

Die Oocyten der Grundel *Pomatoschistus minutus*

I. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Eihülle und Follikel

R. RIEHL

*Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie,
Justus Liebig-Universität Gießen; Stephanstr. 24,
D-6300 Gießen, Bundesrepublik Deutschland*

ABSTRACT: The oocytes of the goby, *Pomatoschistus minutus* I. Light and electron microscopic investigations of egg-membrane and follicle. The egg membrane and follicle of the oocytes of *Pomatoschistus minutus* were investigated by light and electron microscopy. The formation of the cortex radiatus begins in late stage I and is concluded in stage III. In stage II bundle structures appear at the base of the cortex radiatus. These bundle structures cannot be identified in stage III. The cortex radiatus differentiates into the cortex radiatus externus and the cortex radiatus internus. Up to 220 attaching filaments originate in stage II. They are connected with the egg membrane at the animal pole. The attaching filaments are a modified part of the cortex radiatus externus. They consist of two substances which differ in their electron density. The attaching filaments lie between the cells of the follicle epithelium and are probably formed by these cells. They are adapted for attaching the eggs. The follicle epithelium is always single-layered. The cross-section of the spindle-shaped follicle cells is quadratic in stage I and II and quadrilateral in stage III. The cells of the follicle epithelium contain a lot of rough ER and are thus divided into many compartments. The primary oocyte membrane (oolemma) shows considerable pinocytosis activity in stage II and there are many polysomes in the peripheral cytoplasm. Possible functions of the pinocytotic vesicles and the polysomes are discussed.

EINLEITUNG

Die Grundel *Pomatoschistus (Gobius) minutus* kommt überall an der deutschen Nordseeküste auf reinem Sandgrund vor. Die Tiere leben meist in geringen Tiefen von einigen Metern. Während der Laichzeit, die sich von April bis August erstreckt, findet man häufig an der Innenseite hohlliegender Muschelschalen die birnenförmigen Eier dieser Fische. Dabei werden die Schalen der weißen Sandklaffmuschel (*Mya arenaria*) als Laichsubstrat bevorzugt. Die Gelege werden von den Männchen bis zum Ausschlüpfen bewacht. Durch fächernde Bewegungen der Brustflossen wird ein Wasserwechsel innerhalb des Brutraums bewirkt.

Fischeier haben, je nach dem weiteren Verbleib nach ihrer Abgabe, die verschiedenartigsten Anpassungen an ökologische Gegebenheiten ausgebildet. So enthalten planktonische Eier oft Ölkügelchen, die das Schweben im Wasser erleichtern oder gar

erst ermöglichen. Demgegenüber haben demersale Eier teilweise die Fähigkeit, sich an den unterschiedlichsten Substraten festzuheften. Die dazu benötigten Vorrichtungen werden meist schon an den Eizellen gebildet. Spezielle Haftfäden wurden schon bei einer Anzahl von Fischen beschrieben. Bei anderen substratlaichenden Fischen dient ein Teil der Eihülle ("Zottenschicht" = Cortex radiatus externus) der Festheftung der Eier (Arndt, 1960; Riehl, 1977a, b, 1978b).

Die Eier von *Pomatoschistus minutus* wurden lichtmikroskopisch erstmals von Holt (1890) und Guitel (1891, 1892) untersucht. Dabei stellten Holt und Guitel fest, daß bei diesem Fisch ein besonderer Haftapparat vorhanden ist. Die bisher genaueste Beschreibung der Eihüllen und der Haftfäden bei einer *Gobius*-Art erfolgte durch Retzius (1912) bei *Gobius niger*. Die Eier von *Gobius niger* gleichen denen von *Pomatoschistus minutus* in Aufbau und Details so sehr, daß sie ohne weiteres zu Rückschlüssen auf die *Pomatoschistus*-Eier herangezogen werden können. In einer umfangreichen Arbeit handelt Eggert (1931) die Geschlechtsorgane und Eier einer größeren Zahl von Gobiiden ab.

Die von Retzius (1912) an *Gobius niger*-Eizellen festgestellten starken Abweichungen in Bau und Aussehen der Eihülle und des Follikels gaben die Anregung zu der vorliegenden Arbeit. Aufgabe der Untersuchung sollte es sein, die von Retzius (1912) und Eggert (1931) gewonnenen Ergebnisse an *Pomatoschistus minutus* nachzuvollziehen und an Hand elektronenmikroskopischer Methoden zu überprüfen, zu ergänzen und ggf. zu berichtigen.

MATERIAL UND METHODEN

Die untersuchten Tiere wurden mit einem Handkescher im Wattenmeer bei List/Sylt gefangen. Den betäubten Weibchen wurden die Ovarien entnommen und unverzüglich in die Fixierungsgemische überführt. Als Fixierungsgemische dienten 3⁰/iges Glutardialdehyd in Veronalacetatpuffer (pH 7,4) und 6⁰/iges Glutardialdehyd in Meerwasser (pH 7,4) bei 4° C. Die immer beim Mischen des Glutardialdehyds mit dem Meerwasser auftretende Trübung wurde durch Filterung über pulverisierte Aktivkohle entfernt. Danach erbrachte dieses Gemisch die besten Fixierungsergebnisse. Ohne Filtrierung traten immer sehr störende Niederschläge in den Ultradünnschnitten auf. Die Fixierungszeit schwankte zwischen 2 und 6 Stunden. Nach gründlichem Waschen mit eiskaltem Veronalacetatpuffer wurde mit 2⁰/igem Osmiumtetroxid für 2 Stunden nachfixiert. Die Entwässerung erfolgte in einer aufsteigenden Acetonreihe. Dabei wurde in der 70⁰/igem Acetonstufe kontrastiert. Das Kontrastgemisch bestand aus 1⁰/o Phosphorwolframsäure und 1⁰/o Uranylacetat (Wohlfarth-Bottermann, 1957, modifiziert). Die Einbettung geschah in Vestopal W (Fa. Hüls), wobei bei 60° C 24 Stunden und bei 90° C 16 Stunden lang polymerisiert wurde.

Die Semi- und Ultradünnschnitte wurden mit dem Reichert-Ultramikrotom Om U 3 hergestellt. Die Dicke der Semidünnschnitte lag zwischen 0,5–1 μ m. Sie wurden mit 0,5⁰/iger Toluidinblau-Borax-Lösung gefärbt. Erforderliche Schnittkontrastierungen erfolgten mit Bleicitrat nach Reynolds (1963). Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Zeiss EM 9 S bei 60 kV betrachtet.

ERGEBNISSE

Lichtmikroskopische Befunde

Die Oocyten des Stadiums I (Stadieneinteilung nach Götting, 1961) haben eine runde bis schwach ovale Gestalt. Sie sind von einem sehr niedrigen, einschichtigen Follikelepithel umgeben. Der Kern der Oocyte ist im Verhältnis zum Cytoplasmaanteil relativ groß und enthält immer mehrere Nucleolen (Abb. 1a).

Haben die Oocyten einen Durchmesser von ca. 200 μm erreicht, treten im peripheren Oocytoplasma die ersten Rindenvakuolen auf (Beginn des Stadiums II). Gleichzeitig mit dem Erscheinen der Rindenvakuolen beginnt die Differenzierung der Eizellhülle. Sie wird als feine, stark angefärbte Linie unterhalb der Follikelepithelzellen sichtbar (Abb. 1b, c).

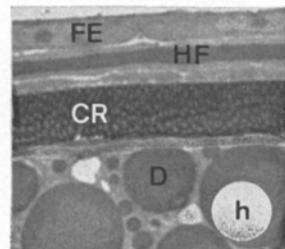
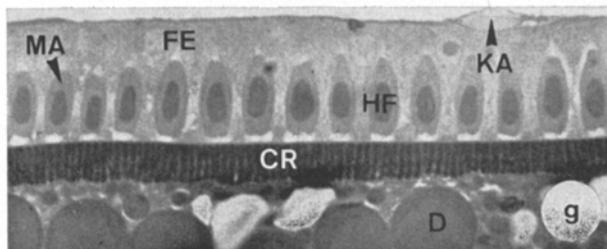
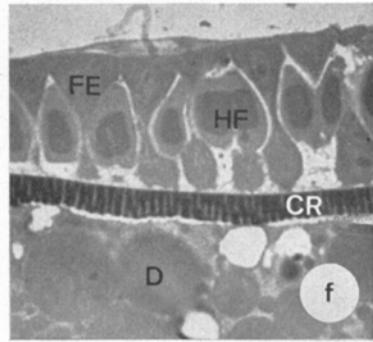
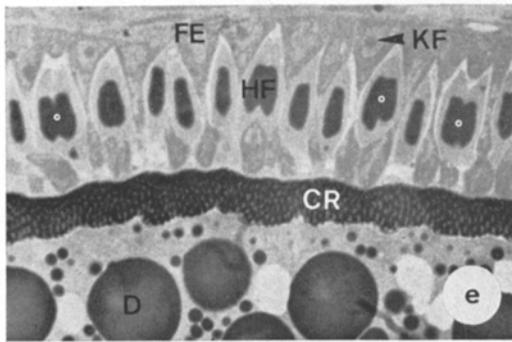
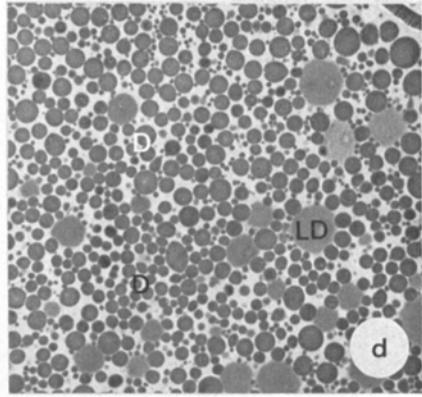
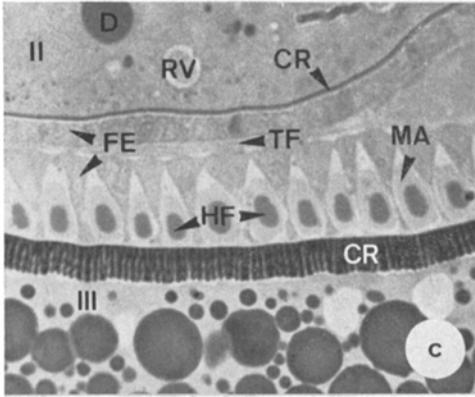
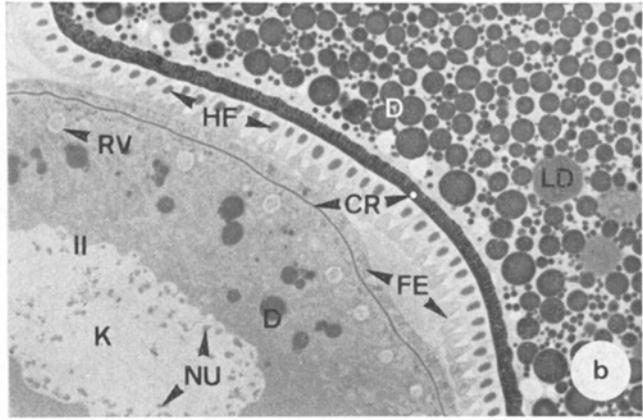
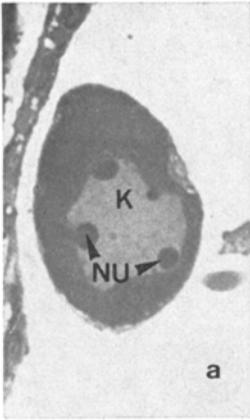
Die ersten Dotterelemente findet man bei *Pomatoschistus minutus* schon im frühen Stadium II als runde, intensiv gefärbte Partikeln im Cytoplasma (Abb. 1b, c). Die Kern-Plasma-Relation hat sich zugunsten des Cytoplasmas verschoben. Die Kernhülle beginnt sich zu wellen, und die Anzahl der Nucleoli hat sich gewaltig vergrößert. Schneidet man einen Kern in Serie, kann man mehrere hundert Kernkörperchen zählen (Abb. 1b). Die Stärke des Follikelepithels ist beträchtlich angewachsen.

Im Stadium III hat die Eizellhülle (= Cortex radiatus) eine Stärke von 6 μm erreicht. Besonders auffällig in diesem Stadium ist das Auftreten von langen Hauffäden, die am animalen Pol der Oocyte ihren Anfang nehmen und um die gesamte Eizelle herumziehen. Dabei können sich die Hauffäden dichotom verzweigen (Abb. 1e, f, 4e). Diese Verästelungen findet man größtenteils in den Polgegenden. Die Zahl der Hauffäden variiert; es können bis zu 220 dieser Fäden vorhanden sein.

Querschnitte durch die Hauffäden erwecken den Anschein, als handle es sich nicht um Fäden, sondern um Zapfen. Erst Längsschnitte erbringen den Beweis, daß es sich tatsächlich um Fäden und nicht um Zapfen handelt (Abb. 1h).

Die Follikelepithelzellen von *Pomatoschistus minutus* haben, je nach Schnittrichtung und Schnittebene, ein sehr verschiedenartiges Aussehen. So erscheinen sie auf

Abb. 1: Eizellhüllenaufbau und -entwicklung anhand von Semidünnschnitten (0,5 μm , Färbung: Toluidinblau). *a* Junge Oocyte vor der Entstehung des Cortex radiatus. Der Kern enthält nur wenige, relativ große Nucleoli (frühes Stadium I, 900 : 1). *b* Zwei aneinandergrenzende Oocyten unterschiedlichen Reifungsgrades (Stadium II früh und III spät). Unter dem sich bildenden Cortex radiatus der jüngeren Oocyte treten die ersten Rindenvakuolen und Dotterelemente auf. Im Kern befinden sich zahlreiche kleine Nucleoli (390 : 1). *c-h* Oocytenstadium III-IV. *c* Schnitt durch die Peripherie einer Oocyte. Der Cortex radiatus ist ausdifferenziert. Hauffäden und Follikelepithelzellen sind quer getroffen. Die Querschnitte der Follikelepithelzellen sind dreieckig bis trapezförmig (870 : 1). *d* Dotterelemente unterschiedlichen Aussehens und chemischer Zusammensetzung (360 : 1). *e* Tangential geschnittene Oocytenperipherie. Die mit o gekennzeichneten Hauffäden zeigen Ansätze einer dichotomen Verzweigung (770 : 1). *f* Das gleiche Bild bietet sich teilweise auch an Querschnitten. Rechts verlaufen zwei Fäden schon getrennt, befinden sich aber noch in der sie beide umgebenden Matrix (870 : 1). *g* Quergeschnittene Hauffäden (950 : 1). *h* Hauffaden, längsgeschnitten (950 : 1). CR = Cortex radiatus, D = Dotter, FE = Follikel-epithel, HF = Hauffaden (Internum), K = Kern, KA = Kapillare, KF = Kern einer Follikel-epithelzelle, LD = Lipid-Dotter, MA = Matrix des Hauffadens, NU = Nucleolus, RV = Rindenvakuole, TF = Theca folliculi, II = Oocytenstadium II, III = Oocytenstadium III



Querschnitten als trichter- oder trapezförmige Zellen, die einen einzelnen Ausläufer zur Eizelloberfläche hinsenden (Abb. 1c, e). Erst Tangentialschnitte in Kernhöhe zeigen, daß das Follikel­epithel aus langen, spindelförmigen Zellen besteht. Tangential­schnitte dicht unter der Theca folliculi erbringen weiterhin, daß die Follikel­epithel­zellen miteinander in Verbindung stehen und in dieser Höhe eine nicht unterbrochene Schicht bilden (vgl. auch Abb. 1c). Über dem Follikel­epithel befindet sich eine niedrige Theca folliculi, in der regelmäßig Kapillargefäße vorkommen (Abb. 1g).

Im Stadium III ist die gesamte Oocyte mit Dotterpartikeln unterschiedlicher Größen ausgefüllt (Abb. 1b, d). Rindenvakuolen findet man nur noch vereinzelt unterhalb des Cortex radiatus. An Hand ihrer Größe und Anfärbbarkeit können zwei Typen von Dotterelementen unterschieden werden: (1.) kleine, runde, stark angefarbte Partikel; (2.) wesentlich größere, unregelmäßiger geformte, schwach gefärbte Partikel.

Elektronenmikroskopische Befunde

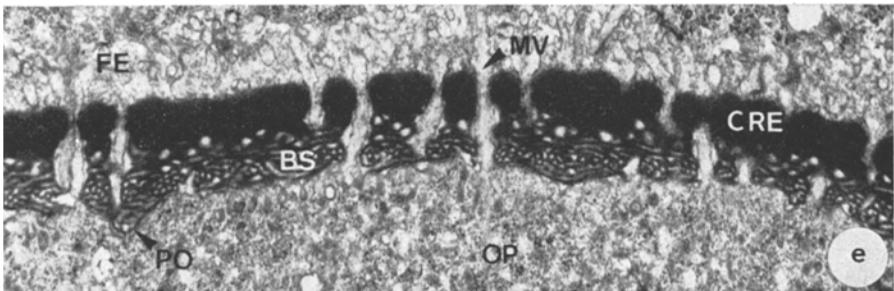
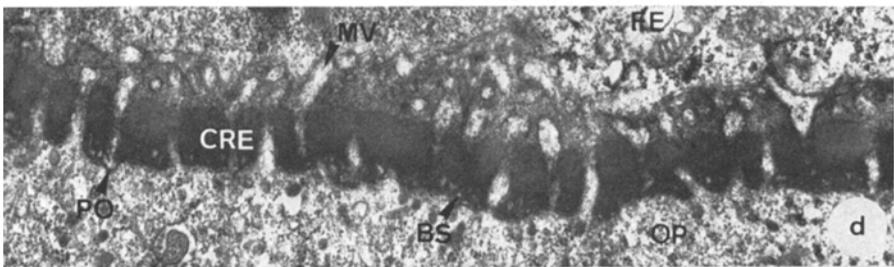
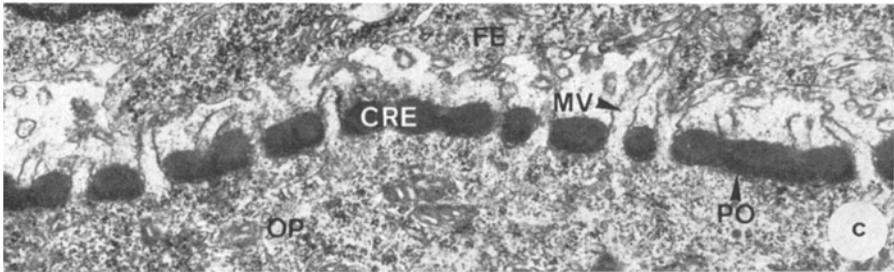
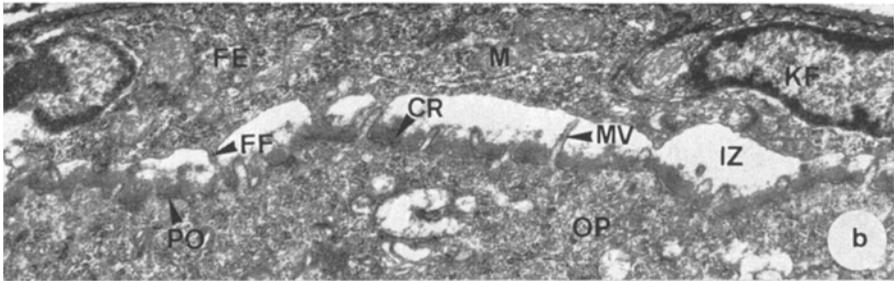
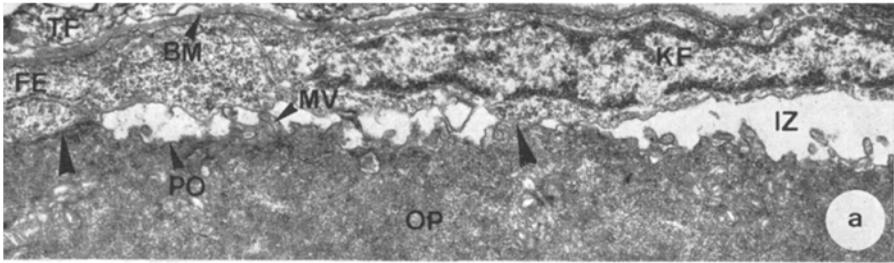
Elektronenmikroskopisch wurden die Oocytenstadien I–III untersucht. Während dieser Stadien laufen Bildung und Differenzierung der Eizellhülle (= Cortex radiatus) und der Haftfäden ab. Stadium IV ist für die vorliegende Fragestellung von untergeordneter Bedeutung, da der Cortex radiatus und die Haftfäden bereits gegen Ende des Stadiums III ausdifferenziert sind. Sie erfahren im Stadium IV nur noch einer Stärken- und im Falle der Haftfäden auch einer Längenzunahme.

Die Eizellen des Stadiums I sind von der primären Oocytenmembran, einer Elementarmembran, umgeben (Abb. 2a). Zwischen Oocyte und Follikel­epithel befindet sich ein Interzellularraum wechselnder Stärke, in den oocytäre und folliculäre Mikrovilli hineinragen. An einigen Stellen ist kein Interzellularraum ausgebildet. Hier grenzen primäre Oocytenmembran und Zellmembranen des Follikel­epithels direkt aneinander (Abb. 2a, Pfeile).

Das Follikel­epithel ist niedrig und besteht aus langgestreckten Zellen, deren Zell­grenzen gerade verlaufen. An das Follikel­epithel schließt sich eine deutlich erkennbare, einschichtige Basalmembran an (Abb. 2a). Ihr folgt eine niedrige Theca folliculi, die arm an Organellen ist.

Im späten Stadium I beginnt die Bildung des Cortex radiatus. Zwischen den oocytären Mikrovilli wird ein wenig elektronendichtes Material der primären Oocy-

Abb. 2: Entstehung der Eizellhülle (= Cortex radiatus). *a* Oocytenperipherie im Stadium I. Die primäre Oocytenmembran bildet Mikrovilli aus, die in den Interzellularraum hineinragen. An manchen Stellen (Pfeile) grenzen Oocyte und Follikel­epithel direkt aneinander (19 500 : 1). *b* Beginn der Cortex-Genese im späten Stadium I. Über der primären Oocytenmembran erscheint eine homogene, wenig elektronendichte Substanz (19 500 : 1). *c* Im frühen Stadium II wird die durch die homogene Substanz gebildete Schicht osmiophiler und stärker (21 000 : 1). *d + e* Im Stadium II erscheinen an der Basis des Cortex radiatus Bündelstrukturen, die schnell an Stärke zunehmen (je 21 000 : 1). BM = Basalmembran, BS = Bündelstrukturen des Cortex radiatus internus, CRE = Cortex radiatus externus, FE = Follikel­epithel, FF = mikrovilli­ähnliche Fortsätze des Follikel­epithels, IZ = Interzellularraum, KF = Kern einer Follikel­epithelzelle, M = Mitochondrien, MV = Mikrovillus, OP = Oocytoplasma, PO = primäre Oocytenmembran, TF = Theca folliculi



tenmembran aufgelagert (Abb. 2b). Zu Beginn des Stadiums II nimmt die Osmiophilie dieses Materials stark zu (Abb. 2c). Gleichzeitig wird der entstehende Cortex radiatus externus durch weitere Materialeinlagerungen schnell stärker. Er mißt auf Abbildung 2c $0,25 \mu\text{m}$. Der Cortex radiatus bildet eine zusammenhängende Schicht. Hat der Cortex radiatus externus eine Stärke von $0,5 \mu\text{m}$ erreicht, werden an seiner Basis fibrilläre Bündelstrukturen sichtbar (Abb. 2d), die bald die Hälfte der Stärke des gesamten Cortex radiatus ausmachen (Abb. 2e, 7d).

Das Follikelepithel wird im Stadium II schnell stärker. Seine Zellen haben jetzt einen mehr oder weniger quadratischen Querschnitt und enthalten einen mächtigen Kern. Die Grenzen zwischen den Follikelepithelzellen verlaufen gerade. Zellverbindungen durch Desmosomen wurden nicht festgestellt. Längs- bzw. Tangentialschnitte des Follikelepipithels zeigen, daß es nicht aus kubischen, sondern aus langgestreckten, spindelförmigen Zellen besteht.

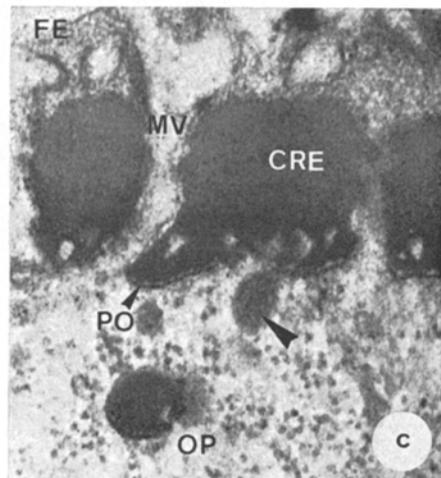
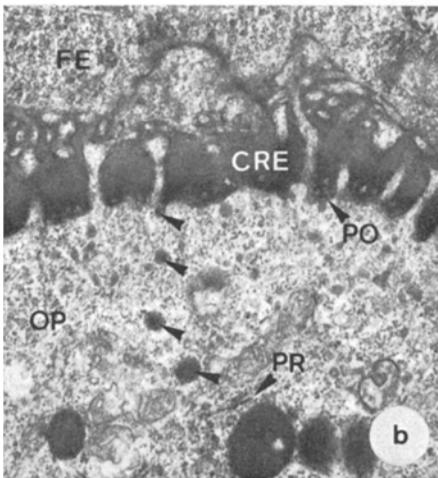
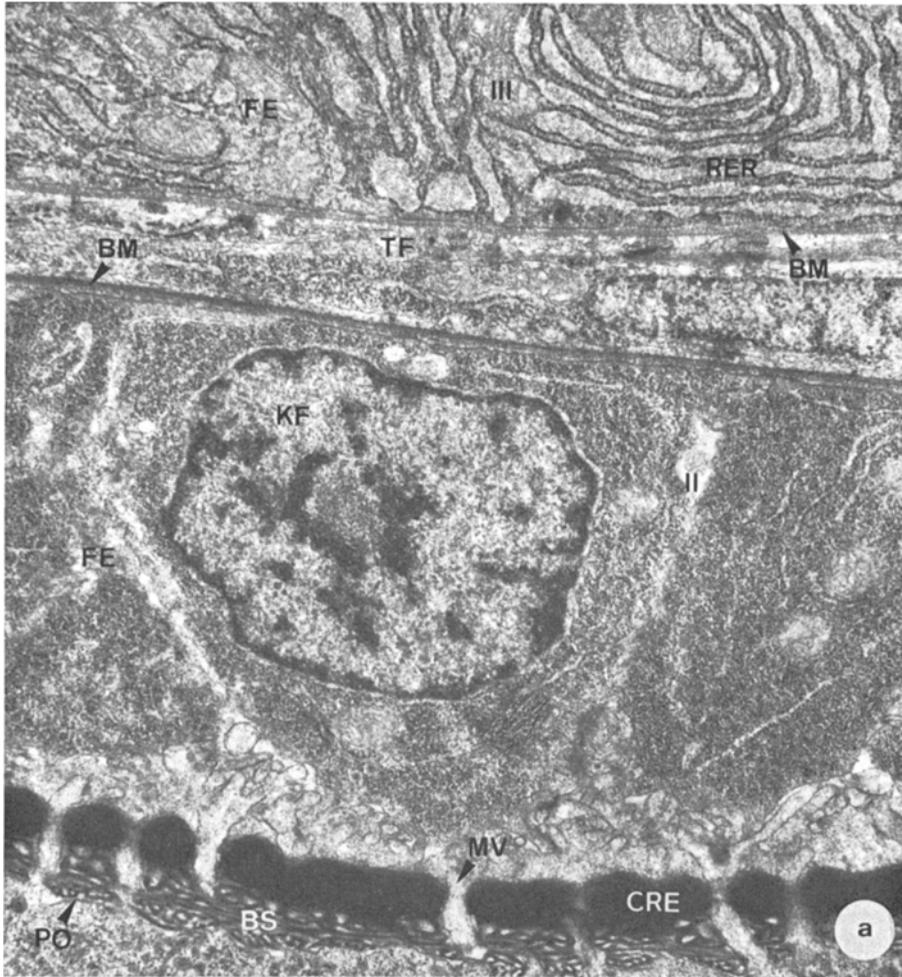
Im Stadium II nimmt der Anteil des endoplasmatischen Reticulums in den Follikelepithelzellen zu (Abb. 3a). Die Basalmembran ist auch in diesem Stadium einschichtig (Abb. 3a). Die bindegewebige Theca folliculi ist wesentlich dünner als das Follikelepithel und enthält nur wenige Organellen (Abb. 3a).

Im Stadium II beginnt die Genese der Hauffäden. Die Interzellularräume zwischen den Follikelepithelzellen sind schmal. Diese erweitern sich nun an bestimmten Stellen und in die dadurch gebildeten, röhrenförmigen Räume wird ein granuläres, elektronendichtes Material abgegeben (Abb. 4a-c). Die auf diese Weise entstandenen Hauffäden sind mit großer Wahrscheinlichkeit Derivate des Follikelepipithels. Hinweise auf diese Annahme sind die starke Zunahme des rauhen endoplasmatischen Reticulums und der Mitochondrien in den Follikelepithelzellen.

Am Ende des Stadiums III ist der Cortex radiatus ausdifferenziert. Er hat eine Stärke von $6 \mu\text{m}$ und wird von dünnen Radiärkanälen durchzogen. Er sieht mehr oder weniger homogen aus. Die im Stadium II aufgetretenen fibrillären Bündelstrukturen an der Basis des Cortex radiatus sind im Stadium III nicht mehr feststellbar (Abb. 5a). Der Cortex radiatus externus ist im Verhältnis zum Cortex radiatus internus sehr dünn (Abb. 4a-c). Es ist eine Mikropyle vorhanden, die am animalen Pol zwischen den Hauffäden liegt (Riehl, 1978a).

Im Stadium III treten im Follikelepithel tiefgehende Veränderungen auf. Die Zellen behalten zwar ihre spindelförmige Gestalt, doch verändert sich durch das Dicken- und Längenwachstum der Hauffäden ihr Querschnitt. Dieser wird mehr oder

Abb. 3: Zwei aneinandergrenzende Oozyten unterschiedlichen Reifungsgrades. Die untere Oocyte (II) befindet sich im Stadium II, die obere (III) im Stadium III. Die beiden Eizellen sind durch eine schmale, bindegewebige Theca folliculi getrennt. Im Stadium III sind die Follikelepithelzellen fast vollständig mit rauhem ER ausgefüllt (21 000 : 1). *b* Pinocytose an der primären Oocytenmembran. In der Nähe der Pinocytose-Vesikeln (Pfeile) befinden sich oft Polyribosomen (Stadium II, 22 000 : 1). *c* Starke Vergrößerung eines Pinocytose-Vesikels (Pfeil; Stadium II, 67 000 : 1). BM = Basalmembran, BS = Bündelstrukturen des Cortex radiatus internus, CRE = Cortex radiatus externus, FE = Follikelepithel, KF = Kern einer Follikelepithelzelle, MV = Mikrovillus, OP = Oocytoplasma, PO = primäre Oocytenmembran, PR = Polyribosomen, RER = rauhes endoplasmatisches Reticulum, TF = Theca folliculi, II = Oocyte des Stadiums II, III = Oocyte des Stadiums III



weniger trapezförmig (Abb. 5a). Die längere Seite des Trapezes liegt der einschichtigen Basalmembran an. Das endoplasmatische Reticulum hat sehr stark zugenommen und füllt fast die gesamte Zelle aus. Die Membranen des ER's sind größtenteils mit Ribosomen besetzt (Abb. 5a, c, 6). Zwischen den Membranen des rauhen ER's befinden sich zahlreiche Mitochondrien.

Die Theca folliculi ist jetzt immer noch sehr flach (Abb. 5a). Sie enthält in diesem Stadium viele Blutkapillaren. Die Kapillaren sind von einem vollständigen Endothel ausgekleidet, das wiederum von einer Basalmembran umgeben ist (Abb. 6).

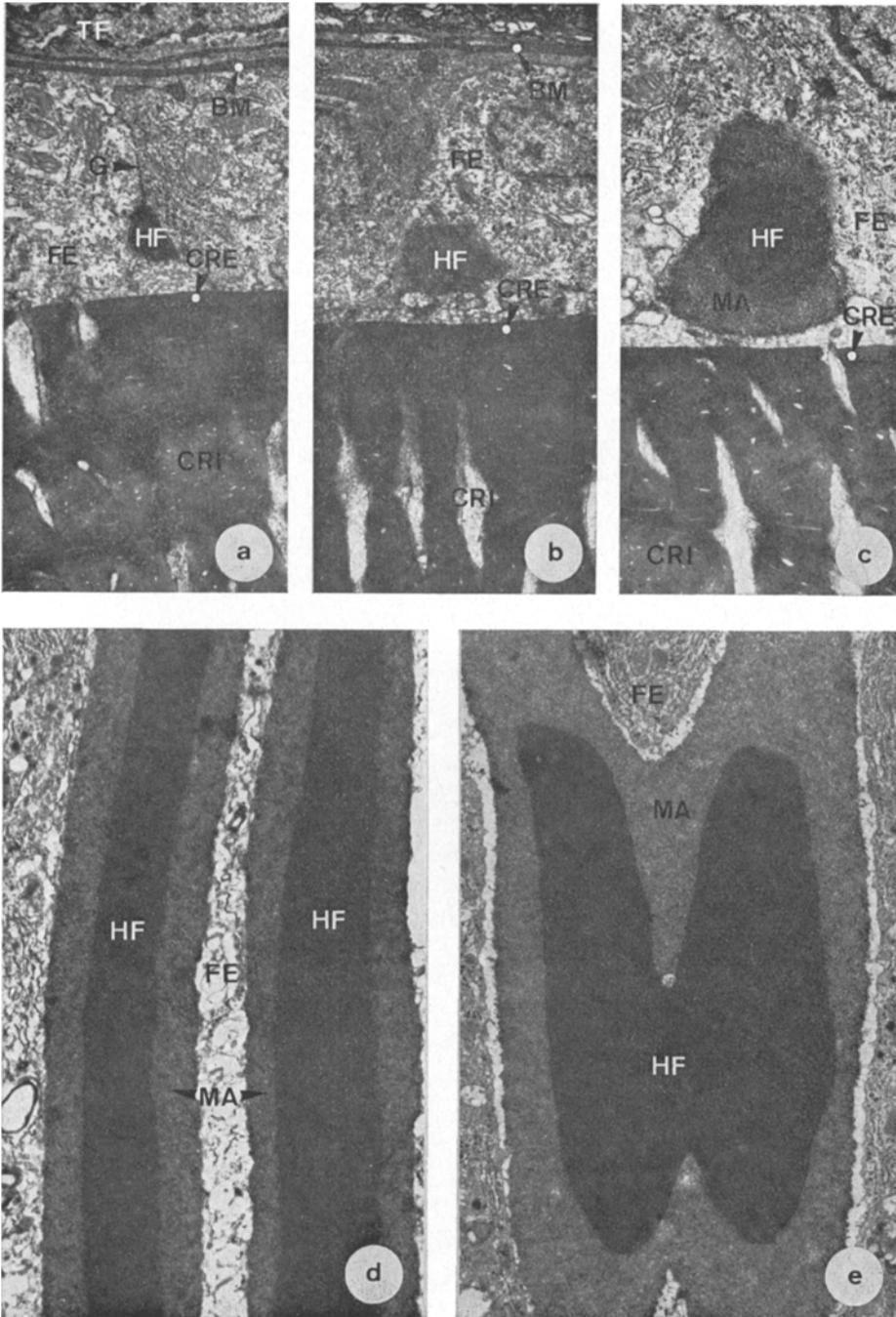
Durchmesser und Länge der Haftfäden haben beträchtlich zugenommen. Eine genaue Längenbestimmung an Hand der Schnitte ist jedoch nicht möglich, da die Haftfäden der natürlichen Krümmung der Eizellen folgen und deshalb nie in ganzer Länge angeschnitten sind. Im Querschnitt haben sie eine ovale bis konische Form (Abb. 5a, b). Durch solche Anschnitte können Zapfen vorgetäuscht werden. Doch Längs- bzw. Tangentialschnitte zeigen aber deutlich, daß es sich mit Sicherheit um Fäden handelt (Abb. 4d, 5c).

Die Haftfäden sind nur am animalen Pol mit dem Cortex radiatus verbunden (Abb. 8a, b). Ansonsten haben sie keinen Kontakt mit der Eizellhülle (vgl. Abb. 5a). Die Haftfäden sind aus zwei an ihrer Elektronendichte unterscheidbaren Materialien aufgebaut. Zum einen bestehen sie aus einem sehr osmiophilen, homogen aussehenden Internum (Abb. 4e, 5a-c, HF), das von einer weniger elektronendichten Matrix umgeben ist (Abb. 4e, 5a-c, MA). Die Matrix hat ein granuläres Aussehen. Über den chemischen Aufbau der Haftfäden können an Hand der rein morphologischen Untersuchung noch keine Aussagen gemacht werden.

Auffallend im Stadium II ist eine rege Pinocytose-Tätigkeit an der primären Oocytenmembran. Die Pinocytose-Vesikeln sind entweder sehr osmiophil (Abb. 3a, b, Pfeile) oder sie sind weniger elektronendicht (Abb. 7d, Pfeile). In diesem Fall sind die Vesikeln von einem Stachelsaum umgeben, so daß wir sie als „coated vesicles“ bezeichnen können.

Neben den vielen Vesikeln kommen im Stadium II fadenförmig aussehende Polysomen vor (Abb. 7a-c). Sie befinden sich fast ausschließlich im peripheren Oocytoplasma unter der primären Oocytenmembran und in Nachbarschaft von Dotterelementen (Abb. 7a, c). In den meisten Fällen liegen zwei Polysomen in unmittelbarer Nähe und sind parallel ausgerichtet (Abb. 7a, b). Ein Polysom kann aus 10 und mehr einzelnen Ribosomen bestehen (vgl. Abb. 7b). Der Durchmesser der Einzelribosomen schwankt zwischen 140 und 220 Å. Im Stadium III sind nach der vollständigen Ausbildung der Eizellhülle und des Dotters keine Polysomen mehr feststellbar.

Abb. 4: *a-c* Bildung der Haftfäden. *a* Ablagerung einer elektronendichten Substanz in eine Ausbuchtung der Follikelepithelgrenzen. *b* Größerwerden des Haftfadens. *c* Auftreten einer zweiten Komponente in den Haftfäden (alle 15 000 : 1). *d* Tangential angeschnittene Haftfäden (3700 : 1). *e* Dichotome Verzweigung von Haftfäden. Die beiden Haftfäden sind noch nicht vollständig getrennt (10 300 : 1). BM = Basalmembran, CRE = Cortex radiatus externus, CRI = Cortex radiatus internus, FE = Follikelepithel, G = Grenze der Follikelepithelzellen, HF = Haftfaden (Internum), MA = Matrix des Haftfadens, TF = Theca folliculi



DISKUSSION

Die peripheren Strukturen in den Oocyten von *Pomatoschistus minutus* bestehen, vom Oocytoplasma beginnend nach außen hin fortschreitend, aus primärer Oocytenmembran, Interzellularräum, Cortex radiatus, Follikelepithel, Basalmembran und Theca folliculi. Hüllschichten und Follikel von *Pomatoschistus*-Oocyten weichen in ihrer Morphologie und Feinstruktur stark von dem bisher bekannten Schema ab. Hervorzuheben sind an dieser Stelle die zwischen den Follikelepithelzellen liegenden Haftfäden.

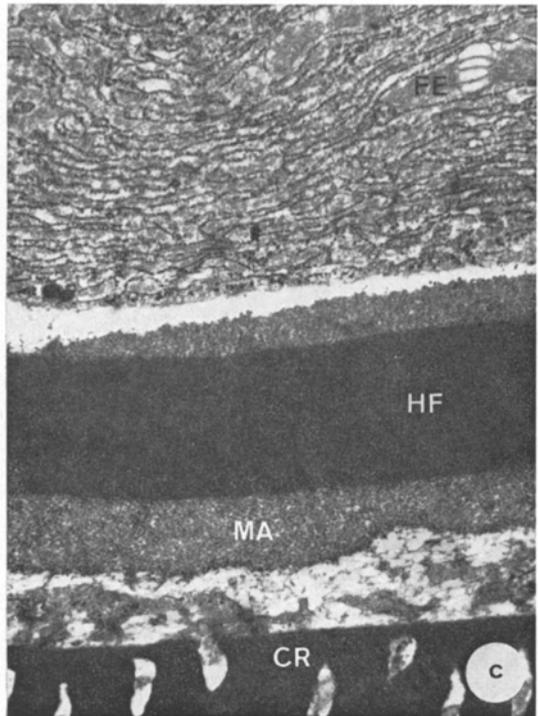
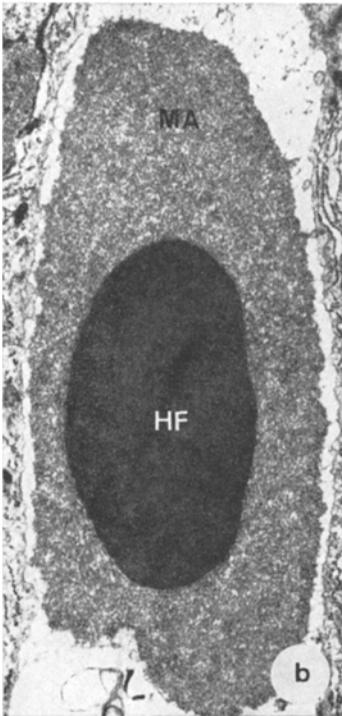
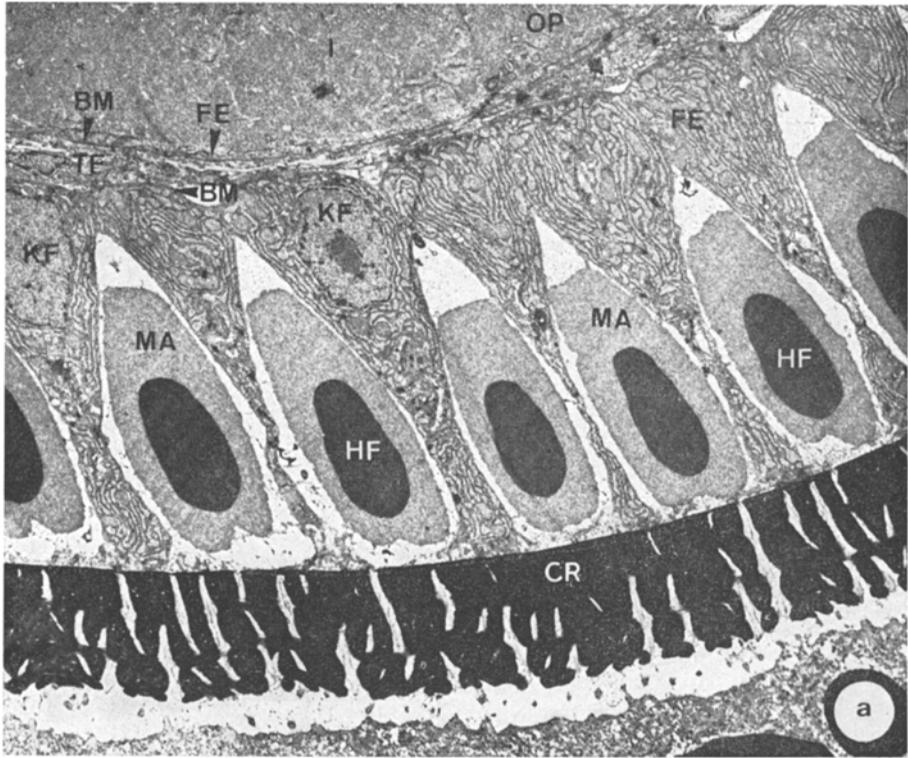
Die primäre Oocytenmembran bildet den äußeren Abschluß der Oocyten im Stadium I. Wie bei anderen untersuchten Teleosteer-Eizellen sendet sie Mikrovilli aus, die in den Interzellularräum hineinragen und die Oocytenoberfläche beträchtlich vergrößern. Diese Mikrovilli und Fortsätze follikulären Ursprungs sind nach Meinung der meisten Untersucher Orte des Stoffaustausches zwischen Follikel und Oocyte (Wartenberg, 1964; Götting, 1966; Flügel, 1967a; Gupta & Yamamoto, 1971; Wegmann & Götting, 1971; Azevedo, 1974; Riehl & Schulte, 1977; Riehl, 1977b).

Die Bildung des Cortex radiatus beginnt bei *Pomatoschistus minutus* wie bei anderen Teleosteen durch Ablagerung eines osmiophilen Materials (= Cortex radiatus externus) außerhalb der primären Oocytenmembran (Müller & Sterba, 1963; Götting, 1965, 1966, 1967, 1976; Flügel, 1967a, b; Erhardt & Götting, 1970; Azevedo, 1974; Erhardt, 1976; Flegler, 1977; Shacklely & King, 1977; Tesoriero, 1977; Riehl & Schulte, 1977; Riehl, 1978b). Dagegen treten bei Differenzierung und Wachstum des Cortex radiatus von *Pomatoschistus minutus* in einigen Punkten gravierende Unterschiede zu den bisher gemachten Befunden bei anderen Teleosteen auf.

Im Stadium II erscheinen im basalen Teil des Cortex radiatus Bündelstrukturen, die dem Cortex radiatus internus zuzurechnen sind. Diese Bündelstrukturen ähneln denen, die Flegler (1977) bei *Dermogenys pusillus* gefunden hat. Flegler bezeichnet die als "Zona radiata interna" und den verbleibenden homogenen, stark osmiophilen Teil der Eizelhülle als "Zona radiata externa" (= Cortex radiatus externus; vgl. Götting 1967; Riehl, 1977b). Die Gründe, warum auf eine weitere Verwendung des Terminus "Zona radiata" verzichtet werden sollte, wurden eingehend bei Götting (1964, 1965) diskutiert.

Auffallendste Strukturen an der Oocytenperipherie sind die im Stadium II entstehenden Haftfäden. Bei *Pomatoschistus minutus* kommen über 200 solcher Fäden vor, die am animalen Pol der Eizelhülle ansetzen. Schnitte haben gezeigt, daß die Haftfäden Teile des Cortex radiatus externus sind.

Abb. 5: *a* Querschnitt durch die Peripherie einer ausdifferenzierten Oocyte des späten Stadiums III (4700 : 1). *b* Haftfaden, quer. Er besteht aus einer homogenen, stark osmiophilen Substanz, die in eine granuläre, weniger elektronendichte Matrix eingebettet ist (12 700 : 1). *c* Haftfaden, längs geschnitten. Das Foto soll zeigen, daß es sich bei dem Haftfaden tatsächlich um einen Faden und nicht um einen konischen Zapfen handelt (15 000 : 1). BM = Basalmembran, CR = Cortex radiatus, FE = Follikelepithel, HF = Haftfaden (Internum). KF = Kern einer Follikelepithelzelle, MA = Matrix des Haftfadens, OP = Oocytoplasma, TF = Theca folliculi, I = Oocyte des Stadiums I



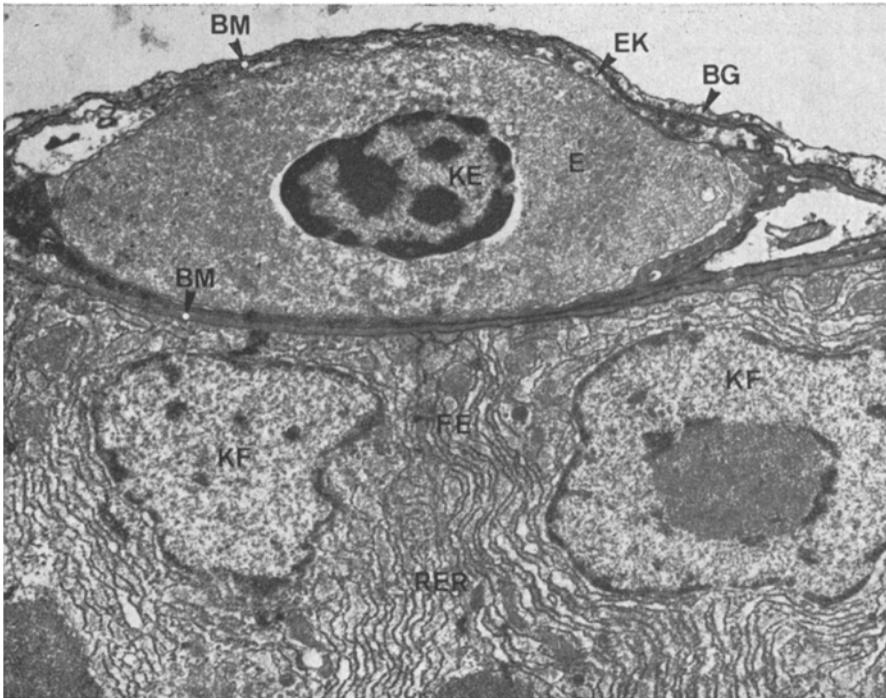
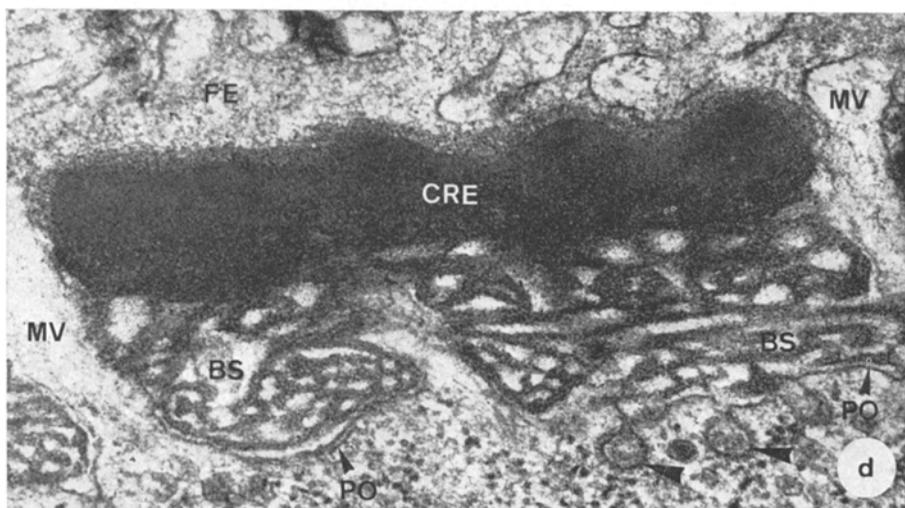
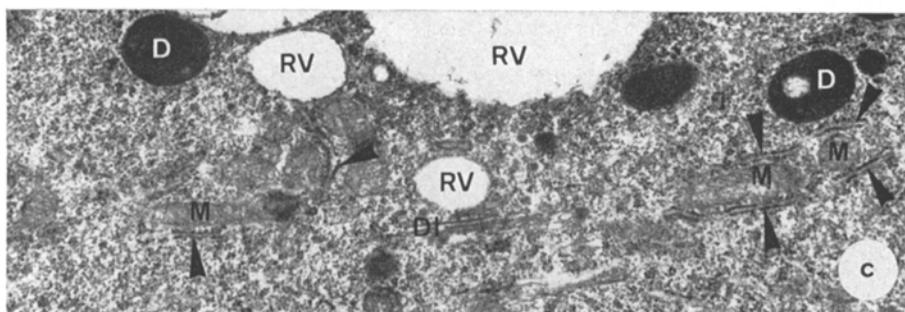
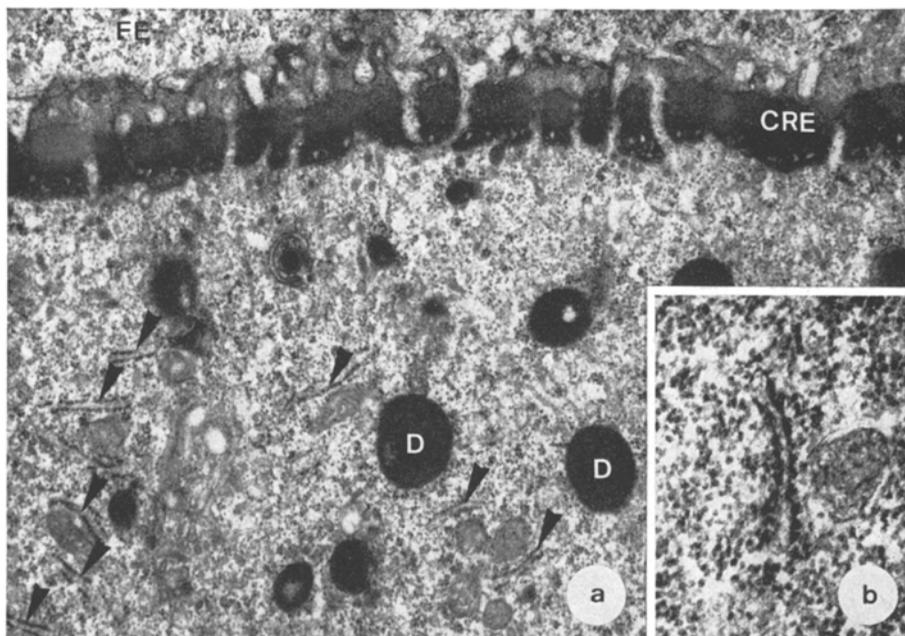


Abb. 6: Ausschnitte aus dem Follikel einer Oocyte des Stadiums III. Das Follikel­epithel enthält sehr viel rauhes ER. Die Basalmembran ist einschichtig. Im Bindegewebe des Follikels liegen Kapillaren. Die abgebildete Kapillare ist von einem vollständigen Endothel ausgekleidet, das seinerseits wiederum von einer Basalmembran umgeben ist. In der Kapillare befindet sich eine Erythrocyte (13 200 : 1)

Haftfäden an den Eiern von Fischen wurden schon bei einer Anzahl verschiedener Arten beschrieben, so bei den Scomberesociden (Häckel, 1855), Gobiiden (Hoffmann, 1880; Eggert, 1931), *Fundulus heteroclitus* (Eigenmann, 1890), *Gobius minutus* (Holt, 1890; Guitel, 1891, 1892), *Clinus argentatus* (Guitel, 1893), *Gobius niger* (Retzius, 1912), *Cypsilurus spec.* (Nayudu, 1922), *Periophthalmus*-Arten (Harms, 1928), Atheneriniden (Hildebrand & Schroeder, 1928), *Salarias flavo-umbrinus* (Eggert, 1929), Blenniiden (Eggert, 1931; Breder, 1939), Exocoetiden (Lo Bianco, 1931), *Bathygobius soporator* (Breder, 1943), Cichliden (Wickler, 1956a, b), *Blennius fluviatilis* (Wickler, 1957),

Abb. 7: *a-c* Polysomen in einer jungen Oocyte (Stadium II früh). *a* Die Polysomen befinden sich immer im peripheren Oocytoplasma unterhalb des Cortex radiatus (Pfeile; 22 000 : 1). *b* Zwei Polysomen, stark vergrößert (59 000 : 1). *c* Die Polysomen liegen meist in der Nähe von Mitochondrien (Pfeile; 22 000 : 1). *d* Stark vergrößerter Cortex radiatus mit Bündelstrukturen. An der primären Oocytenmembran schnüren sich Pinocytose-Vesikeln ab (Pfeile; Stadium II, 59 000 : 1), BS = Bündelstrukturen des Cortex radiatus internus, CRE = Cortex radiatus externus, D = Dotterelemente, DI = Dictyosom, FE = Follikel­epithel, M = Mitochondrion, MV = Mikrovilli, PO = primäre Oocytenmembran, RV = Rindenvakuolen



Melanotaenia maccullochi (Sterba, 1957) und bodenlaichenden Zahnkarpfen (Siegel, 1958). Eine elektronenmikroskopische Untersuchung dieser Haftfäden fehlte bisher.

Die Haftfäden von *Pomatoschistus minutus* bestehen aus zwei Komponenten unterschiedlicher Elektronendichte. Das läßt auf eine Zusammensetzung aus mindestens zwei verschiedenen chemischen Stoffgruppen schließen.

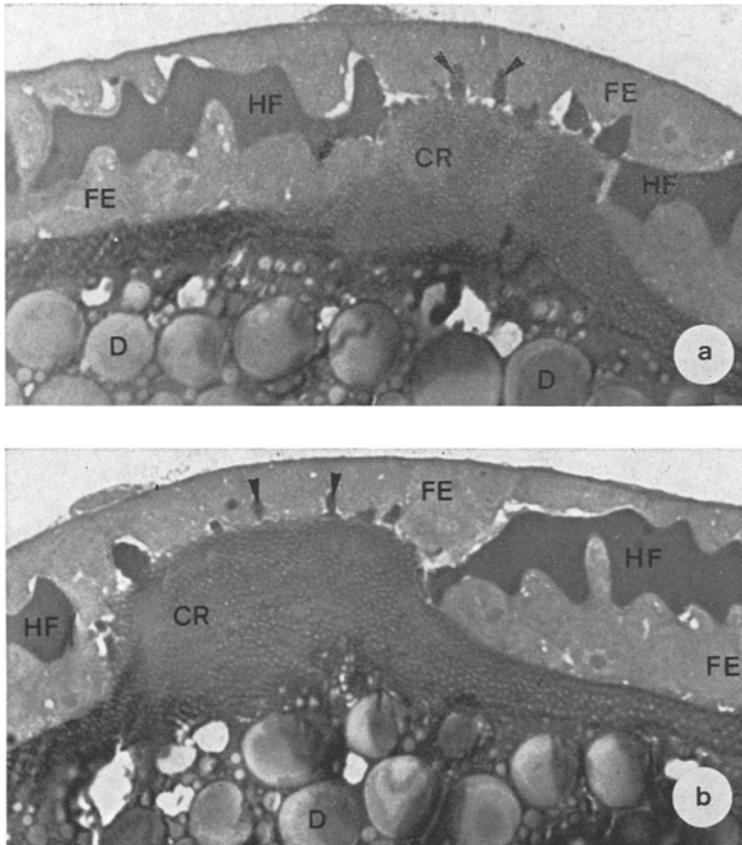


Abb. 8: a + b Animaler Pol einer *Pomatoschistus minutus*-Oocyte. Der Cortex radiatus ist an der Stelle, wo die Haftfäden abgehen, verdickt. Die Haftfäden sind modifizierte Teile des Cortex radiatus. Die Pfeile weisen auf Anschnitte der Haftfäden hin (Semidünnschnitte, 0,5 μ m, Toluidinblau; 1000 : 1). CR = Cortex radiatus, D = Dotterelemente, FE = Follikelepithel, HF = Haftfaden

Retzius (1911) machte es an den Eiern von *Gobius niger* wahrscheinlich, daß die Haftfäden dieser Art von den Follikelepithelzellen gebildet werden. Eggert (1929, 1931) und Wickler (1956b) schließen sich dieser Ansicht an, während Sterba (1957) bei *Melanotaenia maccullochi* die folliculäre Herkunft der Haftfäden bestreitet. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen sind die Haftfäden bei *Pomatoschistus minutus* mit großer Wahrscheinlichkeit Derivate des Follikelepithels. Für diese Annahme und

gegen eine oogene Herkunft sprechen folgende Punkte: (1) Die Follikel­epithelzellen enthalten beim Erscheinen der Haftfäden schon sehr viel rauhes ER. Dieses könnte die Proteine synthetisieren, die nach histochemischen Vorversuchen gefunden wurden. (2) Die Lage der Haftfäden direkt zwischen den Follikel­epithelzellen. (3) Die Entstehung des Cortex radiatus vor der der Haftfäden. Werden diese gebildet, ist der Cortex radiatus schon relativ stark. Es ist deshalb aus zellökonomischen Gründen nur schwer einsehbar, warum zweimal durch diese Barriere hindurch Stoffe transportiert werden sollen.

Die Haftfäden von Cichliden-Eiern (z. B. bei *Eetroplus suratensis*) sind nach Wickler (1956b) ein Teil der Cortex radiatus. Dieser Befund deckt sich mit den vorliegenden Beobachtungen bei *Pomatoschistus minutus*. Demgegenüber läßt sich die Meinung von Siegel (1958), die Haftfäden von *Pterolebias longipinnis* seien Auswüchse der "primären Oocytenmembran", in dieser Form nicht mehr aufrechterhalten. Die "primäre Oocytenmembran" der Lichtmikroskopiker soll außerhalb des Cortex radiatus liegen. Heute wissen wir, daß die "primäre Oocytenmembran" der Lichtmikroskopiker aus der echten primären Oocytenmembran, einer Elementarmembran und innerhalb des Cortex radiatus liegend, und Teilen des Cortex radiatus besteht (Götting, 1965, 1967; Riehl, 1978b).

Die Aufgaben des Cortex radiatus und der Haftfäden sind vielgestaltig und von den jeweiligen ökologischen Anforderungen abhängig, die nach der Ablage auf die Eier einwirken. So soll der Cortex radiatus als ein flexibler Filter während der Oogenese fungieren (Stahl & Leray, 1961; Zahnd & Porte, 1962; Shackley & King, 1977). Zum anderen soll der Cortex radiatus die Eier während der embryonalen Teilungen schützen (Zotin, 1958; Chambolle, 1962; Pommeranz, 1974). Das erklärt auch, daß demersale Teleosteer-Eier, die Strömungen oder Brandung ausgesetzt sind, einen wesentlich stärkeren Cortex haben als Eier von viviparen Knochenfischen, die einen solchen Schutz nicht benötigen. So haben die Eier des an Laminarien-Rhizoiden laichenden *Agonus cataphractus* einen 60–70 μm starken Cortex radiatus (Götting, 1964, 1965). Dagegen mißt der Cortex radiatus viviparer Fische, wie *Zoarcetes viviparus* (Götting, 1976) oder *Dermogenys pusillus* (Flegler, 1977) nur 2–3 μm . Eine weitere Aufgabe des Cortex radiatus ist es, demersale Eier einiger Fischarten an Substraten festzuheften (Arndt, 1960; Riehl, 1977a, 1978b).

Wickler (1956a, b) sieht die Haftfäden bei Cichliden als systematische Merkmale an. Ob die Haftfäden auch bei Gobiiden gattungs- oder gar artspezifische Merkmale darstellen, kann nur nach der Untersuchung einer größeren Anzahl von Grundelarten beantwortet werden.

Das Auftreten von vielen Pinocytose-Vesikeln an der primären Oocytenmembran deutet auf starke Stoffwechselaktivitäten hin. Dabei könnten die Pinocytose-Vesikel bei zwei unterschiedlich ablaufenden Vorgängen von Bedeutung sein: (1) Materialien, z. B. Aminosäuren, gelangen durch die Mikrovilli in die Oocyte. Dort werden sie von den Polysomen in Proteine überführt, die dann zum Aufbau des Cortex radiatus und des Dotters verwendet werden. Diese Proteine werden in den Vesikeln transportiert. Zum einen bilden die Vesikel den Proteindotter, zum anderen wandern sie durch die primäre Oocytenmembran, und ihr Inhalt wird in den Cortex radiatus eingebaut. In diesem Fall wäre der Cortex radiatus eine primäre Eizellhülle (vgl. Tesoriero, 1977)

und die Bildung des Dotters endogen. (2) Materialien gelangen aus dem Follikel-epithel in den Pinocytose-Vesikeln in die Oocyte. Diese Materialien werden dann entweder direkt in den Cortex radiatus oder in den Dotter eingebaut (vgl. Wegmann & Götting, 1971). Der Cortex radiatus wäre hier eine sekundäre Eizellhülle (= Chorion) und die Entstehung des Dotters exogen.

Danksagungen. Diese Untersuchung wurde mit freundlicher Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Herrn H. Steinmüller und Frl. U. Luft danke ich für technische Assistenz.

ZITIERTE LITERATUR

- Arndt, E. A., 1960. Untersuchungen über die Eihüllen von Cypriniden. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **52**, 315–327.
- Azevedo, C., 1974. Evolution des enveloppes ovocytaires, au cours de l'ovogénèse d'un téléostéen vivipare, *Xiphophorus helleri*. J. Microsc. **21**, 43–54.
- Breder, C. M., 1939. On the life history and development of the sponge Blenny, *Paraclinus marmoratus*. Zoologica, N. Y. **24**, 487–496.
- 1943. The eggs of *Bathygobius soporator* with a discussion of another non-spherical teleost eggs. Bull. Bingham oceanogr. Coll. **8**, 1–49.
- Chambolle, P., 1962. Recherches sur les facteurs physiologiques de la reproduction chez les poissons "ovovivipares". Analyse expérimentale sur *Gambusia* sp. Bull. Biol. mar. biol. Lab., Woods Hole **107**, 27–101.
- Eggert, B., 1929. Entwicklung und Bau der Eier von *Salarias flavo-umbrinus*. Zool. Anz. **83**, 241–253.
- 1931. Die Geschlechtsorgane der Gobiiformes und Blenniiformes. Z. wiss. Zool. **139**, 249–558.
- Eigenmann, C. H., 1890. On the egg-membrane and micropyle of some osseous fishes. Bull. Mus. comp. Zool. Harv. **119**, 129–154.
- Erhardt, H., 1976. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Eihüllen des marinen Teleosteers *Lutjanus synagris*. Helgoländer wiss. Meeresunters. **28**, 90–105.
- & Götting, K. J., 1970. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Eizellen und Eihüllen von *Platypoecilus maculatus*. Cytobiol. **2**, 429–440.
- Flegler, C., 1977. Electron microscopic studies on the development of the chorion of the viviparous teleost *Dermogenys pusillus*. Cell Tiss. Res. **179**, 255–270.
- Flügel, H., 1967a. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Oocyten und Eiern des Flußbarsches *Perca fluviatilis*. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **77**, 244–256.
- 1967b. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Oocyten und Eiern einiger Knochenfische. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **83**, 82–116.
- Götting, K. J., 1961. Beiträge zur Kenntnis der Grundlagen der Fortpflanzung und zur Fruchtbarkeitsbestimmung bei marinen Teleosteern. Helgoländer wiss. Meeresunters. **8**, 1–41.
- 1964. Entwicklung, Bau und Bedeutung der Eihüllen des Steinpickers (*Agonus cataphractus* L.). Helgoländer wiss. Meeresunters. **11**, 1–11.
- 1965. Die Feinstruktur der Hüllschichten reifender Oocyten von *Agonus cataphractus* L. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **66**, 405–414.
- 1966. Zur Feinstruktur der Oocyten mariner Teleosteere. Helgoländer wiss. Meeresunters. **13**, 118–170.
- 1967. Der Follikel und die peripheren Strukturen der Oocyten der Teleosteere und Amphibien. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **79**, 481–491.

- 1976. Fortpflanzung und Oocyten-Entwicklung bei der Aalmutter (*Zoarces viviparus*). Helgoländer wiss. Meeresunters. **28**, 71–89.
- Guitel, F., 1891. Sur les moeurs du *Gobius minutus*. C. r. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris **113**, 292–296.
- 1892. Sur l'ovaire et l'oeuf du *Gobius minutus*. C. r. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, **114**, 612–616.
- 1893. Observations sur les moeurs de trois Blennides, *Clinus argentatus*, *Blennius montagui* et *Blennius sphynx*. Archs Zool. exp. gén. (Ser. 3) **1**, 325–384.
- Gupta, N. N. & Yamamoto, K., 1971. Electron microscope study on the fine structural changes in the oocytes of goldfish, *Carassius auratus*, during yolk formation stage. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. **22** (3), 187–205.
- Häckel, E., 1855. Über die Eier der Scomberesoces. Arch. Anat. Physiol. wiss. Med. **1855**, 23–31.
- Harms, J. W., 1928. Die Realisation von Genen und die consecutive Adaptation. I. Phasen in der Differenzierung der Anlagenkomplexe und Frage der Landtierwerdung. Z. wiss. Zool. **133**, 211–397.
- Hildebrand, S. F. & Schroeder, W. C., 1928. Fishes of Chesapeake Bay. Bull. Bur. Fish., Wash. **43**, 1–388.
- Hoffmann, C. K., 1880. Vorläufige Mitteilung zur Ontogenie der Knochenfische. Zool. Anz. **3**, 607–610, 629–634.
- Holt, E. W. L., 1890. On the ova of *Gobius*. Ann. Mag. nat. Hist. (Ser. 6) **6**, 34–40.
- Lo Bianco, S., 1931–33. Uova, larve e stadi giovanili di Teleostei. Fauna Flora Golfo Napoli **38**, 1–384.
- Müller, H. & Sterba, G., 1963. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Bildung und Struktur der Eihüllen bei Knochenfischen. II. Die Eihüllen jüngerer und älterer Oocyten von *Cynolebias belotti* Steindachner (Cyprinodontidae). Zool. Jb. (Anat. Ontogenie Tiere) **80**, 469–488.
- Nayudu, M. R., 1922. A note on the eggs and early embryonic development of *Cypsilurus*. Madras Fish. Bull. **15**, 109–112.
- Pommeranz, T., 1974. Resistance of plaice eggs to mechanical stress and light. In: The early life history of fish. Ed. by J. H. S. Blaxter. Springer, Berlin, 397–416.
- Retzius, M. G., 1911. Untersuchungen an den Eiern von verschiedenen Wirbellosen und Wirbeltieren. B. Die Eier von *Gobius niger* L. Biol. Unters. **16**, 48–55.
- 1912. Zur Kenntnis der Hüllen und besonders des Follikelepithels an den Eiern der Wirbeltiere. I. Bei den Fischen. Biol. Unters. **17**, 2–29.
- Reynolds, E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain for electron microscopy. J. Cell Biol. **17**, 208–212.
- Riehl, R., 1977a. Histo- und ultrahistochemische Untersuchungen an den Oocyten von *Noemacheilus barbatulus* (L.) und *Gobio gobio* (L.) (Pisces, Teleostei). Zool. Anz. **198**, 328–354.
- 1977b. Der Follikel von *Noemacheilus barbatulus* (L.) und *Gobio gobio* (L.) und seine Beziehungen zur Oocyte. Zool. Anz. **199**, 121–139.
- 1978a. Die Oocyten der Grundel *Pomatoschistus minutus*. II. Lichtmikroskopische Untersuchungen zur Kenntnis der Mikropyle. Microscopica Acta **80**, 287–291.
- 1978b. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Oocyten von *Noemacheilus barbatulus* (L.) und *Gobio gobio* (L.) (Pisces, Teleostei). Zool. Anz. **201** (im Druck).
- & Schulte, E., 1977. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Eihüllen der Elritze (*Phoxinus phoxinus* [L.]; Teleostei, Cyprinidae). Protoplasma **92**, 147–162.
- Shackley, S. E. & King, P. E., 1977. Oogenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L. Cell Tiss. Res. **181**, 105–128.
- Siegel, G., 1958. Zur Morphologie der Eihüllen südamerikanischer bodenlaichender Zahnkarpfen. Wiss. Z. Friedrich-Schiller-Univ. Jena **7**, 229–231.
- Stahl, A. & Leray, C., 1961. Oogenesis in teleost fish. I. The origin and significance of the zona radiata and its attachments. Archs Anat. microsc. Morph. exp. **50**, 251–268.
- Sterba, G., 1957. Zur Differenzierung der Eihüllen bei Knochenfischen. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **46**, 717–728.

- Tesoriero, J. V., 1977. Formation of the chorion (zona pellucida) in the teleost, *Oryzias latipes*. I. Morphology of early oogenesis. J. Ultrastruct. Res. **59**, 282–291.
- Wartenberg, H., 1964. Experimentelle Untersuchungen über die Stoffaufnahme durch Pinocytose während der Vitellogenese des Amphibienoocyten. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **63**, 1004–1019.
- Wegmann, I. & Götting, K. J., 1971. Untersuchungen zur Dotterbildung in den Oocyten von *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848) (Teleostei, Poeciliidae). Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **119**, 405–433.
- Wickler, W., 1956a. Unterschiede zwischen den Cichlidengattungen, speziell *Geophagus* und *Biotodoma*, im Haftapparat der Eier. Naturwissenschaften **43**, 333–334.
- 1956b. Der Haftapparat einiger Cichliden-Eier. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **45**, 304–327.
- 1957. Das Ei von *Blennius fluviatilis* Asso (= *Blennius vulgaris* Poll.). Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. **45**, 641–648.
- Wohlfarth-Bottermann, K. E., 1957. Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. Naturwissenschaften **44**, 287–288.
- Zahnd, J. P. & Porte, A., 1962. Formation et structure de la membrane pellucide dans les ovocytes de deux téléostéens. Etude au microscope électronique. C. r. Séanc. Soc. Biol. **156**, 915–917.
- Zotin, A. J., 1958. The mechanism of hardening of the salmonid egg membrane after fertilization or spontaneous activation. J. Embryol. exp. Morph. **6**, 546–568.