

Atypische Spermatozoenbildung bei *Epitonium tinctum*

Ein Beitrag zum Problem des Spermatozoendimorphismus der Prosobranchia

H.-P. BULNHEIM

Biologische Anstalt Helgoland, Zentrale, Hamburg 50

ABSTRACT: Atypical spermatozoa formation in *Epitonium tinctum*. A contribution to the problem of spermatozoic dimorphism of the Prosobranchia. Besides typical spermatozoa, which fertilize eggs, extraordinarily large atypical spermatozoa of extremely bizarre shape are formed in the testis of the protandric marine snail *Epitonium tinctum* (CARPENTER). The characteristics of atypical spermatogenesis are described. Two kinds of spermatocytes are present, which evidently develop from the same spermatogonia. Atypical spermatocytes fail to undergo meiotic changes and cell divisions. They have a high RNA content and show considerable growth of cytoplasm and nucleus, similar to the development of oocytes. Upon attaining a certain size, the nucleus breaks down and the chromosomes appear in tetraploid number; this polyploidization is apparently caused by endomitotic chromosomal replication. Thereafter, formation of caryomerites occurs, i. e. each chromosome forms a small nuclear vesicle within the cytoplasm. During further development, the chromosomes degenerate and the caryomerites disintegrate. Densely arranged centrioles appear in great numbers on the periphery of the cell pole, which becomes the posterior part of the spermatozoon; these give rise to cilia and axial filaments which grow through the cell body. Yolk-like particles showing a positive PAS-test for polysaccharides are formed in the cytoplasm. During this process the RNA content of the cell decreases. In mature atypical spermatozoa, which have become anucleate, neither DNA nor RNA could be detected by Feulgen-technique and by methyl-green pyronin staining, respectively. Due to the peculiar growth of the filaments, the atypical spermatid differentiates into a flat, bilaterally symmetrical plate, from which a tail emerges loaded with PAS-positive bodies; this tail region attracts thousands of typical spermatozoa. The atypical spermatozoa, to which the typical spermatozoa are attached, are called spermatozeugmata. They measure about 1 mm in length. In sea-water they move forward, for a short time, by means of undulations of the fibrous plate and the tails of typical spermatozoa. Special features of morphogenesis and physiology of atypical spermatozoa are outlined, with particular reference to extremely differentiated atypical male sex cells in other prosobranchiates. Some aspects of cytodifferentiation and its control after disappearance of the nucleus in the atypical spermatids are discussed. A functional significance of the spermatozeugmata for sperm transference in *Epitonium tinctum* and other species of Scalidae, Janthinidae and Cerithiopsidae could not be ascertained. However, observations in *Opalia crenimarginata* (BULNHEIM 1962) and *Epitonium tinctum* indicate some physiological function of atypical spermatozoa: by forming polysaccharide-containing granules, which later dissolve during disintegration of atypical spermatozoa in the female genital ducts, they appear to contribute towards the nourishment of typical spermatozoa. According to the hypothesis of ANKEL (1930), atypical spermatozoa formation in prosobranchiates may result from the action of spermatogenetic as well as oogenetic potencies; hence, the atypical spermatozoa of *Epitonium tinctum* are considered as hermaphrodite germ cells. This interpretation is supported by the similarity of certain developmental processes in gametogenesis, mainly in regard to growth and to formation of reserve polysaccharides in oocytes as well as in atypical spermatocytes.

EINLEITUNG

Der Spermatozoendimorphismus der Prosobranchia hat seit den Untersuchungen v. SIEBOLDS (1832), der bei *Paludina vivipara* (*Viviparus contectus*) diese Erscheinung erstmalig erkannt hat, zahlreiche zytologische Bearbeitungen gefunden. Sie haben zur Entdeckung vielgestaltiger atypischer Spermatozoen geführt (vgl. ANKEL 1930a, TUZET 1930, FAIN-MAUREL 1966), zugleich aber auch eine Reihe bis heute nicht oder nur unzureichend gelöster Fragestellungen aufgeworfen.

Atypische männliche Geschlechtszellen werden fast generell bei den Meso- und Neogastropoda ausgebildet, doch fehlen sie – mit Ausnahme der Neritacea – den Archaeogastropoda (NISHIWAKI 1964). Innerhalb der Klasse der Gastropoda ist hingegen das Vorkommen dimorpher Spermatozoen, ausnahmsweise auch polymorpher Samenzellen (vgl. FURROW 1935), nicht nur auf die Prosobranchia beschränkt, sondern konnte neuerdings auch für einige Arten der Opisthobranchia belegt werden (DUPOUY 1960, 1964, ROGINSKAJA 1963).

Die atypischen Spermatozoen, welche neben den typischen, die Befruchtung vollziehenden Samenelementen heranreifen, sind durch eine abnorme, jedoch artspezifische Differenzierung charakterisiert. Als Ergebnis dieser aberranten Entwicklung entstehen Spermatozoen, die sich durch ihre Gestalt und Größe zumeist beträchtlich von den typischen männlichen Keimzellen unterscheiden.

Unter den verschiedenen Typen abweichend gebauter Spermatozoen der Prosobranchia nehmen in morphologischer und physiologischer Hinsicht die atypischen Samenelemente der Janthinidae, Scalidae und Cerithiopsidae eine Sonderstellung ein. Sie zeichnen sich nicht nur durch ihre ungewöhnliche Größe und bizarre Gestalt aus, sondern auch durch die Besonderheit, die typischen Spermatozoen anzuziehen, welche sich in großer Zahl an die atypischen Samenzellen anheften. Derartige als Spermatozeugmen bezeichnete Gebilde sind bei *Janthina pallida*¹ (ANKEL 1926, 1930 a, b), *Janthina balteata*, *Janthina globosa* (NISHIWAKI 1964), *Scala clathrus* (ANKEL 1926, 1930b, 1958), *Opalia crenimarginata* (BULNHEIM 1962a, b), *Cinctiscala eusculpta* (NISHIWAKI 1964) und *Cerithiopsis tubercularis* (FRETTER & GRAHAM 1962) beschrieben und bei einigen der genannten Arten hinsichtlich des Verlaufs ihrer Morphogenese analysiert worden.

Die Existenz eines derart extremen Dimorphismus der männlichen Geschlechtszellen konnte nunmehr auch für die marine Schnecke *Epitonium tinctum* nachgewiesen werden. Bei dieser Art treten ebenfalls jene eigentümlichen Riesenspermatozoen auf, die nach vollzogener Reifung einen Besatz mit typischen Samenzellen tragen. In Ergänzung der Studien über *Opalia crenimarginata* wird mit der vorliegenden Untersuchung das Ziel verfolgt, zytomorphologisch und zytochemisch der Differenzierung sowie der Frage nach der funktionellen Bedeutung dieser atypischen Geschlechtszellen nachzugehen und einige allgemeine Probleme des Spermatozoendimorphismus der Prosobranchia zu erörtern.

¹ Nach den Angaben von LAURSEN (1953) handelt es sich bei der von ANKEL (1930a) untersuchten Art um *Janthina pallida* und nicht um *Janthina bicolor*.

MATERIAL UND METHODE

Die untersuchten Exemplare von *Epitonium tinctum* (CARPENTER) stammen von der kalifornischen Küste, und zwar aus dem Litoral bei La Jolla. Sie wurden von Dr. E. W. FAGER, Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, USA, gesammelt und mir freundlicherweise zugesandt; für dieses Entgegenkommen bin ich Dr. FAGER sehr zu Dank verpflichtet.

Nach Abtragen der Schalen wurden sowohl ganze Tiere als auch herauspräparierte Gonaden in Bouin, Bouin-Allen oder Formol-Seewasser fixiert und in Paraffin eingebettet. Die 5 bis 7 μ dicken Schnitte wurden mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN und zu Übersichtszwecken mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Zum zytochemischen Nachweis von Polysacchariden kam die PAS-Reaktion nach HOTCHKISS zur Anwendung. DNS und RNS wurden mit Hilfe der Methylgrün-Pyroninmethode nach BRACHET erfaßt; der RNS-Nachweis wurde mit Ribonuklease-Kontrollen (0,5 %, 37° C, 1 Std.) verbunden. Zum DNS-Nachweis wurde ferner nach Bouin-Allen-Fixierung die Feulgen-Reaktion herangezogen. Die Samenzellen und ihre Entwicklungsstadien wurden außerdem in vivo phasenkontrastmikroskopisch untersucht.

GENESE DER ATYPISCHEN SPERMATOZOEN

Epitonium tinctum ist eine protandrisch hermaphrodite Art, bei der im Verlauf des Individuallebens möglicherweise ein mehrfacher Geschlechtswechsel erfolgt. Einen Hinweis darauf liefert die Tatsache, daß männliche Individuen in allen untersuchten Größenklassen zu finden waren; allerdings erwiesen sich größere Exemplare zumeist als Weibchen.

Die Gonade, die der Mitteldarmdrüse unmittelbar anliegt, besteht aus zahlreichen tubulösen Schläuchen. Diese vereinigen sich und münden in einen Gonodukt, der sich distal in die Mantelhöhle öffnet. Der obere Teil dieses ausleitenden Ganges ist während der männlichen Phase als Vesiculum seminalis ausgebildet; dieses enthält reife atypische Spermatozoen mit den ansitzenden typischen Samenzellen.

Beim Übergang in das weibliche Stadium wird die Bildung männlicher Keimzellen eingestellt, und es entstehen – zunächst in der peripheren Keimzone – Oozyten (Abb. 1). Im Laufe ihrer Vermehrungs- und Wachstumsphase füllen sie die Gonade zunehmend aus. Männliche Geschlechtszellen sind dann in der Keimdrüse und schließlich auch im Vesiculum seminalis nicht mehr anzutreffen.

Die Genese der atypischen wie auch der typischen Spermatozoen von *Epitonium tinctum* vollzieht sich nach dem gleichen Grundtypus der Entwicklung, wie er durch die Untersuchungen an *Janthina pallida*, *Scala clathrus* und *Opalia crenimarginata* bekanntgeworden ist (ANKEL 1930a, b, 1958, BULNHEIM 1962a). Die Schilderung des Differenzierungsgeschehens der atypischen Spermatozoen wird daher auf die Darstellung der wesentlichen und für diese Art charakteristischen Formbildungsvorgänge beschränkt (vgl. Abb. 2).

Die atypischen Spermatozyten bilden das erste erkennbare Stadium einer be-

ginnenden atypischen Differenzierung. Sie treten vereinzelt unter den zahlreichen Spermatozyten der typischen Reihe² auf und unterscheiden sich von diesen durch einen etwas größeren Kern und grobkörnige, feulgenpositiv reagierende Chromatinstrukturen. Für eine Existenz atypisch determinierter Spermatogonien haben sich keinerlei zytologische Hinweise innerhalb der Keimzone finden lassen.

Im Gegensatz zu den sich zu typischen Samenzellen entwickelnden Spermatozyten unterbleibt in den atypischen Spermatozyten die Herausbildung der Chromosomen und damit eine Konjugation. Das Fehlen meiotischer Vorgänge ist somit ein

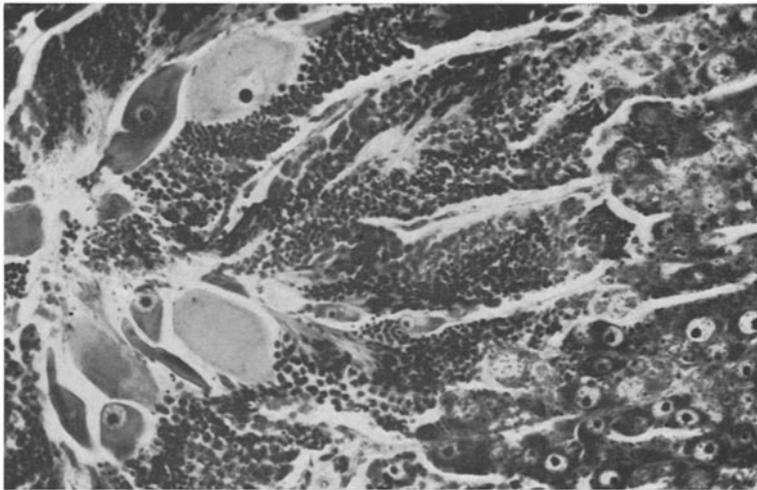
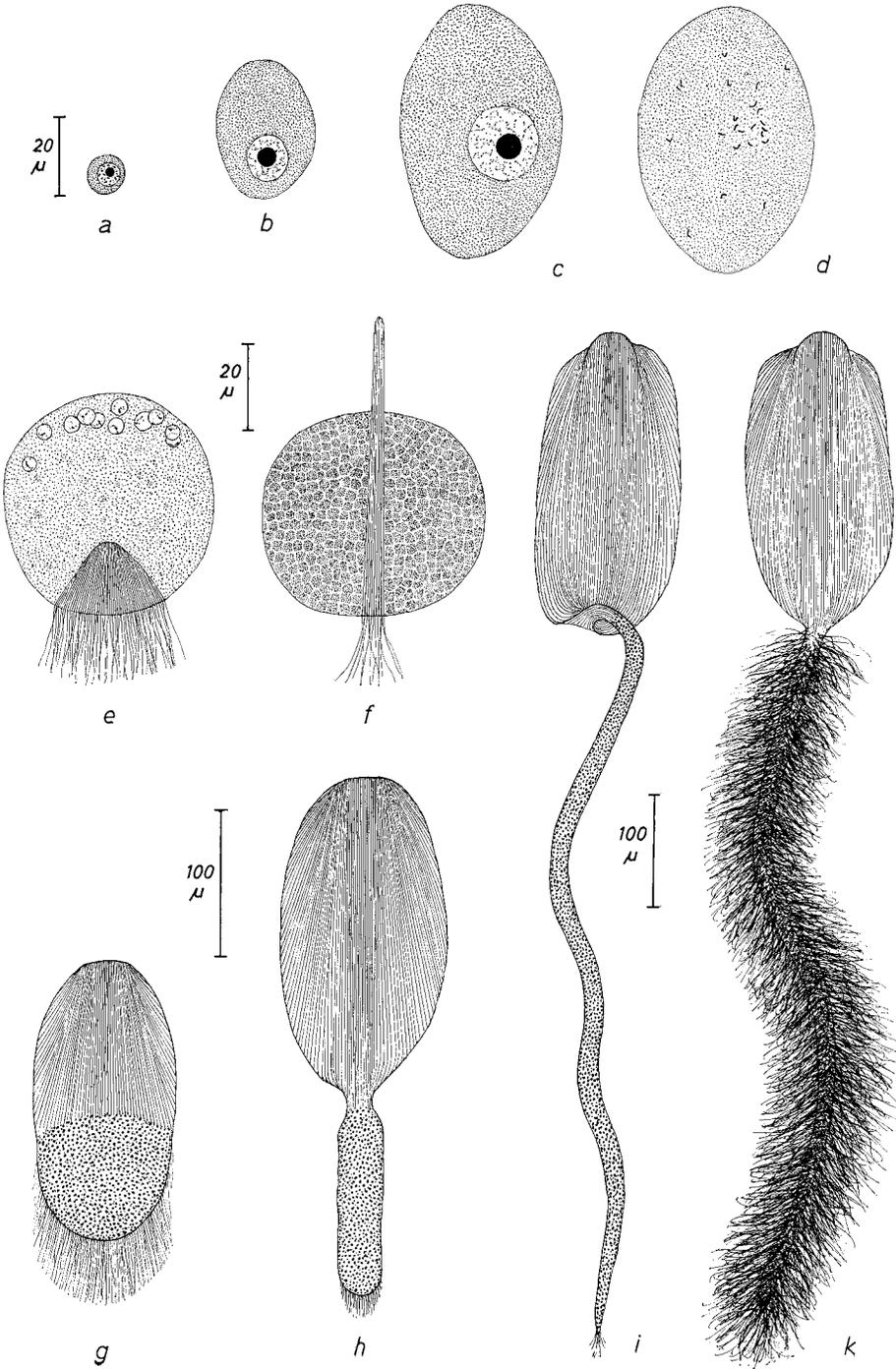


Abb. 1: Querschnitt durch die Gonade von *Epitonium tinctum*. Übergang von der männlichen zur weiblichen Geschlechtsphase. Links testikuläre Region mit atypischen Spermatozyten verschiedener Größe. Rechts Ovarregion mit jungen Oozyten (Hämatoxylin nach HEIDENHAIN, 300:1)

wesentliches Charakteristikum atypischer Differenzierung bei *Epitonium tinctum*. Wenn sich auch keine Anhaltspunkte gewinnen ließen, durch welche ursächliche Faktoren eine atypische Entwicklung ausgelöst wird, so scheint doch dem Ausfall der Chromosomenkondensation eine ausschlaggebende Bedeutung zuzukommen; demzufolge ist das Ausbleiben der Meiose als eine Folgeerscheinung dieser Störungen zu betrachten.

Die atypischen Spermatozyten durchlaufen – ähnlich wie die Eizellen – eine Phase intensiven Wachstums von Zytoplasma und Kern (Abb. 1, 2a–c), in deren Verlauf die körnigen Chromatinstrukturen mehr oder weniger schwinden, und eine nahezu feulgennegative Reaktion des Kernes festzustellen ist. Wie aus der starken Färbbarkeit des Zytoplasmas und des Nukleolus mit Pyronin zu schließen ist, vollzieht sich während dieser Phase in den atypischen Spermatozyten eine intensive RNS-Synthese.

² Die Bezeichnungen typische Reihe und atypische Reihe zur Unterscheidung der Entwicklungsstadien typischer und atypischer Samenzellen geht auf KUSCHAKIEWITSCH (1913) zurück.



Nach Erreichen einer bestimmten Größe löst sich der Kern auf, wobei zahlreiche Chromosomen von stab- oder V-förmiger Gestalt hervortreten (Abb. 2d), die sich regellos im Zytoplasma verteilen. Anhand derartiger, allerdings selten auftretender Stadien wurde versucht, die Zahl der Chromosomen zu ermitteln. Da nur Schnittserien zur Verfügung standen, war ihre exakte numerische Erfassung nicht möglich; Auszählungen ergaben, daß ungefähr 60 bis 68 Chromosomenelemente auftreten. Nach einer Analyse von Diakinesestadien typischer Spermatozyten kann die haploide Chromosomenzahl mit 15 bis 17 angesetzt werden. Obgleich sich somit bei *Epitonium tinctum* eine genaue Chromosomenzahl nicht ermitteln ließ, steht jedoch außer Zweifel, daß die atypischen Spermatozyten tetraploid geworden sind. Damit ergibt sich eine bemerkenswerte Parallelität zu den Befunden an den atypischen Spermatozyten von *Opalia crenimarginata*, *Scala clathrus* und *Janthina pallida*, wo der gleiche Ploidiegrad zutage tritt (BULNHEIM 1962a). Diese Vervielfachung geht offensichtlich auf eine Endomitose während der Wachstumsphase zurück. Da Teilungsvorgänge weder zu Beginn der Wachstumsphase noch während der Kernauflösung sichtbar werden, scheinen sie sich in einem Stadium abzuspielen, in dem die Chromosomen individuell nicht erkennbar sind.

Unmittelbar im Anschluß an den Kernzerfall erfolgt eine Bildung von Karyomeriten. Jedes Chromosom bildet einen bläschenförmigen Teilkern, an deren Zahl ebenfalls die Tetraploidie erkannt werden kann. Danach setzt eine zunehmende Strukturauflösung und Pyknose der Chromosomen ein; ihre Färbbarkeit mit Schiffschem Reagenz verringert sich und erlischt schließlich vollständig. Während dieser Umwandlung verlagern sich die Karyomeriten mehr oder weniger an die Peripherie einer Zelhälfte, wodurch die Zelle sichtbar polar differenziert wird (Abb. 2e).

Diese Veränderungen werden von zwei weiteren Formbildungsprozessen begleitet, welche die Histogenese einleiten: (1) Das Auftreten zahlreicher Zentriolen an der Peripherie des „hinteren“ Zellpols sowie ihr „Auswachsen“ zu freien Zilien und (2) die Entstehung grobkörniger, PAS-positiver Schollen im Zytoplasma der atypischen Spermatozyte. Derartige polysaccharidhaltige Substanzen bilden sich als granuläre Einschlüsse und füllen alsbald weitgehend den Zellkörper der atypischen Spermatozyte aus. Mit diesen Vorgängen geht eine beträchtliche Verringerung des RNS-Gehaltes der Zelle einher, was an der Abnahme der Färbbarkeit des Plasmas mit Pyronin deutlich wird. Die Polysaccharidschollen sind ebenso wie die Zentriolen und ihre Derivate frei von RNS und DNS.

Abb 2: Entwicklungsstadien der atypischen Spermatozoen von *Epitonium tinctum*. a: Junge atypische Spermatozyte. b: Atypische Spermatozyte in der Wachstumsphase. c: Atypische Spermatozyte vor Kernzerfall. d: Atypische Spermatozyte nach Auflösung des Kernes, unregelmäßige Verteilung der Chromosomen im Zytoplasma. e: Atypische Spermatozyte, Bildung von Teilkernen und Entstehung von Zilien und Zentrodiosomen nach vielfacher Zentriolenvermehrung (Frontalschnitt). f: Atypische Spermatozyte, Bildung von Deutoplasmaschollen im Zytoplasma und fortschreitendes Wachstum des Achsenkörpers (Medianschnitt). g: Atypische Spermatozyte in frontaler Aufsicht. h: Atypische Spermatozyte, Herausbildung einer aus Zentriolenderivaten bestehenden Fibrillenplatte und zapfenartiges Auswachsen der distalen mit Deutoplasmaschollen gefüllten Zellregion zum Stiel. i: Atypisches Spermatozoon nach Abschluß der Histogenese. Differenzierung in Treibplatte und Stiel. k: Atypisches Spermatozoon besetzt mit zahlreichen typischen Spermatozoen (Spermatozeugma). (a-f nach Schnittpräparaten, g-k nach lebenden Stadien)

Während der zytoplasmatischen Polysaccharidsynthese wachsen die Zentriolen, welche extrazellulär einen Saum freier Zilien gebildet haben, nach einer Teilung innerhalb der atypischen Spermatide zu Zentrodemosen aus. Formiert zu einem geschlossenen Verband, verlängern sich diese fibrillären Strukturen als Achsenkörper weit über die Peripherie des „vorderen“ Zellpols hinaus, wobei sich die Zelle zunehmend streckt (Abb. 2f). Auf Querschnittsbildern erscheint dieser als ein scharf begrenztes, rechteckiges Feld, wodurch die Zelle in zwei symmetrische Hälften geteilt wird.

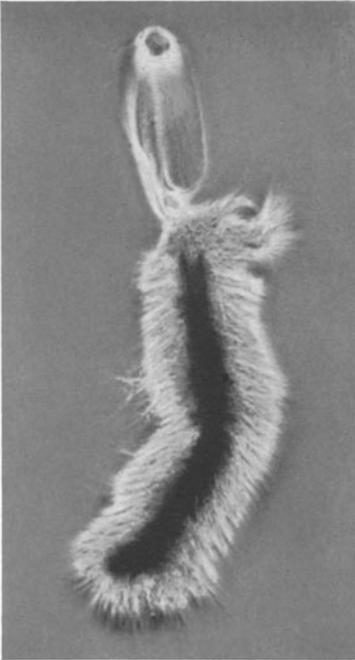


Abb. 3: Spermatozeugma von *Epitonium tinctum*. Typische Spermatozoen dem Stiel des atypischen Spermatozoons ansitzend. (Phasenkontrast, 80:1)

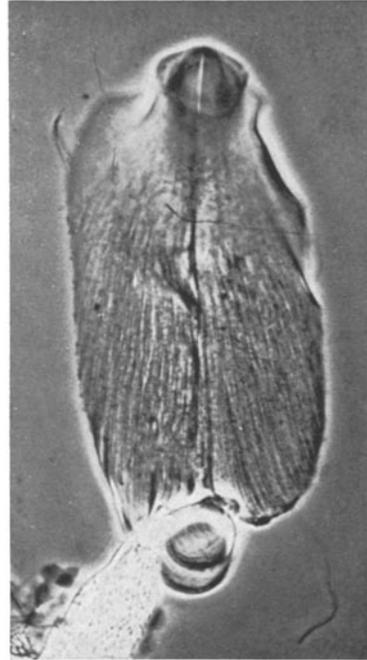


Abb. 4: Treibplatte eines atypischen Spermatozoons von *Epitonium tinctum*. Rechts unten im Bild ein typisches Spermatozoon. (Phasenkontrast, 220:1)

In dem Verband dicht aneinandergfügter fibrillärer Zentriolderivate, welche durch die atypische Spermatide hindurchgewachsen sind, stellen die am weitesten peripher gelegenen auf beiden Seiten nacheinander ihr Wachstum ein. Die zentral gelegenen Fibrillen verlängern sich weiterhin, doch nicht mehr in proximale, sondern nunmehr in distale Richtung. Dabei löst sich ihr fester Verband zunehmend auf, und es tritt das Zytoplasma mit seinen polysaccharidhaltigen Einschlüssen zwischen die voneinander isolierten oder nur noch zu lockeren Verbänden vereinten fibrillären Gebilde. Während dieses Geschehens streckt sich die distale Zellregion zunehmend in die Länge und bildet schließlich den Stiel des atypischen Spermatozoons. Im Verlauf dieser Formbildungsvorgänge gehen die Zilien verloren bis auf einige terminale, welche den zentral gelegenen und zugleich längsten Fibrillen angehören (Abb. 2g, h).

Die fibrilläre Platte am vorderen Pol erfährt noch einige Veränderungen insofern, als die Zentriolen proximal stärker zusammenrücken und die peripher gelegenen Zentriolderivate auf beiden Seiten ihr Wachstum zunehmend einstellen, wobei sich die Platte deutlich vom Stielabschnitt abzugrenzen beginnt. Durch die Eigenart ihres Wachstums bestimmen die Fibrillen die endgültige Gestalt der Samenzelle in nachhaltiger Weise und prägen ihr zugleich eine bilaterale Symmetrie auf.

Nach Beendigung des Differenzierungsgeschehens ist das atypische Spermatozoon zu einer etwa 1 mm langen Zelle herangewachsen (Abb. 2i). Sein proximaler Teil besteht aus einer im Umriss nahezu ovalen und bilateralsymmetrischen Fibrillenplatte, die im Anschluß an die Terminologie ANKELS (1930a) „Treibplatte“ (Abb. 4) und der daran ansitzende Stiel „Ansatzstück“ genannt werden sollen. Der Stiel erreicht etwa die 2^{1/2}fache Länge der Treibplatte. Mit Abschluß der morphologischen und physiologischen Reifung heften sich zu vielen Tausenden die typischen Spermatozoen an das mit Polysaccharidschollen gefüllte Ansatzstück (Abb. 2k, 3); sie verleihen damit diesem Gebilde ein fuchsschwanzähnliches Aussehen.

Die angehefteten typischen Spermatozoen – gegliedert in Kopf, Mittelstück und Schwanz – erreichen eine Länge von 80 bis 90 μ und gleichen hinsichtlich ihres Baues den typischen Samenzellen verwandter Arten (vgl. FRÄNZEN 1955).

Die atypische Samenzelle reagiert nach beendeter Histogenese völlig negativ gegenüber der RNS-Nachweisreaktion mit Pyronin. Auch das Vorkommen von DNS ist zytochemisch nicht mehr feststellbar. Bereits während der Histogenese werden die atypischen Spermatiden durch Degeneration und Verschwinden der Karyomeriten kernlos. Soweit die hier durchgeführten und qualitativ ausgewerteten Nachweisreaktionen auf DNS und RNS eine Aussage zulassen, kann festgestellt werden, daß die reifen atypischen Samenzellen von *Epitonium tinctum* offensichtlich keine Nukleinsäuren mehr enthalten.

BESONDERHEITEN DER MORPHOGENESE UND PHYSIOLOGIE DER ATYPISCHEN SPERMATOZOEN

Die atypischen Spermatozoen der Janthinidae, Scalidae und Cerithiopsidae stellen die absonderlichsten Samenelemente dar, welche durch die bisherigen Untersuchungen über die Keimzellen der Prosobranchia bekannt geworden sind. Eine vergleichende Betrachtung der Genese und zellulären Organisation dieser Spermatozoenformen läßt deutlich werden, daß die *Janthina*-Arten den am höchsten differenzierten Zelltypus hervorbringen. Bei *Janthina pallida* ist eine speerförmige Treibplatte ausgebildet, an die sich ein Verbindungsstück mit einer Kalotte von polysaccharidhaltigem Deutoplasma anschließt; diesem folgt ein Ansatzstück, das ebenfalls PAS-positive Substanzen enthält und mit einer Vielzahl typischer Spermatozoen besetzt ist (ANKEL 1930a). Die atypischen Spermatozoen von *Janthina balteata* und *Janthina globosa* weisen den gleichen Bauplan auf (vgl. NISHIWAKI 1964), sind aber hinsichtlich der Größenverhältnisse etwas verschieden.

Zwischen den atypischen Samenelementen von *Opalia crenimarginata* und *Epitonium tinctum* bestehen gewisse Übereinstimmungen bezüglich der Gestalt der Treib-

platte; sie ist in beiden Fällen am vorderen Pol durch die dort zusammengedrängten Zentriolen bügelförmig abgerundet. Ein derartiger „Zentriolenbügel“ tritt auch bei *Scala clathrus* auf, doch ist hier die Fibrillenplatte, die zudem peripher stets aufgerissen und mit einem Plasmasaum versehen ist, breiter (ANKEL 1958). Der Stielabschnitt ist bei der letztgenannten Art wesentlich kompakter als bei *Opalia crenimarginata* und ähnelt strukturell sowie bezüglich der dort konzentrierten, großen Polysaccharidschollen den atypischen Spermatozoen von *Epitonium tinctum*, bei denen auch – im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Opalia crenimarginata* – ein deutlich abgesetztes Verbindungsstück fehlt. Bei *Epitonium tinctum* geht die Treibplatte unmittelbar in den Stiel über, der in seiner ganzen Länge von typischen Spermatozoen besetzt ist. Hingegen ist bei *Scala clathrus* der Stiel nur im distalen Teil mit typischen Spermatozoen besetzt; etwa $\frac{1}{4}$ der Stiellänge bleibt frei von Samenzellen. Zudem ist bei dieser Art – wie auch bei *Janthina* – der Stiel spiralg um seine Achse gedreht.

Sehr eigenartig sind schließlich die atypischen Spermatozoen von *Cinctiscala ensculpta* strukturiert. Unregelmäßig im Umriss und nur aus einem flächigen, fibrillären Skelett mit zytoplasmatischen Einschlüssen bestehend, sind diese nicht in zwei oder drei morphologisch unterscheidbare Regionen aufgeteilt. Eine von NISHIWAKI (1964, p. 250) gegebene Darstellung zeigt, daß im distalen Bereich etwa $\frac{2}{3}$ der Zellfläche von typischen Spermatozoen besetzt sind.

Die Spermatozeugmen von *Cerithiopsis tubercularis* repräsentieren einen Samenzellentyp, der aus drei deutlich abgegrenzten Regionen besteht. Dieser Typ – von FRETTER & GRAHAM (1962, p. 341) in einer Abbildung wiedergegeben – ist durch eine rundlich geformte Fibrillenplatte, ein kurzes Verbindungsstück und ein Spermatozoen tragendes Ansatzstück charakterisiert und scheint dem Organisationsschema der atypischen Spermatozoen der Scalidae näher zu stehen als dem der Janthinidae.

Die Differenzierung dieser monströsen Samenzellen ist – abgesehen von *Epitonium tinctum* – nur bei *Janthina pallida*, *Scala clathrus* und *Opalia crenimarginata* in den Einzelheiten geklärt worden. Bei einer vergleichenden Betrachtung kann festgestellt werden, daß die Grundvorgänge der Spermatogenese bei diesen Spezies gleichartig verlaufen, die einzelnen Differenzierungsschritte bis hin zum ausgereiften Endprodukt sich aber in mehr oder weniger abgewandelter Weise vollziehen.

Im folgenden sollen einige wesentliche Ergebnisse und Probleme hinsichtlich der atypischen Samenzellbildung bei den Prosobranchiern unter besonderer Berücksichtigung der extrem differenzierten atypischen Spermatozoen dargelegt werden.

ANKEL (1930a) hat in einer Übersicht 7 Grundtypen atypischer Samenzellen herausgestellt, denen jeweils atypische Spermatozoenformen mit gemeinsamen Merkmalen in bezug auf Entstehung und Morphologie angehören. Dieses Schema hat NISHIWAKI (1964) ergänzt und auf 8 Grundtypen erweitert. Da gleiche Familien oder Superfamilien ähnliche atypische männliche Keimzellen hervorbringen, vertritt NISHIWAKI die Auffassung, daß sich aus dem Bau der atypischen Spermatozoen phylogenetische Beziehungen zwischen den einzelnen systematischen Einheiten der Prosobranchia ableiten lassen. Der morphologische Vergleich atypischer Spermatozoen sollte daher als ein zusätzliches Kriterium für stammesgeschichtliche Überlegungen zur Evolution dieser Tiergruppe in Betracht gezogen werden.

Ein vorrangiges Interesse beansprucht die Frage nach den Ursachen der Ent-

stehung atypischer Samenzellen. Trotz aller Bemühungen haben jedoch die bisherigen Untersuchungen keine eindeutige Antwort oder nur Hinweise auf mögliche Ursachen ihrer Entstehung erbracht. So konnte KEYL (1955) bei *Bithynia tentaculata* nachweisen, daß eine atypische Keimzellenentwicklung durch eine Reihe von Störungsvorgängen ausgelöst wird, welche bestimmte Teilvorgänge der Spermatogenese in graduell abgestufter Weise beeinflussen können. Wie DUPOUY (1964) dargelegt hat, werden bei dem Opisthobranchier *Haminea navicula* die sich normalerweise abspielenden karyologischen Vorgänge in den Spermatozyten vor der Meiose oder in einem späteren Stadium blockiert, und es entstehen neben normalen Samenzellen durch inäquale Teilungen und chromosomale Segregationsfehler polymorphe Spermatozoen, die entweder heteroploid oder polyploid sind. Nach den Beobachtungen YAMASAKIS (1966) wird bei *Cipangopaludina japonica iwakawa* die atypische spermatogenetische Entwicklung durch eine ungleiche Verteilung der Golgi-Körper während der Vermehrungsperiode der Spermatogonien determiniert.

Für derartige oder ähnliche Vorgänge haben sich bei *Epitonium tinctum* jedoch keine Hinweise finden lassen. Sicher ist jedoch, daß atypisch determinierte Spermatogonien fehlen und eine Chromosomenkonjugation unterbleibt bzw. nicht angebahnt wird.

Die Chromosomen werden individuell erst während des Kernzerfalls erkennbar. Diesen Vorgang, bei dem es weder zu einer Plasmateilung noch – mit Ausnahme von *Janthina pallida* – zu einer Spindelbildung kommt, betrachtet ANKEL (1930a) als eine abortive Reifungsteilung. Im Hinblick auf die offensichtlich durch eine Endomitose hervorgerufene Tetraploidierung der atypischen Spermatozyten ergibt sich für *Epitonium tinctum* eine grundsätzliche Übereinstimmung mit den Befunden an *Opalia crenimarginata*, *Scala clathrus* und *Janthina pallida* (BULNHEIM 1962a). Da Reifungsteilungen unterbleiben, entspricht die hier zutage tretende Tetraploidie numerisch dem Chromosomenbestand, der bei normaler, typischer Entwicklung auf vier Spermatozyten verteilt würde. Auf die Möglichkeit, daß eine Polyploidisierung auch bei den atypischen Spermatozyten einiger anderer Arten auftreten könnte, wurde bereits früher hingewiesen (BULNHEIM 1962a). Da die chromosomalen Verhältnisse bei den meisten bisher untersuchten Arten nur unzureichend analysiert worden sind, läßt sich keine bündige Antwort auf die Frage geben, ob das besonders in den Fällen eines extremen Spermatozoendimorphismus beobachtete intensive Größenwachstum der atypischen Spermatozyten generell mit einer Vervielfachung des Genoms zusammenhängt bzw. dadurch hervorgerufen wird.

Die multiple Zentriolenbildung stellt eine weitere, wenngleich nicht allgemein auftretende Eigenart atypischer Spermatogenese dar. Die Zahl der Zentriolen und der aus ihnen hervorgehenden Fibrillen dürfte bei *Epitonium tinctum* in derselben Größenordnung liegen wie bei *Opalia crenimarginata*. Sie beträgt bei dieser Art ungefähr 3000 und wurde indirekt, und zwar durch Auszählen der fibrillären Zentriolderivate anhand von Ultradünnschnitten durch den proximalen Abschnitt der Treibplatte ermittelt (BULNHEIM 1962b). In diesem Ausmaß offenbart die vielfache Zentriolen- und Fibrillenbildung eine außerordentliche morphogenetische Leistung der atypischen Samenzellen und stellt zugleich im Hinblick auf Differenzierungsgeschehen tierischer Geschlechtszellen eine singuläre Erscheinung dar.

Angesichts der zytologisch noch nicht definitiv geklärten Frage, ob diese Organellen nur aus ihresgleichen hervorgehen können, wäre es von besonderem Interesse, einen sublichtmikroskopischen Einblick in die Vorgänge während der Zentriolenbildung zu gewinnen. Diesem Problem hat sich an atypischen Spermatozoen bisher nur GALL (1961) gewidmet, der bei *Viviparus malleatus* das Erscheinen zahlreicher „Prozentriolen“ verfolgen konnte. Sie entstehen nicht durch aufeinanderfolgende Teilungen, sondern treten gleichzeitig in unmittelbarer Nachbarschaft des „Mutterzentriols“ auf. Damit muß die von POLLISTER & POLLISTER (1943) aufgestellte These, bei der atypischen Spermatozoenbildung einiger Vivipariden würden sich die Zentromeren degenerierender Chromosomen in Zentriolen verwandeln, sehr angezweifelt werden, wenn gleich sie nicht in allen Punkten widerlegt worden ist.

Die atypischen Spermatozoen vieler Arten bilden im Verlauf ihrer Formbildung granuläre oder grobschollige deutoplasmatische Einschlüsse aus. Durch zytochemische Untersuchungen sind diese Zellstrukturen bei *Columbella rustica* (BATTAGLIA 1951), *Murex trunculus* (BATTAGLIA 1954), *Viviparus viviparus* (HANSON et al. 1952), *Cipangopaludina malleata* (*Viviparus malleatus*) (ISHIZAKI & KATO 1958, GALL 1961, YASUZUMI 1962), *Cipangopaludina japonica iwakawa* (YAMASAKI 1966), *Melania libertina* (YASUZUMI et al. 1962), *Harpa minor* (RENAULT 1965), *Opalia crenimarginata*, *Scala clathrus*, *Janthina pallida* (BULNHEIM 1962a) und *Crepidula fornicata* (unveröffentlichte Ergebnisse) als polysaccharidhaltig erkannt worden. Bei *Opalia crenimarginata* konnte darüber hinaus der Nachweis erbracht werden, daß die deutoplasmatischen Gebilde auch eine Proteinkomponente enthalten; sie wurden daher in bezug auf ihre chemische Natur als Glykoproteide eingestuft. Ob sie auch Lipide enthalten, ist fraglich; entsprechende Nachweisreaktionen fielen bei den atypischen Samenzellen von *Viviparus viviparus* negativ aus (HANSON et al. 1952).

Über die Herkunft dieser Substanzen sind widersprüchliche und nicht ausreichend begründete Meinungen geäußert worden. BATTAGLIA (1951, 1954) vermutete bei *Columbella rustica* und *Murex trunculus* einen Zusammenhang zwischen Kernauflösung, Abbau der DNS und der Bildung PAS-positiven Materials. In diesem Sinne äußerten sich auch YASUZUMI und Mitarbeiter (1958, 1962, 1967). Sie beobachteten im Zytoplasma atypischer Spermatischen von *Cipangopaludina malleata* Vesikel mit feulgenpositiven, granulären Einschlüssen, welche eine Umwandlung in polysaccharidhaltige Substanzen erfahren sollen. Hierbei soll die DNS des im Zytoplasma verstreuten Kernmaterials unter Beteiligung des Golgi-Apparates hydrolytisch abgebaut werden (YASUZUMI et al. 1967). GALL (1961) betonte hingegen, daß die beobachteten partikulären Gebilde nicht feulgenpositiv reagieren und bereits im Zytoplasma auftreten, bevor die Chromosomen degenerieren.

Beziehungen zwischen der Chromosomendegeneration nach dem Kernzerfall und der Entstehung deutoplasmatischer Substanzen ließen sich weder bei *Epitonium tinctum* noch bei *Opalia crenimarginata*, *Scala clathrus* oder *Janthina pallida* erkennen. Bei der Polysaccharidsynthese in den atypischen Spermatischen dürfte es sich vielmehr um einen Vorgang rein zytoplasmatischer Aktivität handeln. Dafür sprechen auch die Ergebnisse, welche die zytochemische Untersuchung der wachsenden Oozyten bei den genannten Arten und bei *Epitonium tinctum* ergeben hat. Im Verlauf der Vitellogenese werden ebenfalls Polysaccharide als Reservestoffe synthetisiert, und zwar in Gegen-

wart des Kernes ohne Abbau der DNS. Nach den bei *Opalia crenimarginata* angewandten, detaillierten Untersuchungsverfahren ist der Dotter der Eizellen zytochemisch mit den Inhaltsstoffen der atypischen Spermatozoen identisch. Diese Befunde lassen daher auf eine zellphysiologische Gleichartigkeit der Syntheseprozesse während der Wachstumsphase der atypischen Spermatozyten und der Oozyten schließen (BULNHEIM 1962a). In beiden Zelltypen kommt es zunächst zu einer intensiven RNS-Bildung, die mit einer Proteinvermehrung einhergeht. Die Synthese von Plasmaproteinen scheint die substratmäßige Voraussetzung für die Bildung von Kohlenhydraten zu sein. Im Verlauf der Polysaccharidspeicherung nimmt der RNS-Gehalt in den atypischen Spermatozyten und in den Oozyten beträchtlich ab. Die strenge zeitliche Folge und gegenseitige Abhängigkeit von Protein- und Kohlenhydratsynthese wird auch von ENGELS (1966) für die Oogenese bei *Apis mellifica* und anderen Insekten betont; der Antagonismus beider Stoffwechselvorgänge wird daher als ein allgemeingültiges zellphysiologisches Prinzip herausgestellt.

Bezüglich der atypischen Spermatozoen von *Epitonium tinctum* und verwandter Arten ist jedoch einschränkend zu bemerken, daß trotz der Phasenspezifität der Polysaccharidsynthese das Wachstum der Zelle noch nicht beendet ist. Vielmehr beginnt zu einem annähernd gleichen Zeitpunkt die Ausbildung des fibrillären Skelettes, wodurch das Längenwachstum der atypischen Spermatozyten in Gang gesetzt wird. Es ist daher anzunehmen, daß diese strukturellen Aufbauprozesse ein Fortdauern der Proteinsynthese zur Voraussetzung haben.

Eine weitere Eigentümlichkeit der atypischen Spermatozoen zahlreicher Prosobranchia ist die Tatsache, daß sie nach vollzogener Reifung kernlos (apyren) sind. Bei *Epitonium tinctum*, *Opalia crenimarginata*, desgleichen auch bei *Scala clathrus* und *Janthina pallida* degenerieren die Chromosomen, nachdem sie Karyomeren gebildet haben. Während der Histogenese kollabieren die Teilkerne und lösen sich schließlich vollständig auf; in dieser Phase sind also auch die Kernäquivalente morphologisch nicht mehr existent. Nach den zytochemischen Befunden an *Epitonium tinctum* und *Opalia crenimarginata* scheint damit auch die DNS in den atypischen Spermatozyten verlorengegangen zu sein. Zudem nimmt mit Einsetzen der Deutoplasmabildung die Basophilie des Zytoplasmas sukzessiv ab, und bei Abschluß der Histogenese ist auch RNS zytochemisch nicht mehr nachweisbar. Analoge Verhältnisse liegen bei *Columbella rustica* und *Murex trunculus* vor (BATTAGLIA 1951, 1954), wo der Kern ebenfalls zugrunde geht, und die reifen atypischen Samenzellen weder DNS noch RNS enthalten.

Diese Ergebnisse werfen eine Frage auf, welche über alle anderen Probleme atypischer Spermatozoenbildung bei den Gastropoden hinausreicht: Wie können derart hochspezialisierte Zellen bei Abwesenheit des Kernes lebensfähig bleiben und ihre Differenzierung vollenden?

Eine Fülle grundlegender Befunde über die Primärvorgänge der Morphogenese hat in neuerer Zeit zu der Erkenntnis geführt, daß die Bildung zellspezifischer Proteine von der DNS unter Beteiligung der RNS gelenkt wird. Überträger der genetischen Information ist die Messenger-RNS, welche an der chromosomalen DNS entsteht. Sie wird an die Stätten der Eiweißsynthese transportiert, wo mit Hilfe der Transfer-RNS und der ribosomalen RNS individuelle Proteine gebildet werden.

Aufschlußreiche Untersuchungen an kernlosen Zellen, wie Retikulozyten und Siebzellen, sowie an kernlosen Zellfragmenten von *Acetabularia*, Protozoen, Seeigel- und Amphibieneiern haben übereinstimmend gezeigt, daß auch bei Fehlen des Nukleus die Proteinsynthese fortgesetzt werden kann und Formbildungsprozesse nicht blockiert werden (vgl. BRACHET 1961, 1967).

Die kernlosen Retikulozyten der Säugetiere, welche aus den kernhaltigen Erythroblasten hervorgehen, behalten einen großen Teil der Stoffwechselfunktionen ihrer Vorgänger. Sie sind jedoch nicht mehr in der Lage, ribosomale RNS zu synthetisieren, und es ist unwahrscheinlich, daß eine Neubildung von Messenger-RNS stattfindet. Während der Reifung zu Erythrozyten verlieren sie ihren gesamten RNS-Bestand und zugleich die Fähigkeit, Proteine zu synthetisieren (vgl. SCHWEIGER 1964). Die Frage, ob die RNS-Bildung unter ausschließlicher Kontrolle des Nukleus steht, hat zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt. Neben zahlreichen negativen Befunden an Protozoen (vgl. PRESCOTT 1962) konnte in anderen Fällen eine Inkorporation radioaktiver Vorstufen in die RNS kernfreier Amöben nachgewiesen werden (CUMMINS & PLAUT 1964). Während reife Siebzellen von *Vicia faba*, in denen der Kern degeneriert, RNS nicht synthetisieren (NEUMANN & WOLLGIEHN 1964), kann in kernlosen Zellteilen von *Acetabularia* eine Neubildung von RNS, die insbesondere an die Chloroplasten gebunden ist, erfolgen (SCHWEIGER et al. 1967). Es ist daher einerseits die Existenz einer stabilen und langlebigen Messenger-RNS in Betracht gezogen worden, welche die Information zur Morphogenese auch bei Abwesenheit des Kernes realisiert, andererseits aber auch die Möglichkeit einer kernunabhängigen Regulation der Proteinsynthese unter Beteiligung einer zytoplasmatischen DNS. Da sich die Befunde über das Vorkommen geringer Mengen von DNS in Chloroplasten, Mitochondrien und anderen Zellstrukturen mehren (z. B. SWIFT 1965, GAHAN & CHAYEN 1965), wären damit die Voraussetzungen für eine autonome zytoplasmatische RNS-Synthese gegeben.

Bei Zellformen, die ihren Kern ohne äußeren Eingriff verlieren (Retikulozyten, Siebzellen), liegen keine Beweise einer RNS-Bildung nach Verlust des Nukleus vor. In Anbetracht des schwindenden RNS-Bestandes wird möglicherweise während der Histogenese der kernlosen atypischen Spermatozyten von *Epitonium tinctum*, *Opalia crenimarginata* und offensichtlich auch bei anderen Arten RNS nicht mehr synthetisiert, doch ließe sich ein sicherer Entscheid nur durch mikroautoradiographische Untersuchungen fällen. Es kann jedoch kein Zweifel darüber herrschen, daß die nach dem Kernzerfall im Zytoplasma vorhandene RNS bei dem weiteren Ablauf der Samenzellreifung morphogenetisch wirksam ist. Sofern diese Nukleinsäure während der Histogenese nicht neugebildet wird, müßte es sich hierbei um eine relativ stabile Messenger-RNS handeln.

VERHALTEN UND FUNKTIONELLE BEDEUTUNG DER ATYPISCHEN SPERMATOZOEN

Im Rahmen dieser Untersuchungen sollten nicht nur der Ablauf der Differenzierung sowie einige zytochemische Eigenschaften der atypischen Spermatozoen von *Epitonium tinctum* verfolgt werden, sondern es wurde auch der Blick auf ihr Verhalten und auf das Problem ihrer funktionellen Bedeutung gerichtet.

Entnimmt man dem Gonodukt eines männlichen Tieres von *Epitonium tinctum* Spermatozeugmen und überführt diese in Seewasser, so setzt eine meist lebhaftere Bewegungstätigkeit der Samenzellen ein. Da die während der Präparation hervorgetretenen Spermatozoen zunächst noch weitgehend immobil sind, in Seewasser jedoch sehr rasch zu voller Aktivität gelangen, ist anzunehmen, daß dieses eine in starkem Maße stimulierende Wirkung ausübt. Pipettiert man spermahaltige Flüssigkeit in ein Glasgefäß, so sinken die atypischen Spermatozoen langsam zu Boden, wobei sie mehr oder weniger kräftige Bewegungen auszuführen beginnen. Diese werden von den am vorderen Pol zusammengedrängten Zentriolen initiiert und setzen sich in rhythmischer Folge über die Fibrillen fort. Dabei wird die Treibplatte zu Undulationen angeregt, und je nach Intensität der Impulse können diese wellenförmigen Bewegungen auch auf das Ansatzstück übergreifen. Häufig wird die Treibplatte nach verschiedenen Richtungen zum Ansatzstück hin abgewinkelt; ein derartiges Verhalten hat meist nur eine geringe Lageveränderung der atypischen Spermatozoen zur Folge. Die motorische Aktivität der Spermatozeugmen kann überdies von den ansitzenden typischen Spermatozoen beträchtlich verstärkt werden. Ihre Schlagbewegungen vermögen ein atypisches Spermatozoon auch dann noch voranzutreiben, wenn die Treibplatte keine Undulationen ausführt. Die Aktivität der typischen Spermatozoen verebbt im Seewasser relativ schnell; auch die atypischen Spermatozoen stellen im allgemeinen ihre Bewegungstätigkeit bald ein.

Für eine besondere fortpflanzungsbiologische Bedeutung der Spermatozeugmen von *Epitonium tinctum* ließen sich indes keine unmittelbaren Anhaltspunkte finden. Zwar konnte bei den untersuchten und nur kurze Zeit in Aquarien gehaltenen Tieren eine Samenübertragung nicht verfolgt werden, doch dürfte es höchst unwahrscheinlich sein, daß ausgestoßene Spermatozeugmen von einem männlichen zu einem weiblichen Partner schwimmen, wie es GRAHAM (1954) für *Janthina* angenommen hat. Gegen diese These sprechen – zumindest bei *Epitonium tinctum* und *Opalia crenimarginata* – die auch in Gegenwart weiblicher Tiere völlig ungerichteten Bewegungen sowie die begrenzte Lebensfähigkeit der atypischen Spermatozoen in Seewasser.

Während *Scala*, *Opalia*, *Epitonium* und *Cerithiopsis* Benthosbewohner sind, gehört *Janthina* als ein besonders spezialisierter Lebensformtyp dem marinen Pleuston an. ANKEL (1930a) hielt es auf Grund der pelagischen Lebensweise und des sozialen Vorkommens von *Janthina* für möglich, daß bei der Samenübertragung die Spermatozeugmen eine Zeitlang im Wasser treiben, bevor sie in den weiblichen Genitaltrakt eindringen. In ähnlichem Sinne äußerten sich auch WILSON & WILSON (1956, p. 303), die bei *Janthina janthina* in einem Fall die Entleerung der männlichen Keimzellen in das umgebende Medium beobachten konnten: . . . "they are an adaptation enabling spermatozoa to make the relatively long journeys between individuals of a school."

Bei der getrenntgeschlechtlichen *Cerithiopsis tubercularis* gelang es FRETTER (1951), die Spermaübertragung zu verfolgen. Die männlichen Individuen einer Gruppe von Tieren entließen ihre Keimzellen, die mit dem die Mantelhöhle verlassenden Wasserstrom herausgestrudelt wurden und als trübe Wolke im umgebenden Wasser erkannt werden konnten. Wie FRETTER weiterhin feststellte, wurde diese mit Prostatasekret vermischte, spermahaltige Flüssigkeit sogleich durch die Ingestionssiphonen der ♀♀ aufgenommen. Histologische Präparate erbrachten jedoch keinen Aufschluß über

den Verbleib der atypischen Spermatozoen im weiblichen Genitaltrakt; ihr weiteres Schicksal ist daher bei dieser Art ungewiß.

Bei *Opalia crenimarginata* sprechen alle Anzeichen dafür, daß die atypischen Spermatozoen in die weiblichen Geschlechtswege eindringen (BULNHEIM 1962a), wo sie im Bereich des Uterus und in dem zum Receptaculum seminis führenden Kanal gefunden wurden; dort sind die typischen Spermatozoen teilweise vom Ansatzstück gelöst. Im Receptaculum seminis konnte eine fortschreitende Degeneration bis hin zu vollständiger Auflösung der atypischen Samenzellen festgestellt werden. Die frei werdenden typischen Spermatozoen heften sich dann an das Wandepithel des Receptaculum seminis an.

Unter den untersuchten Exemplaren von *Epitonium tinctum* konnten nur bei einem einzigen weiblichen Tier Reste degenerierter atypischer Spermatozoen im Receptaculum seminis aufgefunden werden; in allen anderen Teilen des weiblichen Geschlechtsapparates ließ sich die Anwesenheit von Spermatozeugmen nicht nachweisen. Dennoch ist anzunehmen, daß die atypischen Spermatozoen von *Epitonium tinctum* ein gleiches oder ähnliches Schicksal wie die von *Opalia crenimarginata* erleiden. Eine Selbstbefruchtung kann in beiden Fällen mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Nach vollständiger Umwandlung des Hodens zum Ovar konnten weder typische noch atypische Samenzellen in den ableitenden Geschlechtswegen nachgewiesen werden. Allerdings wird die Möglichkeit einer Selbstbefruchtung für *Janthina* von ANKEL (1930a), GRAHAM (1954) und FRETTER & GRAHAM (1962) in Erwägung gezogen, zumal zahlreiche degenerierende Spermatozeugmen und abgelöste typische Spermatozoen bei weiblichen Tieren im Bereich zwischen Schleimdrüse und Ovar gefunden wurden. Diese Beobachtung schließt freilich nicht aus, daß in den weiblichen Gonodukt eingedrungene Spermatozoen von einer Samenübertragung zwischen zwei verschiedengeschlechtlichen Individuen stammen.

Ein weiterer Gesichtspunkt, der von FRETTER & GRAHAM (1962) im Hinblick auf die Bedeutung der Spermatozeugmen für die Fortpflanzungsbiologie angeführt wurde, ist das Fehlen eines Penis bei den Cerithiopsidae, Scalidae und Janthinidae. Diese Autoren ziehen daher den Schluß, daß die Spermatozeugmen einen Ersatz für ein Kopulationsorgan darstellen. Zweifelsohne ließe sich diesen Riesenzellen ein gewisser funktioneller Anpassungswert zusprechen, da sie einen besseren Transport der typischen Spermatozoen gewährleisten und die Möglichkeit ihres Verstreuens bei der Samenübertragung einschränken könnten. Doch ist diesem Argument entgegenzuhalten, daß bei anderen Prosobranchiern ohne Kopulationsorgan, z. B. den Turritellidae, nur einfach gebaute atypische Spermatozoen auftreten, die keinen Besatz an typischen Spermatozoen tragen, wie die Untersuchungen von SCHITZ (1920) und TUZET (1930) gezeigt haben. Aus den hier angeführten Tatsachen und Überlegungen wird ersichtlich, daß sich keine überzeugenden Beweise für eine funktionelle Interpretation der Spermatozeugmenbildung aus besonderen Gegebenheiten der Lebensweise oder der Morphologie des Genitalsystems herleiten lassen.

Alle genannten Arten zeichnen sich durch eine innere Befruchtung aus. In Anbetracht des Fehlens von Begattungsorganen ist jedoch eine eigentliche Kopulation nicht möglich. Selbstbefruchtung wird – wie es sich immer wieder herausgestellt hat – auch bei zwittrigen Arten in der Regel umgangen. Setzt man voraus, daß in allen

genannten Fällen Fremdbefruchtung das Normale ist, dann wäre diese nur zu verwirklichen, wenn sich die Tiere paarweise oder zu größeren Individualverbänden vereinigen, bevor die ♂♂ ihre Geschlechtsprodukte entlassen. Die ♀♀ könnten dann mit dem Strom des Atemwassers die Spermatozoen aufnehmen, wofür die an *Cerithiopsis tubercularis* angestellten Beobachtungen sprechen würden.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, den atypischen Spermatozoen der Gastropoden auch andere Funktionen zuzuordnen. Angesichts ihrer teilweise recht komplizierten Struktur und ihres zumeist massenhaften Auftretens in den männlichen Keimdrüsen hat die Frage, welche Rolle sie für den Ablauf der Fortpflanzung spielen, immer wieder zu Deutungen und auch Spekulationen herausgefordert. Auf diese Frage konnte indessen keine allgemein verbindliche Antwort gegeben werden. So wurden die atypischen Spermatozoen als beteiligt bei der Bestimmung des Geschlechts (HERTWIG 1912) oder als verantwortlich für eine merosperme Entwicklung (MEVES 1903) und für die Determination der Nähreier betrachtet (HYMAN 1925, PORTMANN 1927, vgl. hierzu STAIGER 1951 und DUPOUY 1964), doch konnte bislang kein eindeutiger Beweis für eine entwicklungsphysiologische Rolle dieser Samenzellen erbracht werden. GOLDSCHMIDT (1916) schließlich vertrat die Ansicht, sie seien nur funktionslose, abartige Degenerationsprodukte.

Von verschiedenen Autoren wurde in Erwägung gezogen, daß die atypischen Spermatozoen eine stoffliche Wirkung entfalten könnten. Nach den Angaben von WOODARD (1940) sollen die atypischen Samenelemente von *Goniobasis laqueata* die Bewegungstätigkeit der typischen Spermatozoen aktivieren. NEUHAUS (1959) äußerte die Auffassung, bei *Bithynia tentaculata* erwerbe der weibliche Organismus durch die Resorption atypischer und auch typischer Spermatozoen in Eiweißdrüse und Receptaculum seminis einen nicht unerheblichen Energievorrat. Überdies wird die Möglichkeit in Betracht gezogen, die atypischen Spermatozoen könnten durch das Wirksamwerden spermato- und oogenetischer Faktoren (vgl. ANKEL 1930a) bestimmte hormonale Stoffe bilden, die bei der Resorption frei werden und für den Ablauf der Fortpflanzung im weiblichen Tier wesentlich seien. Da KEYL (1955) keine Hinweise für eine Manifestation oogenetischer Tendenzen bei der atypischen Spermatozoenbildung dieser Art zu erkennen vermochte (vgl. p. 249), erweist sich zumindest für *Bithynia tentaculata* eine derartige Begründung als nicht stichhaltig.

Weitere Befunde an anderen dimorphospermen Prosobranchiern deuten darauf hin, daß den atypischen Samenelementen eine trophische Funktion als Nährzellen für die typischen Spermatozoen zukommen könnte. Diese Ansicht wurde u. a. von REINKE (1914) vertreten, der im Uterus von *Strombus bituberculatus* degenerierende atypische Samenzellen fand. In ähnlichem Sinne äußerte sich v. KEMNITZ (1914). HANSON et al. (1952) vertraten die Auffassung, daß die polysaccharidhaltigen Einschlüsse, die bei der Auflösung der typischen Spermatozoen von *Viviparus viviparus* freierwerden, der Ernährung der typischen Samenzellen zugute kommen; den atypischen Samenzellen würde damit eine Aufgabe zufallen, welche der des Seminalplasmas bei Säugetieren entspräche. Für eine nutritive Funktion der atypischen Spermatozoen sprechen schließlich auch zytochemische Studien an *Columbella rustica* (BATTAGLIA 1953), *Opalia crenimarginata*, *Scala clathrus* und *Janthina pallida* (BULNHEIM 1962a). Das Auftreten polysaccharidhaltiger Schollen bei diesen Arten und der Nachweis eines

Zerfalls der atypischen Spermatozoen von *Opalia crenimarginata* im Receptaculum seminis, können als ein Indiz für ihre ernährungsphysiologische Funktion gewertet werden. Auf Grund des gleichen zytochemischen Verhaltens kann ein Vorliegen analoger Verhältnisse auch bei *Epitonium tinctum* angenommen werden, wengleich sich allerdings das Schicksal der Spermatozeugmen im weiblichen Genitaltrakt bei dieser Art nicht so genau wie bei *Opalia crenimarginata* verfolgen ließ.

Bei den meisten der bisher untersuchten Fälle atypischer Spermatozoenbildung ist die Frage nach der Bedeutung dieser Erscheinung offengeblieben. Es ist jedoch sehr in Zweifel zu ziehen, ob diesen Zellgebilden primär überhaupt eine Funktion zugesprochen werden kann. Allerdings kann bei den Prosobranchiern, die große, mit dotterähnlichen Substanzen versehene atypische Samenzellen hervorbringen, in Erwägung gezogen werden, daß diese mittelbar eine physiologisch wichtige Rolle bei der Erhaltung der typischen Spermatozoen spielen. Alle in diesem Zusammenhang angeführten Überlegungen und Tatsachen stützen am ehesten den Gesichtspunkt einer nutritiven Funktion.

SCHLUSSBETRACHTUNGEN

In den vorstehenden Ausführungen wurde versucht, die atypische Spermatozoenbildung bei *Epitonium tinctum* in einem weitgefaßten Rahmen unter besonderer Berücksichtigung vergleichender Aspekte zu betrachten. Die Untersuchungen über die Entstehung, die Differenzierung und die mögliche funktionelle Bedeutung der atypischen Spermatozoen haben auch bei diesem Objekt eine Reihe zellmorphologischer, zellphysiologischer und fortpflanzungsbiologischer Fragen aufgeworfen, die noch nicht restlos geklärt sind.

Abschließend soll erörtert werden, ob der atypischen Spermatozoenbildung bei Prosobranchiern und Opisthobranchiern Gesetzmäßigkeiten zugrunde liegen, die eine allgemeingültige Interpretation gestatten. Auf eine Betrachtung der bei Insekten, Anneliden, Myriapoden und Rotatorien vorkommenden atypischen Samenzellen (vgl. FAIN-MAUREL 1966) wird jedoch in diesem Zusammenhang verzichtet, da bei diesen Tiergruppen zum Teil andersartige Verhältnisse vorliegen.

Ausgehend von einer Analyse der atypischen Spermatogenese von *Janthina*, hat ANKEL (1930) die These ausgesprochen, daß die atypischen Samenzellen der Prosobranchia als zwittrige Geschlechtszellen zu betrachten seien. Während ihrer Reifung würden neben spermatogenetischen auch oogenetische Potenzen wirksam, wobei die atypischen Spermatozoen um so abweichender von den typischen Samenzellen gestaltet seien, je stärker die oogenetischen Potenzen zur Äußerung gelangten.

Als oogenetische Tendenzen lassen sich die mehr oder weniger intensive Volumenzunahme der atypischen Spermatozyten, die in Extremfällen sogar an das Wachstum der Eizellen heranreicht, die Entstehung von Deutoplasma und die Bildung eines die typischen Spermatozoen anziehenden Stoffes deuten, während als spermatogenetische Reaktionen die z. T. abortiven Reifungsteilungen, die meist vielfachen Zentriolenbildungen und das Entstehen fibrillärer Zentriolderivate aufzufassen sind.

Auf der Basis dieser Theorie können zweifelsohne zahlreiche Fälle atypischer

Spermatozoenbildung bei den Prosobranchiern verstanden werden. Dies trifft auch für die atypische Samenzellbildung bei *Epitonium tinctum* zu. Es ist in diesem Zusammenhang besonders hervorzuheben, daß die deutoplasmatischen Substanzen sowohl in den atypischen Spermatozoen als auch in den Oozyten Polysaccharide enthalten, wie zytochemische Untersuchungen der weiblichen Geschlechtszellen ergeben haben. Diese und entsprechende Befunde, die bei *Opalia crenimarginata*, *Scala clathrus* und *Janthina pallida* erhoben wurden, können daher als eine weitere Stütze für die Interpretation der atypischen Spermatozoen als zwittrige Geschlechtszellen herangezogen werden.

Unter Zugrundelegung dieser Theorie ist die Spermatozeugmenbildung primär nicht als eine besondere funktionelle Anpassung zu deuten (vgl. p. 246), sondern kann als eine durch besonders starke oogenetische Tendenzen ausgelöste Sekundärererscheinung verstanden werden. Das Anheften der typischen Samenzellen an die atypischen Spermatozoen beruht zweifelsohne auf einer stofflichen Wirkung, und es ist vorstellbar, daß es sich um gynogamonartige Substanzen handelt, welche anziehend auf die typischen Spermatozoen wirken.

Untersuchungen an wenig von der typischen Form abweichenden atypischen männlichen Keimzellen haben allerdings deutlich werden lassen, daß ANKELS Theorie nicht auf alle Fälle von Spermatozoendimorphismus anwendbar ist. So stellte KEYL (1955) fest, daß sich bei der Bildung der atypischen Spermatozoen von *Bithynia tentaculata* keine oogenetischen Einflüsse nachweisen lassen. Zu dieser Schlußfolgerung gelangte auch DUPOUY (1964) bei dem Opisthobranchier *Haminea navicula*. Auf Grund von Untersuchungen über die Störungserscheinungen bei der Keimzellreifung von *Murex trunculus* und *Theodoxus fluviatilis* schränkt DUPOUY zudem die Gültigkeit dieser These auch für getrenntgeschlechtliche Prosobranchia ein und hält sie nur bei hermaphroditen Arten mit konsekutiver Monözie für begründet. Sicherlich dürften Vorbehalte gegenüber der Interpretation atypische Spermatozoen als zwittrige Geschlechtszellen bei den Arten anzumelden sein, die nur wenig von den typischen Spermatozoen differierende atypische Samenelemente hervorbringen, doch kann in den Fällen eines extremen Spermatozoendimorphismus, insbesondere bei spermatozeugmenbildenden Formen, ANKELS Erklärungsprinzip nach wie vor zugrundegelegt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Hoden des protandrischen Hermaphroditen *Epitonium tinctum* (CARPENTER) entstehen neben befruchtungsfähigen, typischen Spermatozoen auch außergewöhnlich große und hochdifferenzierte, jedoch kernlose atypische Samenzellen. Diese sind das Ergebnis eines abnormen, jedoch artspezifisch festgelegten Differenzierungsvorganges.
2. Die atypischen und typischen Spermatozyten gehen augenscheinlich aus den gleichen Spermatogonien hervor, doch unterbleiben bei ersteren meiotische Vorgänge. In den atypischen Spermatozyten vollzieht sich eine intensive RNS-Synthese, die von einer beträchtlichen Volumenzunahme von Zytoplasma und Nukleus begleitet ist.

3. Nach Erreichen eines bestimmten Größenstadiums löst sich der Kern auf (abortive Reifungsteilung), und die Chromosomen treten in tetraploider Zahl hervor. Diese Polyploidisierung ist offensichtlich das Ergebnis einer Endomitose während der Wachstumsphase.
4. Die Chromosomen bilden Teilkerne (Karyomeriten), die an die Peripherie einer Zellhälfte wandern. Sie erfahren eine fortschreitende Degeneration, wobei sie sich im Verlauf der weiteren Formbildung im Zytoplasma auflösen.
5. Nach einer multiplen Zentriolenvermehrung ordnen sich an dem den Teilkernen gegenüberliegenden Zellpol zahlreiche Zentriolen an. Sie bilden extrazellulär Zilien und intrazellulär Zentrodemosomen aus, die in einem geschlossenen Verband als Achsenkörper durch die Zelle hindurchwachsen und ihr damit eine bilaterale Symmetrie aufprägen.
6. Im Zytoplasma der atypischen Spermatide entstehen Deutoplasmascollen, welche PAS-positiv reagieren, jedoch keine RNS enthalten. Mit fortschreitendem Wachstum verringert sich der Gehalt an RNS im Zytoplasma. In reifen atypischen Spermatozoen sind weder DNS noch RNS zytochemisch nachweisbar.
7. Infolge der Eigenart des Wachstums der fibrillären Zentriolderivate differenziert sich die atypische Spermatide zu einer aus zwei Regionen bestehenden etwa 1 mm großen Zelle. Sie gliedert sich in eine bilateralsymmetrische Fibrillenplatte (Treibplatte) und einen langgestreckten Stiel, der die polysaccharidhaltigen Einschlüsse enthält. Nach vollzogener Reifung heften sich zu vielen Tausenden die typischen Samenelemente an den Stiel des atypischen Spermatozoons, das dann als Spermatozeugma bezeichnet wird.
8. Die Besonderheiten der Morphogenese und Physiologie der atypischen Spermatozoen werden vergleichend unter spezieller Berücksichtigung extrem differenzierter atypischer Samenzellen betrachtet. Unter anderem werden das Auftreten von Polysacchariden in den atypischen Spermatozoen der Prosobranchia und die Frage nach der Steuerung der Zelldifferenzierung beim Fehlen des Kernes erörtert.
9. Hinsichtlich der Morphologie des Genitalsystems, der Lebensweise und des Verhaltens atypischer Spermatozoen lassen sich weder bei *Epitonium tinctum* noch bei anderen Arten mit Spermatozeugmenbildung überzeugende Beweise für eine besondere funktionelle Bedeutung dieser Gebilde bei der Samenübertragung erbringen. Verschiedene Hinweise sprechen jedoch für eine nutritive Funktion der atypischen Spermatozoen, die durch ihre Reservestoffe und deren Freiwerden eine physiologisch wichtige Rolle für die Erhaltung der typischen Spermatozoen, insbesondere nach der Samenübertragung in den weiblichen Genitaltrakt, zu spielen scheinen.
10. Abschließend werden einige Gesichtspunkte bezüglich der Auffassung ANKELS (1930a) behandelt, nach der die atypischen Spermatozoen der Prosobranchia zwittrige Geschlechtszellen darstellen, in denen sich neben spermatogenetischen auch oogenetische Potenzen manifestieren. Diese Interpretation der atypischen Spermatozoenbildung, die durch zytochemische Befunde gestützt wird, kann auch bei *Epitonium tinctum* zugrunde gelegt werden.

ZITIERTE LITERATUR

- ANKEL, W. E., 1926. Spermiozeugmenbildung durch atypische (apyrene) und typische Spermien bei *Scala* und *Janthina*. *Verh. dt. zool. Ges.* **1926**, 193–202.
- 1930a. Die atypische Spermatogenese von *Janthina* (*Prosobranchia*, *Ptenoglossa*). *Z. Zellforsch.* **11**, 491–608.
- 1930b. Über das Vorkommen und die Bedeutung zwittriger Geschlechtszellen bei Prosobranchiern. *Biol. Zbl.* **50**, 513–532.
- 1958. Beobachtungen und Überlegungen zur Morphogenese der atypischen Spermatozoen von *Scala clathrus* L. *Zool. Anz.* **160**, 261–276.
- BATTAGLIA, B., 1951. Ricerche sulla spermatogenesi atipica dei Gasteropodi Prosobranchi. I. Alcune osservazioni citochimiche sulla spermatogenesi atipica di *Columbella rustica*. *Boll. Zool.* **18**, 41–48.
- 1953. Il significato della presenza di polisaccharidi negli spermatozoi atipici dei Gasteropodi Prosobranchi. *Ricerca scient.* **23** (Suppl.), 125–129.
- 1954. Citologia e citochimica della spermatogenesi atipica in *Murex trunculus*. *Atti Accad. naz. Lincei Rc. (Cl. Sci. fis. mat. nat.)* **16**, 670–675.
- BRACHET, J., 1961. Nucleocytoplasmic interactions in unicellular organisms. In: The cell. Ed. by J. BRACHET & A. E. MIRSKY. Academic Press, New York, **2**, 771–841.
- 1967. Protein synthesis in the absence of the nucleus. *Nature, Lond.* **213**, 650–655.
- BULNHEIM, H.-P., 1962a. Untersuchungen zum Spermatozoendimorphismus von *Opalia crenimarginata* (Gastropoda, Prosobranchia). *Z. Zellforsch.* **56**, 300–343.
- 1962b. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur der atypischen und typischen Spermatozoen von *Opalia crenimarginata* (Gastropoda, Prosobranchia). *Z. Zellforsch.* **56**, 371–386.
- CUMMINS, J. E. & PLAUT, W., 1964. The distribution of ³²P in ribonucleic acid from nucleate and anucleate half cells of *Amoeba proteus*. *Biochim. biophys. Acta* **80**, 19–30.
- DUPOUY, J., 1960. Phénomènes dégénératifs. Spermatozoides atypiques et oocytes atypiques chez un opisthobranch, *Haminea navicula* DA COSTA. *Cellule* **61**, 99–106.
- 1964. La tératogenèse germinale mâle des Gastéropodes et ses rapports avec l'oogenèse atypique et la formation des oeufs nourriciers. *Archs Zool. exp. gén.* **108**, 217–386.
- ENGELS, W., 1966. Der zeitliche Ablauf von Protein- und Kohlenhydratsynthesen in der Oogenese bei *Apis mellifica* L. *Zool. Anz.* (Suppl. Bd) **29**, 243–251.
- FAIN-MAUREL, M.-A., 1966. Acquisitions récentes sur les spermatogenèses atypiques. *Année biol.* (Sér. 4) **5**, 513–564.
- FRANZÉN, Å., 1955. Comparative morphological investigations into the spermiogenesis among Mollusca. *Zool. Bidr. Upps.* **30**, 399–456.
- FRETTER, V., 1951. Observations on the life history and functional morphology of *Cerithiopsis tubercularis* (MONTAGU) and *Triphora perversa* (L.). *J. mar. biol. Ass. U.K.* **29**, 567–586.
- & GRAHAM, A., 1962. British prosobranch molluscs. Their functional anatomy and ecology. Quaritch, London, 755 pp. (*Publs Ray Soc.* **144**).
- FURROW, C. L., 1935. Development of the hermaphrodite genital organs of *Valvata tricarinata*. *Z. Zellforsch.* **22**, 282–304.
- GAHAN, P. B. & CHAYEN, J., 1965. Cytoplasmic desoxyribonucleic acid. *Int. Rev. Cytol.* **18**, 223–247.
- GALL, J., 1961. Centriole replication. A study of spermatogenesis in the snail *Viviparus*. *J. biophys. biochem. Cytol.* **10**, 163–193.
- GOLDSCHMIDT, R., 1916. The function of the apyrene spermatozoa. *Science, N. Y.* **44**, 544–546.
- GRAHAM, A., 1954. Some observations on the reproductive tract of *Janthina janthina* (L.). *Proc. malac. Soc. Lond.* **31**, 1–6.
- HANSON, J., RANDAL, J. T. & BAYLEY, S. T., 1952. The microstructure of the spermatozoa of the snail *Viviparus*. *Expl Cell Res.* **3**, 65–78.
- HERTWIG, R., 1912. Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems nebst eigenen Untersuchungen. *Biol. Zbl.* **32**, 1–45.

- HYMAN, O. W., 1925. Natural partial fertilization in *Fasciolaria tulipa*. *J. Morph.* **41**, 267–281.
- ISHIZAKI, T. & KATO, K., 1958. The fine structure of atypical spermatozoa of the pond snail *Viviparus malleatus*. *Zool. Mag., Tokyo* **67**, 286–294.
- KEMNITZ, G. A., 1914. Beiträge zur Kenntnis des Spermatozoendimorphismus. *Arch. Zellforsch.* **12**, 567–588.
- KEYL, H.-G., 1955. Der Formwechsel der Chromosomen in der Spermatogenese von *Bithynia tentaculata* (L.). *Chromosoma* **7**, 387–419.
- KUSCHAKEWITSCH, S., 1913. Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchia I. (*Conus und Vermetus*). *Arch. Zellforsch.* **10**, 237–323.
- LAURSEN, D., 1953. The genus *Janthina*. *Dana-Rep.* **38**, 1–40.
- MEVES, F., 1903. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an *Paludina* und *Pygaera*. *Arch. mikrosk. Anat. Entw. Mech.* **61**, 1–84.
- NEUHAUS, W., 1959. Die Resorption eu- und oligopyrener Spermien bei *Bithynia tentaculata* (L.). *Zool. Anz.* **163**, 160–168.
- NEUMANN, S. & WOLLGIEHN, R., 1964. Über die Beziehungen der RNS- und Proteinsynthese zum Zellkern in Siebzellen von *Vicia faba*. *Z. Naturforsch.* **19b**, 1066–1071.
- NISHIWAKI, S., 1964. Phylogenetical study on the type of the dimorphic spermatozoa in Prosobranchia. *Sci. Rep. Tokyo Kyoiku Daig.* **11B**, 237–275.
- POLLISTER, A. W. & POLLISTER, P. F., 1943. The relation between centriole and centromere in atypical spermatogenesis of viviparid snails. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **45**, 1–48.
- PORTMANN, A., 1927. Die Nöhreierbildung durch atypische Spermien bei *Buccinum undatum* L. *Z. Zellforsch.* **5**, 230–243.
- PRESCOTT, D. M., 1962. Nucleic acid and protein metabolism in the macronuclei of two ciliated protozoa. *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 145–153.
- REINKE, E. E., 1914. The development of the apyrene spermatozoa of *Strombus bituberculatus*. *Publ. Carnegie Instn* **183**, 195–239.
- RENAULT, L., 1965. Origine et caractères des spermatozoides apyrènes de *Harpa minor* LMK. (Mollusque Gastéropode Prosobranchie). *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* **260**, 665–667.
- ROGINSKAJA, I. S., 1964. Dimorphism of spermatozoa in some species of molluscs of the genus *Coryphella* GRAY (Gastropoda, Nudibranchia). *Dokl. Akad. Nauk SSSR (Biol. Sci.)* **152**, 1373–1376.
- SCHITZ, V., 1920. Sur la spermatogenèse chez *Cerithium vulgatum* Brug., *Turritella triplicata* BROCCI et *Bitium reticulatum* DA COSTA. *Archs Zool. exp. gén.* **58**, 489–520.
- SCHWEIGER, H.-G., 1964. Proteinsynthese und Ribonucleinsäure in kernlosen Reticulocyten. *Naturwissenschaften* **51**, 521–533.
- DILLARD, W. L., GIBOR, A. & BERGER, S., 1967. RNS-Synthesis in *Acetabularia*. I. RNA-Synthesis in enucleated cells. *Protoplasma* **64**, 1–12.
- SIEBOLD, C. T. v., 1836. Fernere Beobachtungen über die Spermatozoen der Tiere. 2. Die Spermatozoen der *Paludina vivipara*. *Arch. Anat. Physiol.* **1836**, 232–255.
- STAIGER, H., 1951. Cytologische und morphologische Untersuchungen zur Determination der Nöhreier bei Prosobranchiern. *Z. Zellforsch.* **35**, 495–549.
- SWIFT, H., 1965. Nucleic acids of mitochondria and chloroplasts. *Am. Nat.* **99**, 201–227.
- TUZET, O., 1930. Recherches sur la spermatogenèse des Prosobranches. *Archs Zool. exp. gén.* **70**, 95–229.
- WILSON, D. P. & WILSON, M. A., 1956. A contribution to the biology of *Janthina janthina* (L.). *J. mar. biol. Ass. U. K.* **35**, 291–305.
- WOODARD, T. M., 1940. The function of the spermatozoa of *Goniobasis*. *J. exp. Zool.* **85**, 103–126.
- YAMASAKI, M., 1966. On the mitochondria and Golgi apparatus in spermatogenesis of the pond snail (*Cipangopaludina japonica iwakawa* PILSÄRY). *Sci. Rep. Tôhoku Univ. (Ser. 4: Biol.)* **32**, 237–249.
- YASUZUMI, G., 1962. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. XII. Light and electron microscope studies on spermiogenesis of *Cipangopaludina malleata* REEVE. *J. Ultrastruct. Res.* **7**, 488–503.

- YASUZUMI, G. & TANAKA, H., 1958. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. VI. Researches on the spermatozoon-dimorphism in a pond snail, *Cipangopaludina malleata*. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 621–632.
- NAKANO, S. & MATSUZAKI, W., 1962. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Spermatogenese. XI. Über die Spermiogenese der atypischen Spermatischen von *Melania libertina* GOULD. *Z. Zellforsch.* **57**, 495–511.
- LEE, K. J., FUKUI, H. & YOSHIDA, M., 1967. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. XVII. The fine structure of atypical spermatid cytoplasm of the pond snail with particular reference to the site of hydrolytic breakdown of nucleic acids. *Z. Zellforsch.* **80**, 353–369.