

Sitzungsberichte

der

mathematisch-physikalischen Klasse

der

K. B. Akademie der Wissenschaften

zu München

1914. Heft I

Januar- bis März-sitzung

München 1914

Verlag der Königlich Bayerischen Akademie der Wissenschaften
in Kommission des G. Franz'schen Verlags (J. Roth)



Das Verhalten der Plastosomen in der Spermatogenese von *Hirudo medicinalis* und *Aulastomum vorax*.

Von **Hermann Schlechtinger**.

Mit 2 Taf.

Vorgelegt von S. Mollier in der Sitzung am 7. Februar 1914.

Einleitung.

Die Angaben in der Literatur über die Spermatogenese bei Hirudineen speziell bei *Hirudo medicinalis* und dem ihm nahe verwandten *Aulastomum vorax* sind äußerst spärlich. Brumpt (1900) hat einige Bemerkungen über den Bau der im Hoden von Hirudineen vorkommenden Zellen gemacht und Leuckart-Brandes (1901) hat die Spermatogenese dieser Tiergattung in seinen „Parasiten des Menschen“ nur in großen Zügen dargestellt. Bei keinem Forscher fanden sich nähere Ausführungen über die Entwicklung und Umgestaltung der einzelnen Zellelemente in der Spermatogenese. Retzius (1904) beschreibt reife Spermien von Würmern; er geht aber nur auf die Polychäten ein, weil diese, wie er sagt, ursprünglichere Formen aufweisen als die Spermien der Oligochäten, Hirudineen und Bryozoen. Um daher einen Einblick in den Bau des Spermiums von *Hirudo* und *Aulastomum* zu gewinnen, war eine genauere spermatogenetische Untersuchung der Hoden dieser Tiere nötig und zwar achtete ich im besonderen auf das Verhalten der Plastosomen bei der Samenentwicklung. Die hierbei erhobenen Befunde sollen nun im folgenden mitgeteilt werden.

Untersuchungsmaterial und Technik.

Als Untersuchungsmaterial dienten mir zweierlei Arten von Hirudineen, nämlich: *Hirudo medicinalis* und *Aulastomum vorax*. Die erste Art wurde von einer hiesigen Blutegelhandlung bezogen, die die Tiere aus einer der großen ungarischen Zuchten geschickt bekam. *Aulastomum vorax* dagegen stammt aus der Umgegend Münchens. Diese Tiere wurden meistens frisch zur Untersuchung eingefangen. Beide Arten wurden aber auch in kleinen Aquarien gehalten, wobei sie, um etwaige Hungereinflüsse auszuschalten, reichlich gefüttert wurden: *Hirudo* erhielt lebende Frösche zum Blutsaugen, *Aulastomum* nährte sich von Regenwürmern. *Hirudo* wurde zu jeder Jahreszeit fixiert, *Aulastomum* hauptsächlich im Frühjahr und Beginn des Sommers, also zur Zeit seiner geschlechtlichen Reife. Die Hoden wurden den lebenden Tieren entnommen und sofort in die Fixierungsflüssigkeiten eingelegt.

Als Fixierungsflüssigkeiten wurden verwendet:

1. Formol 1:10;

2. Zenker-Formol (ohne Eisessig) 1000:5;

3. Regaudsche Fixationen:

R. 5. Kal. bichromat.	3%	80,0
Formol		20,0

R. 4. Formol	10%	
(1—5 Tage)		

Beizung in Kal. bichromat.	3%	
(3—4 Wochen)		

R. 1. Kal. bichromat.	3%	100
kristall. Eisessig		5,0
Formol		20,0
(2—3 Tage)		

Beizung in Kal. bichromat.	3%	
(1 Woche);		

4. Fixation nach Golgi: Arsenige Säure 30%

Formol 20%	30%
Alkohol 96%	30%

5. Fixation nach Benda;
6. Fixation nach Hermann: Platinchlorid, Osmium-S. und Eisessig;
7. Fixation nach Szüts: (1912);
8. Fixation in 10%igem Formol auf 60° erhitzt, dann 24 Stunden darin belassen bei Zimmertemperatur und weiter behandelt nach der Bendaschen Methode.

Die Objekte wurden dann in üblicher Weise weiterbehandelt und möglichst vorsichtig und schonend durch Zwischenschalten von Äther-Chloroform, Chloroform und Chloroform-Paraffin in Paraffin eingebettet. Die Schnittdicke betrug 2—5 μ . Es wurden Einzelschnitte und kleine Serien von 6 Schnitten angefertigt.

Außerdem fixierte ich im weiteren Verlauf meiner Untersuchungen, um eine möglichst rasche und intensive Durchdringung der Hodenzellen mit der Fixationsflüssigkeit herbeizuführen, in der Art, daß ich die Hodensäckchen in der Fixierungsflüssigkeit mit einer Nadel zerriß, so daß ihr Inhalt nun frei in der Flüssigkeit schwamm. Durch Zentrifugieren und vorsichtiges Abschütten der Flüssigkeiten vom Sediment brachte ich die Präparate bis zum Paraffin.

Schließlich habe ich auch noch die Samenblasen der Tiere im ganzen fixiert und habe auch Ausstrichpräparate von ihnen gemacht zum Studium der reifen Spermien.

Beim Gebrauch der verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten ließen sich folgende Beobachtungen und Erfahrungen gewinnen:

Ein außerordentlich gutes Präparat erhielt ich durch die einfache Fixation mit 10%igem Formol, ohne jede Beizung mit Chromsalzen, und es bestätigt die auch von B. Romeis bei Askarisspermien gemachte Beobachtung, daß zur Darstellung der Plastosomen wenigstens in der Samenzelle eine Beizung mit Chromsalzen, wie Regaud annimmt, nicht unbedingt erforderlich ist.

Als wenig geeignet für unser Objekt erwies sich die Goltgische, oben näher angegebene Fixierungsflüssigkeit; es war damit nicht ein einziges brauchbares Präparat zu erhalten.

Sehr gute Resultate ergaben die Anwendung von Zenker-Formol und die verschiedenen Regaudschen Methoden. Ich zog diese Fixationen der Bendaschen im allgemeinen vor, da sie gleichmäßiger fixierten, während ich bei der Osmierungsmethode Bendas oft eine nicht zureichende Durchdringung des Präparates mit der Fixationsflüssigkeit (wohl infolge des starken Eiweißgehaltes der Hoden) und andererseits eine nicht unbedeutliche Schrumpfung der Stücke beobachten konnte.

Für die Fixation der Ausstrichpräparate verwandte ich außer den eben angegebenen Fixierungen noch die von Retzius mitgeteilte Fixierung in Osmiumdämpfen und eine ähnliche von Dingler (1910) veröffentlichte Methode der Fixation mit Osmiumdämpfen.

Gefärbt wurde bei den Fixationen, die lediglich auf die Darstellung der Plastosomen hiezieten, mit Regaudschem Eisenhämatoxylin und der Bendaschen Mitochondrienfärbung, mit Kristallviolett. Die klarsten und übersichtlichsten Bilder ergab die Regaudsche Eisenhämatoxylinfärbung. Die Bendasche Methode führte ebenso zum Ziele und gab mit Kristallviolett gefärbt Bilder, die mit den Eisenhämatoxylinpräparaten durchaus übereinstimmten.

Die von Szüts (1912) angegebene Modifikation der Benda-Kristallviolettfärbung wurde auch versucht und lieferte brauchbare Bilder, ohne jedoch einen wesentlichen Vorteil vor der ursprünglichen Methode vorauszuhaben.

Gänzlich versagte beim vorliegenden Objekt die Schulzesche Stückfärbung, die sich selbst bei einer Schnittdicke von 2μ noch als zu unscharf und diffus gefärbt erwies, als daß man Einzelheiten hätte deutlich unterscheiden können.

Da sich nach den Angaben von Laguesse (1912) mit Janusgrün eine vitale Färbung der Plastosomen erzielen läßt, wurde auch dies versucht. Es stellte sich aber heraus, daß die Farbe nur wenig angriff und die Plastosomen nicht deutlicher hervortraten, als man sie schon ohne Färbung an frischen Präparaten beobachten konnte.

Bei dem Studium des reifen Samenfadens färbte ich die Ausstrichpräparate außer nach den oben aufgezählten Färbmethoden noch nach der von Retzius angegebenen Art mit Rosanilin und erzielte nach Überwindung einiger Schwierigkeiten gute, mit den anderen Präparaten übereinstimmende Bilder.

Schließlich wurden noch zur vergleichenden Feststellung der Kernstrukturen Sublimatfixationen gemacht (gewöhnliches Sublimat und das Lenhosseksche Gemisch), die mit Ehrlich-Biondi gefärbt außerordentlich klare Bilder ergaben. Auch das Ehrlichsche Hämatoxylin wurde zur Kernfärbung oft mit bestem Erfolge angewandt.

Zur Vervollständigung der Beobachtungen wurden dann noch Kochsalzmazerationen von Spermien angefertigt und zur Feststellung des Fett- und Glykogengehaltes der Zentralkugeln wurden auch in dieser Hinsicht Präparate nach den von Best angegebenen Methoden und Osmiumschwärzung und Sudanfärbung verfertigt.

Untersuchungen.

Brandes (Leuckart-Brandes 1901) schreibt: „Wählt man ganz junge Blutegel zur Untersuchung, so findet man in der Hodenflüssigkeit einzelne größere Zellen, die wir als Spermamutterzellen aufzufassen haben und deren Abstammung vom Cölomepithel wir in einem späteren Kapitel verfolgen werden.“ Da ich leider keine ganz kleinen Tiere zur Untersuchung bekommen konnte, war es mir nicht möglich, einen derartigen Befund zu erheben, vielmehr habe ich als die jüngsten Zellen immer schon Gruppen von fünf bis sechs Zellen angetroffen, die bereits einen deutlichen syncytialen Charakter trugen. Es sind dies also Stadien, die bereits ein bis zwei Teilungen von der Mutterzelle entfernt sind.

Ein solches junges Entwicklungsstadium stellt Fig. 1 dar. Wir sehen Zellen mit einem großen Kern und nicht eben sehr reichlichem Protoplasma. Der Kern ist bläschenförmig, oft etwas oval, mit einer feinen, gut sichtbaren Kernmembran

umgeben; sein Inneres ist sehr hell und das Chromatin ist mit der hier angewandten Regaudschen Eisenhämatoxylinfärbung infolge der vorangegangenen Beizung mit Chromsalzen überhaupt nicht mitgefärbt. Mit Ehrlichschem Hämatoxylin färbt es sich blaßviolett und man sieht es in Form von kleinen, gleichmäßig verteilten Körnchen innerhalb der Kernmembran liegen. Dagegen ist mit allen Methoden der relativ große Nukleolus leicht darzustellen. Im allgemeinen ist in jedem Kern nur einer vorhanden. Ich habe aber hie und da auch zwei wahrgenommen. Seine Lage im Kern ist ganz verschieden, in der Mitte oder mehr am Rande. Er stellt ein kleines, meist rundliches, schwarz gefärbtes Bläschen dar.

Das Protoplasma der Zelle ist oft in seiner Grundsubstanz etwas dunkler gefärbt als das Kernplasma; eine feine Zellmembran schließt die Zellen nach außen ab, und man sieht in der Abbildung deutlich, wie die Membran einer Zelle in die der anderen übergeht, im Innern fehlt, und die Zellen so ein Syncytium bilden. Die Plastosomen finden sich nicht sehr zahlreich vor, doch sind sie wohl charakterisiert. Ihre Verteilung in den Zellen ist noch regellos, ohne ein deutlich erkennbares Prinzip. Sie sind bei Regaud-Präparaten schwarz gefärbt und haben die Form von kleinen, geschwungenen Fäden. Oft überkreuzen sich diese Plastokonten und können so den Eindruck eines korbartigen Geflechtes hervorrufen. Bei genauer Untersuchung läßt sich aber feststellen, daß sie miteinander nicht in Verbindung treten und von einem etwa fädigen Netzwerk habe ich mich nie überzeugen können.

In Fig. 2 ist nun eine Zellgruppe von der Größe und dem Typus der eben beschriebenen Spermatogonien in der Teilung dargestellt. Nukleolus und Kernmembran sind verschwunden; das Chromatin ist jetzt der weitaus am stärksten färbbare Bestandteil der Zelle geworden, und bleibt auch noch lange schwarz gefärbt, wenn man die Plastosomen durch weitergehende Differenzierung schon entfärbt hat. Zufällig liegt die Schnittebene in diesem Präparat so, daß die beiden Polkörper mit den Spindelfäden nicht sichtbar geworden sind, denn ich

habe dieses Präparat mehr der Plastosomen wegen abgebildet, auf deren Verhalten es mir besonders ankam. Die Teilung ist aus dem Stadium der beginnenden Metaphase, die Chromosomen haben eben die beiden noch ganz dicht nebeneinanderliegenden Tochterplatten gebildet. Die Plastosomen haben ihre Gestalt und Lage wesentlich geändert. Sie sind kleiner geworden und haben sich zu ganz kurzen Stäbchen und Körnern umgebildet. Das Gebiet der Spindelfäden ist frei von ihnen. Und je mehr die beiden Polkörper auseinanderrücken, um so mehr verdrängt die Strahlung mit ihren Spindelfäden die Plastosomen, so daß diese schließlich, wie aus Fig. 2 zu sehen ist, sich in zwei kleinen Halbmonden um die beiden Spitzenenden der Äquatorialplatte gruppieren. Dieser Befund stimmt nun mit den von Depdolla (1906) am Hoden des Regenwurms gemachten Beobachtungen überein, und ich kann die Vermutungen, die er über das Verhalten der mit der Mitochondrien beim weiteren Verlauf der Mitose ausgesprochen hat, mit meinen Beobachtungen bei *Hirudo* und *Aulastomum* bestätigen.

Wenn wir auch in Fig. 3 eine Gruppe von Spermatogonien vor uns haben, die vielleicht schon um eine Entwicklungsstufe weiter ist als die oben beschriebenen Zellen, so ist doch sicherlich der Teilungsvorgang im Prinzip bei ihr derselbe, und es ist daher erlaubt, sie in diesem Zusammenhang zu besprechen. Wir sehen in dieser Figur den syncytialen Charakter der Zellen noch deutlicher ausgeprägt wie auf Fig. 2 und zwar besonders deutlich dadurch, daß wir hier eine mittlere, allen Zellen gemeinsame protoplasmatische Masse vorfinden. Die Zellen stehen in der zweiten Hälfte der Mitose, die beiden Tochterplatten sind bereits auseinandengerückt und liegen in den äußeren Enden der etwas ausgezogenen Zellen. Die beiden in Fig. 2 dargestellten halbmondförmigen Gruppen von Plastosomen aber haben sich zu einer Straße vereinigt, die zwischen den Tochterplatten verläuft. Die Form der Plastosomen ist dieselbe geblieben; kleine Körnchen und ganze kurze Stäbchen. Diese Straße aber liegt genau an der Stelle, wo sich dann die beiden Zellen bis zu dem zentral gelegenen Protoplasma voneinander

abschnüren, so daß dadurch dann auch eine gleichmäßige Verteilung der Plastosomen auf die beiden Tochterzellen erreicht wird.

Da sich aber das Protoplasma dieser Zellen einer Gruppe nicht ganz durchteilt, sondern das zentral gelegene, allen Zellen gemeinsame Protoplasma die ihm angehörenden Zellen dauernd zu einer Entwicklungseinheit zusammenhält, liegen in ihm auch die Plastosomen schon auf diesen frühen Stadien anders gruppiert wie in den Samenbildungszellen selbst. Es hat nämlich schon hier — später drängt sich diese Anschauung noch viel intensiver auf — den Anschein, als sei die Zahl der Plastosomen größer als für den Aufbau der Zellen nötig ist. Man sieht nämlich, daß sich bei der Mitose die oben beschriebene Straße der Plastosomen in das die Zellen zusammenhaltende Protoplasma hinein fortpflanzt, daß die Plastosomen dort weitaus zahlreicher und regelloser durcheinanderliegen und besonders dicht gehäuft sind an der Stelle, wo sich die Spermatogonien gegen das Zentralprotoplasma mit einer leichten Abschnürung abzusondern beginnen. Dieses Zentralprotoplasma ist der Beginn der Bildung des Cytophors.

Da nun ohne eine kurze Betrachtung über die Entstehung des Cytophors eine weitere Beschreibung der Entwicklung der Plastosomen nicht gut möglich ist, soll diese hier eingeschoben werden.

Der Cytophor ist gerade bei niederen Tieren eine ziemlich häufige Erscheinung in der Spermatogenese. Wenn nun auch über seine Entstehung die Ansichten sehr weit auseinandergehen und sich widersprechen, so ist man sich doch darüber stets einig gewesen, daß der Cytophor als eine Nährzelle anzusehen ist, und somit der Rachis der Nematoden und der Versonschen Zelle der Insekten, schließlich auch den ernährenden Basalzellen, die bei Mollusken beobachtet wurden, funktionell gleichzusetzen ist. Beim Cytophor hat es sich bisher nun immer darum gehandelt, festzustellen, ob er durch zu Grunde gehende Zellen entsteht, also ursprünglich kernhaltig ist, oder ob er nur aus dem Protoplasma der ihm ansitzenden Samenzellen gebildet wird. Eine der letzten Beobachtungen, die dar-

über gemacht worden sind, sind die von Depdolla (1906) gelegentlich der Spermatogenese des Regenwurmes. Er hat gefunden, daß die jungen Spermatogonien sich um eine der außer den Samenzellen noch im Hoden vorhandenen, von ihm als interstitielle Zellen bezeichneten kleinen kernhaltigen Zellen in radiärer Anordnung gruppieren und mit diesen verschmelzen; allmählich zerfällt dann der Kern der zentralen Zelle und sie wird so zum Cytophor umgewandelt. Eine ähnliche Entstehungsweise des Cytophors geben Shinkishi-Hatai (1900) bei *Limnodrilus Gotai* und *Vermiculus limosus* und Jensen (1883) für *Clitellio arenarius* für Tubificiden an, sie sagen nämlich, daß die im Innern einer Spermatogoniengruppe gelegenen Spermatogonien zerfallen und so den später kernlosen Cytophor liefern. Dazu im Gegensatz stehen die von Bloomfield (1880) und Nasse (1882) erhobenen Befunde, daß der Cytophor bei Tubificiden nur aus Cytoplasma besteht, das von den Spermatogonien nach der Mitte hin abgegeben ist und von vornherein kernlos ist. Doch zweifelt Depdolla diese Befunde an und führt die falschen Resultate dieser Forscher auf die primitive von ihnen verwandte Zupfmethode zur Darstellung des Cytophors zurück. Bei Cephalopoden hat Thesing (1904) die Beobachtung gemacht, daß dort, wie er sich ausdrückt, in einem Kampf ums Dasein Spermatogonien zerfallen und von anderen Spermatogonien als Nährzellen benutzt werden und so einen sekundären Cytophor bilden.

Man sieht aus diesem kurzen Referat einiger Untersuchungen über die Entstehung des Cytophors, daß unter diesem Namen eine Reihe ganz verschieden entstandener Gebilde zusammengefaßt werden, und zwar wohl vor allem infolge der großen Verschiedenartigkeit der Tierarten im allgemeinen, bei denen ein Cytophor beobachtet wurde. Nur darin sind alle Autoren einig, daß er den Zweck einer Nährzelle hat.

Was den Cytophor bei *Hirudo* und *Aulostomum* anlangt, so stellt Leuckart-Brandes (1901) lediglich fest, daß die späteren Entwicklungsstadien der Samenbildungszellen einer hellen Zentralkugel von protoplasmatischer Beschaffenheit an-

sitzen; über die Entstehung dieser Zentralkugel äußert er sich nicht. Brumpt (1900) wagt nicht zu entscheiden, ob die Zentralkugel aus einer zu Grunde gegangenen Zelle oder aus von Zellen ausgeschiedenem Protoplasma hervorgegangen ist; andere Beobachtungen konnte ich in der Literatur über die von mir untersuchten Tiere nicht finden.

Ich habe nun meine Serienschritte genau durchgemustert, habe begonnen bei einzelnen Zellgruppen, wo von einem Cytophor noch gar nichts zu sehen war und sie durch die Serie hindurch verfolgt, habe dann etwas weiter entwickelte Stadien zum Beispiel von dem oben beschriebenen Typus, bis zu Stadien mit wohl entwickeltem Cytophor sorgfältig Schritt für Schritt verfolgt, so daß mir kein etwa im Innern der Kugel liegender Zellkern oder dessen Reste entgehen konnten. Ich habe sowohl Präparate mit spezifischer Kernfärbung (Ehrlichsches Hämatoxylin und Ehrlich-Biondische Mischung) wie auch mit Regaudschem Eisenhämatoxylin und Kristallviolett gefärbter Präparate auf diese Weise untersucht. Bei *Hirudo* und *Aulostomum* wurde nie ein Kern oder ein Kernrest im Cytophor angetroffen. Wie aber wird nun der Cytophor von den jungen Samenzellen allmählich gebildet?

Die allgemeine Erklärung findet man sehr einfach durch den Vergleich der Größe des Cytophors in den verschiedenen Entwicklungsstufen der Spermatogenese mit der Größe der Samenzellen. Und da hat Leuckart-Brandes festgestellt, daß die Größe der Zellen zur Größe des Cytophors im umgekehrten Verhältnis steht, d. i. in demselben Maße, wie die Zellen an Größe verlieren, wächst der Cytophor oder die Zellen geben von ihrem Protoplasma an den Cytophor ab und bilden ihn so. Es findet also ein ständiger, langsam sich abspielender Prozeß statt, der das Protoplasma der Samenzellen vermindert und nach einer zentralen, für die Samenentwicklung sich zum Schluß als indifferent erweisende Masse eben dem Cytophor transportiert. Diese Auffassung der Entstehung wurde nun noch dadurch wesentlich gestützt, als ich sah, daß nicht nur das Protoplasma in den Cytophor hineinwandert, sondern mit

ihm auch ein großer Teil der in ihr liegenden Plastosomen, und als ich feststellen konnte, daß eben diese Plastosomen im Cytophor angelangt alsbald ihre regelmäßige Form von kleinen, kurzen Stäben aufgaben und begannen, zu unregelmäßigen Körnern zu zerfallen, die dann wieder zu größeren Brocken zusammenbacken und so mannigfache degenerative Formen annehmen, wie sich aus allen Bildern, bei denen ich den Cytophor mitgezeichnet habe, ersehen läßt. Und gerade dieser letzte Punkt, daß ich im Cytophor immer nur degenerative Formen der Plastosomen gesehen habe und die wohlausgebildeten Plastosomen sich immer in der Samenzelle fanden, ist mir als ein wesentlicher Grund erschienen, die Behauptung, daß das Protoplasma von den Samenzellen nach der Mitte hin ausgeschieden wird, zu befestigen.

Außer dieser erörterten fortwährenden Protoplasmaabgabe der Samenzellen kommt aber nun noch ein zweiter Faktor in Betracht, der wesentlich und zwar besonders im Sinne eines formbestimmenden Einflusses für den Cytophor ist. Das ist die Mitose der Samenzellen. Brumpt (1900) hat nun schon im allgemeinen als ein wichtiges Charakteristikum einer Zellgruppe festgestellt, daß alle Zellen einer Gruppe sich gleichzeitig teilen. Als zweites kommt aber noch die Art hinzu, wie sich die Mitosen zur Zentralkugel einstellen, und da eine genauere Untersuchung der Samenzellen bei der Mitose von *Hirudo* und *Aulostomum* noch nicht vorliegt, so konnte dieser, wie ich glaube, wesentlich zum Verständnis der Entstehung des Cytophors beitragende Vorgang auch noch nicht dargestellt werden. Es ist nämlich aus Fig. 3 deutlich zu ersehen, daß die Querachsen der Mitosen in einem ganz bestimmten Sinne angeordnet sind und zwar so, daß sie einen Stern bilden, dessen Mitte der Mittelpunkt des zu bildenden Cytophors ist. Nun teilen sich die Zellen in diesem Sinne durch, aber, wie schon oben beschrieben, nicht vollkommen zu selbständig nebeneinanderliegenden Tochterzellen, sondern sie schnüren sich nur in ihrem peripheren Teil voneinander ab. So wird durch diese beiden Momente: Die Gleichzeitigkeit der Teilung bei einer

Gruppe und die strahlenförmige Achsenanordnung der Mitosen bei nicht vollständiger Durchteilung ein kugelförmiges Zentrum geschaffen, dem alle Zellen in der gleichen Weise ansitzen. Schließlich kommt noch hinzu, daß die Samenbildungszellen frei in der Hodenflüssigkeit umherschwimmen, also von irgendwelchen sie umgebenden Geweben zunächst kein sie in ihrer Form irgendwie beeinflussender Druck ausgeübt werden kann, so daß die Kugel auch als einfachste und zweckmäßigste physikalische Form bedingt ist. Erst bei späteren Entwicklungsstadien, möchte ich hier der Vollständigkeit halber gleich erwähnen, wenn sich die schon langen Schwänze der Samenfäden schopffartig zusammenlegen, habe ich oft eine wohl dadurch entstandene ovale Form des Cytophors wahrgenommen, oder ich habe gesehen, daß ein Hodensäckchen im Stadium der Reife derart angefüllt war, daß sich die einzelnen Cytophore gegeneinander bienenwabeförmig abplatteten.

Zum Schlusse dieser Darstellung, der Entstehung und Art des Cytophors, möchte ich nun noch die Frage aufwerfen, ob man bei *Hirudo* und *Aulastomum* den Cytophor wirklich als eine Nährzelle aufzufassen hat, wie es alle anderen Beobachter bei anderen Tiergruppen und auch bei Würmern nach ihrem Befunde getan haben. Bei allen Cytophoren, die aus zu Grunde gegangenen Zellen entstanden sind, sei es nun eine Spermatogonie oder eine interstitielle Zelle, ist ja diese Erklärung die nächstliegende und gegebene. Im vorliegenden Falle haben wir aber gesehen, daß die Spermatogonien selbst erst den Cytophor gebildet haben, indem sie Protoplasma dauernd abgeben, und daß der Cytophor immer mehr wächst, je kleiner die Zellen werden. Es erscheint zum mindesten nicht unwahrscheinlich, daß sich die Samenzellen der Substanz als Nahrung bedienen, deren sie sich erst entledigt haben. Außerdem kommt hinzu, daß ja der ganze Hoden von einer eiweißartigen Flüssigkeit angefüllt ist, in der die Samenzellen schwimmen. Wäre es unter diesen Umständen nicht näherliegend, anzunehmen, daß diese die ernährende Flüssigkeit ist? Und endlich finden sich in dieser Flüssigkeit noch andere Zellen, die vielleicht als eine

Art interstitielle Zellen anzusehen sind (Fig. 38 stellt eine solche dar), bei denen ich sehr oft einen deutlichen Kernzerfall und daran sich anschließende Auflösung der ganzen Zelle wahrnehmen konnte, so daß dadurch die Nährflüssigkeit auch noch bereichert wird. Wenn wir nun noch in Betracht ziehen, daß das Protoplasma des Cytophors, wie schon erwähnt wurde, immer Degenerationserscheinungen zeigt, was zunächst an der Form der Plastosomen zu sehen ist, später aber durch größere Fettvakuolen noch deutlicher wird, so kommt es mir viel näher liegend vor, den Cytophor bei meinen Untersuchungsobjekten als einen Stapelplatz der Abbauprodukte der bei der Samenentwicklung aufgebrauchten und überflüssig gewordenen Stoffe zu betrachten, als ihm die Funktion einer Nährzelle zuzuschreiben.

Wenn wir jetzt zur Beschreibung der Spermatogenese wieder zurückkehren, so begegnen wir in Fig. 5a einem Stadium mit deutlich ausgebildeter Zentralkugel. Die Samenzellen sitzen mit schmalen protoplasmatischen Stielen dem Cytophor an. Ihre Form ist rundlich, der Kern ist groß und hell, mit deutlich tingiertem Nukleolus. Im Protoplasma sehen wir wieder die Plastosomen. Ihre Form weist keine wesentliche Veränderung auf. Die Verteilung ist aber insofern bemerkenswert, als man deutlich wahrnehmen kann, daß sie am dichtesten an der Stelle angehäuft sind, wo sich die Zelle verjüngt und mit ihrem engen Stiele dem Cytophor ansitzt. Der Stiel selbst ist auch von ihnen angefüllt und im Cytophor liegen sie dann regellos, hier mehr in seinem peripheren Teile, durcheinander. An den im Cytophor gelegenen Plastosomen kann man, was oben schon erwähnt wurde, bereits gewisse Degenerationserscheinungen beobachten: die Plastosomen haben die Tendenz aufzuquellen, sie backen zu größeren Haufen und Kugeln zusammen, ihre Form wird plumper und unregelmäßiger. Während die Zahl der Plastosomen im Cytophor und in dem ihm zunächst gelegenen Abschnitt der Samenzelle in diesem Entwicklungsstadium sehr groß ist, bleibt die Menge und Form der Plastosomen in der oberen um den Kern der Zelle ge-

liegenden Protoplasmaschicht ziemlich konstant und erfährt erst nach den Reifungsteilungen größere Veränderungen. Fig. 5 b zeigt Zellen von dem gleichen Charakter wie Fig. 5 a, nur ist der Cytophor hier in seinem größten Durchmesser skizziert worden.

Spermatocyten und Spermien.

Ich habe mich lange bemüht, irgend ein Charakteristikum einer Reifungsteilung zu entdecken, um so mit Sicherheit Spermatocyten erster und zweiter Ordnung festzustellen, es ist mir aber infolge der Kleinheit der Zellen und damit entstehenden Unmöglichkeit die Chromosomen zu zählen, nicht geglückt. Es blieb mir daher nichts anderes übrig, als wie Depdolla vorzugehen; er schreibt: „Bei der letzten Teilung der Samenzellen liegt das Chromatin in stark gefärbten Chromosomen so dicht zusammen, daß eine Unterscheidung seiner Komponenten mir nicht möglich war, ich definiere die betreffenden Mitosen, die ich in Fig. 23 dargestellt habe, als die letzten, also die der Reifungsteilung nur, indem ich die Beschaffenheit des Cytophorplasmas, die Zahl und endlich die Größe der sich teilenden Zellen in Betracht ziehe.“ Ich kann höchstens noch als ein weiteres Charakteristikum die beginnende Umgestaltung der Plastosomen hinzufügen. So stelle ich fest, daß die in Fig. 5 c skizzierte Mitose die kleinste ist, die ich habe entdecken können und ich sie also für eine zweite Reifungsteilung halte und zwar für eine Mitose von Zellen, wie sie Fig. 5 a und b zeigen. Außerdem wurde die Größe des Cytophors an Serienschnitten verfolgt, so daß die beiden Bilder 5 b und 6 jeweils die größten Durchmesser ihrer Kugel darstellen. Eine Zählung der ansetzenden Zellen ergibt nun, daß Fig. 6 nahezu genau die doppelte Anzahl Zellen aufweist wie Fig. 5, also eine Mitose zwischen ihnen liegen muß, so daß Fig. 6 bereits junge Spermatozoiden darstellt. Auch das Verhalten der Plastosomen in den Fig. 7, 8 und 9 weist darauf hin, daß dieses Stadium bereits hinter der zweiten Reifungsteilung liegt. Auf diesen Bildern sehen wir, wie Plastosomen zusammenwandern und allmählich

verklumpen, so daß schließlich die Form des einzelnen Plastosoms überhaupt nicht mehr erkannt werden kann, sondern die Plastosomen jetzt eine einheitliche Kappe oder schalenförmige Masse darstellen, die dem rundlichen Kern aufsitzt. Bei den hier untersuchten Präparaten ist der Kern der hellste Teil der Zelle und durch einen kleinen Nukleolus unzweifelhaft als solcher charakterisiert. Im Cytophor finden wir eine große Menge der verschiedensten Degenerationsstadien von Plastosomen; wir sehen sie aber in keinem der Verbindungsstiele mehr, ein Zeichen, daß die Abgabe von Plastosomen nach der Mitte wohl aufgehört haben muß. Die Kappenform des Plastosomenapparates ist bei direktem Untersuchen des Präparates durch Drehen an der Mikrometerschraube weitaus leichter und sicherer festzustellen gewesen, als ich es in der Zeichnung durch den verschiedenen Sitz und die Dicke des schwarzen Ringes und eine teilweise Zudeckung des Kernes habe andeuten können. Wir haben es also hier mit der Bildung eines Plastosomenkörpers zu tun, wie er ähnlich nach der zweiten Reifungsteilung schon von Vejedwsky, ferner Duesberg, Meves u. a. beschrieben und von ersterem als Chondriom bezeichnet wurde.

Beim Studium der weiteren Umbildung dieses Körpers, seinen Beziehungen zu Kern und Centrosomen stieß ich nun bei *Hirudo medicinalis* auf die größten Schwierigkeiten; denn die Zellen nähern sich bei ihrer weiteren Entwicklung immer mehr der Fadenform, so daß die Beobachtung der in ihnen liegenden Bestandteile immer schwieriger wurde und eine sichere Entscheidung fast unmöglich zu sein schien. Ich untersuchte deshalb in der Hoffnung, vielleicht durch Vergleichung in meinen Beobachtungen zu sichereren Resultaten zu kommen, die Hoden von *Aulastomum vorax* zur Zeit ihrer geschlechtlichen Reife und fand die Samententwicklung dieses Tieres in allen Punkten mit *Hirudo* völlig übereinstimmend, so daß sie mir meine Befunde bei *Hirudo* bestätigten. Zugleich aber stellte sich heraus, daß die Zellen in ihrer ganzen Entwicklungsreihe ungefähr die doppelte Größe der entsprechenden

Samenzellen von *Hirudo* hatten und dieser Umstand ermöglichte es mir, an diesen Zellen mit Sicherheit alle weiteren Differenzierungsvorgänge des auswachsenden Spermiums zu studieren und dann wieder vergleichend dieselben Vorgänge auch bei *Hirudo* in viel kleinerem Maßstabe, aber in ganz der gleichen Weise zu sehen.

Die weiteren Zeichnungen stammen daher zum größten Teile von *Aulastomum vorax* und sind der größeren Deutlichkeit wegen linear noch um das Doppelte vergrößert worden. Den Cytophor habe ich von hier ab nicht mehr mitgezeichnet, da er immer dieselben Verhältnisse aufweist und sich ja unser Interesse wesentlich auf die weitere Umbildung der Zellen erstreckt.

Wir sehen also in Fig. 10 bereits die den letztbeschriebenen Stadien von *Hirudo* sehr rasch folgende nächste Entwicklungsstufe. Die Zelle hat noch ungefähr dieselbe Form und Größe beibehalten. Der Kern erscheint im ganzen hell und enthält noch einen deutlichen Nukleolus, der nur zufällig auf den beiden in Fig. 10 und 11 abgebildeten Schnitten nicht getroffen ist, während er auf Fig. 12 wieder dargestellt wurde. Das Chromatin färbt sich nach E. H. und bildet einzelne Brocken und Körner, das Zellprotoplasma ist von gleichmäßiger Beschaffenheit und umgibt den Kern in deutlich wahrnehmbarer, ziemlich breiter Zone. Die auffallendste Veränderung hat die aus den Plastosomen hervorgegangene Kappe durchgemacht. Sie hat sich in zwei dunkel gefärbte Kugeln geteilt. Von der größeren geht bereits ein blasser, kaum gefärbter feiner Schwanzfaden aus. Man sieht besonders an der kleineren Kugel, daß ihr Inneres heller ist als die umhüllende Schale. Außerdem zeigt sich aber an dem Ende, wo der Schwanzfaden die größere Plastosomenkugel verläßt, ein kleiner, von ihr deutlich abgegrenzter, mit dem Faden in Verbindung stehender, schwarzer Knopf, der sich durch Vergleichung mit den späteren Entwicklungsstadien als das distale Centrosom erweist, wobei ich proximal als den dem Cytophor am nächsten gelegenen Teil der Samenzelle distal das auswachsende Schwanzstück definiere.

Das proximale Centrosom bekommen wir auf diesem Bilde noch nicht zu sehen, da es noch im Innern der Plastosomenkugel verborgen durch ihre dunkle Farbe verdeckt wird. Unter Beibehaltung der Kugelform der Zelle bilden sich jetzt in rascher Folge die inneren Bestandteile der jungen Spermatide so um und gruppieren sich so, wie sie dann beim weiteren Auswachsen und der Streckung des Spermiums zu finden sind. Die eine Plastosomenkugel rückt gegen den Cytophor des Spermiums zu und aus der anderen sehen wir den Faden mit dem proximalen Centrosom hervortreten, auf Fig. 13 schon deutlich ein Stück von den Plastosomenhaufen entfernt. Wie weit nun der Verbindungsfaden der beiden Centrosomen mit dem nunmehr allein noch distal gelegenen Plastosomenhaufen in Berührung steht, durch ihn hindurchgeht oder ihm nur aufliegt, konnte ich nicht feststellen. Jedenfalls ist sicher, daß das distale Centrosom immer in unmittelbarer Nähe dieser Plastosomenkugel angetroffen wird. Die nächste Figur zeigt genau dieselben Verhältnisse, nur ist das proximale Centrosom noch weiter mit seinem feinen Faden nach dem Stielende der Zelle zugerückt. Hat es auf diesem Bilde den Anschein, als ob der Faden direkt durch den Kern hindurchginge, so ist das doch nur ein Aufliegen auf der äußeren Kernwand, wie ja auch aus dem etwas früheren Stadium von Fig. 13 hervorgeht und von mir bei vielen anderen Bildern direkt beobachtet wurde. Der feine kaum färbbare protoplasmatisch helle Schwanzfaden ist auf dieser Figur sehr bald aus der Schnittebene herausgetreten und deshalb nur ein so kurzes Stück eingezeichnet worden.

Hat sich die Zelle nun soweit umgebildet, so beginnt die Streckung und allmähliche Ausbildung des Samenfadens. Fig. 15 zeigt ihren Anfang. Der ganze Zelleib hat eine längsovale Form angenommen. Der Kern ist dieser Veränderung noch nicht so rasch gefolgt; infolgedessen ist die ihn umhüllende Plasmazone weitaus schmaler geworden, und an den beiden Zellenden wird sie fast ganz von den zwei wie Kissen dem Kern aufsitzenden Plastosomenkörper eingenommen. Im Kern selbst macht sich eine Weiterentwicklung insofern bemerkbar,

als seine Färbbarkeit mit E. H. auf diesem Entwicklungsstadium sehr rasch zunimmt. Die Chromatinbrocken werden größer und verdichten sich rasch, so daß der Kern bereits auf der folgenden Figur den Eindruck einer im ganzen dunkel gefärbten Blase macht, deren Inneres noch etwas heller durch die dunkel gefärbte, aus einzelnen groben Chromatinbrocken bestehende Schale hindurchschimmert. Auf diesem Stadium der Chromatinverdichtung des Kernes wird nun von vielen Autoren (z. B. Depdolla) ein Abheben der Kernmembran dargestellt, so daß die dichte, schwarze Chromatinmasse noch von einer hellen, schmalen Außenzone umgeben ist, ehe die wieder dunkel gefärbte Kernmembran ihn im ganzen gegen das Zellplasma abgrenzt. Ich habe dieses Phänomen auf keinem meiner Präparate von *Hirudo* und *Aulastomum* auftreten sehen und habe eher im Gegenteil festzustellen, was auch aus meinen Abbildungen hervorgeht, daß sich das Chromatin bei seiner Verdichtung direkt der Kernmembran aufzulegen scheint, und im Innern noch eine Zeitlang eine hellere Zone freibleibt. Ein Abrücken des Chromatins vom Kernmembran würde jedenfalls bei *Hirudo* und *Aulastomum* auf die Rechnung einer durch die Fixierung hervorgerufenen Flüssigkeitsentziehung zu setzen sein.

Die folgenden Abbildungen schildern nun die allmähliche Ausziehung des Kernes zum Kopfstück des fertigen Spermiums und gleichzeitig die Umbildungen und Lage der beiden Plastosomenkörper und der Centrosome. Der dunkler gewordene Kern bleibt, wie wir aus Fig. 16 sehen, immer in unmittelbarer Nähe des distalen Plastosomenkörpers. Der ganze Zellleib wird gegen dieses Ende zu immer schlanker, so daß das Protoplasma der Zelle an diesem Ende immer spärlicher wird und Kern und Plastosomenkörper immer enger von der Zellwand umschlossen werden, bis sie schließlich ganz mit ihr zu verwachsen scheinen. Daß der Kern aber immer von einer, wenn auch noch so feinen protoplasmatischen Hülle umgeben ist, konnte ich bei einem nach Ehrlich-Biondi gefärbten Präparate dadurch feststellen, daß um den grün gefärbten, schon ziemlich lang ausgestreckten Kern ein feiner, deutlich rot ge-

färbter, protoplasmatischer Saum zu sehen war, der sich bis vor zum Plastosomenkörper (dieser war etwas dunkler rot gefärbt als das übrige Plasma) erstreckte. Die Form des Kernes geht von Fig. 15 bis Fig. 19 allmählich in eine eiförmige Gestalt und von dieser wiederum in noch länger ausgezogene, hie und da auf dem Schnitt mehr birnförmig erscheinende Form über. Dabei nimmt die Intensität der Färbbarkeit mit E. H. ständig zu und man kann wahrnehmen, wie sein distaler, bereits mehr länglicher Teil schon völlig homogen schwarz erscheint, während man in seinem anderen kolbigen Ende auf dem dunklen Grunde einzelne, noch dunkler gefärbte Chromatinschollen erkennen kann. In dem Maße, wie sich der Kern streckt und auszieht, läßt er aber in dem ihm entgegengesetzten proximalen Zellstück einen hellen, protoplasmatischen Teil zurück, indem sich nun die in ihm liegenden Zellstrukturen deutlich abheben und sichtbar werden. Man sieht vor allem den großen, kugeligen, proximalen Plastosomenkörper. Er ist auf Fig. 16 so dunkel gefärbt, daß er fast homogen schwarz erscheint. Aber schon im nächsten Bilde sieht man, daß er im Inneren einzelne große Brocken zu bilden beginnt, wenn er auch eine Zeitlang seine kugelige Form noch beibehält. Außerdem ist nun auf allen diesen Bildern (Fig. 16—23) das Verhalten der Centrosomen und des von ihnen ausgehenden Fadens mit größter Deutlichkeit zutage getreten. Man erkennt, wie das Centrosom allmählich immer mehr der proximalen Zellwand zuwandert, und sieht, wie es mit dem dicht dabei gelegenen Plastosomenkomplex in gar keine Beziehung tritt. In Fig. 18 ist das Centrosom lediglich durch den Plastosomenkörper verdeckt, aber nicht in ihm enthalten. Die Größe des Centrosoms bleibt immer dieselbe, es war stets als ein kleiner, tief schwarz gefärbter Punkt zu sehen. Ebenso dunkel ist der zarte Faden auf allen diesen Stadien gefärbt, den man vom proximalen Centrosom bis zum Kern hin verfolgen kann. Auf günstig getroffenen Schnitten machte es häufig den Eindruck, als wiche der Faden mit einem leichten Bogen dem stets nahe gelegenen Plastosomenkörper aus. Wie sich dieser Verbindungs-

faden der beiden Centrosome — denn als solcher ist er der Entwicklung nach anzusehen — dem Kern gegenüber verhält, ob er nur seiner Hülle aufliegt oder durch ihn hindurchgeht, habe ich nicht direkt gesehen, doch habe ich ja beobachtet, wie er in früheren Stadien um den Kern im Protoplasma der Zelle nach dem proximalen Centrosom im Bogen herumzieht, so daß ich glaube, daß er auch später nicht in den Kern eingedrungen ist, sondern der Kernmembran nur aufliegen kann. Außerdem ist von mir gesehen worden, daß an dem sich streckenden distalen Kernende wieder ein kurzes, feines, auf den Abbildungen nicht immer zur Darstellung gelangtes Verbindungsfädchen sowohl zwischen Kern und distalem Plastosomenkörper, als auch zwischen diesem und dem distalen Centrosom vorhanden waren. Was die distale Plastosomenmasse auf dem Stadium der beginnenden Streckung anlangt, so verändert sich diese wenig und hat immer eine einheitliche Beschaffenheit. Es ist ein deutliches Bläschen mit einer dunklen Hülle und einem helleren Inhalt. Ich habe dies auf den Figuren wiederum durch verschiedene Verteilung von Hell und Dunkel anzudeuten versucht. Außerdem ist aber an dem Bläschen deutlich der Einfluß des sich streckenden und nachdrängenden Kernes erkennbar; es paßt sich nämlich diesem mit der ihm zugewandten Fläche an und bildet sich so allmählich zu einer Spitzkugel um. An der Spitze aber können wir deutlich ein kleines, sich von ihr und dem hellen Schwanzfaden scharf abhebendes schwarzes Knöpfchen wahrnehmen: das distale Centrosom. Wir sehen ferner noch, daß sich der Kern rascher verjüngt, während das distale Plastosomenbläschen noch seine Form beibehält, nur im ganzen kleiner wird, so daß z. B. auf Fig. 21—25 der Kern an seinem Ende bereits fädig ausgezogen erscheint und dieser allmähliche Übergang in den Schwanzfaden plötzlich durch das knopfartig sich vorwölbende Plastosomenbläschen unterbrochen wird. Man kann nun schon auf diesen Stadien die Hauptelemente des fertigen Samenfadens unterscheiden, und so erblicken wir in dem reichlich mit Protoplasma umgebenen proximalen Teil der Zelle mit seinem Plastosomen-

körper, Centrosom und nach dem Schwanz zu führende Faden, das spätere Spitzenstück, in dem sich ausziehenden Kern den Kopf des Spermiums, in dem Bläschen mit dem distalen Centrosom, das Mittelstück und schließlich in dem hellen Endfaden den Schwanz.

Verfolgen wir nun die Entwicklung dieser Teile an der Hand unserer Figuren weiter: so zeigt Fig. 24 und 25, daß sich der Kopf rasch weiter auszieht und schon zum größten Teile die Form eines schwarzen Stabes angenommen hat, nur in dem dem späteren Spitzenstück zugewandten Teil ist er noch kolbenartig verdickt. Am Centrosom und dem von ihm zum Kopf hinziehenden Faden sind keine Veränderungen vorgegangen. In einem wichtigen Umbildungsprozeß aber treffen wir den proximalen Plastosomenhaufen. Haben wir schon aus den früheren Stadien eine Umbildung seines Inhaltes zu Brocken wahrnehmen können, so ist auf Fig. 24 dieser Prozess so sehr fortgeschritten, daß wir gar nicht mehr von einer einheitlichen Plastosomenkugel sprechen können, sondern nur mehr einzelne gröbere, wohl noch miteinander im Zusammenhang stehende Brocken wahrnehmen; auf der folgenden Abbildung, die auf ganz derselben Entwicklungsstufe steht, sehen wir sogar schon zwei größere, deutlich getrennte Haufen. Außerdem zeigt sich bereits ein färblicher Unterschied insofern, als sich auch die einzelnen Brocken selbst nicht mehr so schwarz färben, sondern mit E. H. einen mehr bräunlichen Farbton annehmen. Verfolgen wir nun des besseren Zusammenhanges wegen die Entwicklung des Spitzenstückes allein weiter, so beobachten wir an den Figuren folgende Umbildungen: Die allgemeine Protoplasmanasse des Spitzenstückes bleibt noch ziemlich lange in ihrer nahezu nur gegen das Kopfende zugespitzten Kugelform bestehen, etwa bis auf dem in Fig. 28 abgebildeten Stadium. Der Auflösungsprozeß des Plastosomenhaufens macht immer größere Fortschritte. Wir sehen deutlich, wie seine Färbbarkeit abnimmt und seine Formen immer unbestimmter werden. Auf den Fig. 26—28 tritt hauptsächlich die schwächere Farbe in den Vordergrund, während der eigentliche Auflösungsprozeß nicht vor Fig. 29

deutlich und unzweifelhaft wird. Auf diesem Stadium, wo bereits auch das ganze Protoplasma des späteren Spitzenstücks sich in die Länge zu ziehen beginnt, erblicken wir nur noch zwei blasse, beträchtlich kleiner gewordene Komplexe zu beiden Seiten des Verbindungsfadens von Centrosom und Kopf. Auf den nächsten beiden Bildern sehen wir, wie auch sie dem Verfall entgegengehen und sich in kleine, unregelmäßig gruppierte Körperchen auflösen, bis auch diese noch auf Fig. 32, dem letzten Stadium vor dem fertigen Samenfaden, ganz verschwunden sind. Betrachten wir jetzt auch das im Spitzenstück gelegene Centrosom mit seinem Verbindungsfaden, den als Achsenfaden anzusprechen ich infolge analoger Angaben in der Literatur kein Bedenken trage, so finden wir ein ziemlich konstantes Verhalten. Das Centrosom findet sich immer an derselben Stelle, d. h. der proximalen Zellmembran ziemlich nahe. Es ist auf allen Stadien, ausgenommen dem allerletzten, immer gut sichtbar und von annähernd gleicher Größe und Färbbarkeit. Auf dem letzten Stadium vor dem fertigen Spermium (Fig. 32) verschwindet es in dem spitz ausgezogenen Ende, ohne mehr deutlich als Punkt wahrgenommen werden zu können. Auch der Achsenfaden tritt auf allen diesen Stadien deutlich sichtbar hervor. Er stellt immer eine Verbindung mit dem Kopfstück und Centrosom dar und unterscheidet sich vom Kopf noch eine ganze Zeit lang durch seinen viel kleineren Durchmesser. Erst auf dem letzten Stadium, wo auch der Kopf bereits fadenförmig ist, verwischen sich die Unterschiede etwas, doch kann man den Kopf auch da noch an seiner deutlich dunkleren Färbung leicht vom Achsenfaden abgrenzen. Verschiedentlich stieß ich bei der Durchsicht meiner Präparate auf Bilder, wie sie Fig. 27 und 28 darstellen. Der Achsenfaden zeigte da eine wohlausgebildete, wellenförmig geschlängelte Form. Da ich ihn aber keineswegs immer so vorfand, sondern oft auch ganz gerade verlaufend, so konnte ich mich nicht entschließen, diesem Phänomen eine besondere Bedeutung beizulegen, wollte aber doch nicht verfehlen, es auf meinen Abbildungen zum Ausdruck zu bringen. Dieser Befund erinnert

an eine Angabe von Meves (1903), den er bei Spermien von *Paludina* erhebt; er schreibt, daß er konstant eine Schlingelung des Kopfes und Mittelstückes habe beobachten können, sagt aber weiter: „es ist mir unklar geblieben, was diese Erscheinung zu bedeuten hat“. Zum Schluß büßt auch der Achsenfaden seine Färbbarkeit zum größten Teil ein und ist nur gerade noch als ganz blasser, bis zur Spitze führender Faden zu sehen.

Betrachten wir jetzt den Kopf des Spermiums während dieser letzten Entwicklungsperiode, so findet sich hier die allmähliche, vom distalen Ende aus beginnende Streckung und Ausziehung desselben, bis er schließlich dem Schwanzfaden an Feinheit nichts mehr nachgibt und sich von ihm nur noch durch seine intensivere Färbbarkeit unterscheidet. Er ist auf allen Stadien gleichmäßig schwarz gefärbt und ragt immer ein Stück weit in das Protoplasma des Spitzenstückes hinein; anfänglich ist diese Partie noch deutlich kolbenartig verdickt, aber in dem Maße, als der Kopf an Länge im ganzen zunimmt, schwindet auch diese Verdickung, bis sie mit seinem völligen Auswachsen schließlich gar nicht mehr wahrnehmbar ist. Man sieht aber weiter noch auf den Figuren 26—28, daß sich das Protoplasma des Spitzenstücks ganz allmählich dem Kern immer mehr anschmiegt und schon dadurch der Eindruck hervorgehoben wird, daß das Kopfstück nicht nur aus Kernsubstanz besteht, sondern noch von einer, wenn auch ganz dünnen und auf dem Längsschnitt nicht wahrnehmbaren, protoplasmatischen Hülle bekleidet wird. Diese Annahme wurde nun bestätigt, als ich auf einem Präparate einen Querschnitt durch diese Region des Spermiums vorfand. Hier hebt sich der protoplasmatische Mantel deutlich von dem schwarzen Mittelpunkt, d. i. dem Kern ab (Fig. 37). Irgendwelche innere Strukturen habe ich sowohl auf dem Längs- wie auf dem Querschnitt bei der großen Feinheit und dunklen Farbe, die der Kopf alsbald annimmt nicht mehr wahrnehmen können.

Schließlich ist noch das dritte wichtige Stück eines fertigen Spermiums in seiner Entwicklung und endgültigen Form

zu besprechen: das Mittelstück. Wir erblicken zunächst auf Fig. 18—25 das Plastosomenbläschen mit dem ihm aufsitzenden distalen Centrosom etwas kleiner geworden, im übrigen aber ohne wesentliche Veränderung seiner charakteristischen Merkmale: Das zugespitzte Bläschen mit seiner dunklen Hülle, das sich gegenüber dem Spitzenende des Kopfstückes leicht abhebt und dadurch gut zu sehen ist.

Konnte ich alle die vorhergehenden Entwicklungsvorgänge an Präparaten von *Aulastomum vorax* studieren, so boten sich mir für diesen Teil nirgends durchaus klare und einwandfreie Bilder dar; und dies mochte wohl daher kommen, daß eben bei *Aulastomum* der ganze Samenfaden größer angelegt wird, so daß auf Schnittpräparaten, auf denen allein man diese Details mit wünschenswerter Klarheit zu Gesicht bekommt, der Kopf schon so weit ausgezogen war, daß er nur selten auch noch mit dem ansitzenden Mittelstück in eine Schnittebene fiel. So durchsuchte ich also darauf meine von *Hirudo* gemachten Präparate nochmals und fand an einem nach Benda mit Kristallviolett gefärbten Präparate die Ausdifferenzierung des Plastosomenbläschen zum Mittelstück in überraschend klarer und einleuchtender Weise. Diesem Präparate sind die beiden Fig. 35 und 36 entnommen. Ich habe sie der einfacheren Reproduktion wegen auch schwarzweiß gezeichnet. Man sieht auf ihnen im allgemeinen dieselben Verhältnisse, nur im ganzen etwas kleiner; denn auch diese beiden Figuren wurden linear noch um das Doppelte vergrößert. Wir sehen nun auf Fig. 35 an der Stelle, an der auf der vorangegangenen Entwicklungsstufe das Plastosomenbläschen dem Kopfende aufgesessen hatte, ein sich mit Kristallviolett intensiv färbendes längliches Gebilde mit zwei zugespitzten Enden und einem in der Mitte etwas dicker aufgequollenen Teil. Es ist dies ganz unzweifelhaft nach seiner topographischen Lage und Färbbarkeit das frühere Plastosomenbläschen, das inzwischen diese Form angenommen hat. Über den Verbleib des Centrosoms kann ich leider keine weiteren Mitteilungen machen, da es sich meiner Beobachtung durch seine große Kleinheit entzog; so weiß ich nicht, ob es sich

auch zu einem länglichen Gebilde auszieht, ähnlich wie das Plastosomenbläschen, oder dem distalen Ende dieses Teiles aufsitzt, jedenfalls steht so viel fest, daß es sich keineswegs allein zum Mittelstück umbildet, sicher aber in ihm enthalten ist, sondern daß vor allem das Plastosomenbläschen sich in seiner ganzen Größe zum Mittelstück ausbildet. Auf der nächsten Figur haben wir die weitere Streckung dieses Organs vor uns. Die färberischen Unterschiede sind wieder dieselben. Außer diesen hebt sich aber das Mittelstück noch durch eine wenn auch minimale Verbreiterung von Kopf und Schwanz ab, und zeigt damit an, daß es noch nicht ganz ausgewachsen ist, sondern sich bis zur völligen Reife des Samens noch weiter strecken wird.

Es bleibt nun noch übrig eine kurze Beschreibung des fertigen Samenfadens anzufügen. Schon auf dem letztgeschilderten Stadium sehen wir, wie sich die Samenfäden, die noch an der Zentralkugel haften zu Schöpfen aneinanderliegen. So bleiben sie auch in ihrem reifen Zustande zusammenliegen (welche Verhältnisse schon von Leuckart-Brandes genau so geschildert wurden und von mir nur bestätigt werden konnten) und wir treffen sie dann zu Paketen zusammengebacken in der Samenblase an. Fig. 33 stellt ein solches Paket aus der Samenblase von *Aulastomum* in einfacher Vergrößerung dar und Fig. 34 einen einzelnen Samenfaden in doppelter Vergrößerung. Wir sehen an dem Paket deutlich die verschiedenen Hauptabschnitte des Spermiums: das Spitzenstück, Kopfstück, Mittelstück und Schwanzstück. Über die Entwicklung des Schwanzstückes ist vielleicht noch vervollständigend nachzutragen, daß es während der ganzen Umbildung der übrigen Teile auch wächst, sich aber im übrigen immer wieder als derselbe blasse, protoplasmatische Faden ohne weiter erkennbare Strukturen präsentiert. So habe ich z. B. auf Fig. 27 einmal den Schwanz in seiner ganzen Ausdehnung mitgezeichnet. Es wurde auch versucht, mit Hilfe von Kochsalzmazerationen einen etwa vorhandenen fibrillären Aufbau des Schwanzfadens oder eine Isolierung des Achsenfadens von der übrigen Masse des

Schwanzes zur Darstellung zu bringen, doch gaben diese Methoden keinen weiteren Aufschluß über den Bau des Schwanzes. Die Größe des Mittelstückes, seine Abgrenzung gegen den Schwanz und Kopf hin habe ich durch verschiedene Färbungen mit Ehrlich-Biondi, E. H. und der von Retzius angegebenen Rosanilinfärbung nach Fixation in Osmiumdämpfen und durch vergleichende Messungen der gezeichneten Bilder sichergestellt. Es wurden dazu natürlich nur Ausstrichpräparate aus der Samenblase benutzt, um nicht durch Anschnitte getäuscht zu werden. Daraus ergab sich dann immer wieder das obige Bild. Außerdem vermischte ich, wie in Leuckart-Brandes angegeben ist, das Sekret der weiblichen Genitalien mit dem Inhalt der Samenblase und brachte so die Samenfäden dazu, ihre Paketform aufzugeben, fixierte dann und konnte dadurch die einzelnen reifen Spermien betrachten. Immer wieder zeigten sich dieselben Formen. Das ausgewachsene Spermium ist ein langer, gleichmäßig dünner Faden und seine einzelnen Abschnitte sind nur durch die verschiedene Färbbarkeit zur Darstellung gelangt. Zum Schluß sei noch eine merkwürdige Erscheinung erwähnt: Ich habe an den zusammengebackenen Spermabündeln immer wieder beobachten können (vgl. Fig. 33), daß sich sowohl die Abgrenzung der Kopfstücke gegen das Mittelstück hin wie auch dann die Grenze zwischen Mittelstück und Schwanz immer wieder durch eine etwas dunklere Färbung und leichte Aufquellung des ganzen Bündels an dieser Zone bemerkbar macht. Ich verzeichne diese Tatsache lediglich, ohne dafür eine hinreichende Erklärung gefunden zu haben. Bei der distalen dunkler gefärbten Stelle könnte man ja an das distale Centrosom als Ursache denken; für die proximale ist diese Deutung dagegen nicht möglich.

Allgemeiner Teil.

Der Kern.

Im nachfolgenden wurden die Vorgänge, die sich in der jungen Spermatogonie bis zur Entstehung der Spermatide im Kern abspielen, nicht berücksichtigt, da es infolge der Kleinheit des Objektes unmöglich war, genaue Befunde zu erheben. Dagegen wurde in allen mit Kernfärbung behandelten Präparaten genau darauf geachtet, ob sich für einen Chromatinaustritt aus dem Kerne bei dem vorliegenden Objekt irgendwelche Anhaltspunkte finden ließen. Die darauf hinizielenden Untersuchungen waren durchgehends negativ.

Zentralkörper.

Es scheint eine allgemeinere Erscheinung zu sein, daß die Zentralkörper in den früheren Stadien der Entwicklung, in den ruhenden Zellen schwer darstellbar sind und deshalb meist nicht zur Beobachtung kommen. So schreibt z. B. Meves (1907) in seiner Arbeit über die Spermatocytenteilung der Honigbiene: „Die Centriolen, welche ich in den ruhenden Spermatogonien nicht habe auffinden können, werden bald nach Beginn der Wachstumsperiode nachweisbar.“

So gelang es auch hier erst die Schicksale der Centrosomen nach abgelaufenen Reifungsteilungen fortlaufend zu beobachten und zwar ermöglichte besonders das Auftreten des Achsenfadens und die Verbindung, die die Centrosome mit ihm eingehen, ihre sichere Identifizierung. Dieses Verhalten der Centrosome ist eines der wenigen Merkmale, die allen Studien über Samenentwicklung bei den verschiedensten Tiergattungen gemeinsam sind. Sieht man aber weiter nach, wie sich die Centrosome mit dem Achsenfaden zu den anderen Bestandteilen des reifenden Samens (Kern, Nebenkern, Sphäre, Spitzenstück) verhalten, so begegnen wir schon innerhalb nahe verwandter Tierklassen großen Verschiedenheiten und wie ich festgestellt habe, stehe ich mit dem bei *Hirudo* und *Aulastomum* erhobenen Befunde ganz allein. Das allgemeinste Vorkommnis ist: Daß

sich das proximale Centrosom in den ihm nächst gelegenen Kernpol einbettet, dieses oder das distale bildet das Mittelstück und der Achsenfaden verbindet sie (vgl. Meves, von Korff, Depdolla u. a.). Bei *Helix pomatia* (von Korff 1899) wächst das Mittelstück und mit ihm der verbindende Achsenfaden un-gemein lang aus, so daß die beiden Centrosome weit vonein-ander getrennt werden; auch eine Wanderung der Centrosome ist bei *Amphiuma* beschrieben worden (nach Korschelt und Heider). Aber in einem anderen Sinne, nämlich von der das Spitzenstück bildenden Sphäre weg nach der Gegend des Mittel-stückes zu. Dafür aber, daß, wie bei *Hirudo* und *Aulastomum* das eine Centrosom mit dem Achsenfaden sich im vordersten Ende des Spitzenstückes befestigt, der Achsenfaden dann neben dem Kern herläuft, durch das Mittelstück hindurch und das distale Centrosom diesem in Form eines kleinen Knöpfchens — wenigstens in noch nicht ganz ausgereiften Spermien — an seine dem Schwanzfaden zugewandten Ende aufsitzt, konnte in der Literatur keine Parallele gefunden werden. Und doch ist gerade das Heraufwandern des einen Centrosoms nach der Spitze in allen meinen Präparaten mit so großer Deutlichkeit zu sehen, daß darüber gar kein Zweifel entstehen konnte. Das andere Centrosom beteiligt sich an der Bildung des Mittel-stückes, und es fragt sich nun, ob dieses Centrosom wächst und sich, wie Meves bei *Paludina vivipara* festgestellt hat, zu einem Stabe umbildet, der das Innere des Mittelstückes auf-nahm. Da sich in unserem Falle die Streckung des Kerns und Mittelstückes schon sehr bald und zwar zu einem äußerst dünnen Faden vollzieht, konnte dieser wichtige Punkt nicht sicher entschieden werden. Soviel aber habe ich sicher fest-stellen können, daß das distale Centrosom von dem Plastosomen-körper, wie schon oben beschrieben, vor sich hergeschoben wird und daß es diesem, solange er noch als eine deutliche Verdickung wahrnehmbar ist, als kleines Knötchen an seinem distalen Ende aufsitzt. Wenn nun ein Wachstum des Centro-soms in Stabform in den Plastosomenkörper angenommen werden sollte, so müßte diese in umgekehrtem Sinne vom distalen Ende

des Plastosomenkörpers nach dem Kern hin erfolgen, und das scheint mir zum mindesten zweifelhaft, wenn nicht unwahrscheinlich, da es der ganzen Wachstumstendenz des Spermiums entgegenliefe. Ich glaube vielmehr, daß das distale Centrosom auch in den späteren Stadien, in denen es nicht mehr vom Plastosomenkörper gesondert darzustellen war, seine Größe beibehält und diesen dicht ansitzt. Die Beziehungen, in denen die Centrosome sonst noch zu den Plastosomen stehen, will ich bei der Besprechung dieser Gebilde erledigen.

Die Plastosomen.

Es ist von Rubaschkin (1910) festgestellt worden, daß die Plastosomen in den Ursamenzellen stets die primitivste Form, nämlich die Körnerform zeigen und sich erst im Laufe der Entwicklung zu Fäden und Ringen umbilden. Da ich bei den untersuchten Tieren die Ursamenzellen überhaupt nicht mehr zu Gesicht bekam, konnte ich zu dieser Frage, die neuerdings angezweifelt worden ist, nicht Stellung nehmen. Ich habe die Plastosomen stets in Form von kurzen Plastokonten angetroffen. Oft ist ein förmliches Netzwerk dicht verschlungener Fäden von Plastosomen dargestellt worden, so z. B. hat Dingler (1910) längere und häufiger verschlungene Fäden in einer Figur dargestellt, die sonst bei *Hirudo* und *Aulastomum* vorkommenden Stadien, in denen noch kein Cytophor gebildet ist, sehr ähnelt, besonders hat er auch festgestellt, daß sich die Plastosomen nach dem Zentrum hin bei seinen Achtergruppen gegenüber der Peripherie dicht anhäufen. Die Plastokonten bei *Hirudo* und *Aulastomum* sind immer als kurze, nicht untereinander zusammenhängende Fäden gesehen worden, besonders auf einen netzartigen Zusammenhang wurde genau geachtet, er konnte aber nie festgestellt werden. Eine Veränderung dieser Form und vielleicht ein Zurückgehen auf die von Rubaschkin als primitivere Körnerform bezeichnete wurde bei der Mitose beobachtet. Da fanden sich immer Körner, zumal gegen Ende der Mitose. Es frug sich nun, ob diese in der Mitose vorkommenden Körnerformen nicht vielleicht ein

Resultat einer Teilung der früheren Stäbchenform und somit eine Vermehrung der Plastosomen darstellen könnte, es konnte dies aber nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Aus dem reichlichen Auswandern der Plastosomen in den Cytophor hinein muß man ja auf eine starke Vermehrung dieser Gebilde schließen. Nun hat Terni (1912) bei *Geotriton* eine transversale Teilung der Plastoconten im Stadium der Zellteilung beobachtet, eine Tatsache, die meine — eben geäußerte Vermutung vielleicht etwas zu stützen imstande ist. Was die Topographie der Plastosomen während der Mitose betrifft, so läßt sich ihre Verteilung wohl mit den von Terni gemachten Beobachtungen und auch mit den Befunden von Romeis (1913) bei *Ascarisblastomeren* vergleichen und eine prinzipielle Übereinstimmung feststellen. Diese beschreiben ebenso wie ich es beobachtet habe: „das allmähliche Zurückweichen der Plastosomen von den Polstrahlungen, Freibleiben der Spindel, das Zusammendrängen der Plastosomen an den Seitenwänden der Zelle und ihr Eindringen zwischen die beiden auseinanderweichenden Tochterkerne“. Die weiteren Lagebeziehungen der Plastosomen zu dem sich bildenden Cytophor während der Mitose wurden schon bei der Frage nach der Entstehung desselben erörtert und können natürlich hier nicht mit in den Vergleich hineingezogen werden. Das von Terni und Romeis beobachtete „tonnenartige“ Zusammendrängen der Plastosomen an den Seitenwänden der Zelle zur Zeit der Bildung der Äquatorialplatte hat bei *Hirudo* und *Aulastomum* infolge der geringeren Protoplasmamenge nicht mehr zu einer vollständigen tonnenartigen Bildung geführt sondern die Plastosomen sind in zwei Haufen auseinandergedrängt worden, die, wie schon beschrieben, halbmondförmig an den beiden entgegengesetzten Enden der Äquatorialplatte liegen. — So sehen wir auch hier, daß sich die Plastosomen während der Mitose passiv verhalten und die drei von Romeis aufgestellten Faktoren 1. die Form und Topographie der Plastosomen, 2. die Menge des Protoplasmas und 3. die allgemeine Lagebeziehung der teilenden

Zellen zu ihrer Umgebung das Verhalten der Plastosomen während der Mitose beeinflussen und bestimmen.

In späteren Entwicklungsstadien sind dann von mehreren Beobachtern ring- und bläschenförmige Umformungen der Plastosomen angegeben worden, und diese führten dann zur Bildung des sogenannten Nebenkerns. (Meves, Sokolow, Vejdovsky, Dingler u. a.). Ich habe ein derartiges Zwischenstadium nicht beobachten können, vielmehr verdichteten sich bei meinem Objekt in diesem Stadium die Plastosomen direkt zu einer Kappe und diese bildete dann ihrerseits den Nebenkern. Der Nachweis, daß dieser so gebildete Nebenkern oder Chondriom nach Vejdovsky tatsächlich aus den Plastosomen gebildet wird, ist mir besonders wesentlich gewesen. Denn das weitere Schicksal des Nebenkerns ist in der Literatur ein Gegenstand des größten Interesses. Wenn sich auch die Plastosomen auf verschiedene Weise zu diesem Nebenkern umwandeln, so fand sich doch in vielen spermatogenetischen Untersuchungen, daß sie sich auf dem Stadium der beginnenden Ausdifferenzierung des Samenfadens zu einem kompakten, meist kugeligen Gebilde zusammenfügen (Duesberg, Meves, Vejdovsky, Depdolla, Otte u. a.). Otte beschreibt sogar einen Nebenkern bereits vor der letzten Reifungsteilung, der sich während der Mitose auflöst und dann wieder neu bildet; ein Vorkommnis, das außer ihm noch von niemanden bei einem anderen Objekte beobachtet wurde. Dieser Plastosomenkörper interessiert nun zunächst durch seine Beziehungen zu den Centrosomen. Meine Beobachtungen darüber befinden sich in Übereinstimmung mit den Resultaten von Vejdovsky (1911 bis 1912), Depdolla (1906), Bonnevie (1904). Diese alle haben die Centrosome im Nebenkern liegend vorgefunden. Besonders Vejdovsky sagt, daß die Centrosome bei *Diestramena* direkt im „Chondriom“ enthalten sind, während Depdolla nur konstatiert, daß sie von ihm verdeckt werden, und erst nach totaler Entfärbung des Plastosomenkörpers sichtbar werden.

Die Teilung des Plastosomenkörpers in zwei Hälften deckt sich mit den Angaben Duesbergs (1911) bei *Blatta germanica*,

dort teilt sich ebenfalls der Nebenkern in zwei Plastosomenkörper. Das Schicksal dieser beiden Plastosomenkörper ist aber nun für die Frage, ob die Plastosomen Vererbungsträger der protoplasmatischen Substanz sein können oder nicht, von großer Bedeutung. Meine Untersuchungen haben dazu geführt, die Möglichkeit dieser Rolle offen zu lassen, denn bei dem Nachweis der völligen Ausstoßung der Plastosomen-substanz wäre die Frage überhaupt nicht mehr diskutierbar; das Studium der endgültigen Ausdifferenzierung des Samens bei *Hirudo* und *Aulastomum* hat aber eindeutig ergeben, daß der eine dieser Körper ganz und gar in das Mittelstück des reifen Spermiums übergeht. Dieses Verhalten der Plastosomen ist schon bei den verschiedensten Tiergattungen festgestellt worden, so daß man es wohl bald als ein allgemein gültiges Gesetz ansehen darf.

Man darf jedoch nicht verhehlen, daß erst in letzter Zeit wieder von einigen Forschern auf Grund ihrer bei verschiedenen Tieren gewonnenen Resultate dagegen Einspruch erhoben wurde (Vejdovsky, Montgomery, Lillie). Daß jedoch diese Einwände nicht völlig stichhaltig sind, hat Meves in seiner letzten Arbeit bereits dargelegt. Vejdovsky und Montgomery stützen ihre Ansicht darauf, daß die Plastosomen während der letzten Ausdifferenzierung des Spermiums in einem Cytoplasmaballen völlig ausgestoßen werden. Meves dagegen gibt an, daß nach seinen und Duesbergs Feststellungen kein einziges der Plastosomen in den abgeschnürten Cytoplasmaballen hineingelangt. Da die Möglichkeit vorlag, in unserem Untersuchungsmaterial ein interessantes Vergleichsobjekt zu finden, wurde auf diesen Punkt geachtet. Wie sich aber schon aus der obigen Beschreibung der Spermatogenese gezeigt hat, ließ sich der Vorgang bei *Hirudo* und *Aulastomum* nicht beobachten. Das findet vielleicht seine einfache Erklärung in der hier ständig gegebenen Möglichkeit, Protoplasma und Plastosomen nach dem Cytophor hin abzugeben. Wir treffen aber noch eine zweite Verminderung der Plastosomen bei der Bildung des Spitzenstückes an; der dort befindliche Plastosomen-

körper, der aus der Teilung des ursprünglichen hervorgegangen ist, zerfällt in kleine Körper, welche sich schließlich ganz auflösen. Ein ähnliches Verhalten dieser im Spitzenstück befindlichen Plastosomen wurde von Otte (1907) angegeben. Er schildert die Entstehung des Spitzenstückes aus dem Idiozom, d. i. dem Spindelrestkörper und findet bei diesem noch Plastosomen, die mit nach dem späteren Spitzenstück hinwandern und dort dann zerfallen und sich auflösen. Zu beachten ist aber bei allen diesen Vorgängen, die eine Verminderung der Plastosome zur Folge haben, daß ein Teil der Plastosomen im Mittelstück erhalten bleibt. Andererseits erhellt aus ihnen die Möglichkeit, daß ganz gut bei gewissen Tieren in einem abgeschnürten Protoplasmaaballen Plastosomen mitausgestoßen werden können, wie es z. B. Dingler (1910) und Depdolla (1906) beobachtet haben. Es wäre daher auch möglich, daß tatsächlich bei Diestramena, wie von Vejdovsky beschrieben, Plastosomen abgeschnürt werden und sich auflösen, während ein anderer Teil von ihnen sich schon zum Mittelstück umgewandelt hat und von ihm übersehen wurde.

Die obige Darstellung der Verminderung der Plastosomen fordert unwillkürlich zu einem Vergleich mit der Reduktion des Chromatins auf. In der Tat hat bereits Duesberg (1908) und durch ihn angeregt Sokolow (1913) eine Reduktion der Plastosomen während der Reifungsteilungen beschrieben. Duesberg schreibt: „Nehmen wir also an, daß die Mitochondrien-substanz vom Ende der Wachstumsperiode ab nicht mehr zunimmt, so wird es selbstverständlich, daß nach zwei rasch aufeinanderfolgenden Teilungen die Zahl der Mitochondrien in den letzten Produkten dieser Teilungen geringer ist und zwar auf ein Viertel der Zahl der Mitochondrien der Mutterzellen herabgefallen ist.“ Wenn Duesberg diese Annahme infolge der großen Menge der Mitochondrien bei seinem Untersuchungsobjekt (Ratte) nicht mit absoluter Sicherheit hat feststellen können, so hatte Sokolow in *Euskorpius carpathicus* ein geeigneteres Objekt vor sich und findet die Duesbergsche Hypothese bei diesem Tier auf das genaueste bestätigt. Bei

Hirudo und Aulastomum treffen wir nun zwei neue Möglichkeiten der Reduktion der Plastosomen außer dieser von Duesberg und Sokolow beobachteten, die natürlich bei unseren Objekten auch noch bestehen wird: nämlich die eine, die sich während des ganzen Zeitraums der Zellteilungen der Spermato-genie und Spermatocyten abspielt: Die direkte Ausstoßung der Plastosomen in den Cytophor und eine zweite sich nach der zweiten Reifungsteilung im Spitzenstück abspielende: die allmähliche Auflösung des dort gelegenen Plastosomenkörpers. Es ergibt sich daraus aber ein weiterer Grund für die Wichtigkeit der Plastosomen als Vererbungsträger, indem wir gesehen haben, daß nicht nur überhaupt Plastosomen in den reifen Samen hineingelangen, sondern eine in ihrer Größe genau differenzierte Masse.

Damit wäre also festgestellt, daß bei Hirudo und Aulastomum die Plastosomen während der Ausbildung des Spermiums nur zum Teil ausgestoßen werden, der Rest aber im reifen Spermium als Mittelstück Verwendung findet. Infolgedessen steht auch die Möglichkeit offen, daß sie als Erbmasse in Betracht kommen.

Das nächste Erfordernis wäre nun nachzuweisen, ob bei der Befruchtung der plastosomale Anteil mit in die Eizelle eintritt. Daß dies der Fall sein kann, dafür hat Meves nunmehr schon bei drei Tierarten den Nachweis erbracht (*Ascaris*, Echiniden, *Phallusia mamillata*). Leider war es bisher nicht möglich, geeignetes Material von Hirudineen zu erlangen, um den Vorgang auch hier zu untersuchen.

Zusammenfassung.

Die Spermatogonien haben einen großen Kern mit einem und manchmal zwei Nukleolen. Im Cytoplasma finden sich verstreut Plastosomen von der Form kurzer Fäden. Die jungen Spermatogonien stehen in einem syncytialen Zusammenhang.

Bei ihren Teilungen geben sie Protoplasma nach dem Zentrum ab und bilden so den Cytophor. Der Cytophor ist kernlos. Die Größe des Cytophors steht zu der der ihn umgebenden Zellen in umgekehrtem Verhältnis. Es wird ständig auch von den ruhenden Spermatogonien Cytoplasma und mit ihm Plastosomen nach dem Cytophor ausgeschieden.

Die Plastosomen gruppieren sich in der Mitose kappen- oder halbmondförmig um die von den Polstrahlungen freien Enden der Äquatorialplatte. In der Metaphase treten sie zwischen die beiden Tochterplatten und verteilen sich so gleichmäßig auf die beiden neuen Zellen. Die Plastosomen, die in dem nicht mit durchgeteilten Protoplasma liegen, verbleiben da und gehen allmählich zu Grunde. Die Plastoconten nehmen in der Mitose Körnerform an.

In der jungen Spermatische verdichtet sich das Chromatin des Kerns. Der Kern streckt sich aus und wird zum Kopf des reifen Spermiums. Die Plastosomen verdichten sich auf diesem Entwicklungsstadium zu einer Kappe. Diese Kappe bildet den Plastosomenkörper. Dieser verfällt in zwei Hälften. Die eine geht nach dem Spitzenstück und löst sich dort allmählich auf, die andere bildet sich zum Mittelstück um, und sitzt dem distalen Ende des Kernes auf. Allmählich streckt sich dieser Plastosomenkörper zu einem langen Stabe aus: das fertige Mittelstück.

Die Zentralkörper sind anfangs im Plastosomenkörper verborgen, später wandert das proximale Centrosom nach dem Spitzenstück und bleibt mit einem langen Achsenfaden mit dem distalen in Verbindung. Das distale Centrosom sitzt dem Plasto-

somenkörper während seiner Ausdifferenzierung zum Mittelstück auf und zwar dem distalen, dem Schwanzfaden zugewandten Ende.

Das reife Spermium findet sich in der Samenblase zu Paketen zusammengebacken, sie lassen deutlich die vier Hauptteile unterscheiden: Spitzenstück, Kopf, Mittelstück und Schwanzfaden.

Für die Überlassung dieser Arbeit und die bei ihrer Abfassung jederzeit in liebenswürdigster Weise gewährte Unterstützung sei es mir erlaubt, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Mollier, und Herrn Prosektor Dr. Romeis meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- Benda, 1902: Die Mitochondria. *Ergebn. d. Anat. und Entwicklungsgesch.*, Bd. 12.
- Bolsius, 1905: La sperme de la *Haementeria costata* du spermatophore à l'oviducte. *C. R. 6. Congrès international. zool.*
- Bonnevie, 1904: Zur Kenntnis der Spermio-genese bei den Gastropoden. *Biol. Centralbl.* 24.
- Brandes, 1901: Die Begattung der Hirudineen. *Abhandl. Natur. Ges. Halle.*
- Brumpt, 1900: Réproduction des Hirudinées. *Mém. Soc. Zool. France*, Tome 13.
- Depdolla, 1906: Beiträge zur Kenntnis d. Spermatogenese beim Regenwurm. *Zeitschr. f. wissenschaftl. Zool.*, Bd. 81.
- Dingler, 1910: Über die Spermatogenese des *Dicrocoelium lanceolatum*. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 4.
- Duesberg, 1911: Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules seminales. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 6.
- 1912: Plastosomen „apparato reticolare interno“ und Chromidialapparat. *Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch.*, Bd. 20.
- von Korff, 1899: Zur Histogenese der Spermien von *Helix pomatia*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 54.
- Korschelt u. Heider, 1902: *Lehrbuch der vergl. Entwicklungsgesch. d. Wirbellosen.*
- Kowallewsky, 1901: Phénomènes de la fécondation chez l'*Haementeria costata*. *Mém. Acad. Sc. Pétersbourg*, Vol. 11.
- Kuschakewitsch, 1913: Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei Prosobranchia. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 10.
- Laguesse, 1912: Methode de coloration vitale des Chondriosomes par le vert de Janus. *C. rend. soc. biol.*, Tome 73.
- Leuckart, 1901: *Parasiten des Menschen*, 2. Aufl., neubearbeitet von Brandes.
- Lillie, 1912: Studies of Fertilization in *Nereis*. III. The Morphology of the Normal Fertilization of *Nereis*. *Journ. of Experiment. Zool.*, Vol. 12.
- Meves, 1899: Über Struktur und Histogenese der Samen-fäden des Meer-schweinchens. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 54.

- Meves, 1901: Struktur und Histogenese der Spermien. *Ergebn. d. Anat. und Entwicklungsgesch.*, Bd. 11.
- 1903: Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an *Paludina* und *Pygaera*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 61.
- 1911: Zum Verhalten des sogen. Mittelstückes des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. *Anat. Anzeiger*, Bd. 40.
- 1911: Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von *Ascaris megalocephala*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 76.
- 1913: Über das Verhalten des plastosomatischen Bestandteils des Spermiums bei der Befruchtung des Eies von *Phallusia mamillata*. *Arch. f. mikr. Anat.*
- Meves und Duesberg, 1907: Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (*Vespa crabro*). *Arch. f. mikr. Anat.*, B. 71.
- Montgomery, 1912: Complete discharge of Mitochondria from the Spermatozoön of *Peripabus*. *Biol. Bull.*, Vol. 22.
- Otte, 1907: Samenreifung und Samenbildung bei *Locusta viridissima*. *Zool. Jahrbücher*, Bd. 24.
- Retzius, 1881: *Biol. Unters.*
- 1904: *Biol. Untersuch.*, neue Folge, Bd. 11.
- Romeis, 1913: Beobachtungen über die Plastosomen von *Ascaris megalocephala* während der Embryonalentwicklung unter besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens in den Stamm- und Urgeschlechtszellen. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 81.
- Rubaschkin, 1910: Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. *Anat. Hefte*.
- Schubert, 1899: Beiträge zur Histologie d. männl. Geschlechtsorgane von *Hirudo*. *Zeitschr. f. wissenschaftl. Zool.*, Bd. 66.
- Sokolow, 1913: Untersuchungen über die Spermatogenese bei Arachnoideen. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 9.
- v. Szüts, 1913: Mikrotechn. Mitteilg. *Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie*, Bd. 29, Heft 3.
- Terni, 1912: Sul comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione. *Arch. ital. di Anat. e Embr.*, Vol. X.
- Thesing, 1904: Beiträge zur Spermatogenese der Cephalopoden. *Zeitschrift f. w. Zool.*, Bd. 76.
- Vejdovsky, 1911/12: Zum Problem der Vererbungsträger. Prag, K. Böhmisches Ges. d. Wissenschaften.
-

Erklärungen der Abbildungen.

Alle Figuren sind auf der Höhe des Objektisches mit dem Abbeschen Zeichenapparat entworfen. Bei allen Zeichnungen diente als Objektiv die homog. Immersion, 2 mm. Apertur 1,4 und als Okular das Kompens.-Ok. 12 von Zeiß.

Figurenerklärung.

- v. c.* = vorderes Centrosom.
- h. c.* = hinteres Centrosom.
- K.* = Kern.
- pl.* = Plastosomen.
- v. pl.* = vorderer Plastosomenkörper.
- h. pl.* = hinterer Plastosomenkörper.
- S.* = Schwanz.
- Sp.* = Spitzenstück.

Fig. 1. Junge Spermatogonien von *Hir. med.* Plastosomen in Form von kleinen, geschwungenen Fäden. Regaud.

Fig. 2. Junge Spermatogonien in der Mitose. Äquatorialplatte mit halbmondförmiger Anordnung der Plastosomen. Regaud.

Fig. 3. Weiter vorgeschrittene Stadien einer Mitose. Die Plastosomen treten zwischen die beiden Tochterplatten und fließen im beginnenden Cytophor zusammen. Regaud.

Fig. 4. Etwas älteres Stadium der Spermatogonien. Größere Ansammlung im zentralen Protoplasma von Plastosomen und degenerative Formen derselben. Regaud.

Fig. 5a. Stadium mit wohl entwickeltem Cytophor. Plastosomen in ihm in vielfachen degenerativen Formen. Viele Plastosomen in den Verbindungsstielen; geringe Anzahl von Plastosomen in den eigentlichen Samenbildungszellen. Regaud.

Fig. 5b. Zellen desselben Stadiums wie 5a, Cytophor im größten Durchmesser skizziert.

Fig. 5c. Zellen des gleichen Stadiums in der Mitose. Regaud.

Fig. 6. Junge Spermatile nach der zweiten Reifungsteilung. Cytophor im größten Durchmesser. Plastosomen in den Zellen in Kappenform.

Fig. 7. Zelle wie auf Fig. 6, linear doppelt vergrößert, Zusammentreten der Plastosomen. Regaud.

Fig. 8. Weiteres, noch dichteres Zusammenbacken der Plastosomen zur Kappenbildung.

- Fig. 9. Fertig gebildete Kappe. 8 und 9 linear, auch doppelt vergrößert. Fig. 1—9 sind alle Präparaten von *Hirudo med.* entnommen.
 Fig. 10—22 stammen von *Aulostomum vorax* und sind alle linear doppelt vergrößert.
- Fig. 10 u. 11. Zwei Plastosomenkörper, Auswachsen des jungen Schwanzfadens. Sichtbarwerden eines Centrosoms. Regaud.
- Fig. 12, 13 u. 14. Wanderung des proximalen Centrosoms mit dem Achsenfaden gegen das proximale Zellende zu. Die beiden Plastosomenkörper liegen von nun ab in den entgegengesetzten Zellpolen. Regaud.
- Fig. 15. Beginnende Streckung der jungen Spermatide. Das Chromatin bildet größere Brocken.
- Fig. 16, 17 u. 18. Weitere Streckung der Zelle. Verdichtung des Chromatins. Proximales und distales Centrosom, Achsenfaden und zwei Plastosomenkörper. Regaud.
- Fig. 20—23. Weitere Ausbildung und Streckung der Zellelemente Bläschenform des Plastosomenhaufens. Regaud.
- Fig. 24, 25 u. 26. Rasche, energische Streckung des Kernes. Beginn der Auflösung des proximalen Centrosomenhaufens.
- Fig. 27. Stark ausgezogener Kern. Die Schlingelung des Achsenfadens, Darstellung des Schwanzfadens in seiner ganzen Länge.
- Fig. 28—32. Ausbildung des Spitzenstückes. Auflösung des proximalen Plastosomenkörpers. Streckung des Protoplasmas, Feinerwerden des Achsenfadens und Centrosoms. Regaud.
- Fig. 33. Paket reifer Spermien, linear nicht vergrößert. Färberische Unterscheidung von Spitzenstück, Kopfmittelstück und Schwanz.
- Fig. 34. Einzelner Samenfaden, linear, doppelt vergrößert. Regaud.
- Fig. 35 u. 36. Ausbildung des Mittelstückes. Einem Präparat von *Hirudo med.* entnommen, linear doppelt vergrößert. Benda.
- Fig. 37. Querschnitt eines Samenfadens in der Höhe des Kopfstückes auf dem Entwicklungsstadium von Fig. 27. Zentral gelegener Kern mit feiner Plasmahülle. Linear doppelt vergrößert. Regaud.
- Fig. 38. Interstitielle Zelle aus dem Hodenbläschen von *Hir. med.* zerfallendem Kern, linear nicht vergrößert.

Der einfacheren Reproduktion wegen wurden die nach Benda gefärbten Präparate auch schwarz gezeichnet.

Berichtigung. Seite 24 Zeile 8 von unten: Statt „Es erscheint zum mindesten nicht unwahrscheinlich“ muß es heißen: „Es erscheint zum mindesten unwahrscheinlich“.



