWOIN (1925) darstellen, abweicht, was auch von neueren Autoren (z.B. NATH & GUPTA, 1956; und frueher schon WATTS, 1952) bestaetigt wird, haben wir eine Leberzelle auf ihren GA hin untersucht. Wir fanden, dass der GA einer Zelle des Hepatopankreas mit der angewandten Methode den typischen retikulaeren Aspekt zeigt (Fig. 68) und dass er einem Formwechsel zwischen



Sekretionsstadium und Ruhestadium unterworfen ist, wie die Nebenfiguren angeben. Zum Vergleich sind aus demselben Praeparat zwei GA aus Spermioeyten links unten gezeichnet. Da wir auf diese Weise die bekannte klassische Netzstruktur des GA in Druesenzellen mit der Osmiumsaeure-Eisenhaematoxylin-Technik einwandfrei darstellen konnten, duerfen wir die Bilder des GA in den spermiogenetischen Stadien ebenfalls als reale Fakten annehmen, dieses umsomehr, als wir auch im Phasenkontrast die Existenz der gleichen Korpuskeln nachweisen konnten, wie es auch verschiedene andere Autoren mitteilen (WATTS, NATH & GUPTA; lit. cit.).

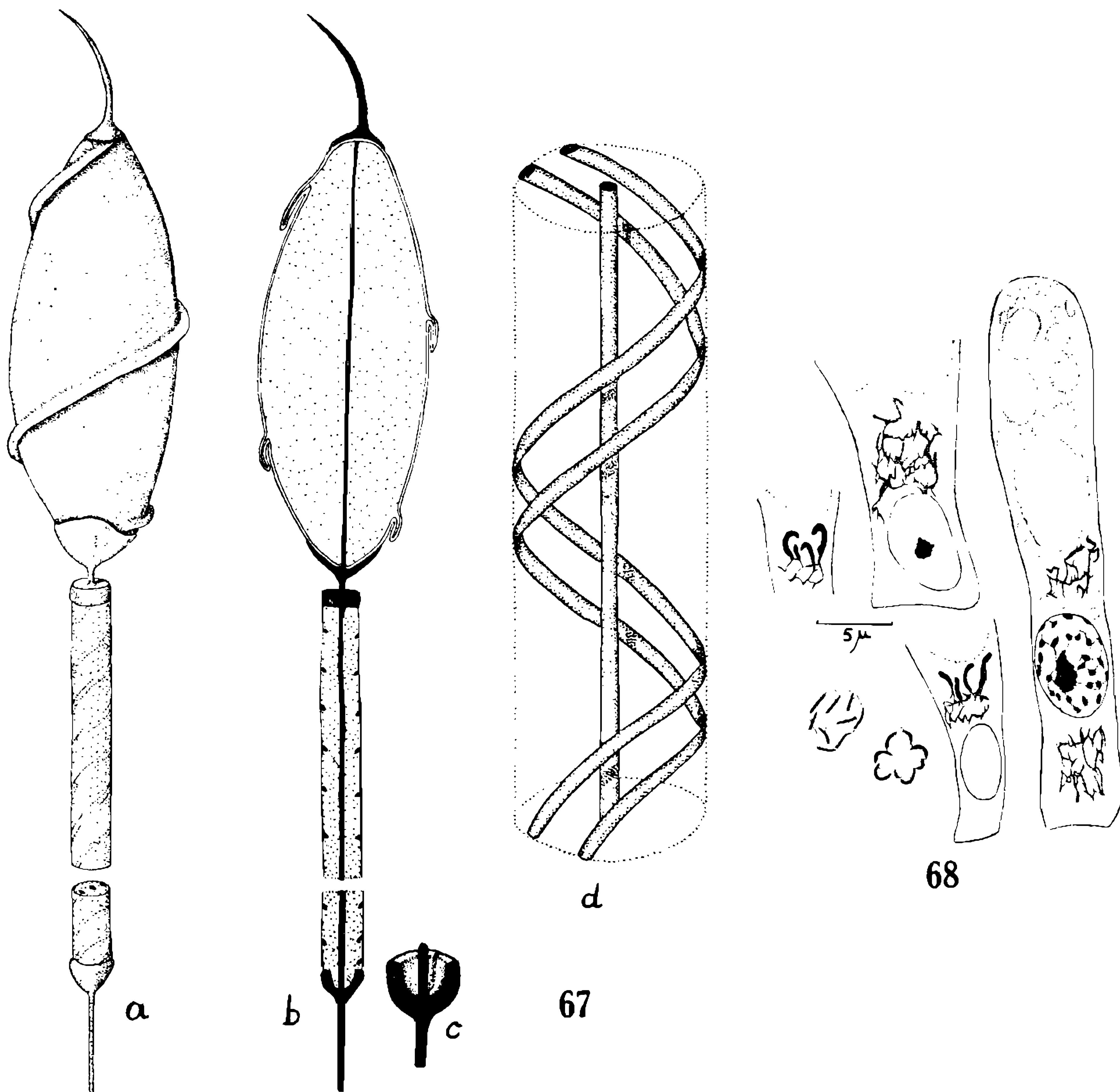


Fig. 67 — Rekonstruktion der Spermide kurz vor dem Ende der Streckungsphase. a) Totalansicht; b) Laengsschnitt; c) distales Centriol mit Axial- und Schwanzfilament; d) Teil des Mittelstuecks, durchsichtig gedacht. Mittelstueck und Schwanzfaden gekuerzt. Reconstrução do espermídeo antes de ter terminado a fase do alongamento. a) aspecto total; b) corte longitudinal; c) centriolo distal com filamentos axial e caudal; d) parte da região mediana transparente. Região mediana e fio caudal cortados. Fig. 68 — Zellen des Hepatopankreas mit dem Golgi-Apparat in verschiedenen Funktionsstadien und (unten links) zwei Golgi-Apparaten aus Spermioeyten am Ende der Wachstumsphase. Células do hepatopâncreas com o aparelho de Golgi em diferentes estados de função e (em baixo, à esquerda) dois aparelhos de Golgi de espermíócitos no fim da fase de crescimento.

HIRSCH (1939) hat die Golgimaterie in zwei verschiedene Substanzen aufteilen koennen, die er nach ihrer Affinitaet zu Silber- oder Osmiumimpraegnierungen benennt: die osmiophile oder argentophile und die osmiophobe oder argentophobe. Erstere, die chromophile Lage, bildet im GA in den Sexualzellen von *Australorbis* die unterbrochene Cortexschicht, die aus staebchenfoermigen oder schmalplattenfoermigen Elementen besteht. Sie wird auch als "Golgi externum", konventionellerweise auch als aus Dictyosome zusammengesetzt bezeichnet. Die chromophobe Substanz fuellt als "Golgi internum" das Innere des Koerpers aus und hat nicht die Eigenschaft, die beiden Metallverbindungen (Silbernitrat und Osmiumtetroxyd) zu reinen Metallen zu reduzieren. Sie bleibt auch nach Behandlung mit Eisenhaematoxylin mehr oder weniger ungefaerbt. Dagegen gelang es, nach Sublimatfixierung durch die Azanfaerbung die chromophobe Substanz durch das Anilinblau mehr oder weniger stark anzufaerben, waehrend die Dictyosome, die allerdings nur in Resten erhalten sind, durch das Azocarmin ebenso rot gefaerbt werden wie das Chromatin. Bei Nachfaerbung mit Lichtgruen (0,5% in Wasser) wurde die chromophobe Substanz stark gruen hervorgehoben. Diese Faerbung diente zur Feststellung der Existenz des GA waehrend der Zellteilung, waehrend der das Erkennen des GA, der in seine Elemente zerfaellt, durch schwaechere Faerbbarkeit, seine geringe Groesse und Ueberlagerung durch die Mitochondrienwolke stark erschwert wird. Auch beim Auffinden des Organells in den ersten Spermio gonien-Generationen leistete diese Methode wertvolle Hilfe.

Es ist noch hervorzuheben, dass nach Fixierung mit der alkoholischen Bouin'schen Loesung Teile des GA erhalten bleiben, die sich mit Eisenhaematoxylin als graugelbe Verdichtung im lockeren Protoplasma faerben. Auch diese Beobachtung zeigt, dass ausser Lipoiden auch noch albuminoide Stoffe am Aufbau der Golgisubstanz beteiligt sind.

In den jungen Spermio gonien, die immer ein birnenfoermiges Aussehen haben, liegt der Kern im stumpfen Ende der Zelle, die Mitochondrien und der GA im spitzen Ende (Fig. 69, 70 und 71). Letzterer bildet einen sehr kleinen ovalen oder fuenfeckig erscheinenden Ring mit hellem Zentrum, der von der Seite gesehen sich als Doppelscheibe erweist (Fig. 69b). Da er in der dichten Mitochondrienwolke liegt, kann ueber seinen feineren Bau nichts Naeheres ausgesagt werden. Das einzige, was sich mit Sicherheit durch den oben erwahnten Effekt der Azan-Lichtgruen-Faerbung feststellen laesst, ist die Beobachtung, dass bei den Vermehrungsteilungen der Apparat sich in zahlreiche Einzelkoerper aufluest, von denen ein Teil zum einen, der andere zum entgegengesetzten Spindelpol wandert. Schon in den spaeten Telo-phasen dieser Teilungen hat sich der GA wieder zu der fuenfeckigen Figur zusammengesetzt. Wenn auch die Anzahl der Bruchstuecke und die Art und Weise der Aufloesung und Restitution des Systems sich nicht des Naeheren analysieren lassen, koennen wir dennoch die kontinuierliche Existenz des GA von der proliferierenden Keimzelle bis



zu der letzten Spermiogonien-Generation verfolgen. Da diese auch gleichzeitig die erste Spermiocyten-Generation darstellt, ist der Uebergang des GA aus den Spermiogonien in die Spermiocyten nachgewiesen.

Die junge Spermiocyte beginnt nun, in das Wachstumsstadium und in die Prophase der ersten Reifungsteilung einzutreten. Neben dem Kernwachstum und der laufenden Vermehrung und Groessenzunahme der Mitochondrien in der schnell volumoeser werdenden Zelle, beginnt auch der GA an Umfang zuzunehmen, wobei seine Form vorlaeufig noch erhalten bleibt (Fig. 72 und 73). Bis zum Bouquetstadium scheint er sich lediglich aus fuenf Doppeldictyosomen zusammenzusetzen (Fig. 73), die als Fuenfeck in guenstig gelegenen optischen Schnitten die zentrale cromophobe Masse umschliessen. Mit zunehmendem Umfang lassen sich im Zentrum mehrere Granulationen feststellen (Fig. 74), die langsam an Groesse und Kondensationsgrad ebenfalls zunehmen (Fig. 75); auch beobachtet man jetzt eine groessere Anzahl von Dictyosomen (Fig. 77).

Waehrend im Bouquetstadium der Spermiocyte der GA einen mittleren Durchmesser von etwa  $2,5 \mu$  besitzt, vergroessert sich dieser beim starken Wachstum der Zelle vor der Diakinese bis zu  $5 \mu$  (gemessen in ein und demselben Schnitt nach Osmiumfixierung) (Fig. 76). Im Anfang dieser Phase erwecken die Bilder oft den Anschein, als ob die Diktyosome sich durch Spaltung vermehren wuerden (Fig. 77), jedoch laesst sich dieser Vorgang nicht mit genuegender Sicherheit beobachten, so dass die Frage nach einer Autoreproduktion der Golgi-elemente absolut offen bleibt. Auch in den zahlreichen, schon frueher zitierten Arbeiten ueber den GA lassen sich keine zweifelsfreien Hinweise auf den Vermehrungsmodus der Diktyosome ersehen. Mit der Volumenzunahme ist kurz vor der Diakinese die Moeglichkeit gegeben, die Anzahl der chromophilen Elemente und der internen Granulationen festzustellen. In Fig. 78a ist die Rekonstruktion des vollstaendigen GA aus verschiedenen optischen Ebenen desselben Objekts wiedergegeben. Wir stellten in jedem Falle, vorausgesetzt, dass der GA im Schnitt voellig erhalten war, zwoelf Diktyosome und vier interne Granulationen fest, welche letztere mit zunehmendem Alter der Spermiocyte groesser werden, schaeferere Raender zeigen und in ihrem Zentrum eine helle Zone erkennen lassen (Fig. 79). Da es sich bei diesen Zentralkoerpern um diejenige Materie handelt, die in der Spermiide zum Acroblasten wird, der spaeter das Acrosom bildet, bezeichnen wir sie in Spermiocyten und Praespermiden als Proacroblast.

Mit Beginn der Diakinese (Fig. 18 und 19) wird die Anordnung der Dictyosome unregelmassiger und oft loesen sie sich aus dem Verband des Apparats, wobei jedes einzelne von einer Portion der chromophoben Substanz begleitet wird (Fig. 80a). Die zentralen Granulationen verbleiben aber immer in der Hauptmasse der Innensubstanz. Bisher waren die Dictyosome entweder gerade oder leicht nach aussen gewoelbt (Fig. 80). Im Augenblick aber, in dem die Tetraden mit ihrer Kondensation beginnen, woelben sie sich ganz betont nach innen (Fig. 79a und 20) und die chromophobe Substanz

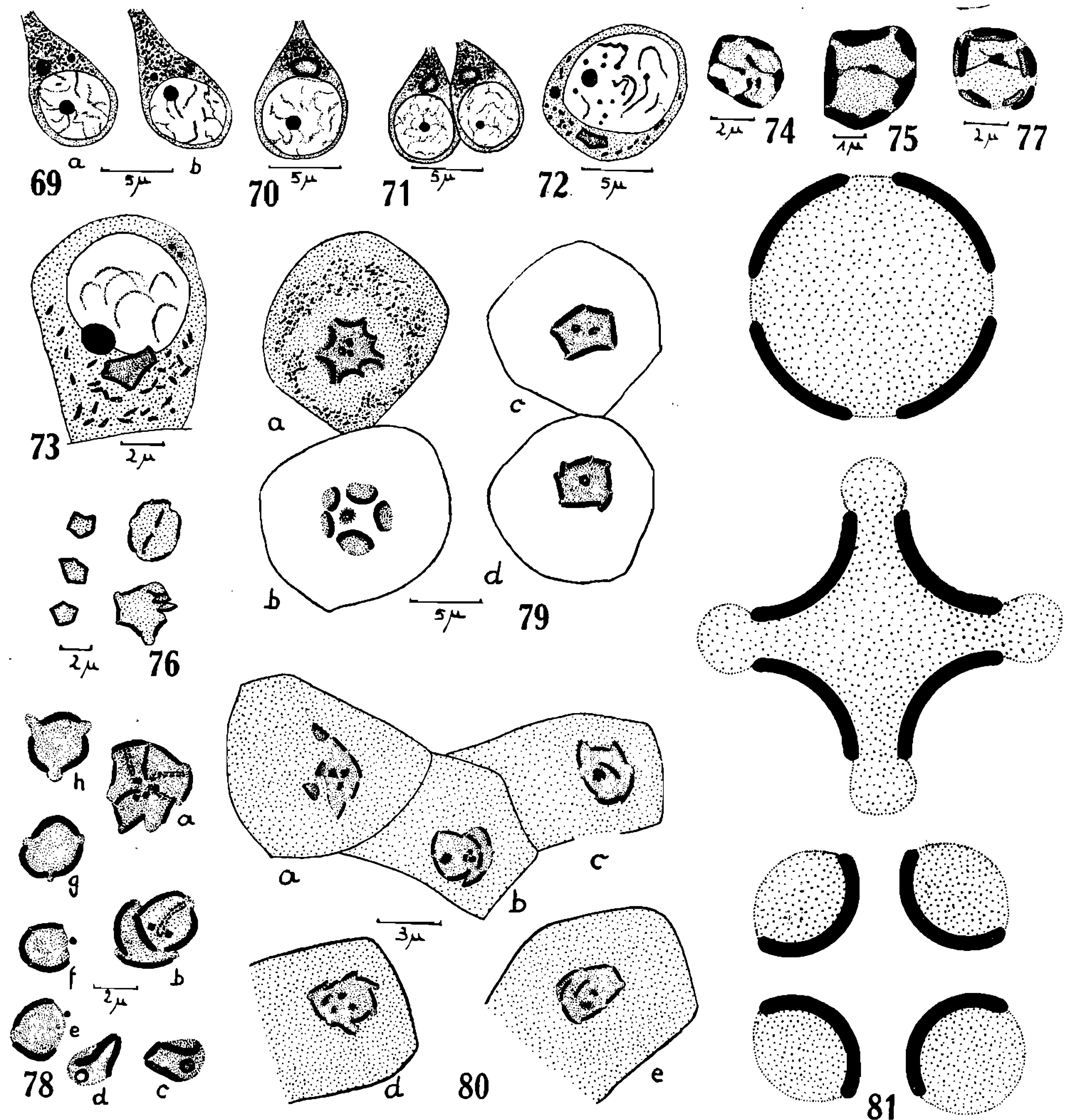


Fig. 69 — Spermiogonien. a) mit Golgi-Apparat von der Fläche, b) von der Seite gesehen. Espermiogônios. a) com aparelho de Golgi, visto de cima, b) visto de lado. Fig. 70 — Spermiogonium der 32-Zellen-Generation mit Golgi-Apparat. Espermiogônio da geração, com 32 células com o aparelho de Golgi. Fig. 71 — Spermiogonium der 16-Zellen-Generation mit Golgi-Apparat. Espermiogônio da geração com 16 células com o aparelho de Golgi. Fig. 72 — Spermiogonium in der Pseudosynapsis der letzten Vermehrungsteilung mit Golgi-Apparat. Kern im Diagonalschnitt. Espermiogônio durante a pseudosínapse da última divisão de multiplicação com aparelho de Golgi. Núcleo em corte oblíquo. Fig. 73 — Spermiocyte im Stadium der diffusen Chromosome mit Golgi-Apparat, Centriolen und chromatidem Körper. Die Mitochondrien durch stärkere Differenzierung fast entfaerbt. Espermiócito em estado dos cromossomas difusos com aparelho de Golgi, centríolos e corpo cromatóide. Os mitocôndrios pela forte diferenciação quase descorados. Fig. 74 — Golgi-Apparat einer jungen Spermiocyte im optischen Querschnitt. Aparelho de Golgi de um espermiócito novo em corte ótico transversal. Fig. 75 — Golgi-Apparat einer jungen Spermiocyte beim Eintritt in das Bouquetstadium. Aparelho de Golgi de um espermiócito novo entrando no estado de "bouquet". Fig. 76 — Golgi-Apparate. Links: aus Spermiogonien; rechts oben: aus Spermiocyte im Bouquetstadium; rechts unten: aus Spermiocyte beim Eintritt in die Diakinese. Aparelhos de Golgi. À esquerda: de um espermiogônio; à direita, em cima: de um espermiócito em estado de "bouquet"; à direita, em baixo: de um espermiócito entrando na diacinese. Fig. 77 — Scheinbare Verdoppelung der Dictyosome des Golgi-Apparats nach dem Bouquetstadium, hervorgerufen durch haeufig eintretende parallele Lagerung der Konkrete. Dictiosomas aparentemente dobrados depois do estado de "bouquet",



beginnt in die nach aussen gelegene Hoehlung zu fliessen. Dieser Vorgang setzt sich fort (mit Azanfaerbung in diesem Stadium sichtbar gemacht), bis der gesamte GA in zwei Elemente zerfaellt, von denen jedes aus einem Dictyosom und einer dessen Hoehlung anliegender Portion der chromophoben Masse besteht (Fig. 79b). Die zentralen Koerper liegen isoliert zwischen den Bruchstuecken, von Resten der chromophoben Masse umgeben, wobei sie wesentlich an Groesse zunehmen, so dass sie in spaeteren Stadien nur schwer von den Dictyosomen zu unterscheiden sind. Der Vorgang der Desintegration des GA ist in Figur 81 schematisch dargestellt.

Wenn der GA sich in oben beschriebenen Elemente (12 Dictyosome und 4 Proacroblasten) zerlegt hat, haben sich im Kern die Chromosome voellig entwickelt. Die Centriole, die waehrend der Prophase immer ausserhalb des GA, in einem schwach faerbbaeren Hof der Kernmembran mehr oder wenig eng anlagen, sind zu gegenueber liegenden Polen des Kerns gewandert. Da die Spindelachse parallel zur Follikelwand eingestellt wird und da der GA in der Spermioocyte immer in der der Follikelwand abgewandten Zellregion liegt, finden wir den GA in der Metaphase der ersten Reifungsteilung immer in der Ebene der Aequatorialplatte (Fig. 82 und 83). In der Anaphase wandern 6 der Dictyosome und 2 Zentralelemente zu einem, die anderen entsprechenden Elemente zum entgegengesetzten Spindelpol (Fig. 84 und 85). Auf diese Weise werden die Elemente gleichmaessig auf die beiden Praespermiden verteilt. Unmittelbar nach der Zelltrennung schliessen sich die Elemente in der Praespermide zu einem neuen Koerper zusammen, der in der Rekonstruktion aus mehreren optischen Schnitten sich als aus 6 Dictyosomen und 2 Proacroblasten zusammengesetzt erweist (Fig. 78b). Der Vorgang liess sich nur an Praeparaten verfolgen, die nach Azanfaerbung und Anwendung von Lichtgruen eine deutliche Faerbung der chromophoben Substanz zeigen, waehrend die Osmium-saeure-Eisenhaematoxylin-Methode hierbei keine ausreichende Differenzierung zwischen GA und Mitochondrien erlaubt.

Waehrend sich der Kern nach einer sehr kurzen Interphase, die nur sehr selten aufzufinden ist, auf die zweite Reifungsteilung vorbereitet, loest sich der GA in der gleichen Weise auf, die vor der ersten Reifungsteilung beobachtet wurde. Nach der Telophase finden wir in

---

causado freqüentemente por disposição paralela dos corpúsculos. Fig. 78 — Golgi-Apparate aus a) Spermioocyte; b) Praespermide; c) und d) Spermide vor der Bildung des Acrosoms, mit blaschenformigem Acroblast; in d) ein Dictyosom durch Ueberlagerung nicht sichtbar; e) — h) Spermide nach Bildung des Acrosoms; e) und f) im Querschnitt mit Axialfaden; g) und h) im Laengsschnitt. Aparelhos de Golgi. a) espermiócito; b) pré-espermídeo; e) e d) espermiúdo antes da formação do acrosoma com acroblasto em forma de vesícula; em d) um dictiosoma não visível por superposição; e) — h) espermiúdo depois da formação do acrosoma; e) e f) em corte transversal com filamento axial; g) e h) em corte longitudinal. Fig. 79 — Golgi-Apparate in Spermioeyten. a) und b) in der Diakinese, Aufloesung des Golgi-Apparats; c) und d) im Wachstumsstadium. Aparelhos de Golgi em espermiócitos. a) e b) na diacinese, desintegração do aparelho de Golgi; c) e d) no estado de crescimento. Fig. 80 — Golgi-Apparate in Spermioeyten waehrend des Abschlusses der Wachstumsphase. a) — c) im Querschnitt; d) und e) im Laengsschnitt. Aparelhos de Golgi de espermiócitos terminando a fase de crescimento. a) — c) em corte transversal; d) e e) em corte longitudinal. Fig. 81 — Schema der Aufloesung des Golgi-Apparats in der Diakinese mit 4 Dictyosomen als Beispiel. Esquema da desintegração do aparelho de Golgi na diacinese com 4 dictiosomas, escolhidos como exemplos.



Fig. 82 — Spermiocyten. Erste Reifungsteilung mit Golgi-Apparat zur Zeit seiner Wanderung zu den Spindelpolen. Espermiócitos. Primeira divisão de maturação com aparelho de Golgi durante a sua migração em direção aos pólos do fuso. Fig. 83 — Spermiocyten. Links: Beginn der Metaphase der ersten Reifungsteilung, Golgi-Apparat in Aufloesung; rechts: Ende der Metaphase, Teile des Golgi-Apparats nahe den Spindelpolen. Espermiócitos. À esquerda: início da metáfase da primeira divisão de maturação, aparelho de Golgi em desintegração; à direita: terminando a metáfase, partes do aparelho de Golgi perto dos pólos do fuso. Fig. 84 — Spermiocyte in Anaphase. Teile des Golgi-Apparats an den Spindelpolen. Espermiócito em anáfase. Partes do aparelho de Golgi perto dos pólos do fuso. Fig. 85 — Spermiocyte zu Beginn der Anaphase. Wanderung der Teile des Golgi-Apparats. Espermiócito iniciando a anáfase. Migração das partes do aparelho de Golgi. Fig. 86 — Ende der Telofase der zweiten Reifungsteilung mit den 4 Elementen des Golgi-Apparats der Spermide. Fim da telófase da segunda divisão de maturação com os 4 elementos do aparelho de Golgi do espermiódeo. Fig. 87 — Ende der Telofase der zweiten Reifungsteilung. Neuformung des Golgi-Apparats. Fim da telófase da segunda divisão de maturação. Remodelação do aparelho de Golgi. Fig. 88 — Spermiden



jeder der beiden jungen Spermiden vier Elemente des GA (Fig. 86), von denen drei den Dictyosomen und das letzte einem Zentralkoerper entsprechen, die sich sofort nach der Zelldurchtrennung (Fig. 89) wieder zu einer neuen Einheit zusammen schliessen. Die Neubildung des GA in der Spermide erfolgt derart, dass sich die drei Dictyosome aussen auf die wieder zu einer Masse zusammen geschlossenen chromophoben Substanz auflegen, waehrend der Proacroblast wieder in letzterer eingelagert wird (Fig. 88). Dieser so erreichte Zustand ist in den Nebenzeichnungen (a — d) der Figur 89 wiedergegeben, ebenso zeigen die Stadien d und c der Figur 78 dieselbe Phase des GA.

Der Teilungsvorgang des GA, der sich bei *Australorbis glabratus olivaceus* (wie auch bei *A. nigricans* und *A. centimetralis*) lueckenlos verfolgen laesst, zeigt hiermit folgendes Schema:

	Dictyosome	Proacroblast
Spermioocyte	12	4
Fraespermide	6	2
Spermide	3	1

Der GA der Spermide wandert nun haeufig seitlich am Kern vorbei, kann aber auch in der basalen Kernhaelfte verbleiben oder seitlich vom Kern zur Ruhe kommen. Sein Proacroblast nimmt dabei an Durchmesser zu und zeigt die Form eines geschlossenen Ringes, dessen Wandstaerke jedoch unterschiedlich ist, da ein Teil des Umfanges sehr duenn bleibt. Wir muessen diesen Koerper in diesem Zustande, in dem er spaeter zur Bildung des Acrosoms auswandert, als Acroblast bezeichnen (Fig. 78c und d, Fig. 90). Waehrend die Spermide nun beginnt sich langsam zu strecken, tritt der Acroblast aus der chromophoben Substanz aus und wandert zum apikalen Pol des Kerns (Fig. 89g). Hier legt er sich mit der duennen Stelle des Rings der Membran auf und breitet sich auf dem apikalen Pol als duenne Scheibe aus (Fig. 91 und 92). Ob er hier nun sich oeffnet und zerfliesst oder sich durch einfaches Abplatten der Woelbung des Kerns anpasst, ist

---

zu Anfang der Streckung der Zelle. Links: kurz vor, rechts: nach Ausstossung des Acroblasts. Espermídeos no início do alongamento da célula. À esquerda: pouco antes; a direita: depois da eliminação do acroblasto. Fig. 89 — Spermiden. a) — f) Ausstossung des Acroblasts aus dem Golgi-Apparat; g) ganze Spermide mit wanderndem Acroblast und Bildung des Schwanzfadens und des Axialfilaments. Espermídeos. a) — f) eliminação do acroblasto do aparelho de Golgi; g) espermídeo total com acroblasto em migração e formação dos filamentos caudal e axial. Fig. 90 — Spermiden. Golgi-Apparat mit Acroblast und Mitochondrien. Espermídeos. Aparelho de Golgi com acroblasto e mitocôndrios. Fig. 91 — Spermide. Bildung des Acrosoms. Acroblast breitet sich auf dem apikalen Zellpol aus. Espermídeo. Formação do acrosoma. Acroblasto espalhando-se sobre o pólo apical Fig. 92 — Spermide. Bildung des Acrosoms. Espermídeo. Formação do acrosoma. Fig. 93 — Spermide nach Bildung des Acrosoms. Espermídeo depois da formação do acrosoma. Fig. 94 — Spermiden nach Bildung des Acrosoms. Wachstum des Axialfadens. Espermídeos depois da formação do acrosoma. Crescimento do filamento axial. Fig. 95 — a) Spermioocyte; b) Spermide vor und c) nach der Bildung des Acrosoms. Darueber verschiedene Golgi-Apparate der entsprechenden Stadien. a) espermiócito; b) espermídeo antes e c) depois da formação do acrosoma. Em cima vários aparelhos de Golgi dos estados correspondentes. Fig. 96 — Spermidenkerne mit Centriolfaden im Kerninnern, darunter Querschnitte durch den Golgi-Apparat aus dem "Mitochondrienplasma". Núcleos de espermídeos com fio do centríolo no interior do núcleo; em baixo: cortes transversais do aparelho de Golgi no "protoplasma de mitocôndrios".

nicht zu entscheiden. Der GA besteht jetzt nur noch aus drei Dictyosomen und der chromophoben Masse (Fig. 93 und 94). Der Vorgang des letzten Teilungsschritts und die Bildung des Acrosoms ist in Figur 95 dargestellt.

Der GA bleibt nun in seiner Gestalt unverändert und liegt in der Schar der Mitochondrien in der basal vom Spermidenkern gelegenen Protoplasmamasse (Fig. 21 und 22), die im weiteren Verlauf der Zellstreckung als "Mitochondrienplasma" am Zentralfaden des Mittelstuecks entlang wandert. Dieser Vorgang und die anschliessende Eliminierung des GA sind in der Arbeit von BARTH & JANSEN (1960) dargestellt. Der GA hat waehrend dieser Zeit bis zu seinem Ende, wenn er in das Follikellumen faellt und hier aufgeloeset wird, immer die in Figur 96 und den Fig. 23 und 24 wiedergegebene Form (s. auch Fig. 13) aus drei Dictyosomen, von denen oft wegen optischer Ueberlagerung nur 2 erscheinen. Ob der Apparat nach der Bildung des Acrosoms noch weitere Funktionen, etwa regulatorischer Art bei der Bildung der mitochondrialen Spiralfaeden zu erfuellen hat, laesst sich auf histologischem Wege nicht feststellen. Der einzige Hinweis auf eine etwaige weitere Funktion ist lediglich die Regelmaessigkeit seiner Form und Lagerung waehrend der letzten Reifungsvorgaenge der aelteren Spermide. An der Bildung des reifen Spermiums nimmt nachweislich nur der Acroblast teil, waehrend der uebrige Teil des GA gegen Ende der Reifung eliminiert wird.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit werden die Cytogenese und Histogenese der Spermien von *Australorbis glabratus olivaceus* beschrieben, waehrend im zweiten Teil auf die Formveraenderungen des Golgiapparates des Naeheren eingegangen wird. Es wurden angewandt: Phasenkontrast, Halbdunkelfeld und Dunkelfeld; Vitalfaerbungen mit Janusgruen und Neutralrot; als histologische Faerbung nach Osmiumfixierung erwies sich Eisenhaematoxylin als guenstig, nach Sublimatfixierung zum histologischen Nachweis der chromophoben Substanz des Golgiapparates ergab die Azanfaerbung mit Nachfaerbung in Lichtgruen die besten Ergebnisse.

Die Cytogenese zeigt bis zum Erreichen der Spermiden keine Besonderheiten im Vergleich mit anderen schon bearbeiteten Mollusken. Die Histogenese zeigt jedoch einige bemerkenswerte Punkte, die von den bereits bekannten Befunden an anderen Mollusken erheblich abweichen. Die Kernmembran der Spermide bildet durch Schrumpfung in Folge Kondensierung des Chromatins eine Spiralfalte auf der Kernoberflaeche mit ueber 2 Umgangen. Das proximale Centriol ist geteilt, ein Teil bildet eine Fusskappe des Kerns, von der ein Faden ausgeht, der das ganze Kerninnere durchzieht. Der andere Teil bildet den Axialfaden und dient den beiden Spiralfilamenten als Lager. Das distale Centriol bildet eine umgekehrte Glocke, an deren Rand sich die



Spiralfäden und in deren Innerem sich der Axialfaden anheften; es setzt sich distalwaerts in den nackten Schwanzfaden fort.

Der Golgiapparat ist vom primordialen Spermiogonium bis zur reifenden Spermide durch alle Entwicklungs- und Teilungsstadien zu verfolgen. Er besteht in der Spermioocyte aus der chromophoben Masse und 12 Dictyosome, die sich dieser auflagern, sowie aus 4 Proacroblasten. Diese 16 Konkrete trennen sich vor der Diakinese und jedes wandert fuer sich zu einem der Spindelpole. Die Praespermide besitzt 6 Dictyosome und 2 Proacroblasten, die sich zu 3 Dictyosome und 1 Proacroblast auf die Spermide verteilen. Der letztere Koerper wandelt sich zum Acroblast um, der sich als Acrosom dem apikalen Kernpol auflegt.

### RESUMO

Na primeira parte do presente trabalho, descreve-se a citogênese e histogênese dos espermios de *Australorbis glabratus olivaceus*, enquanto na segunda parte são estudadas as modificações do aparelho de Golgi. Foram aplicados os seguintes métodos: contraste de fases, campo escuro e semiescuro; colorações vitais por verde de Janus e vermelho-neutro; colorações histológicas com hematoxilina férrica depois de fixação por ácido ósmico, e com o método "Azan" segundo Heidenhain com coloração suplementar por verde de luz depois de fixação com sublimado (Susa de Heidenhain), a fim de provar histologicamente a presença da substância cromófoba.

Até a formação do espermídeo, a citogênese não mostra fatos especiais, pois enquadra-se bem no esquema geral da espermiogênese dos moluscos, já descrita por numerosos autores. Na histogênese, porém, observamos alguns pontos interessantes que se distanciam, consideravelmente, dos fatos conhecidos e descritos em outros moluscos. Em virtude da eliminação de líquido nuclear, como consequência da condensação da cromatina, a membrana nuclear do espermídeo forma sobre a superfície do núcleo uma dobra em forma de espiral, com mais de dois giros. O centríolo proximal é duplo, uma parte forma um revestimento do pólo basal do núcleo, do qual nasce um filamento que atravessa todo o interior do núcleo, no sentido do seu eixo longitudinal, até chegar ao pólo apical. A segunda parte do centríolo proximal forma o filamento axial e funciona como ponto de inserção dos fios espirais da parte mediana do espermio. O centríolo distal tem forma de campânula invertida, em cuja borda se inserem os fios espirais e em cujo centro se encontra a implantação do filamento axial. Em direção distal, o centríolo continua em forma de um fio nu que representa a cauda do espermio.

O aparelho de Golgi pode ser acompanhado, continuamente, a partir do espermiogônio primordial até o espermídeo em maturação, sem interrupção pelos estádios de divisões celulares. No espermiócito, ele consta da massa cromófoba e de 12 dictiosomas, justapondo-se nela, bem como de 4 pré-acroblastos. Os 16 concretos separam-se em 16

corpúsculos, dos quais cada pólo do fuso recebe a metade. O pré-espermídeo possui 6 dictiosomas e 2 pré-acroblastos, que se distribuem como 3 dictiosomas e 1 pré-acroblasto sôbre os dois espermídeos. O último transforma-se em acroblasto que se justapõe sôbre o pólo apical do núcleo, formando então o acrosoma.

### BIBLIOGRAPHIE

- ABDEL-MALEK, E. T., 1954a, Morphological studies on the family *Planorbidae* (*Mollusca, Pulmonata*). I. Genital organs of *Helisoma trivolvis* (Say). *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 73: 103-124, 20 figs.
- ABDEL-MALEK, E. T., 1954b, Morphological studies on the family *Planorbidae* (*Mollusca, Pulmonata*). II. The genital organs of *Biomphalaria boissyi*. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 73: 285-296, 17 figs.
- ALAPHILIPPE, F., 1939, Contribution a l'étude anatomique et histologique des voies génitales de *Planorbis corneus* L. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 43: 260-287, 16 figs.
- ANCEL, P., 1902, Sur les premières différentiations cellulaires dans la glande hermaphrodite d'*Helix pomatia*. *Bibliogr. Anat.*, 11: 17-20, 5 figs.
- ANCEL, P., 1903, Histogénèse et structure de la glande hermaphrodite d'*Helix pomatia*. *Arch. Biol.*, 19: 389-452, 25 figs.
- AOYAMA, F., 1929, Eine Modifikation der Cajalschen Methode zur Darstellung des Golgischen Binnennetzapparates. *Z. wiss. Mikr.*, 46: 489-491.
- AVEL, M., 1925a, Sur les propriétés physiques de l'appareil de Golgi. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 93 (ref.).
- AVEL, M., 1925b, Appareil de Golgi et vacuome. *Bull. histol. appl.*, 2 (ref.).
- AZEVEDO, J. F. & GONÇALVES, M. M., 1956, Ensaio sôbre o estudo da numeração cromosômica de algumas espécies de Moluscos de água doce. *An. Inst. Med. Trop. Portug.*, 13: 569-577, 3 ests.
- BAKER, J. R., 1944, The structure and chemical composition of the Golgi element. *Quart. J. Micr. Sci.*, 85: 1-71, 7 figs., 2 pls.
- BARTH, R., 1953, Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília *Triatominae*. III. Pesquisas sôbre o mecanismo da picada dos *Triatominae*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 31: 11-94, 22 figs.
- BARTH, R. & JANSEN, G., 1959, Contribuições ao estudo da gametogênese dos Planorbídeos. 1.<sup>a</sup> parte: Célula nutridora e sua função. *An. Acad. Brasil. Cien.*, 31: 429-445, 22 figs.
- BARTH, R. & JANSEN, G., 1960, Ueber den Begriff "Kinoplasma" in der Spermio-genese von *Australorbis glabratus olivaceus* (*Mollusca, Pulmonata, Planorbidae*). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 58 (2): 209-228, 34 Fig.
- BAUMGARTNER, W. J., 1904, Some new evidences for the individuality of the chromosomes. *Biol. Bull.*, 8: 1-23, 1 pl.
- BOLLES LEE, A., 1897, Les cinèses spermatogénétiques chez l'*Helix pomatia*. *Cellule*, 13: 199-279, 3 pls.
- BOURNE, G. H., 1951, *Cytology and Cell Physiology*. XVI + 524 pp., Clarendon Press, Oxford.
- BOWEN, R. H., 1922, On the idiosome, Golgi apparatus and acrosome in the male germ cells. *Anat. Rec.*, 24: 159-180, 3 figs.
- BOWEN, R. H., 1926, The Golgi-apparatus — its structure and functional significance. *Anat. Rec.*, 32: 151-193, 2 figs.
- BOWEN, R. H., 1928, The methods for the demonstration of the Golgi apparatus. *Anat. Rec.*, 38: 293-320; 39: 85-136, 231-285, 365-394; 40: 103-132, 225-276.



- BURESCH, I., 1912, Untersuchungen ueber die Zwitterdruese der Pulmonaten. I. Die Differenzierung der Keimzellen bei *Helix arbustorum*. *Arch. Zellforsch.*, 7: 314-351, 5 figs., 2 Taf.
- CAJAL, RAMON y, 1905, Une méthode simple pour la coloration élective du reticulum protoplasmatique et ses résultats dans des divers centres nerveux. *Bibliogr. anat.*, 14: 1-93.
- COWDRY, G., 1923, The significance of the internal reticular apparatus of Golgi in cellular physiology. *Science*, 58: 1-7.
- DA FANO, C., 1922, On Golgis internal apparatus in different physiological conditions of the mammary gland. *J. physiol.*, 56: 459-476, 14 figs.
- FREY WYSSLING, A., 1955, Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. *Protoplasmatologia*, 2/A2: 52-55.
- GATENBY, J. B., 1917, The cytoplasmic inclusions of the germ cells. Part II. *Helix aspera*. *Quart. J. Micr. Sci.*, 62: 555-611, 5 figs. 6 pls.
- GATENBY, J. B., 1918, The cytoplasmic inclusions of germ cells. Part III. The spermatogenesis of some other pulmonates. *Quart. J. Micr., Sci.*, 63: 197-232, 3 figs., 3 pls.
- GOLGI, C., 1898a, Sur la structure des cellules nerveuses. *Arch. Ital. Biol.*, 30: 60-71, 1 figs.
- GOLGI, C., 1898b, Sur la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux. *Arch. Ital. Biol.*, 30: 278-286, 1 est.
- HERMANN, P., 1891, In: Lison, L., *Histochimie et cytochimie animales*. VI + 607 pp., Paris.
- HIRSCH, G. C., 1939, Form- und Stoffwechsel der Golgikoerper. *Protoplasma*, Monogr. 18: 394 pp.
- HIRSCHLER, J., 1943, Grundsatzliches ueber Osmiumfixierung und Osmiumfaerbung. *Z. wiss. Mikr.*, 59: 113-130.
- JACOBS, W., 1927, Der Golgische Binnenapparat. Ergebnisse und Probleme. *Erg. Biol.*, 2: 357-415, 6 figs. (siehe hier auch aeltere Literatur).
- JASSWOIN, G., 1925, Zur Histophysiologie der *Tubuli contorti* der Amphibieniere. *Z. Zellf. mikr. Anat.*, 2: 741-765, 19 figs.
- KARPOVA, L., 1925, Beobachtungen ueber den Apparat von Golgi (Nebenkernel) in den Samenzellen von *Helix pomatia*. *Z. Zellf. mikr. Anat.*, 2: 495-514, 1 Taf.
- KOPSCH, F., 1902, Darstellung des Binnennetzes Golgi in spinalen Ganglienzellen und anderen Koerperzellen mittels Osmiumsaeure. *Sitz.-Ber. k. Preuss. Akad. Wiss. Berlin*, 39 (nur im Auszug).
- LARAMBERGUE, M. M., 1929, Étude cytologique de l'autofécondation chez *Limnea auricularia* L. *C. R. Acad. Sci.*, 189: 1027-1029, 6 figs.
- MENDONÇA, H. G., 1952, *Histofisiologia tireoidiana e aparelho de Golgi*. 109 pp., 10 ests., Recife.
- MERTON, H., 1924, Lebenduntersuchungen and den Zwitterdruesen der Lungenschnecken. *Z. Zellenlehre*, 1: 671-687, 8 figs., 1 Taf.
- MERTON, H., 1926, Die verschiedenartige Herkunft des Kinoplasmas der Samenzellen. *Biol. Zbl.*, 46: 656-678, 5 figs.
- MERTON, H., 1930, Die Wanderungen der Geschlechtszellen in der Zwitterdruese von *Planorbis*. *Z. Zellf. mikr. Anat.*, 10: 527-551, 12 figs.
- MEVES, F., 1903, Ueber oligopyrene und eupyrene Spermien etc. an *Paludina* etc. *Arch. mikr. Anat. Entw.*, 61: 1-84, 30 figs., 8 Taf.
- MONNÉ, L., 1938, Ueber Vitalfaerbung des Golgi-Apparates und der ergastoplasmatischen Strukturen in einigen Gastropoden-Zellen. *Protoplasma*, 30: 460-464.

- NASSONOW, D., 1923, Das Golgische Binnennetz und seine Beziehung zu der Sekretion. *Arch. mikr. Anat. Entw.*, 97: 136-186, 3 Taf.; 100: 433-472, 3 Taf.
- NATH, V., 1955, Golgi bodies in the spermatogenesis of pulmonate gastropods. *Nature*, 175: 905-906, 2 figs.
- NATH, V. & GUPTA, B. L., 1956, The morphology and origin of the Golgi bodies and their role in the secretion of the acrosome in the spermatogenesis of pulmonate gastropods etc. *Quart. J. Micr. Sci.*, 97: 369-377, 4 pls.
- PAN, CH., 1958, The general histology and topographic microanatomy of *Australorbis glabratus*. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 119: 237-299, 18 pls.
- PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N., 1955, Observations on the morphology of *Australorbis glabratus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 53: 87-103, 9 figs., 4 pls.
- PERROT, J. L., 1930, Chromosomes et Hétérochromosomes chez les gastéropodes pulmonés. *Rev. Suisse Zool.*, 37, 397-434, 9 figs., 3 pls.
- PERROT, J. L., 1934, A propos du nombre des chromosomes dans les 2 lignées germinales du gastéropode hermaphrodite *Limnea stagnalis* (variété *rhodani*). *Rev. Suisse Zool.*, 41: 693-697.
- PERROT, J. L. & PERROT, M., 1937, La formule chromosomique chez l'*Helix pomatia*. *Rev. Suisse Zool.*, 44: 203-209, 2 figs.
- PERROT, J. L. & PERROT, M., 1938, Sur les chromosomes du genre *Helix* (note). *C. R. Acad. Sci.*, 207: 1005-1006, 1 fig.
- PERROT, M., 1938, Étude de cytologie comparée chez les gastéropodes pulmonés. *Rev. Suisse Zool.*, 45: 487-558, 12 figs.
- PLATNER, G., 1885, Ueber die Spermatogenese bei Pulmonaten. *Arch. mikr. Anat.*, 25: 564-593, 1 Taf.
- PORTER, K. G. & MACHADO, R. D., 1960, Studies on the endoplasmic reticulum. IV. Its form and distribution during mitosis in cells of onion root tip. *J. bioph. bioch. cytol.*, 7: 167-180, 16 pls.
- PROWAZEK, S., 1901, Spermatologische Studien. 1. Spermatogenese der Weinberg-schnecke (*Helix pomatia*). *Arb. Zool. Inst. Wien*. 13. (nur im Auszug).
- SCHITZ, V., 1920, Sur la espermatogénèse chez *Cerithium vulgatum*, *Turitella triplicata* et *Bittium reticulatum*. *Arch. Zool. Exp.*, 58: 489-520, 12 figs.
- SCHRADER, F. & LEUCHTENBERGER, C., 1951, The cytology and chemical nature of some constituents of the developing sperm. *Chromosoma*, 4: 404-428.
- SIEBOLD, E. VON, 1836, Fernere Beobachtungen ueber die Spermatozoen der wirbellosen Tiere. 2. Die Spermatozoen der *Paludina vivipara*. *Mueller's Arch. Anat. Phys. wiss. Med.* (nur im Auszug).
- SJOEVALL, 1906, Ein Versuch, das Binnennetz von Golgi-Kopsch bei der Spermato- und Ovogenese zu homologisieren. *Anat. Anz.*, 28 (nur im Auszug).
- SOKOLOW, I., 1926, Untersuchungen ueber die Spermatogenese bei Arachniden. 2. Ueber die Spermatogenese der Pseudoskorpione. *Z. wiss. Biol.*, B 3: 615-681, 3 Taf.
- ST. GEORGE, VON LA VALETTE, 1857, Ueber die Genese der Samenkoerper II. *Arch. mikr. Anat.*, 3: 263-273, 1 Taf.
- TUPET, O. & CANABIS, Y., 1959, Recherches sur la spermiogenèse des sélaciens etc. *Arch. Zool. Expér. Gén.*, 97: 19-31, 4 figs.
- WATTS, A. H. G., 1952, Spermatogenesis in the slug *Arion subfuscus*. *J. Morphol.*, 91: 53-78, 32 figs.
- WILSON, E. B., 1937, *The cell in development and heredity*. 3rd ed., XXXVII + + 1232 pp., 529 figs.