

# Zur Feinstruktur der Oocyten mariner Teleosteer<sup>1</sup>

KLAUS-JÜRGEN GÖTTING

*I. Zoologisches Institut der Universität Gießen*

**ABSTRACT:** On the ultrastructure of the oocytes of marine teleosts. The fine structure of various stages of development of oocytes of several marine teleosts was studied by electron microscope. The primary membrane of the oocyte represents a typical cell membrane. The contact between the oocyte and the follicle is particularly close in early stages. The membrane of the oocyte and the intercellular space disappear in closely restricted areas. Outside the oocyte a homogeneous substance is applied between the microvilli introducing the forming of the cortical layers. The cortex consists of two layers: the outer one may bear ledge-like elevations; the inner one may form bundles of fibrils, which strengthen the cortex. During growth of the oocyte the surface of the nucleus is enlarged by indentations in which a nucleolus is almost always located. Nucleolar material is supplied to the cytoplasm. Mitochondria first appear near the nucleus; later they fill up the cytoplasm. Through concentrical regrouping of their inner structure, the mitochondria are transformed into multi-layered, membranous bodies which have a close topographical relation to the sparse ergastoplasm. After regrouping of their inner structures, the mitochondria detach small elongated vesicles into the cytoplasm. In this way, not only membranous material is delivered but also an immediate contact between the inner chondrioplasm and the cytoplasm is reached. There are two ways of yolk production: in the unconfined cytoplasm (lipid yolk) and within certain areas surrounded by membranes (protein yolk). The yolk nucleus of teleost oocytes is granulous and bears no other elements of structure. The intercellular space between the oocyte and the follicular epithelium is transformed into zona pellucida by storing of special mucopolysaccharides. During ovulation the oocyte is separated from the follicle along the basement membrane. The barrier between blood and the oocyte consists of at least 5 layers. The basement membrane, which serves as ultra filter, has one or more layers, depending on the species. The high resistance of demersal eggs is related to their thick cortical layers. Planktonic eggs are of more delicate structure, the details of their construction, however, vary among species.

## EINLEITUNG

Bau und Entwicklung der Fiscoocyten sind lichtmikroskopisch eingehend untersucht worden. Sehr viel spärlicher sind elektronenmikroskopische Arbeiten, und die bisher vorliegenden beschäftigen sich fast ausschließlich mit den Eizellen von Süßwasser-Fischen. So lag es nahe, frühere Beobachtungen an Oocyten mariner Teleosteer fortzusetzen.

---

<sup>1</sup> Habilitationsschrift zur Erlangung der *venia legendi* an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Justus Liebig-Universität Gießen.

Ganz allgemein ist festzustellen, daß mit dem Elektronenmikroskop nur sehr wenige wirklich neue Zellelemente entdeckt worden sind. Vielmehr gewährt es einen genaueren Einblick in den Feinbau der bereits bekannten Strukturkomplexe und ermöglicht damit ein besseres Verständnis nicht nur der morphologischen, sondern auch der funktionellen Zusammenhänge. Zwar ist das vom Elektronenmikroskop unmittelbar gebotene Bild ein statisches, doch kann dieses Bild zu einer dynamischen Vorstellung führen, wenn man aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien, verschiedene funktionelle Phasen untersucht und außerdem histochemische, phasenkontrastmikroskopische, röntgenographische und autoradiographische Methoden vergleichend benutzt.

Entscheidend neue Einsichten – im Rahmen des hier behandelten Themas – ergaben sich bei der Untersuchung der Eihüllen. Was vorher mehr oder weniger spekulativen Charakter hatte, nämlich die Annahme, die Hüllschichten wären von Porenkanälchen durchsetzt, das konnte mit dem Elektronenmikroskop als tatsächlich existent nachgewiesen werden. Ferner zeigten die Eihüllen bodenlaichender Fische hochgeordnete Strukturen, deren Vorhandensein nicht ohne weiteres vorherzusehen war.

Auch die Bausteine der Oocyte lassen sich auf drei Elemente zurückführen: Membran, Filum, Granum (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1963). Die Besprechung der Organellen wird jedoch praktischerweise im folgenden nach anderen Gesichtspunkten geordnet. Bei der Deutung der Strukturen werden die an anderen Tiergruppen gewonnenen Erkenntnisse zum Vergleich herangezogen, soweit eine direkte Beziehung besteht und Analogieschlüsse nicht von vornherein als verfehlt erscheinen müssen.

## MATERIAL UND METHODE

Die Oocyten wurden den Ovarien frischgefangener Weibchen entnommen. Zur Ergänzung der Untersuchungen über die Eihüllen dienten Gelege bodenlaichender Fische und planktische Eier.

Für die lichtmikroskopischen Studien wurde das Material nach Bouin fixiert, anschließend in Paraffin eingebettet. Zur Färbung haben sich bewährt: Hämalaun-Eosin, Hämatoxylin nach Delafield, Eisenhämatoxylin und Azan nach Heidenhain.

Zur elektronenmikroskopischen Betrachtung wurde in den Gemischen nach Luft, Palade und – in der Mehrzahl der Fälle – Wohlfarth-Bottermann fixiert. Über eine Acetonreihe kamen die Objekte in Vestopal W, das bei 60° C 48 Stunden polymerisierte. Während der Entwässerung wurden die Kontraste verstärkt durch Zusatz von 1 % Phosphorwolframsäure und 0,5 % Uranylacetat zum 70%igen Aceton (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1957a). Geschnitten wurde auf dem Leitz-Ultramikrotom nach Fernández-Morán, beobachtet und aufgenommen am Zeiß-EM 9 bei 60 kV.

## KURZE ÜBERSICHT ÜBER BAU UND ENTWICKLUNG DER OOCYTEN

Als Einführung in den hier behandelten Problembereich diene ein kurzer Abriss der Oocyten-Entwicklung nach den bisherigen licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen. Eine neuere Übersicht über das bisher Bekannte wurde in letzter Zeit

nur durch FRANCHI, MANDL & ZUCKERMAN (1962) gegeben. Die Darstellung von BERTIN (1958) basiert zum großen Teil auf dem Stand des Wissens von 1912. Der Beschränkung auf das eigentliche Thema wegen sind die Vorgänge der chromosomalen Reifung weggelassen worden (vgl. GÖTTING 1961).

Die Genitalfalte besteht zunächst nur aus Urkeimzellen. Später wandern bindegewebige Elemente ein, die Falte schließt sich zur Röhre und bildet so das Ovarium. Der fertig entwickelte Eierstock enthält zuinnerst das Keimepithel, das gefaltet ist und in dessen Falten sich Ausläufer der nach außen anschließenden Bindegewebsschicht hineinstrecken. Es folgen dann zwei Schichten längs- und ringförmig verlaufender Muskulatur, eine dünne Pigmentschicht und wiederum Bindegewebe.

Die Oogonien und die Oocyten liegen in Gruppen zusammen. Auffallend groß ist der blasige Kern. Die Entwicklung der Oocyte läßt sich nach histologischen Gesichtspunkten in vier Stadien einteilen (GÖTTING 1961). Zunächst ist die Oocyte konzentrisch gebaut, mit großem, bläschenförmigem Kern. Im Kern liegen ein oder mehrere Nucleoli, das Cytoplasma ist stark basophil. Die primären Follikelzellen entstehen aus den gleichen indifferenten Zellen des Keimlagers wie die Oogonien. Der Follikel besteht aus einer Schicht von Zellen (Stadium I).

Mit dem weiteren Wachstum tritt im Ooplasma eine Zonierung ein; erwähnenswert ist besonders die Entstehung der Corticalschichten. Die Oberfläche des Kernes wellt und vergrößert sich dadurch beträchtlich. Nucleolarsubstanz ist auch im Cytoplasma nachweisbar. Die folliculäre Hülle wird zweischichtig (Stadium II). Nun beginnt die Dotterbildung. An der Peripherie der Oocyte zeigt sich eine radiärstreifige Corticalschicht (Stadium III). In den zur Ablage heranreifenden Eizellen verschmelzen die Dotterelemente. Der Kern verläßt das Zellzentrum und das Plasma differenziert sich polar (Stadium IV) (vgl. Abb. 1).

Während die Oocyte diese Wachstumsvorgänge durchläuft, umgibt sie sich mit Hüllschichten. Die Hülle kann unterschiedlich dick sein, je nachdem, ob es sich um planktische Eier handelt wie bei Wittling (*Merlangius merlangus* [L.]), Dorsch (*Gadus morhua* L.), Scholle (*Pleuronectes platessa* L.), Kliesche (*Limanda limanda* L.) oder um Eier, die auf den Grund abgelegt werden und die dann nicht nur besonders stabil sind, sondern unter Umständen auch über mannigfache Haftenrichtungen verfügen, wie bei Steinpicker (*Agonus cataphractus* L.), Seeskorpion (*Myoxocephalus scorpius* [L.]) und Grundeln (Familie Gobiidae). Nicht eindeutig geklärt ist bisher die Frage, ob diese Eihüllen inner- oder außerhalb der primären Oocytenmembran angelegt und ob sie von der Oocyte oder vom Follikel gebildet werden. Der Follikel besteht im einfachsten Fall aus drei Abschnitten. Der Oocyte liegt das Follikel­epithel (= Granulosa = épithélium folliculaire) an, das cytoplasmatische Fortsätze in Richtung Eizelle aussendet und dadurch die innige Verbindung von Oocyte und Follikel herstellt. Diese Verbindung entspricht funktionell der Placenta und ist ihr im cytomorphologischen Bild durch die Verzahnung der Zellen ähnlich, so daß sie bei ovoviviparen Fischen (*Lebistes reticulatus*) als folliculäre Pseudoplacenta, bei viviparen (*Heterandria formosa*) als folliculäre Placenta bezeichnet worden ist (JOLLIE & JOLLIE 1964a). Dem Follikel­epithel dient eine dünne Membran, die Basalmembran (= membrane propre) als Ansatzfläche. Als äußerer Abschluß folgt dann die bindegewebige

Theca folliculi (= thèque folliculaire), die bisweilen aus einer inneren (Theca folliculi interna) und einer äußeren Schicht (Theca folliculi externa) besteht.

Von der Gesamtmenge der in einem Ovar vorhandenen Oocyten reift zu jeder Laichperiode nur ein bestimmter Bruchteil heran, der größenordnungsmäßig bei etwa

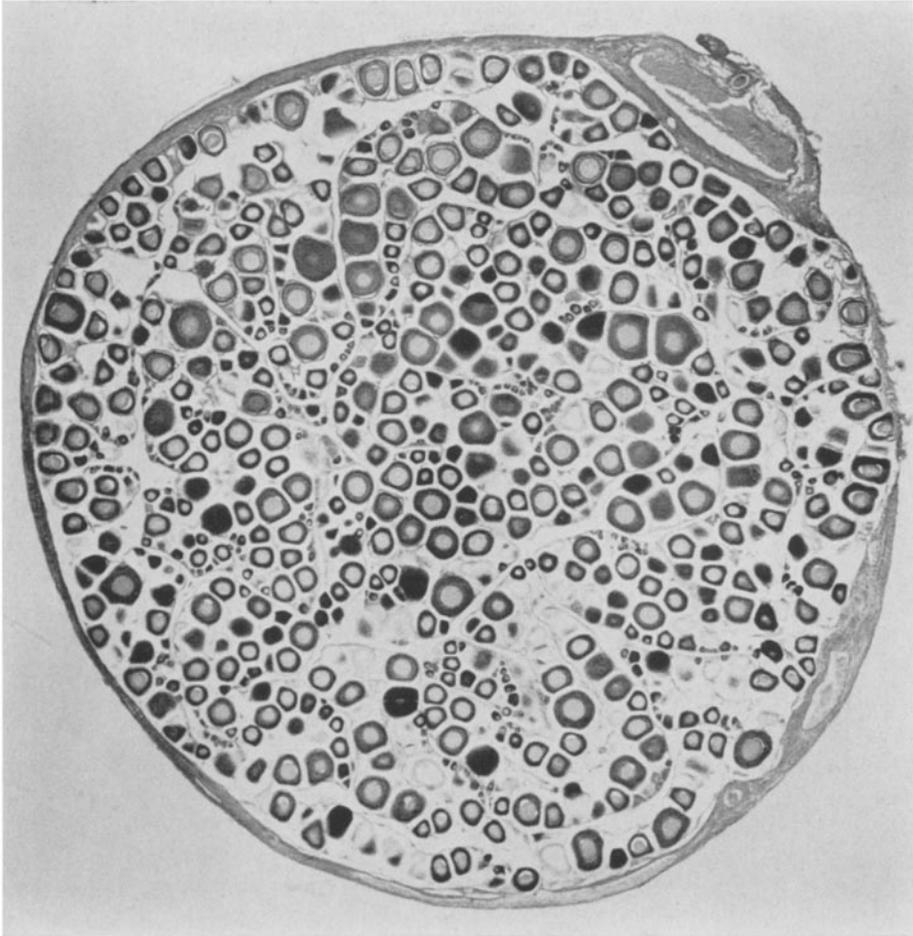


Abb. 1: Übersichtsbild: Querschnitt durch das Ovar eines jungen Wittlings (*Merlangius merlangus*). Totallänge des Tieres: 29 cm, gefangen am 8. September 1958 am Elbe-Esbjerg-Weg bei Tonne 10. (Bouin, 7  $\mu$ , Hämatoxylin nach DELAFIELD.) Das Ovar enthielt insgesamt etwa 685 000 Oocyten verschiedener Entwicklungsstadien (37,5 : 1)

20 % liegt. Während der Laichzeit kann man im Eierstock entweder alle Entwicklungsstadien von der jüngsten Oocyte bis zur ablagereifen Eizelle finden (Kontinuitätstyp), wie das vor allem der Fall ist bei Fischen mit überwiegend südlicher Verbreitung (*Solea solea* [L.], *Engraulis encrasicolus* [L.]), oder die Gruppe der vollreifen Oocyten ist scharf und übergangslos von den Reserve-Oocyten abgesetzt (Diskontinuitätstyp),

wie bei Fischen mit vorwiegend nördlicher Verbreitung (*Agonus cataphractus*, *Limanda limanda*, *Pleuronectes platessa*, *Myoxocephalus scorpius*).

## STRUKTURELEMENTE DER OOCYTE

Nur wenige Zelltypen sind so häufig untersucht worden wie gerade die Oocyten. Das ist in erster Linie wohl auf die hervorragende Bedeutung zurückzuführen, die diesen Zellen in der Lebensgeschichte des Organismus zukommt. Ein weiterer Grund dürfte sein, daß die Oocyte ein System darstellt, das in sich sehr viel geschlossener ist als bei tierischen Zellen im allgemeinen und das dem Eingriff des Experimentators bei vielen Tiergruppen besonders gut zugänglich ist.

Ausgangspunkt für die unter verschiedenstem Blickwinkel durchgeführten Versuche sollte die gründliche Kenntnis der Morphologie der Oocyte sein. Die Grundlage zu dieser Kenntnis ist durch eine Fülle lichtmikroskopischer Arbeiten gelegt worden, Arbeiten, die bis an die Grenze des lichtmikroskopisch Möglichen vordringen und die im Grenzbereich notwendigerweise zu unterschiedlichen Auffassungen und Deutungen führen mußten. Auffälligerweise gibt es nur sehr wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen an Teleosteer-Oocyten, und die publizierten sind vorwiegend an Süßwasserfischen gemacht worden. Dabei bietet gerade die Elektronenmikroskopie die Möglichkeit, genauere Einsichten in die Feinstruktur zu gewinnen und aus der Struktur Rückschlüsse auf die Funktion der Zellbestandteile und der Zelle zu ziehen. So scheint es dringend geboten, die Cytomorphologie der Teleosteer-Oocyten eingehend zu untersuchen. Ausgenommen werden sollen die Chromosomen, da es einer Reihe methodisch-technischer Verbesserungen bedarf, bis diese Strukturelemente elektronenmikroskopisch einwandfrei und zuverlässig dargestellt werden können. Eine besondere Rolle spielen beim Bau der Organellen die Membranen, die daher an die Besprechung des Grundcytoplasma als erstes angeschlossen werden sollen.

### Das Grundcytoplasma

Das Grundcytoplasma ist die Matrix für alle in der Oocyte vorkommenden Organellen und ist durch KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN (1964) charakterisiert worden als der Anteil des Cytoplasma, „in dem die elektronenmikroskopisch gut definierten Membranstrukturen . . . sowie morphologisch und biochemisch gut analysierte partikuläre Elemente . . . eingelagert sind“ (vgl. auch PORTER 1961). Das Grundcytoplasma spielt jetzt in der Elektronenmikroskopie dieselbe Rolle wie früher das „Hyaloplasma“ in der Lichtmikroskopie. Allerdings muß eingeschränkt werden: das Grundcytoplasma bietet (nach Fixierung und Einbettung) verschiedene Aspekte in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium der Oocyte. In jungen Oocyten sieht es dicht und feingranuliert aus, in älteren dagegen ist es locker und flockig. Füllt es in jungen Oocyten gleichmäßig den Raum zwischen Kern und Zellmembran, so tritt später eine auch schon lichtmikroskopisch sichtbare Schichtung ein (Stadium II). Zuäußerst liegt eine Zone lockeren Plasmas, das perinucleäre Plasma ist sehr viel dichter, seine innerste

Schicht ist besonders reich an RNS. Insgesamt lassen sich hier also drei Zonen voneinander unterscheiden. Die dem Nucleus unmittelbar benachbarte Schicht ist Mittlerin zwischen Caryo- und Cytoplasma. In dem geschilderten Beispiel tritt Nucleolarsubstanz durch die Kernhülle aus, wird im perinucleären Plasma gleichmäßig verteilt und nach außen weitergeleitet.

Aus dem vorliegenden Material soll ein weiteres Beispiel herausgegriffen werden: eine große Oocyte (Stadium IV) von *Myoxocephalus scorpius*. Im Plasma sind zwei Schichten zu unterscheiden. Die kernnahe enthält in der Grundphase nur Ribosomen und sieht daher gleichmäßig granuliert aus. In sie hinein wölben sich Ausbuchtungen der Kernhülle. An den Stellen, wo ein Nucleolus in einer solchen Ausbuchtung liegt, sind im benachbarten Cytoplasma Vesikel des endoplasmatischen Reticulum zu beobachten, die etwa radiär in Gruppen hintereinanderliegen und so eine „Brücke“ zur äußeren Plasmaschicht bilden. Auf diesem Wege sind sicherlich schneller größere Mengen Nucleolarsubstanz nach außen zu befördern als es durch Diffusion möglich wäre. Die äußere Schicht ist reich an Vesikeln verschiedener Größen, daneben sind Ribosomen und Dotterelemente vorhanden.

Im Verlaufe der weiteren Entwicklung wird die plasmatische Grundphase mehr und mehr durch großvolumige Vesikel und Dottermaterial zurückgedrängt, so daß sie schließlich in der ablagebereiten Oocyte nur noch ein Maschenwerk bildet, das die Organellen umspinnt.

Über diese „tragende“ Funktion hinaus ist das Grundcytoplasma beteiligt an der Morphogenese cytoplasmatischer Feinstrukturen (KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN 1964). Membranen können aus dem Grundplasma neu gebildet und darin wieder aufgelöst werden.

In Eizellen findet sich – wie schon RUNNSTRÖM (1963) feststellte – reines Grundplasma ohne fädige Strukturen. Diese fädigen Elemente, die nach WOHLFARTH-BOTTERMANN (1963) wesentlich an der amöboiden Bewegung von Zellen beteiligt sind, sind in der ruhenden Oocyte nicht notwendig, so daß ihr Fehlen nicht überrascht. Formung und Transport der Eizelle erfolgen passiv durch den Druck der Nachbarzellen, vielleicht auch durch Kontraktionen der Ovarmuskulatur.

## Membranen und Membransysteme

### Zellmembran und Eihüllen

Die Zellmembran bildet den äußeren Abschluß des Systems „Oocyte“. Sie soll hier als „primäre Oocytenmembran im engeren Sinne“ bezeichnet werden (Begründung s. u.). Sie ist aber nicht nur äußerer Abschluß, sie muß vor allen Dingen den Stoffaustausch zwischen Eizelle und Follikel ermöglichen.

Die primäre Oocytenmembran ist eine Elementarmembran im Sinne von SITTE (1961) (= unit membrane nach ROBERTSON 1959). Sie unterscheidet sich zunächst in ihrer Konstruktion nicht von der Zellmembran anderer Zellen. Unter ihr sammeln sich schon im Stadium I zahlreiche Vesikel, die später zu den Rindenvakuolen nach ARNDT (1960a) werden (Abb. 2). Bei intensiver Vesikelbildung verschwindet die Zellmembran

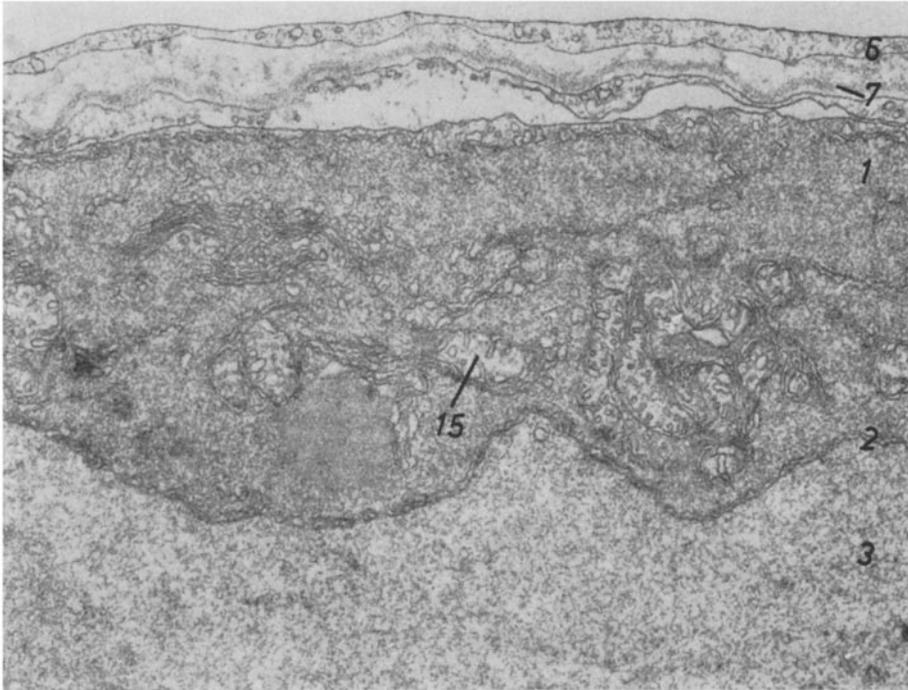


Abb. 2: Mitochondrien, flache Membransäckchen und Dalton-Komplexe im schmalen Cytoplasmastreifen einer jungen Oocyte; zahlreiche Vesikel unter der Zellmembran; Kernhülle deutlich zweischichtig und mit Poren. Follikelepithel, Basalmembran und Theca einschichtig. (*Pleuronectes platessa*; 27 000 : 1)

#### Erläuterung der Abkürzungen

1 Cytoplasma der Oocyte	10 Mikrovilli
2 Kernhülle	11 perioocytärer Interzellularraum
3 Caryoplasma	12 Cortex radiatus externus
4 Nucleolus	13 Cortex radiatus internus
5 Membransäckchen	14 Bündelstrukturen des Cortex radiatus internus
6 Theca folliculi	15 Mitochondrien
7 Basalmembran	16 Dalton-Komplex
8 Kern der Follikelzelle	17 Follikelepithel
9 homogene Substanz	18 Kapillare

streckenweise völlig (Abb. 3) und mit ihr auch der sonst regelmäßig vorhandene Interzellularraum. So ist in der frühesten Phase der Oocyten-Entwicklung der Kontakt zwischen Eizelle und Follikelepithel besonders innig. Sobald die intensive Vesikelbildung abgeschlossen ist, werden die Oocytenmembran und der Interzellularraum wieder vervollständigt.

Die Morphogenese und die Dynamik cytoplasmatischer Membranen sind von SCHNEIDER (1964) diskutiert worden. Er weist auf zwei Möglichkeiten der Membrangenese hin: durch Vesikelfusion und Entstehung „de novo“ aus molekularen Bausteinen. Beide Modi sind bei den Teleosteer-Oocyten offensichtlich vorhanden.

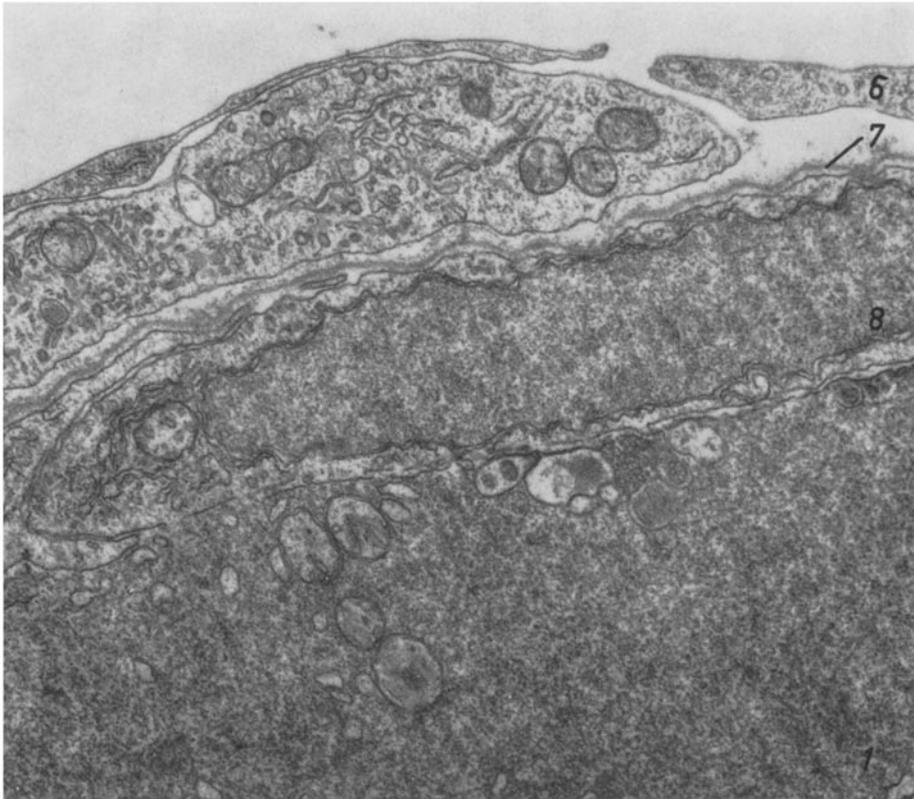


Abb. 3: Oocyte mit vollausgebildetem Follikel. Basalmembran einschichtig. Der oocytennahe Interzellularraum ist verschwunden, die Zellmembran streckenweise aufgelöst; in allen Zellen zahlreiche Vesikel. (*Callionymus lyra*; 18 000 : 1)

Die Elementarmembran baut sich aus zwei stark osmiophilen Schichten auf, die einen helleren Zwischenraum einschließen. Nach der Paucimolekular-Theorie (DANIELLI 1958) besteht die Membran aus zwei Lipoidschichten, deren hydrophile Pole nach außen weisen und die das Zentrum der Osmiumsäure-Schwärzung bilden. Die hydrophoben Pole sind nach innen gerichtet und stellen die helle Mittelschicht dar. Außen ist auf beiden Seiten eine monomolekulare Proteinschicht aufgelagert. Diese Proteinschichten schwärzen sich ebenfalls mit Osmium und verstärken so den Kontrast der Außenschichten. Da die Proteinschichten nicht immer gleich dick sind und offenbar auch Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung auftreten, ist die Außenlamelle der einen Seite gelegentlich stärker geschwärzt als die der anderen.

W. J. SCHMIDT (1955) hat aus polarisationsoptischen Befunden geschlossen, daß die Cytoplasma-Fila um Vakuolen mit wässrigem Inhalt Folientextur annehmen und zusammen mit einer bi- oder unimolekularen Lipidlamelle den Flüssigkeitstropfen umkleiden. Das wird durch elektronenmikroskopische Beobachtungen und daran anschließende theoretische Betrachtungen bestätigt.

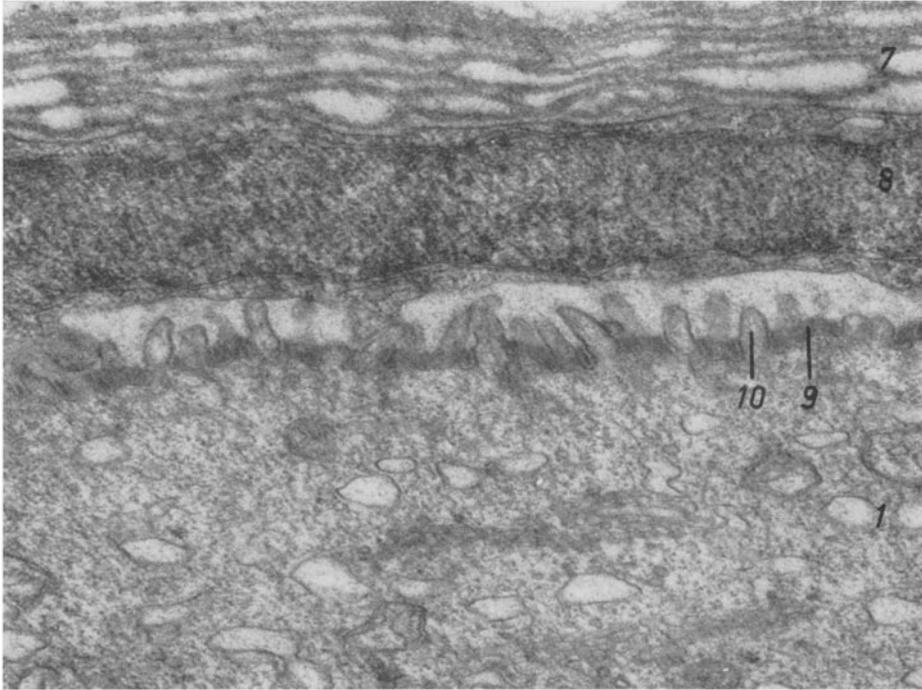


Abb. 4: Anlage der homogenen Substanz zwischen den Mikrovilli außerhalb der Oocytenmembran; darüber eine Zelle des Follikel­epithels mit großem Kern und vielschichtige Basalmembran. (*Agonus cataphractus*; 25 200 : 1)

Kommt es aus irgendeinem Grunde zum Bruch der Membran an einer Stelle, so schließen die gegenüberliegenden Lipoidmoleküle die entstandenen offenen Enden. Bruchstücke von Membranen neigen dazu, sich zu schließen, so daß auf diesem Wege Vesikel entstehen können. So ist die vorhin geschilderte Auflösung der primären Oocytenmembran und ihre Umformung zu Vesikeln zu erklären, da in der Phase intensiven Stofftransportes aus dem Follikel in die Oocyte weder die bereits vorhandenen Vesikel noch die zu ihrer Bildung notwendigen elementaren cytoplasmatischen Bestandteile ausreichen. In umgekehrtem Sinne wird die Zellmembran repariert. Zahlreiche Vesikel verschmelzen miteinander, wobei sie „aufklappen“ und eine Membran von der Dicke der Elementarmembran ergeben, deren Moleküle sich an die offenen Stellen der Oocytenmembran anschließen.

Die Zellmembran wächst in den jüngeren Entwicklungsphasen der Oocyte wohl vorwiegend durch Einlagerung granulär-fädiger Strukturelemente. Die Zahl der Vesikel in der Nähe der Oocytenmembran ist jedenfalls ganz gering. Wenn die Eizelle jedoch in die Phase des intensiven Wachstums kommt (Stadium II), sind unter der Zellmembran zahlreiche langgestreckte Membranen nachweisbar, die sich parallel zur Zelloberfläche ausrichten und in Vesikel zerfallen (Abb. 3). Diese Vesikel werden in die Zellmembran eingebaut und ermöglichen so das besonders schnelle Wachstum während dieser Phase.

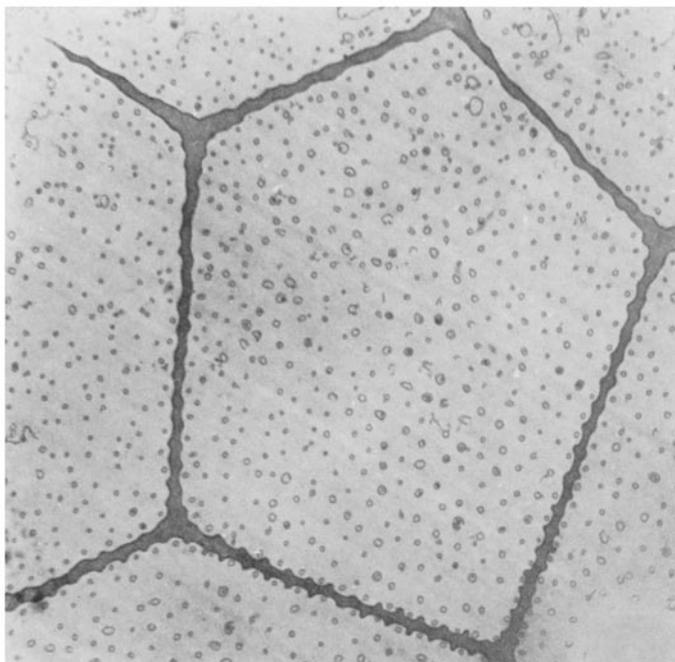


Abb. 5: Leistenförmige Erhebungen des Cortex externus an der Oberfläche einer Oocyte von *Callionymus lyra* (Tangentialschnitt). Die fünf- oder sechseckigen Waben bilden ein fast regelmäßiges Muster. Querschnitte der Mikro- und Makrovilli in den nicht erhöhten Bereichen. (6435 : 1)

Bereits am Ende des Stadiums I bildet die Zellmembran Exkreszenzen, die zu Mikrovilli auswachsen. Diese Mikrovilli sind Ausstülpungen des Cytoplasma, die von der Oocytenmembran umschlossen werden, also unmittelbar zur Zelle gehören. Zwischen ihnen lagert sich – außerhalb der Zellmembran – eine stark osmiophile, in sich zunächst homogene Substanz ab. Damit wird die Zellmembran lichtmikroskopisch deutlich sichtbar (Stadium II). Auf diese Entwicklungsphase bezieht sich die früher gebrauchte Bezeichnung „primäre Oocytenmembran“, die also im Sinne der Lichtmikroskopiker nicht nur die Zellmembran, sondern auch die aufgelagerte homogene Schicht umfaßt. Im Gegensatz dazu sei hier unter „primärer Oocytenmembran (im engeren Sinne)“ nur die Zellmembran verstanden!

Die homogene Substanz bildet bald eine geschlossene Decke auf der Oocyte, durchbrochen nur an den Stellen, wo Mikrovilli austreten (Abb. 4).

Der weitere Aufbau der Hüllschichten ist artgebunden verschieden. Im einfachsten Fall (z. B. bei *Callionymus lyra*) verstärkt sich die homogene Schicht und differenziert sich schließlich in zwei Zonen: eine innere, dichtere und eine äußere, hellere. Da die Schicht als Cortex radiatus aufzufassen ist (GÖTTING 1964), bezeichnet man die beiden Zonen am besten als Cortex radiatus externus und Cortex radiatus internus. Bei den *Callionymus*-Arten wird der Cortex radiatus externus in regelmäßigen Abständen leistenartig verstärkt, so daß fünf- oder sechseckige „Waben“ an der Eioberfläche ent-

stehen (Abb. 5), die auch lichtmikroskopisch sichtbar sind. Bei *Callionymus lyra* beträgt der Abstand der Leisten 11–12  $\mu$ . Auf dem Tangentialschnitt erkennt man in der Fläche zwischen den Leisten die Querschnitte der Mikrovilli der Oocyte und der Makrovilli der Follikelzellen.

Etwas anders verläuft die Bildung der Hüllschichten bei Gadiden (*Merlangius merlangus*, *Micromesistius poutassou*), Cottiden (*Myoxocephalus scorpius*) und Agoniden (*Agonus cataphractus*). Für reifende Oocyten von *Agonus* ist das bereits früher

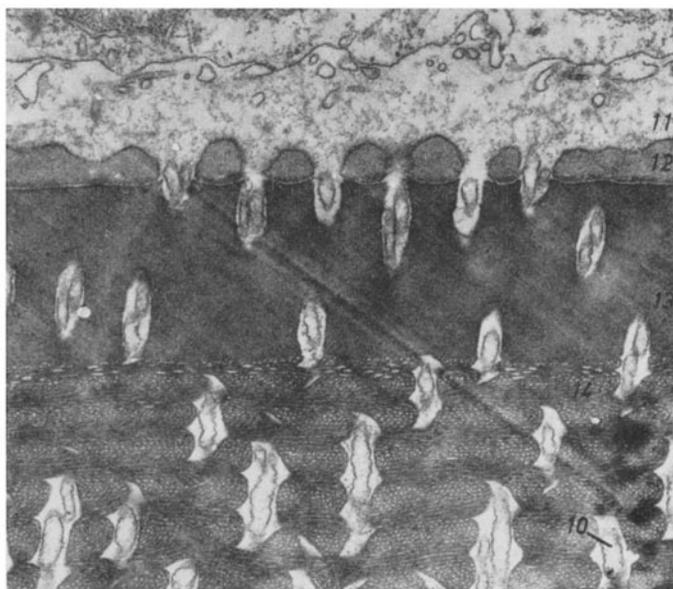


Abb. 6: Corticalschichten einer Oocyte von *Merlangius merlangus*. Unten Fibrillenbündel, die sich aus dem homogenen Material des Cortex internus differenziert haben; als äußerer Abschluß die hellere, homogene Zone des Cortex externus. Alle Schichten durchsetzt von Radialkanälen, die hier schräg angeschnitten sind, mit Zellfortsätzen. (13 500 : 1)

beschrieben worden (GÖTTING 1965). Allerdings konnte damals noch nichts über die Herkunft und die Lagebeziehungen der Bündel ausgesagt werden, die innerhalb der homogenen Außenschichten der Rinde auftauchten. Aus der homogenen Schicht differenzieren sich Schläuche (Abb. 6), die in charakteristischer Weise zu Bündeln zusammengefaßt sind. Diese Strukturen sind eindeutig Abkömmlinge des Cortex radiatus internus, mit dem sie übergangslos verbunden sind. Sie liegen, wie der Cortex, außerhalb der Oocytenmembran, und auch sie werden von Kanälen durchsetzt, in denen Mikro- und Makrovilli verlaufen. Die Bündel springen konvex in das Kanallumen vor. Die Schläuche, aus denen sie sich zusammensetzen, bestehen aus einer Vielzahl feinsten, parallel-laufender Fasern, die sichtbar werden, sobald die Eizelle ablage-reif ist. Die Fasern liegen dann in breiten Strängen in einer kontrastarmen, homogenen Matrix, und diese Stränge stehen in radialer Folge alternierend senkrecht aufeinander.

Die Radialkanäle sind durch die Verquellung des Materials verschwunden. Die äußerste Schicht der Oocyte besteht in gleichmäßiger Breite aus Fibrillen, die im wesentlichen tangential verlaufen und sich zu einer äußersten, schmalen Zone verdichten (Abb. 7), die samtartig aussieht und mit deren Hilfe die Eier wahrscheinlich untereinander und mit dem Substrat verkleben. Zusätzlich werden sie noch durch den verhärteten Schleim zusammengekittet, der bei der Ablage im Ovarlumen und in den weiblichen Ausführungsgängen gebildet wird.

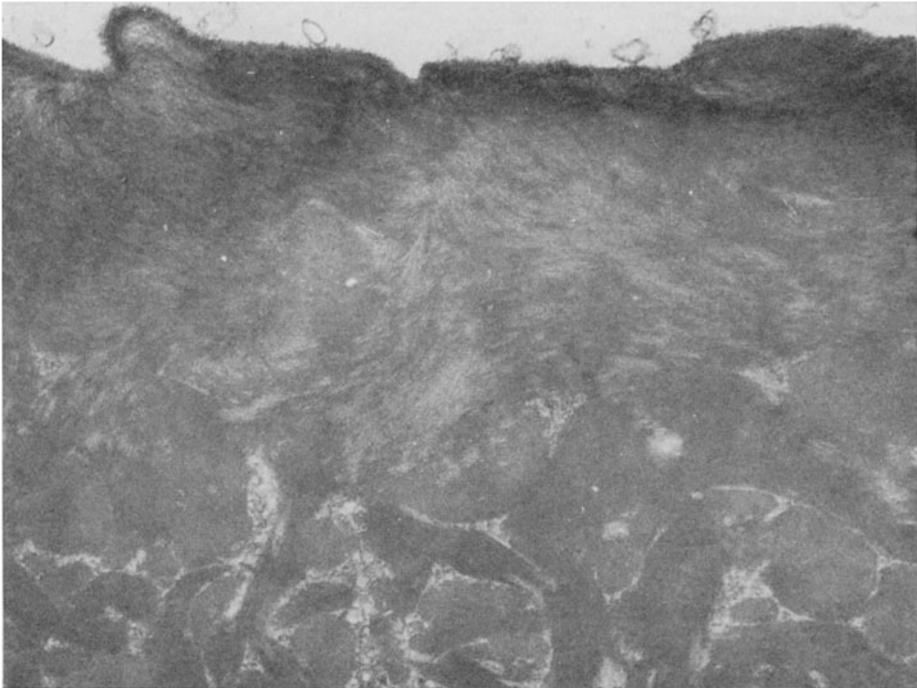


Abb. 7: Äußerer Abschluß der Eirinde aus im wesentlichen tangential verlaufenden Fibrillenbündeln. (*Myoxocephalus scorpius*; 26 400 : 1)

Was bisher in der Literatur über den Bau der Eihülle der Fische beschrieben wurde, ist in früheren Arbeiten (GÖTTING 1964, 1965) besprochen worden. Daher sollen hier nur noch ergänzende Hinweise gebracht werden.

Nach MÜLLER (1962) erscheint bei *Cynolebias belotti* (Cyprinodontidae) im Stadium II an der Oocytenoberfläche basal zwischen den Mikrovilli wenig durchstrahlbare, homogene Substanz, die an Masse zunimmt. Innerhalb (?) der primären Oocytenmembran treten dann bündelartige Komplexe schlauchförmiger Elemente auf, die die Mikrovilli zum Teil umgreifen. Drei Schichten solcher Bündel werden radial übereinandergelegt. MÜLLER & STERBA (1963) geben an, daß sich dann im Stadium III in der Corticalschicht ein Netzwerk von Hohlräumen entwickelt. Homogene Schicht und Corticalschicht werden von Radialkanälen durchsetzt. FLÜGEL (1964a, 1964c) fand bei *Salvelinus fontinalis* und *Salmo gairdneri* eine *Zona radiata*, die aus zwei Schichten

besteht, von denen allerdings die innere weniger dicht sein soll als die äußere. Die Zona besteht aus tangential angeordneten Lamellen und wird von zahlreichen Kanälen durchsetzt. In jedem Kanal verlaufen ein Mikrovillus der Oocyte und ein oder zwei Fortsätze der Follikelzellen. Die Fortsätze werden mit fortschreitender Entwicklung zurückgezogen, die Kanalwände werden dicker und schließen das Lumen. Bei abgelaichten und befruchteten Eiern ist die Zona radiata kompakt. YAMAMOTO (1963) deutet an, daß bei *Pungitius tymensis* die homogene Schicht etwas mit der Bildung der Eirinde zu tun habe. Diese Eirinde soll zweischichtig sein. Ihre radiäre Streifung verschwindet nach der Eiablage.

Die homogene Substanz besteht zunächst nur aus Polysacchariden, die Corticalschicht aus Proteinen (Pseudokeratin) (ARNDT 1960b). Das stimmt weitgehend überein mit den Ergebnissen von WARTENBERG (1962) an Amphibien-Oocyten, bei denen die Zona radiata aus neutralen Mucopolysacchariden und mit Trypsin und Chymotrypsin angreifbaren Eiweißstoffen aufgebaut ist. STAHL & LERAY (1961) beschreiben bei *Mugil* die „membrane limitante“ (= dunkle, homogene Substanz) als PAS-positiv.

Die Bezeichnung Cortex radiatus ist also nur gerechtfertigt für die reifende Oocyte, nicht für die reife, bei der die Kanäle geschlossen werden. Der Ausdruck Zona radiata sollte vermieden werden.

Allgemein besteht die Rinde der Teleosteer-Eier aus zwei Schichten, die sich bei einigen Arten weiter differenzieren können. Auf der äußeren Schicht können Oberflächenmuster entstehen (z. B. „Waben“ bei *Callionymus*), die innere Schicht kann zur Oocyte hin Bündel feinsten fibrillärer Elemente abgeben.

#### Kernhülle und Membransäckchen

Der Charakter der Kernhülle als einer mehrschichtigen Struktur ist zuerst an Amphibien-Oocyten erkannt worden (CALLAN & TOMLIN 1950). Inzwischen hat eine Fülle von Untersuchungen gezeigt, daß die Kernhülle aus einer äußeren und einer inneren Elementarmembran besteht, die zwischen sich die „perinucleäre Zisterne“ einschließen (WATSON 1955).

Form und Entstehung der Kernhülle geben Anlaß, diese Grenzschicht zwischen Cyto- und Caryoplasma nicht als Bestandteil des Kernes, sondern als zum cytoplasmatischen Bereich gehörig aufzufassen (WATSON 1955, KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN 1964). Bei Beginn der Mitose löst sich die Kernhülle auf, wobei sie Vesikel bildet, die sich nicht von den Vesikeln des endoplasmatischen Reticulum unterscheiden. In der späten Ana- und in der Telophase entsteht sie neu aus verschmelzenden Vesikeln. Dazu kommt, daß im Interphasekern in vielen Fällen eine unmittelbare Verbindung zwischen der perinucleären Zisterne und den Zisternen des endoplasmatischen Reticulum nachgewiesen wurde (WATSON 1955, PARKS 1962, GALL 1964). Ferner finden sich in manchen Zelltypen Lamellen („annulate lamellae“ nach SWIFT 1956, „periodic lamellae“ nach REBHUN 1956), die sich im Bau nicht von der Kernhülle unterscheiden. Alle diese Gründe sprechen dafür, die Kernhülle als Differenzierung des Cytoplasma aufzufassen.

Die Kernhülle hat weitgehend einheitlichen Bau bei den verschiedensten unter-

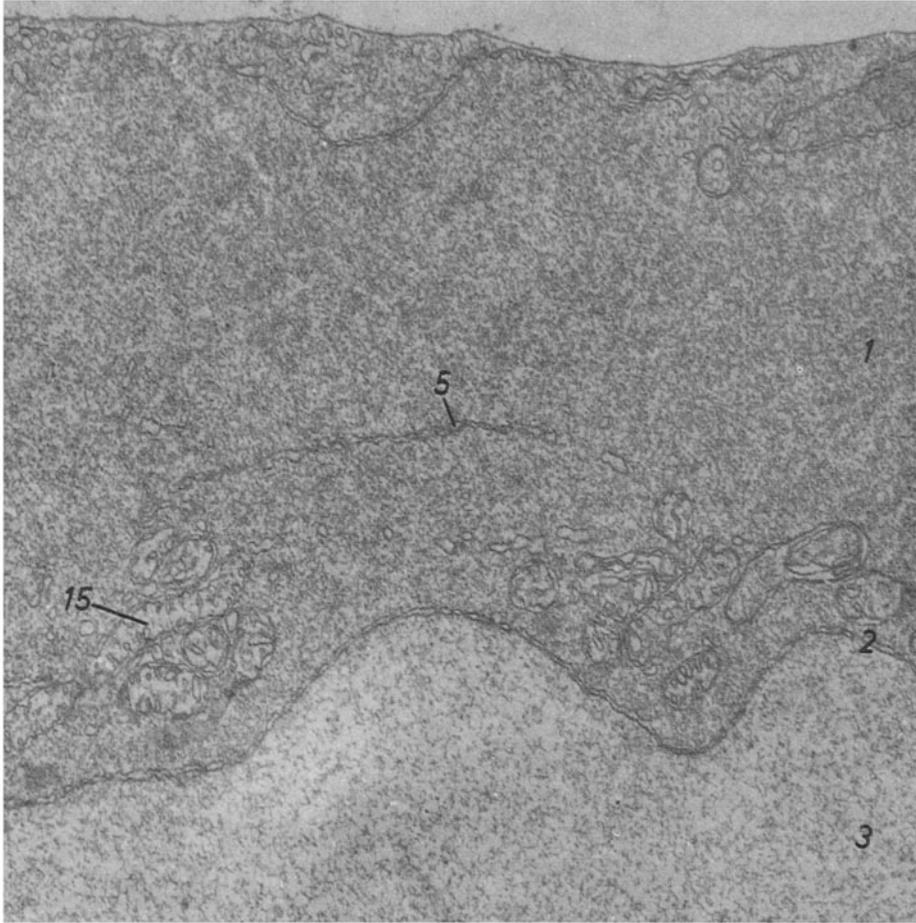


Abb. 8: Junge Oocyte mit zweischichtiger Kernhülle, durchbrochen von Poren. Mitochondrien und Membransäckchen im kernnahen Plasma, Membransäckchen auch unter der Zellmembran. (*Pleuronectes platessa*; 25 500 : 1)

suchten Objekten, und auch die Abmessungen stimmen auffallend überein. Jede der beiden Elementarmembranen ist 80–100 Å dick, und zwischen ihnen liegt ein Raum von 100–300 Å Breite (WARTENBERG & STEGNER 1960, GALL 1964, BEAMS 1964). In Abhängigkeit vom Funktionszustand wechselt die Form der Kernhülle. Sie umgibt den Kern nicht immer als geschlossene Grenzschicht, sondern ist in vielen Fällen von Poren oder von Annuli durchbrochen. Der Durchmesser der Poren schwankt zwischen 300 und 1000 Å. Beim Frosch wurde nachgewiesen (GALL 1964), daß 25–35 Poren auf einem  $\mu^2$  Kernoberfläche angeordnet sein können, damit etwa 25 % der Fläche einnehmen. An den Porenrändern gehen die Elementarmembranen der Innen- und der Außenseite ineinander über. Strittig ist die Frage, ob die Poren offen oder durch ein Diaphragma verschlossen sind. Nach FELDHERR & HARDING (1964) können kolloidale

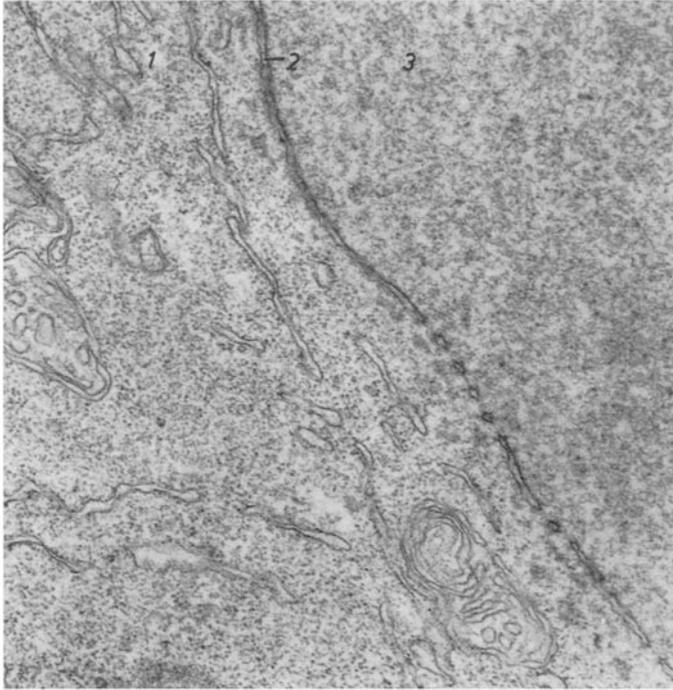


Abb. 9: Kernhülle mit Poren, im Cytoplasma zahlreiche Membranen und Schlauchsysteme des endoplasmatischen Reticulum. (*Merlangius merlangus*; 40 500 : 1)

Partikel bis zu einem Durchmesser von 125–145 Å in den Kern eindringen, was dafür spricht, daß die Poren wenigstens im Zentrum offen sind. Gelegentlich wurden zylindrische Annuli beschrieben (GALL 1964, SCHNEIDER 1964). Der in das Cytoplasma ragende Teil des Annulus ist für gewöhnlich etwas kürzer als der im Caryoplasma befindliche. Nach AFZELIUS (1955) wird die lichte Weite des Annulus durch die Kernhülle eingengt, wobei unklar ist, ob an dieser engsten Stelle ein Diaphragma den Zylinder teilt. WISCHNITZER (1958) gibt an, daß die Kernhülle den Annulus nur berührt, ihn aber nicht einschnürt, während WATSON (1955, 1959) keinen „Annulus“ fand, sondern einen zylindrischen Strang von elektronenoptisch dichterem Material, der im Porus steckt.

Die Kernhülle der Teleosteer-Oocyte zeigt deutlich den Aufbau aus einer inneren und einer äußeren Lamelle und dem dazwischenliegenden perinucleären Raum (Abb. 8). Sie ist bereits in den jungen Oocyten (Stadium I) von Poren durchbrochen. In den Poren ist zwar besonders viel osmiophile Substanz enthalten, ein Diaphragma war jedoch nicht festzustellen. Gelegentlich sind die Porenränder angeschnitten, so daß der Eindruck entsteht, es sei eine Trennwand vorhanden (Abb. 9). Als Beispiel für die Abmessungen der Poren seien die Maße gegeben, wie sie in einer älteren Oocyte von *Myoxocephalus* festgestellt wurden: der Innendurchmesser etwa 600 Å, der große Durchmesser etwa 1100 Å. Die Kernhülle bildet also noch eine Randzone um den Porus, in der der Abstand von innerer zu äußerer Lamelle abnimmt. Dadurch sehen die

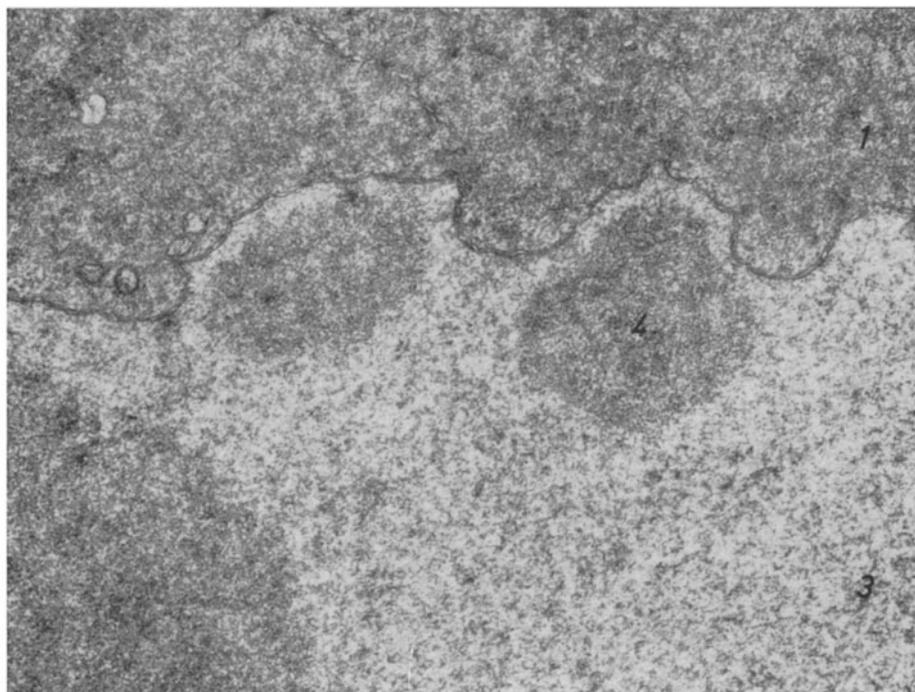


Abb. 10: Kleine Nucleoli in Vorsprüngen des Kernes; benachbarte Cytoplasmagebiete besonders reich an osmiophiler Substanz. (*Callionymus lyra*; 22 800 : 1)

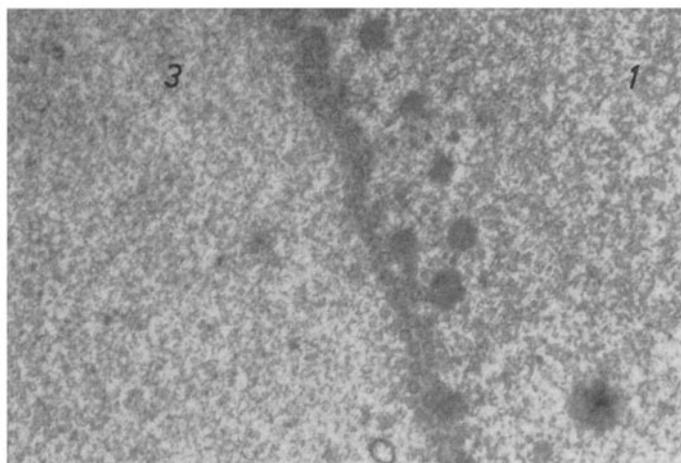


Abb. 11: Kernhülle mit quergeschnittenen Annuli, in deren Zentrum in vielen Fällen der punktförmige Querschnitt dichten Materials zu erkennen ist. Osmiophiles Material auch vor der Kernhülle im Cytoplasma. (*Merlangius merlangus*; 18 000 : 1)

Poren auf einem tangential durch die Hülle geführten Schnitt hoftüpfelartig aus. In ihnen ist osmiophile Substanz angereichert, wodurch sie sich besonders deutlich abheben.

Der Umriss des Kernes jüngster Oocyten ist glatt. Sehr bald vergrößert die Kernhülle ihre Oberfläche dadurch, daß sie sich wellt (Abb. 10). Während das Kernvolumen beim weiteren Wachstum immer mehr hinter dem Oocytenvolumen zurückbleibt, treibt der Kern immer größere Ausbuchtungen in das Cytoplasma vor. Die Ausbuchtungen liegen vor allem an den Stellen, denen kernseitig ein Nucleolus benachbart ist. Der Nucleolus tritt bei jüngeren Oocyten oft, bei den mittleren regelmäßig in eine Nische des Kernes ein (Abb. 10), wobei sich die Kernhülle und die ihr zugewandte Seite des Nucleolus in der Form einander angleichen und damit besonders eindrucksvoll die Dynamik und Aktivität von Nucleolus und Kernhülle in dieser Phase der Entwicklung demonstrieren.

Annulusartige Strukturen waren selten zu beobachten. Offenbar sind sie nur in einem bestimmten, kurzfristigen Stadium vorhanden. Die zylindrischen oder konischen (und dann wahrscheinlich schräg angeschnittenen) Röhren stecken in der Kernhülle, ohne von ihr eingeeengt zu werden. Es scheint sich weniger um Differenzierungen der Kernhülle, als vielmehr um Materialverdichtungen spezifischen Aussehens zu handeln. Strangförmige, dichte Substanz ist in den Poren in vielen Fällen zu beobachten. Im Zentrum einiger quergeschnittener Annuli liegt eine (im Querschnitt) punktförmige Verdichtung, ein Strang also, der sich vom Caryo- in das Cytoplasma erstreckt (Abb. 11). Da vor der Kernhülle kugelige Komplexe von RNS liegen, die sich durch Zufuhr von Substanz aus dem Kern gebildet haben, handelt es sich bei dem kräftig kontrastierenden Material in Porus und Annulus wahrscheinlich ebenfalls um RNS. Damit wird gleichzeitig der hinsichtlich Form und Zahl der Poren wechselnde Zustand der Kernhülle erklärlich: Vor Beginn der starken Substanzauswanderung aus dem Kern relativ wenige und kleine Poren, glatte Kernoberfläche; während der Extrusion viele große Poren, gewellte Kernoberfläche; in den reifen Oocyten Verringerung der Porengröße.

Die beiden Elementarmembranen der Kernhülle verlaufen bei jungen Oocyten mit gleichbleibendem Abstand (mit Ausnahme der Stellen an den Porenrändern). Mit dem Beginn der verstärkten Wachstumsintensität und der Zunahme der Porenzahl buchten sich die Elementarmembranen aus. Besonders die äußere bildet Ausstülpungen, die sich zu Vesikeln abschnüren und in das Cytoplasma abwandern. Sehr viel seltener entstehen Vesikel an der inneren Elementarmembran, die dann im Kernplasma liegen.

Vesikel werden in großer Zahl während der Phase des intensiven Wachstums in das Cytoplasma abgegeben. Die Vesikulation geht in Schüben vor sich. Dadurch liegen Reihen von Vesikeln in nahezu gleicher Entfernung von der Kernhülle. In enger Nachbarschaft und unter Beteiligung blasenförmiger Abkömmlinge von Mitochondrien schließen sich die Vesikelreihen zu langgestreckten Membransäckchen. Diese Membransäckchen („annulate lamellae“) liegen parallel zur Kernhülle und sind dieser im Aussehen so ähnlich, daß sie – aus dem Zusammenhang gelöst – nicht voneinander zu unterscheiden wären.

Die Membransäckchen wandern nach außen ab. Unterstützt wird dieser Vorgang dadurch, daß sich die Mitochondrien stark vermehren und zwischen ihnen die Dotter-

bildung einsetzt. Diese Dotterbildungszentren sind peripher von Membransäckchen umgeben, so daß ein weitgehend gegen das übrige Cytoplasma abgeschlossener Raum entsteht. Die „annulate lamellae“ erreichen schließlich die äußerste Plasmazone. Sie liegen parallel zur Oocytenmembran und zerfallen in Vesikel (Abb. 2), die in die Oocytenmembran eingebaut werden.

Die Membransäckchen erfüllen zumindest zwei Aufgaben. Sie führen der Zellmembran Einbaumaterial zu. Das könnte freilich auch in Form einzelner Vesikel geschehen. Die Bildung langgestreckter Doppellamellen wird vorläufig nur durch die Annahme erklärbar, daß auf diese Weise innerhalb der Zelle stoffwechsel-physiologisch mehr oder weniger isolierte Räume geschaffen werden.

### Das endoplasmatische Reticulum

Das endoplasmatische Reticulum bildet ein System verzweigter Räume, die durch eine Elementarmembran gegen das Cytoplasma abgegrenzt werden. Zum endoplasmatischen Reticulum gerechnet wird hier auch die als Ergastoplasma bezeichnete „rauhe“ Form („rough-surfaced“, PALADE 1955), bei der den Außenseiten der Elementarmembranen Ribosomen von 100–150 Å Durchmesser angelagert sind. Dieses Ergastoplasma tritt vor allem in eiweißsezernierenden Drüsenzellen auf, während die glatte Form, das endoplasmatische Reticulum im engeren Sinne, in allen tierischen Zellen vorkommt.

Das endoplasmatische Reticulum steht in engem morphologischem und funktionellem Zusammenhang mit der Kernhülle. Wahrscheinlich vermittelt es Stoffaustauschvorgänge über die perinucleäre Zisterne mit dem Kern (WATSON 1955). Der morphologische Zusammenhang liegt wohl in der Genese des Systems begründet. Die im letzten Abschnitt dargestellte Ausbuchtung der äußeren Kernmembran und die Abschnürung von Vesikeln führen nach BEAMS & KESSEL (1963) in den Oocyten von *Cambarus* dazu, daß aus den Vesikeln die Bausteine des endoplasmatischen Reticulum entstehen. Die abgelösten Membranen wandern zu Schichten zusammen, die wiederum lamelläre Bündel bilden können. Lösen sich die Membranen nur teilweise von der Kernhülle, so wäre damit die Kontinuität der Räume des endoplasmatischen Reticulum mit der perinucleären Zisterne ohne weiteres gegeben.

Die Membranbündel werden erst in der reifen Oocyte desorganisiert, dann nämlich, wenn die Bildung großer Dottermengen einsetzt. Granulohaltige Zisternen bleiben aber auch in den letzten Stadien der Oocyten-Entwicklung nachweisbar. BEAMS & KESSEL (1963) kommen zu dem Ergebnis, daß die Bildung des Dotters in den Eizellen der Krebse allein vom endoplasmatischen Reticulum ausgeht und daß weder Mitochondrien noch Golgi-Material daran beteiligt sind, wie das für die Dotterentstehung in Gastropoden-Oocyten beschrieben wurde (FAVARD & CARASSO 1958).

Über den Zusammenhang des endoplasmatischen Reticulum in sich besteht noch Unklarheit. Das elektronenmikroskopische Bild gibt nur einen zweidimensionalen Aspekt. Auf dem Wege über das Anfertigen von Serienschnitten und Rekonstruktion kann man zu einer räumlichen Vorstellung gelangen. In manchen Fällen scheint das Raumsystem kontinuierlich zu sein und, da es sich durch die Zellmembran nach außen öffnet, sogar einen direkten Weg vom Interzellularraum bis in die perinucleäre Zisterne

darzustellen (EPSTEIN 1957). ROBERTSON (1959) hat daher die Lage des Kernes als „extrazellulär“ apostrophiert. Auf der anderen Seite gibt es Befunde, nach denen das endoplasmatische Reticulum aus Teilsystemen besteht, die untereinander nicht verbunden sind (PORTER 1961).

Die Funktion des endoplasmatischen Reticulum ist bei KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN (1964) ausführlich diskutiert worden, so daß hier ein kurzer Hinweis genügen möge. Durch die Membranen des endoplasmatischen Reticulum werden zwei

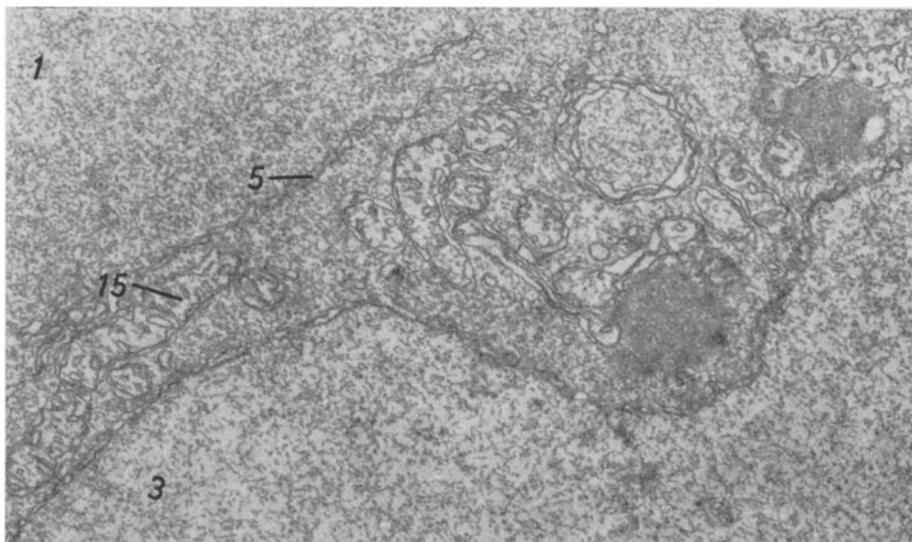


Abb. 12: Membransäckchen und Dotterbildung zwischen Mitochondrien in Kernnähe. (*Pleuronectes platessa*; 25 800 : 1)

Plasmaräume voneinander getrennt – Grundplasma und Reticuloplasma (RUSKA 1962). In diesen Räumen können unabhängige Stoffwechselprozesse ablaufen. Die Membranen bilden gleichzeitig große Reaktionsoberflächen für Austauschvorgänge. Das Raumsystem dient wahrscheinlich auch dem Stofftransport innerhalb der Zelle und stellt – neben den Poren der Kernhülle – einen Weg dar, über den ein Austausch mit dem Kern erfolgen kann. Während PORTER (1961) die Möglichkeit andeutet, daß das endoplasmatische Reticulum auch als Zellskelett fungiert, weisen KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN auf die hohe Dynamik dieses Systems hin (vgl. SCHNEIDER 1964).

Das endoplasmatische Reticulum der Teleosteer-Oocyten ist zunächst schwach ausgebildet. In jungen Eizellen besteht es aus einer Reihe verstreut im Plasma liegender Vesikel und länglicher Zisternen. Dann setzt mit beginnendem Wachstum die Abschnürung von Vesikeln von der Kernhülle ein, wie bereits beschrieben wurde. Diese Vesikel formieren sich zunächst zu den Membransäckchen, die nach außen abwandern und dabei vorübergehend vom übrigen Cytoplasma Räume absondern, in denen unter Beteiligung von Mitochondrien Dotter gebildet wird. Bemerkenswert ist, daß die Mitochondrien in hohem Maße Membranen liefern (Abb. 12). Membranpakete des endoplas-

matischen Reticulum und sich gerade umformende Mitochondrien sind oft nicht zu unterscheiden. So füllt sich das kernnahe Plasma schnell mit teils langgestreckten, teils mehr oder weniger konzentrisch ineinandergepackten Zisternen (Abb. 9). Kurz vor und

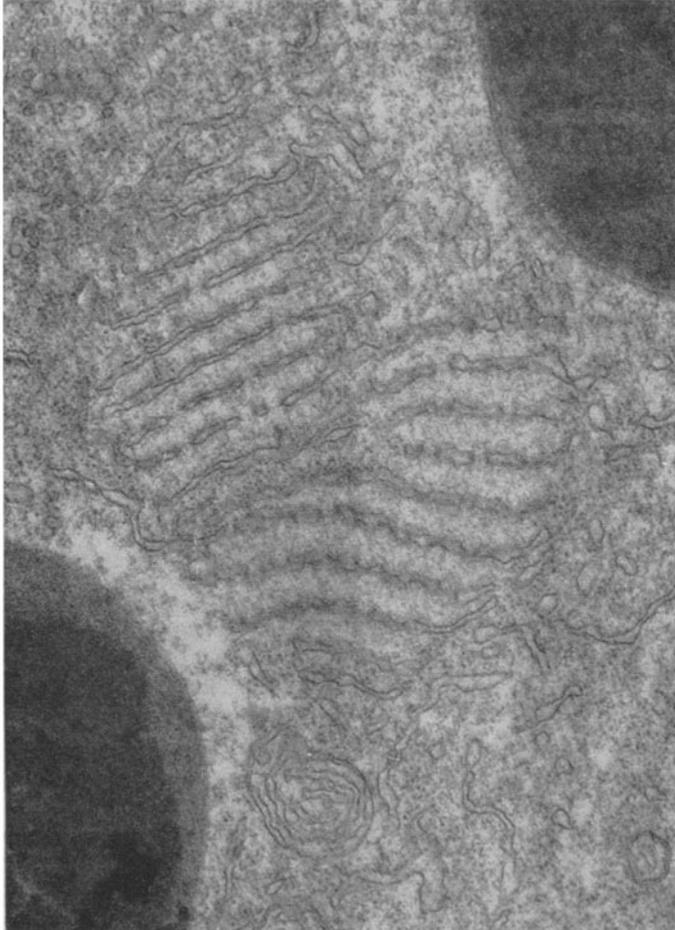


Abb. 13: Geordnete Membransysteme im Cytoplasma während der Phase intensiver Dotterbildung. (*Merlangius merlangus*; 33 075 : 1)

während der intensiven Dotterbildung ist das Cytoplasma von unzähligen membranumschlossenen Räumen erfüllt, die zum Teil hoch geordnet sind (Abb. 13). Sobald die Dotterbildung abgeschlossen ist, lösen sich die Membranen auf. Ein Teil geht dabei in Hüllschichten über, die mehrere Dotterelemente in einem Dotterkomplex vereinigen. Während die konzentrischen Membransysteme bis auf einige wenige verschwinden, bleiben langgestreckte Zisternen auch in der reifen Oocyte erhalten.

In allen bisher besprochenen Fällen handelt es sich um die glatte Form des endo-

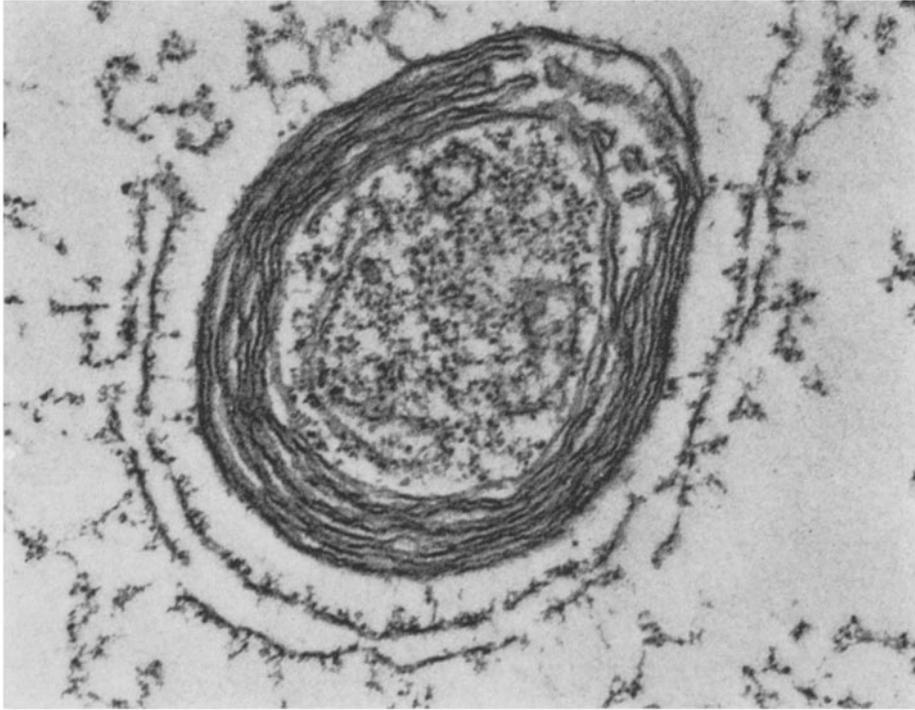


Abb. 14: Vielschichtig-membranöser Körper, umgeben von ergastoplasmatischen Membranen, in einer fast reifen Oocyte von *Callionymus lyra*. (24 000 : 1)



Abb. 15: Cytoplasma einer fast reifen Oocyte mit zahlreichen langgestreckten, sich zum Teil verzweigenden Mitochondrien. (*Callionymus lyra*; 18 000 : 1)

plasmatischen Reticulum. Ergastoplasma, typisch für die Zellen des Follikel epithels, ist in der Oocyte selten. Es ist erst in den älteren Eizellen nachweisbar und dann im peripheren Plasma, meist in unmittelbarer Nachbarschaft von konzentrischen Membrankörpern, die es einhüllt (Abb. 14, 15). In diesen Körpern entsteht granuläres Material, so daß man auf eine funktionelle Beziehung zum Ergastoplasma schließen kann.

Über die Bedeutung des endoplasmatischen Reticulum in der Teleosteer-Oocyte läßt sich zusammenfassend sagen, daß es in wesentlichem Maße an der Bildung des Dotters beteiligt ist, der im peripheren Plasma entsteht und daß Anteile des endoplasmatischen Reticulum der Abgrenzung bestimmter Räume in Kernnähe dienen, in denen Dotter unter Beteiligung von Mitochondrien aufgebaut wird.

#### Mitochondrien (mit Hinweis auf Dotterbildung)

Mitochondrien sind mit wenigen Ausnahmen (anaerob lebende Parasiten, OSADA 1959) in allen Zellen anzutreffen; in Oocyten sind sie oft das beherrschende Element im Cytoplasma. So vielgestaltig ihre Form im einzelnen ist, in den Grundzügen ihres Baues herrscht weitgehende Übereinstimmung (KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN 1964). Eine innere und eine äußere Elementarmembran schließen das innere und das äußere Chondrioplasma vom Cytoplasma ab. Die innere Membran trägt Ausstülpungen in das innere Chondrioplasma in Form von Septen (Cristae mitochondriales) oder Schläuchen (Tubuli mitochondriales). Das Auftreten von Cristae oder Tubuli ist offenbar funktionell bedingt. Auch konzentrische Schichten können im Innern liegen (NOVIKOFF 1961). Die Membranen sind nicht immer geschlossen, es können dauernd oder vorübergehend offene Verbindungswege in das Cytoplasma bestehen (CHANDRA 1962, PETRY & KÜHNEL 1965).

Phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen an lebenden Zellen in Gewebekultur haben die Dynamik und Variabilität der Mitochondrien gezeigt (WEISSENFELS 1958a, b). Durch die Beweglichkeit wird der Kontakt zum Substrat besser. Besonders zahlreich sind Mitochondrien in Zellen mit hoher dynamischer Leistung (VOGELL 1963). Wandert Nucleolarmaterial in das Cytoplasma aus, dann findet man die Mitochondrien häufig in Kernnähe und in innigem Kontakt mit der Kernhülle (NOVIKOFF 1961). Mitochondrien entstehen entweder aus Mitochondrien oder „de novo“ über Promitochondrien aus membranumschlossenen Bläschen (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1957b).

Die Mitochondrien sind die Träger der Zellatmung. Im inneren Membransystem finden sich osmiophile Linien, die aus „Elementarpartikeln“ von 80–100 Å Durchmesser zusammengesetzt sind. Die Elementarpartikel liegen zu beiden Seiten einer weniger osmiophilen Zwischenschicht, sie enthalten Substrukturen von 10–20 Å Durchmesser und sind in die Lipoproteide der Mitochondrien-Matrix eingebettet. Die Enzyme der Atmungskette sind in den Elementarpartikeln lokalisiert (FERNÁNDEZ-MORÁN 1962).

Eine besondere Rolle scheinen die Mitochondrien bei der Bildung des Dotters zu spielen. Das Ergebnis von BEAMS & KESSEL (1963), daß der Dotter in den Oocyten einiger Crustaceen im endoplasmatischen Reticulum ohne jegliche Beteiligung von

Golgi-Apparat und Mitochondrien entsteht, ist vorläufig eine Ausnahme. Bei *Planorbis* (FAVARD & CARASSO 1958) gibt es zwei Wege der Dotterbildung: (a) direkt in oder durch Umbildung von Mitochondrien und (b) in cytoplasmatischen Zonen, in denen Mitochondrien und endoplasmatisches Reticulum vorhanden sind. Bei *Boleophthalmus* (Teleostei) wurde in Mitochondrien-Aggregaten Proteid-Dotter nachgewiesen, in den später auch geringe Mengen Neutralfett und Kohlenhydrate eingelagert werden

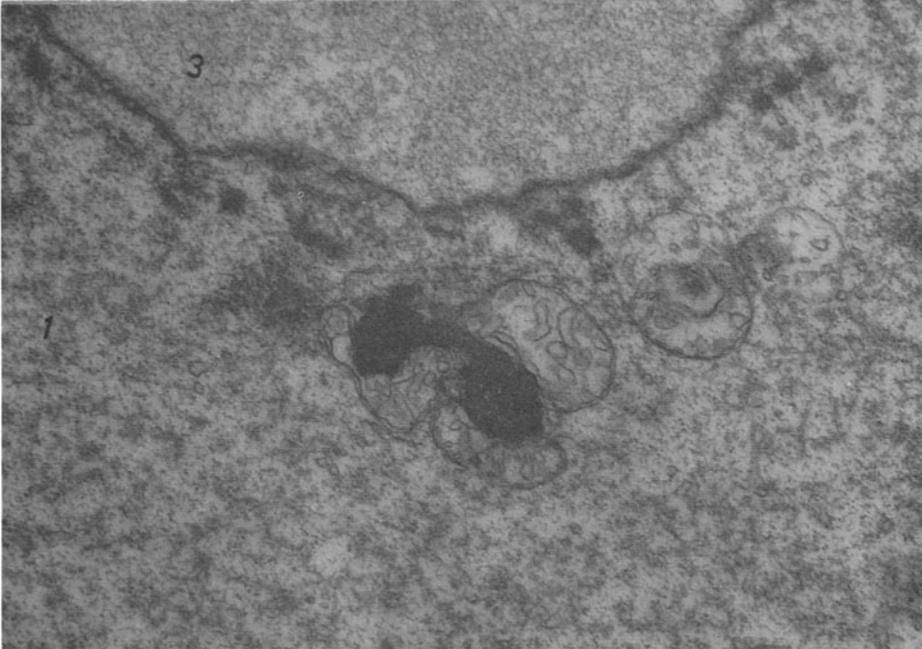


Abb. 16: Junge Oocyte mit osmiophilem Material vor der Kernhülle und zwischen Mitochondrien. (*Merlangius merlangus*; 18 000 : 1)

(CHOPRA 1960). Beim Frosch geht Dotter aus Mitochondrien und „multivesikulären Körpern“ hervor (LANZAVECCHIA 1960). Plattenförmiger, hexagonaler Eiweißdotter und Lipoid-Dotter entstehen in verschiedenen Mitochondrien (WARD 1962). Auch beim Säuger wurden Lipoideinschlüsse in unmittelbarer Nähe von Mitochondrien gefunden (BLANCHETTE 1961).

In den jüngsten Teleosteer-Oocyten sind die Mitochondrien vor allem in Kernnähe zu finden (Abb. 8). Sie sehen blasig aus, da die Innenstrukturen im Verhältnis zum Gesamtvolumen des Mitochondrion wenig Raum einnehmen. Die Form der Innenstrukturen ist sehr variabel. Ganz allgemein kann man sagen, daß es sich um ein Mittelding zwischen Septen und Tubuli handelt. Die Vorsprünge der inneren Membran sind im Dünnschnittbild so verschieden angeordnet, daß sich die Vorstellung hoher Dynamik unwillkürlich aufdrängt. Sie können sich parallel zur Mitochondrienhülle umgruppieren. Das allein wäre nichts Besonderes, sind konzentrisch gebaute Mitochondrien doch schon früher beschrieben worden (NOVIKOFF 1961). Das Be-

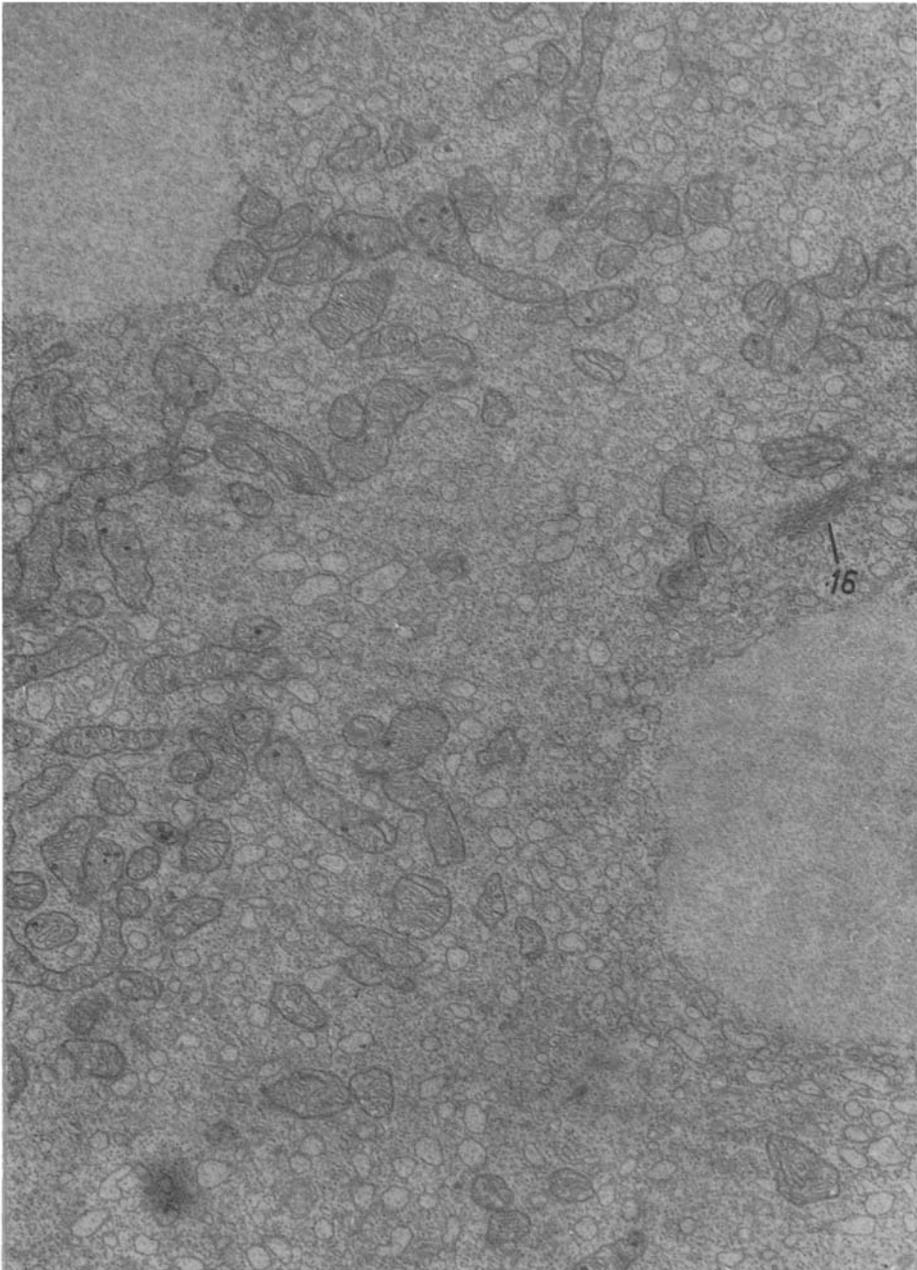


Abb. 17: Mitochondrien, Dalton-Komplex, Ribosomen und Vesikel in einer älteren Oocyte. In einigen Mitochondrien osmiophile Partikel von 500–600 Å Durchmesser. (*Myoxocephalus scorpius*; 21 600 : 1)

merkwürdige ist jedoch, daß zunächst im inneren Chondrioplasma liegende Doppelmembranen sich mit ihren Enden an der Mitochondrien-Hülle festsetzen und mit ihr verschmelzen können, wobei sich der distal von dieser Doppelmembran liegende Teil der Hülle vom Mitochondrion löst. Damit wird also eine Innenstruktur zu einem Abschnitt der Hülle, während das Mitochondrion gleichzeitig ursprüngliche Stücke der Hülle als langgestreckte, schmale Vesikel an das Cytoplasma abgibt. Das bedeutet, daß zunächst äußeres, bei Wiederholung des Vorganges schließlich auch inneres Chondrioplasma – vorerst eingeschlossen in Vesikel – in das Cytoplasma gelangt. Das dürfte ganz wesentlich sein für den Stoffaustausch in der Zelle, vor allem im Hinblick auf die Dotterbildung. Die zweite, überragende Bedeutung dieses Vorganges liegt in der Erzeugung von Membranen. Die von den Mitochondrien abgelösten Vesikel ordnen sich zu den oben beschriebenen Membransäckchen. Inwieweit daran Vesikel anderer Herkunft beteiligt sind, muß noch offenbleiben. Es kann aber nur ein vergleichsweise geringer Prozentsatz sein. Die Mitochondrien liefern also nicht nur, wie NOVIKOFF (1961) feststellt, die Energie für die Neubildung des endoplasmatischen Reticulum, sondern sie liefern auch die Bausteine selbst.

Über die Beziehung der Mitochondrien zur Kernhülle läßt sich nichts weiter sagen, als daß beide gelegentlich sehr dicht und parallel nebeneinanderliegen. Das ist vor allem in den jungen Oocyten der Fall, zu einem Zeitpunkt, an dem Nucleolarkernsubstanz aus dem Kern zunächst in das kernnahe Plasma auswandert (Abb. 16). Die Mitochondrien sammeln diese Substanzen zu größeren Komplexen.

Die Parallelisierung der Innenstrukturen kann so weit gehen, daß es schwer oder unmöglich wird, eine scharfe Grenze zu den konzentrischen Paketen des endoplasmatischen Reticulum zu ziehen (Abb. 9). Es bleiben daneben auch in den älteren Oocyten typische Mitochondrien erhalten (Abb. 15, 17). Sie sind dann nicht mehr so blasig, sondern wesentlich dichter, gestreckter und gelegentlich Y-förmig verzweigt. Vorübergehend treten im inneren Chondrioplasma osmiophile Partikel von 500–600 Å Durchmesser auf, die aus mehreren Grana zusammengesetzt sind (Abb. 17). Ähnliche Elemente wurden von RHODIN (1954) und GONZALES & KARNOVSKY (1961) beobachtet, und sie sollen nach PEACHY (1962) besonders divalente Kationen adsorbieren. Über ihre Aufgabe in den Mitochondrien der Oocyten kann man nichts aussagen. Zentren der Dotterbildung, wie man nach WARDS (1962) Ergebnissen an Eizellen von *Rana* vermuten könnte, stellen sie nicht dar, da sie später wieder verschwinden.

In den älteren Oocyten sind lamelläre, konzentrisch gebaute Körper vorhanden (Abb. 14), die mit großer Wahrscheinlichkeit aus Mitochondrien entstanden sind. Jedenfalls zeigen die Schnitte Bilder, die es nahelegen, sie als Übergangsstadien von Mitochondrien zu solchen lamellären Körpern zu deuten. Diese Strukturen scheinen typisch zu sein für Zellen mit intensivem Stoffwechsel. Sie wurden bisher nachgewiesen für Trypanosoma und die Spermatiden vom Opossum (NOVIKOFF 1961).

Dieses Kapitel kann nicht abgeschlossen werden, ohne auf die Dotterbildung einzugehen. Zwei grundsätzlich verschiedene Möglichkeiten sind in den Fisch-Oocyten festzustellen: (1) die Entstehung im Cytoplasma ohne scharfe Abgrenzung nach außen und (2) die Entstehung innerhalb klar umgrenzter, durch Membranen abgeschlossener Räume.

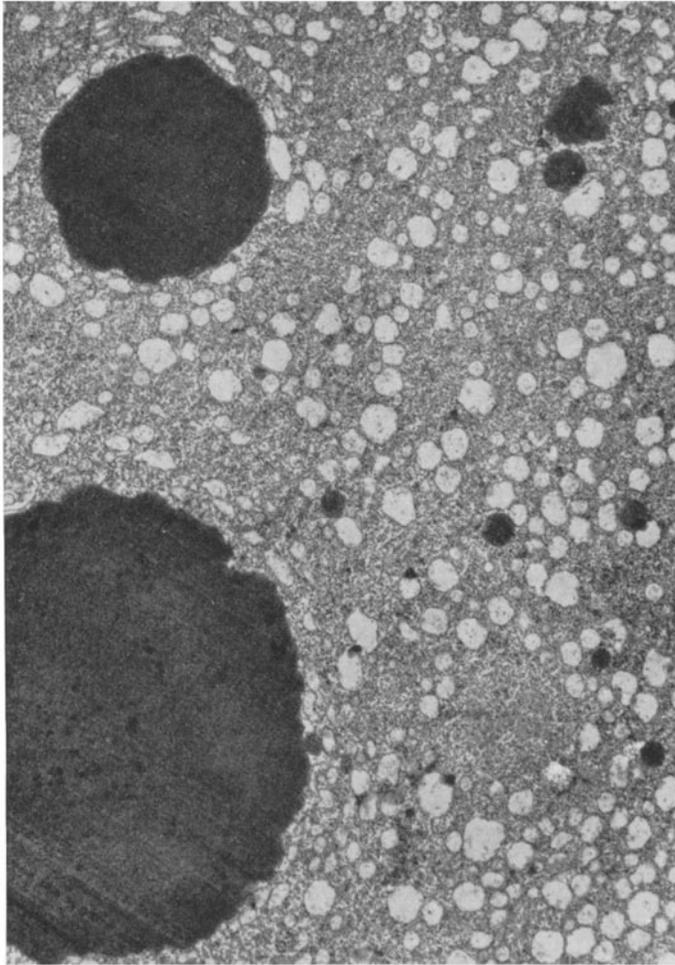


Abb. 18: Ribosomenreiches Cytoplasma mit Vesikeln und Dotterelementen verschiedener Entwicklungsstufen. (*Myoxocephalus scorpius*; 11 040 : 1)

(1) Die ersten Substanzballungen finden sich in jungen Oocyten im kernnahen Plasma. Sie bestehen aus ribonucleoproteidhaltigem Material und sammeln sich zwischen Mitochondrien. Es entstehen so großräumige Bezirke, die dem früher beschriebenen Dotterkern entsprechen (FRANZ 1907). NAYYAR (1964) und GURAYA (1965) kamen zu dem Ergebnis, daß der Dotterkern RNS, Proteine und Kohlenhydrate enthält, jedoch kein Glykogen und keine sauren Mucopolysaccharide. Der Dotterkern wandert in das periphere Plasma und löst sich dort auf. NAYYAR verneint allerdings ausdrücklich, daß der Dotterkern etwas mit den aus dem Kern stammenden Substanzen zu tun habe, glaubt dagegen, daß am Aufbau des Dotterkernes der Golgi-Apparat, die Membransäckchen und weitere Anteile des endoplasmatischen Reticulum beteiligt seien. Bei den von mir untersuchten Oocyten ist das nicht der Fall, der Dotterkern ist einfach

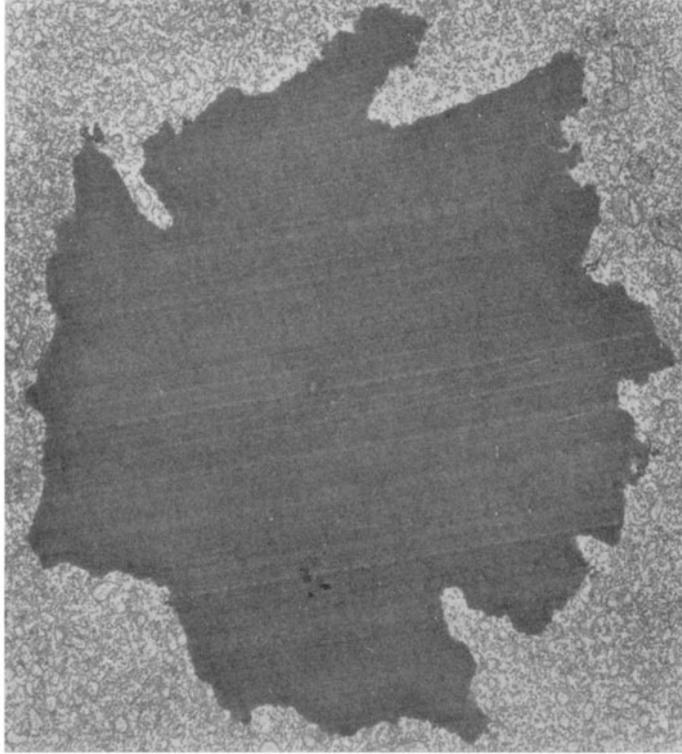


Abb. 19: Lipoid-Dotter in einer fast reifen Oocyte von *Myoxocephalus scorpius*. (12 450 : 1)

granulär ohne weiteren Strukturinhalt. Benachbart liegen allerdings Komplexe von Mitochondrien.

Ohne membranöse Abgrenzung gegen die Umgebung entsteht im peripheren, vesikelerfüllten Plasma eine weitere Form von Dotter, die vor allem Lipoide enthält. Es bilden sich zunächst kleine Materialverdichtungen im Cytoplasma, die zu großen, unregelmäßig gelappten Dottermassen heranwachsen und zusammenfließen (Abb. 18, 19). Dieser Dotter entsteht ohne sichtbare Beziehung zu einem bestimmten Organell.

(2) In der Nähe der Kernhülle werden im Innern homogene, von einer Membran umschlossene Körper angelegt (Abb. 20), die sich zwischen die Membransysteme des nun reichlich vorhandenen endoplasmatischen Reticulum drängen und dabei mit einer vielschichtigen Hülle aus konzentrischen Lamellen versehen werden. In ihnen entstehen eiweißhaltige Grana, die sich zu mehreren Komplexen vereinigen (Abb. 21). Durch Verschmelzen mehrerer solcher Körper bilden sich die großen Eiweißdotterschollen.

In kleineren, nicht lamellär-konzentrischen, aber ebenfalls membranumhüllten Bezirken wird eine weitere Form von Dotter sichtbar in Gestalt vieler kleiner Tröpfchen, die später zusammenfließen. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um Fette. Diese Einschlüsse konnten bisher mit den üblichen histochemischen Methoden nicht identifiziert werden.

In den jungen Oocyten entwickeln sich Vesikel, die von außen nach innen vordringen und dabei miteinander verschmelzen. Sie erfüllen schließlich das Plasma bis auf eine schmale Zone um den Kern. Die Grenze zwischen diesen beiden Plasmaschichten ist ziemlich scharf. Vorwölbungen des Kernes reichen gelegentlich an die äußere, vesikuläre Zone. Die Vesikel wachsen und fließen zu den „Rindenvakuolen“ nach ARNDT (1960a, GÖTTING 1961) zusammen. Sie enthalten Glykoproteide und Polysaccharide. GURAYA (1965) bezeichnet sie als „sudanophobe Vakuolen“, die in erwachsenen Oocyten vor allem saure Mucopolysaccharide enthalten. Diese Rindenvakuolen werden zur Corticalregion hin abgedrängt, die dadurch besonders kohlenhydrathaltig wird (LAHAYE 1961). Die Rindenvakuolen können sehr groß werden (Abb. 22). Sie sind von einer Membran umgeben und von unregelmäßigem Umriß.

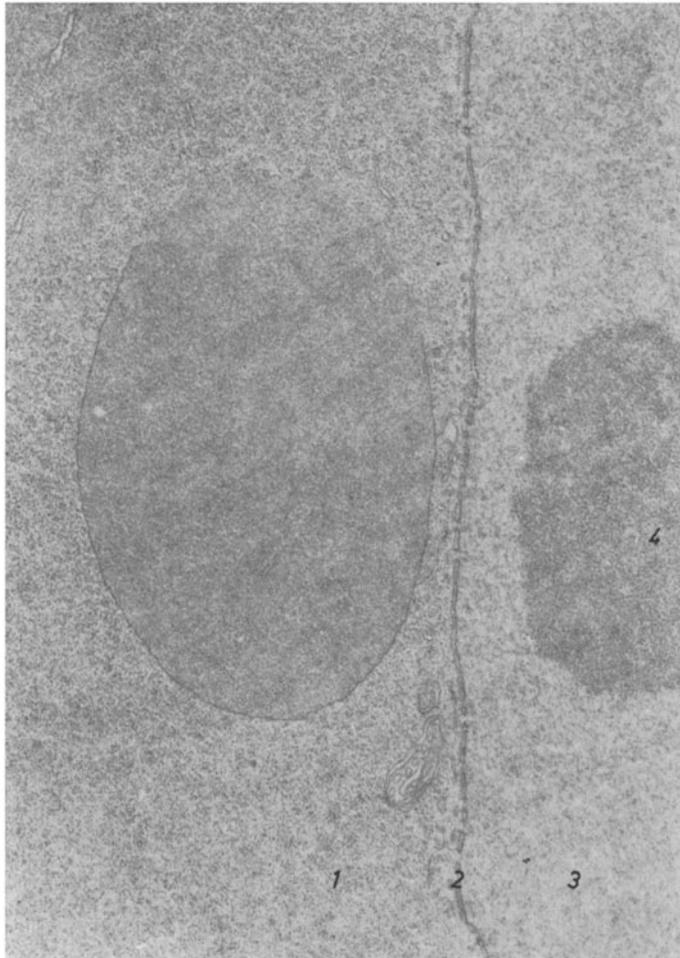


Abb. 20: Membranzumgeschlossener Bezirk in Kernnähe. (*Merlangius merlangus*; 20 025 : 1)

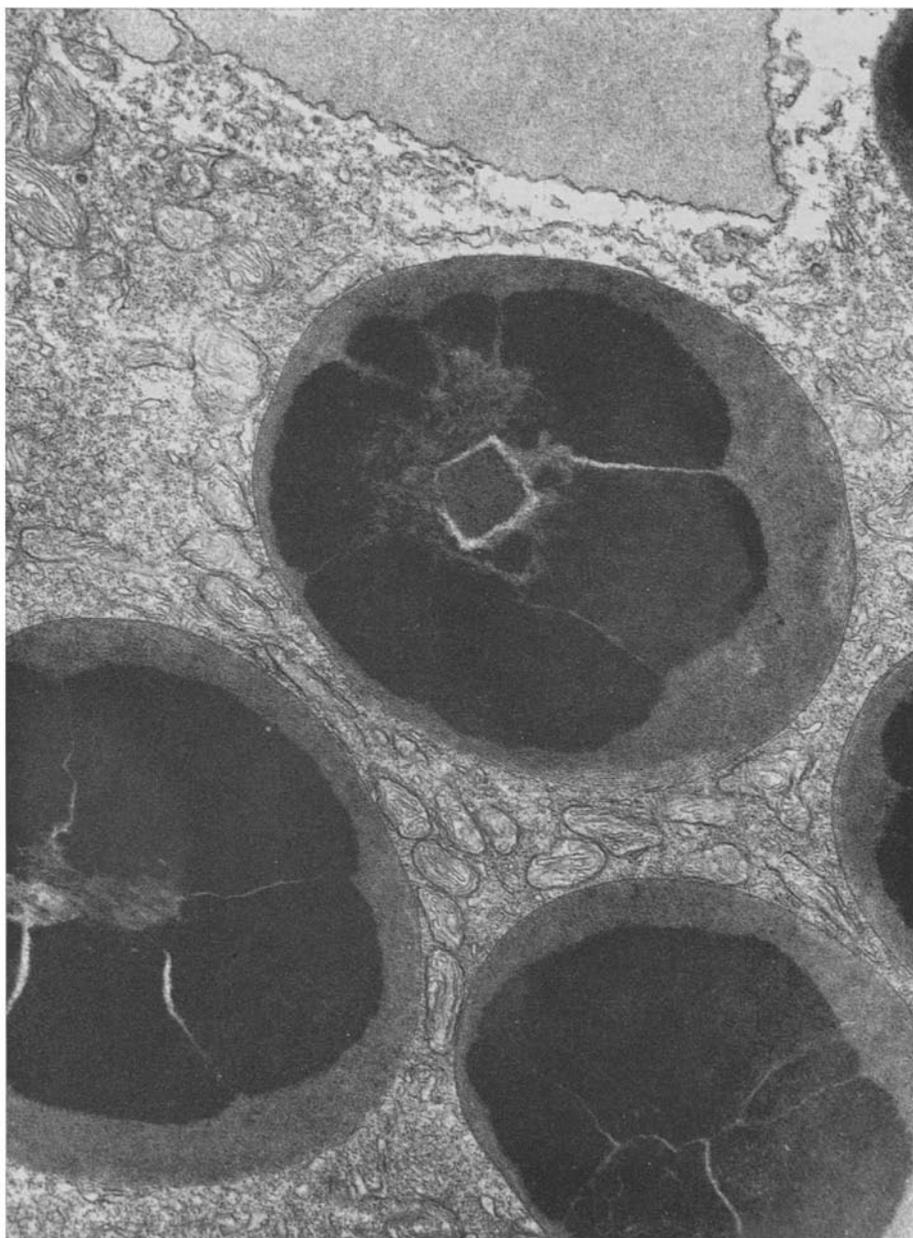


Abb. 21: Dotterschollen in einer fast reifen Oocyte von *Merlangius merlangus*. (18 000 : 1)

In Oocyten von *Agonus* sind die Vakuolen besonders groß. Sie verschmelzen in hoher Anzahl zu ellipsoiden Körpern, die aus zwei Schichten konzentrisch gebaut sind: aus einer inneren, helleren, vielleicht kohlenhydrathaltigen und einer äußeren, lockeren Eiweißschicht.

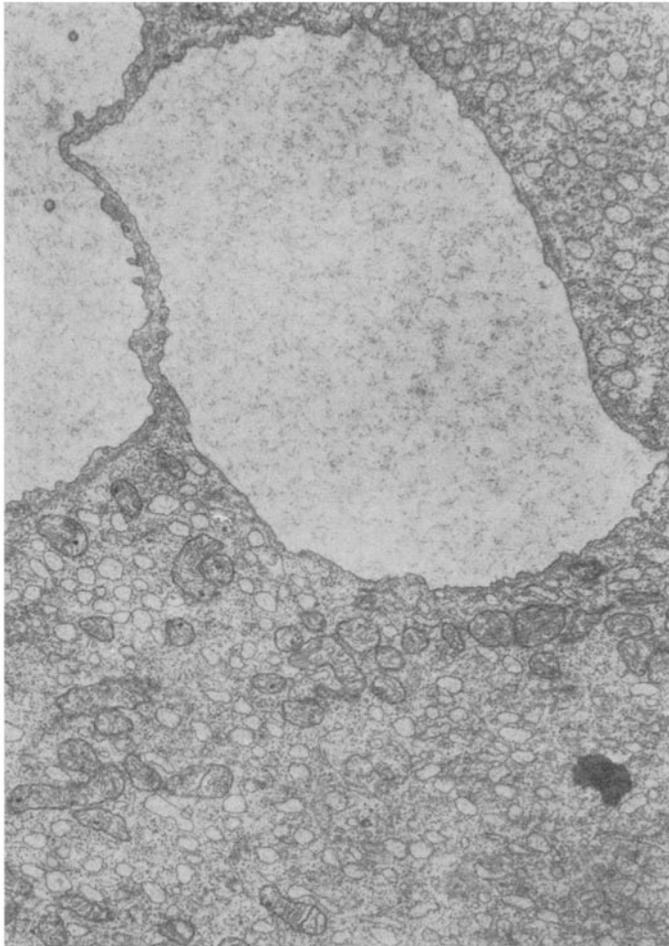


Abb. 22: Rindenvakuolen in einer nahezu reifen Oocyte von *Myoxocephalus scorpius*.  
(12 900 : 1)

Mit der Feststellung, wo die Dottersubstanzen zu größeren, sichtbaren Komplexen zusammengezogen werden, ist über die eigentliche Herkunft des Materials noch nichts ausgesagt. SESHACHAR & NAYYAR (1963) wollen im Kern Lipoidgranula nachgewiesen haben, die dort synthetisiert worden sind, die langsam zur Kernperipherie wandern und an das Plasma abgegeben werden. Im Gegensatz zu diesem Befund ist es in den untersuchten Teleosteer-Oocyten auffällig, daß der Lipoid-Dotter im peripheren

Plasma zuerst sichtbar wird. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß im Follikel-epithel beachtliche Lipoidkomplexe liegen (Abb. 23), ist es eher wahrscheinlich, daß das Material von außen stammt. Eiweißdotter dürfte sowohl in der Oocyte unter Beteiligung von Mitochondrien und Ribonucleoprotein-Partikeln gebildet werden als auch von außen kommen. Im Gegensatz zur Crustaceen-Oocyte (BEAMS & KESSEL 1963)

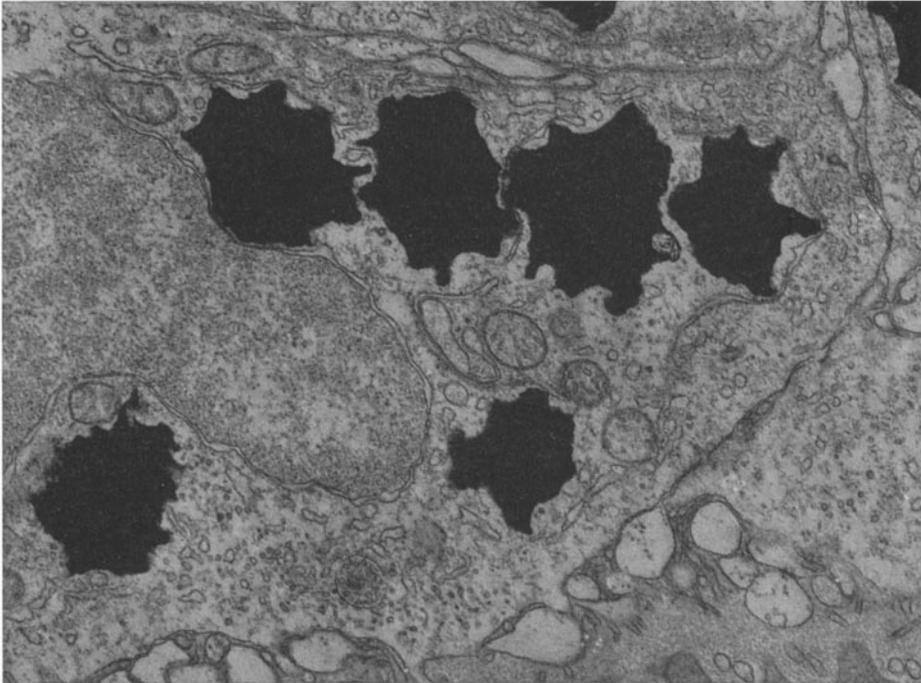


Abb. 23: Zellen des Follikelepithels mit Lipoid-Dotter. (*Merlangius merlangus*; 18 000 : 1)

spielt hier das Ergastoplasma eine geringe Rolle. Bei Saturniiden wurde von TELFER (1961) nachgewiesen, daß Blutproteine durch einen interzellulären Weg die Oocyten-Oberfläche erreichen und durch Pinocytose aufgenommen werden. Das wäre auch bei den Teleosteer-Oocyten möglich. Daneben findet sich in den Follikelzellen viel Ergastoplasma, so daß hier wohl die Hauptbildungsstätte für Eiweißstoffe liegt.

#### Dalton-Komplex (Golgi-Apparat)

Der Dalton-Komplex besteht aus einer Reihe flacher, übereinandergestapelter Säckchen, die vor allem an ihren Enden Vakuolen abschnüren. Im Dünnschnitt bietet der Komplex das Bild etwa parallelverlaufender Doppellamellen, die sich außen zu Bläschen erweitern und vor denen die kreisförmigen oder elliptischen Querschnitte der Vakuolen liegen. Der ganze Bereich wird meist als Golgi-Apparat bezeichnet. In Über-

einstimmung mit SCHMIDT (1962) wird dieser Ausdruck für die lichtmikroskopisch sichtbaren, meist unnatürlich vernetzten Strukturen reserviert, während der elektronenmikroskopische Aspekt der Pakete von Doppellamellen mit zugehörigen Vakuolen hier Dalton-Komplex genannt wird.

Der Dalton-Komplex liegt für gewöhnlich in der Nähe des Kernes, seine Lage soll jedoch mit dem Funktionszyklus wechseln (WARTENBERG & STEGNER 1960, SCHMIDT 1962, WOHLFARTH-BOTTERMANN 1963, KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN 1964). Seine Funktion ist zumindest eine doppelte: (1) er erhöht durch Abschnürung von Vesikeln das Membranpotential der Zelle, (2) er dient der Stoffanreicherung. Außerdem wird vermutet, daß er auch an der Regulation des Wasserhaushaltes der Zelle beteiligt ist (DALTON 1961).

Eine Reihe von Befunden führt dazu anzunehmen, daß das Golgi-Material wenigstens indirekt mit der Dotterbildung zusammenhängt. Bei dem Gastropoden *Cipangopaludina* werden die ergastoplasmatischen „Chromidialkörper“ von Membranen umgeben, die vom Dalton-Komplex stammen, und in Dotter umgewandelt (YASUZUMI & TANAKA 1957). Demgegenüber glauben WORLEY & MORIBER (1961), daß bei Gastropoden der Eiweißdotter direkt vom „Golgi-Apparat“ geformt wird. RECOURT (zitiert nach RAVEN 1961) weist darauf hin, daß bei *Lymnaea* die Membranen des endoplasmatischen Reticulum von „Dictyosomen“ abgegliedert werden. Nach BEAMS & KESSEL (1963) bestehen auch in der Oocyte der Crustaceen enge topographische Beziehungen zwischen „Golgi-Apparat“ und endoplasmatischem Reticulum, der Golgi-Apparat soll allerdings nichts mit der Dotterbildung zu tun haben. AFZELIUS (1956) beobachtete an Seeigel-Oocyten in den „Dictyosomen“ Vakuolen, die eventuell zu Dotterkörpern werden. Bei *Boltenia villosa* (Tunicata) entsteht der Eiweißdotter in den Vesikeln des „Golgi“-Bereichs (HSU 1962, vgl. auch KESSEL 1965). Sprachen diese Befunde für eine Beteiligung des Dalton-Komplexes an der Bildung von Eiweißdotter, so gibt DALTON (1961) an, daß in dem Gebiet des Cytoplasma, in dem der „Golgi-Komplex“ liegt, Lipoide nachweisbar sind. Der Dalton-Komplex soll entstehen aus Teilen der Kernhülle oder aus Bestandteilen des endoplasmatischen Reticulum (DANIELS 1964).

In den jungen Oocyten der Teleosteer ist der Dalton-Komplex, verglichen mit späteren Stadien, zwar noch relativ groß, eine beherrschende Rolle kommt ihm jedoch nicht zu. Er besteht aus ineinander verschachtelten Gruppen von je 4 bis 5 flachen Zisternen, auf deren Seiten in der üblichen Form kleine Vakuolen liegen. Jede Doppellamelle ähnelt im Bau den Membransäckchen, ist allerdings im Umriss etwas glatter, der Abstand der Lamellen ist enger und nicht so unregelmäßig. Ein solcher Dalton-Komplex, wie in einer jungen Oocyte von *Pleuronectes platessa* (Abb. 2), legt die Vermutung nahe, daß er aus Membransäckchen entstanden ist. Damit wäre ein enger genetischer Zusammenhang mit dem endoplasmatischen Reticulum und den Mitochondrien gegeben.

In älteren Oocyten sind die Dalton-Komplexe kleiner, bestehen auch hier aus 4 bis 5 Zisternen und vielen kleinen, zur Seite hin abgeschnürten Vakuolen. Die Vakuolen vergrößern sich, wahrscheinlich unter Aufnahme praevitellinen Materials aus dem Cytoplasma, und verschmelzen mit den großen Rindenvakuolen (Abb. 17, 22).

Der Dalton-Komplex dürfte also auch in der Teleosteer-Oocyte der Bildung von Membranen und der Anreicherung im Plasma verteilter Stoffe dienen.

## Vesikel

Unter Vesikel werden hier alle die kleinen, im Umriss meist etwas unregelmäßig kreisförmigen oder elliptischen Bläschen verstanden, die von einer Membran umhüllt

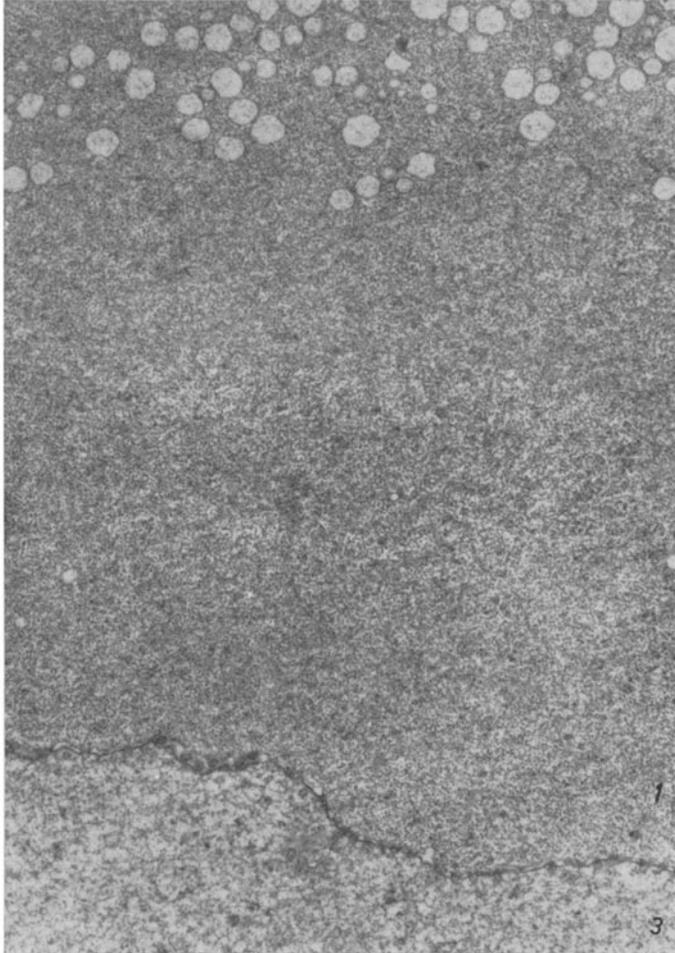


Abb. 24: Kernhülle mit Poren, kernnahes, feingranuliertes und peripheres, vesikelreiches Plasma. (*Myoxocephalus scorpius*; 15 525 : 1)

sind und elektronenoptisch heller erscheinen als das umgebende Grundcytoplasma. Damit ist ein Sammelbegriff geschaffen, der Strukturen verschiedenster Herkunft und Zugehörigkeit in sich vereint.

Solche Vesikel gehören zum Normalbild der Eizelle. Zum vesikulären Apparat der Zelle, dem „Vakuom“ (vgl. SCHMIDT 1962), zählen auch die „multivesikulären Körper“ (SOTELO & PORTER 1959), die zuerst in den Eizellen der Ratte, später auch bei

dem Tunicaten *Molgula*, bei Meerschweinchen, Maus und Mensch (KESSEL & KEMP 1962) nachgewiesen wurden. Ein multivesikulärer Körper besteht aus vielen kleinen Vesikeln, die von einer Membran umhüllt sind. Sie liegen zunächst verteilt im Cytoplasma, in älteren Oocyten peripher und sollen gelegentlich ihren Inhalt in das Cytoplasma entleeren. WARTENBERG & STEGNER (1960) vermuten eine Beziehung zu den Mitochondrien-Vorstufen.

Das Plasma junger Teleosteer-Oocyten enthält ganz wenige Vesikel. Die Kernhülle bildet Ausstülpungen nach innen wie nach außen, nach außen allerdings in sehr viel höherer Zahl. Diese Ausstülpungen schnüren sich ab und lösen sich von der Kernhülle. Sie vereinigen sich mit Bläschen, die von Mitochondrien stammen, zu den langgestreckten Membransäckchen und wandern durch das Plasma nach außen (vgl. auch KESSEL 1964). Dicht unter der Zellmembran lösen sie sich wieder in einzelne Vesikel auf, die in die Zellmembran eingebaut werden und damit einmal das Material für diese Membran ergänzen, zum anderen aber später als Pinocytose-Bläschen wieder den umgekehrten Weg zurücklegen können.

Die Pinocytose-Bläschen (Abb. 3) entstehen bevorzugt an den Stellen, an denen die Oocytenmembran nach außen vorspringt, so daß dann über dem eigentlichen Cytoplasma warzenartige Erhebungen liegen, die mit Vesikeln gefüllt sind. Nach dem über die Dotterbildung Gesagten dürfte der Pinocytose in den Oocyten eine wesentliche Rolle zufallen. Nach CASLEY-SMITH (1964) soll die Aufnahme kleiner Partikel in die Zelle ein passiver Vorgang sein, der von der Zellaktivität unabhängig ist, während bei der Phagocytose großer Partikel Energie aufgewandt werden muß, die für die Bildung großer Vesikel verbraucht wird. Demnach könnte Pinocytose laufend und ohne Energie-Aufwand vor sich gehen.

Am Beginn des Stadiums II setzt die Bildung der Rindenvakuolen (ARNDT 1960a) ein. Zahl und Größe dieser Vakuolen nehmen schnell zu. Das periphere Plasma ist bald von Vesikeln verschiedener Größe erfüllt, es bleibt schließlich nur eine schmale Zone um den Kern frei (Abb. 24). Nach ARNDT enthalten die Rindenvakuolen Glycoproteide mit einer Polysaccharid-Komponente. Die großen Vakuolen werden bei der intensiven Dotterbildung nach außen abgedrängt.

Der Dalton-Komplex liefert eine Fülle von Vesikeln. Von ROSE (1961) wurde an lebenden Osteoblasten nachgewiesen, daß diese Vesikel tatsächlich an das Cytoplasma abgegeben werden. Hier wurde also die vorherige Deutung des statischen Dünnschnittbildes als richtig erkannt. Aus dem Dalton-Komplex dürfte eine beträchtliche Anzahl der im Cytoplasma liegenden Vesikel stammen.

## Ribosomen

Die Ribosomen, auch Ribonucleoprotein-Partikel oder Palade-Granula genannt, sind – im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Strukturen – ein granuläres Grundelement des Zellbaues (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1963). Es handelt sich um elektronenoptisch dichte Partikel von 100–150 Å Durchmesser (PALADE 1955). In Oocyten sind sie sehr häufig, und sie bedingen, da sie reich an RNS sind, die Basophilie des Cytoplasma, die besonders in den jungen Eizellen hervorsteht (GÖTTING 1961). Wäh-

rend BRACHET (1960) vorsichtig schätzt, daß in den Ribosomen mehr als 40 % der in der Eizelle enthaltenen RNS lokalisiert sind, geben HARRIS (1965) 75 % und WITTMANN (1963) 85–90 % an. Die Basenzusammensetzung der RNS in den Nucleoli ist ähnlich der in den Ribosomen, woraus geschlossen wird, daß die Ribosomen-RNS wahrscheinlich vom Nucleolus abstammt (HARRIS 1965).

Die Ribosomen liegen entweder frei im Cytoplasma, oder man findet sie in enger Nachbarschaft zu Membranen – an der äußeren Lamelle der Kernhülle oder an Membranen des endoplasmatischen Reticulum (KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN 1964). Besonders in Drüsenzellen bilden sie zusammen mit Bestandteilen des endoplasmatischen Reticulum ein hochorganisiertes Ergastoplasma (PALADE & PORTER 1954). Während die zum Ergastoplasma gehörigen Ribosomen wahrscheinlich an der Bildung für die Sekretion bestimmter Stoffe beteiligt sind, spielen die im Plasma verteilten eine Rolle bei der Synthese von Eiweißen für die Zelle selbst (vgl. KOMNICK & WOHLFARTH-BOTTERMANN).

BEAMS & KESSEL (1963) beschrieben Gruppen von Ribosomen in der supranucleären Zone der Crustaceen-Oocyten (*Cambarus*, *Orconectes* und *Procambarus*), die sich später entweder an der äußeren Oberfläche der Membranen des endoplasmatischen Reticulum anordnen oder rosettenförmig zwischen diesen liegen. In den mit Ribosomen besetzten Zisternen sind Eiweißgrana enthalten, die in periphere, rundliche Zisternen gelangen und dort zu Eiweiß-Dotterschollen kondensiert werden.

Ribosomen sind im Cytoplasma der jüngsten hier untersuchten Oocyten nicht nachweisbar. Sie treten erst dann auf, wenn der Nucleolus in die Nähe der Kernhülle rückt und elektronenoptisch dichte Substanz den Kern verläßt. Das legt die Vermutung nahe, daß zwischen dem Austritt von Nucleolarmaterial und der Entstehung der Ribosomen ein unmittelbarer Zusammenhang besteht. Dadurch erhält auch die Übereinstimmung im chemischen Aufbau zusätzliches Gewicht.

Die Ribosomen breiten sich vom kernnahen Plasma aus und erfüllen die Zelle sehr schnell (Abb. 17, 19, 24). Sie sind, wenn auch in geringerer Zahl, noch in den ältesten Oocyten zu finden (Abb. 14, 15) und liegen hier vorwiegend an Membranen. Ist die oben zitierte Annahme richtig, daß im Ergastoplasma vor allem Eiweißstoffe für die Abgabe nach außen produziert werden, so wäre die vorliegende Situation ein wichtiger Hinweis darauf, daß die Schichten der Eirinde (an der in diesem Stadium noch intensiv gebaut wird) Materialzufuhr von der Oocyte erhalten, also nicht nur vom Follikel.

### Caryoplasma und Nucleolus

Das Caryoplasma ist von granulär-flockiger Beschaffenheit. Infolge ungleichmäßiger Substanzverteilung sehen die Kerne junger Oocyten „wolzig“ aus. Später kondensiert sich osmiophiles Material zu zahlreichen Nucleoli. Bis zur alten Oocyte ist dann im Aussehen des Caryoplasma keine Veränderung wahrzunehmen, nur der Umriß des Kernes wechselt.

Die Nucleoli sind von sehr verschiedener Größe und gleichmäßig granulär, nicht durch eine Membran gegen das Caryoplasma abgegrenzt. Sie wandern an die Peripherie des Kernes und legen sich der Kernhülle mehr oder weniger eng an. Zum Teil schieben

sie sich in Ausstülpungen der Kernhülle in Richtung Cytoplasma vor. Gleichzeitig werden in ihnen fädige Aufreihungen von Granula sichtbar (Abb. 10). Stränge von Granula ziehen zur Kernhülle, und vor der Kernhülle sammelt sich im Cytoplasma körniges Material. Kleine Nucleoli lösen sich dabei vollständig auf. Die Kernhülle bildet an den großen Nucleoli an einigen Stellen zapfenförmige Vorstülpungen und dringt somit in den Nucleolus-Bereich selbst ein. Im Dünnschnitt sind die kreisförmigen und elliptischen Querschnittsbilder dieser Zapfen umgeben von zwei oder vier Membranen.

In großen Nucleoli beginnt die Abgabe von RNS vom Zentrum her, so daß sich das Innere aufhellt. Dadurch entsteht die in der Literatur beschriebene „Vakuole“ (s. u.). Schließlich löst sich auch die Randzone auf, wobei zunächst noch dicke, gewundene Stränge übrigbleiben, die schon in lichtmikroskopischen Untersuchungen beobachtet wurden (GÖTTING 1961).

Ähnliche Befunde sind an den Oocyten anderer Tiergruppen gewonnen worden. Auffällig sind ganz allgemein die bedeutende Größe der Nucleoli in Eizellen und ihr Reichtum an RNS (VINCENT 1957, BRACHET 1960, MIRSKY & OSAWA 1961, LEBLOND & AMANO 1962, BEAMS 1964). Das hängt sicher mit der hohen synthetischen Leistung beim Aufbau der Eiweiße zusammen. Die Zahl der Nucleolen ist verschieden: Sie variiert zwischen eins in der Oocyte des Menschen (WARTENBERG & STEGNER 1960) über einige hundert bei *Triturus* bis zu über tausend bei Foraminiferen und Myriopoden (STICH 1956).

Die Strukturen scheinen weitgehend übereinzustimmen. Es wird unterschieden zwischen einer fädigen und einer granulären Komponente (u. a. WARTENBERG 1962, GRANBOULAN & GRANBOULAN 1964). Die fädigen „Nucleolonemata“ (ESTABLE & SOTELO 1954) sind aus körnigem osmiophilem Material zusammengesetzt und sollen nach BERNHARD, GAUTIER & OBERLING (1951) chromosomale Teile darstellen.

Die verschiedenen Aspekte des Nucleolus dürften von der Entwicklungsphase der Oocyte abhängig sein. Der Nucleolus löst sich in der Prophase auf und bildet sich in der Telophase neu. Da die Auflösung nicht gleichmäßig, sondern „fleckig“ vor sich geht, entstehen die verschiedensten Bilder. Übereinstimmung besteht darüber, daß zuerst das Zentrum an RNS verarmt, im elektronenmikroskopischen Bild also heller wird. So geben KESSEL & KEMP (1962) an, daß bei *Molgula* im Kernkörperchen eine dichtere Außen-, eine hellere Innenzone vorhanden sei. BLANCHETTE (1961) beschreibt in der Kaninchen-Oocyte ein „Netzmuster“, wie es ähnlich bei Teleosteen beobachtet wurde (GÖTTING 1961). WARTENBERG & STEGNER (1960) weisen auf hellere Bezirke hin (*Homo*), die in ausgeprägterer Form von COWDEN (1963) bei *Branchiostoma*, von WISCHNITZER (1961) bei Amphibien „Vakuolen“ genannt werden.

Die fädigen Strukturen sollen an der DNS-Neubildung teilnehmen (GRANBOULAN & GRANBOULAN 1964). Sie werden angesehen als fingerförmige Ausbreitungen und Fortsätze des dem Nucleolus assoziierten Chromatins, das auf diese Weise eine große Berührungsfläche zwischen DNS und nucleolären Bestandteilen herstellt.

Es kann kein Zweifel daran bestehen, daß der Nucleolus ein Ort intensiver RNS-Synthese ist und daß die nucleoläre RNS an das Cytoplasma abgegeben wird. Mit Hilfe autoradiographischer Methoden wurde das nicht nur für somatische Zellen (LEBLOND & AMANO 1962), sondern auch für Oocyten nachgewiesen (FICQ 1955 bei *Asterias rubens*, VINCENTIIS 1960, 1962 bei *Antedon rosacea*, ERB & MAURER 1962 auch bei

*Psammechinus miliaris*). Damit sind die Granula zwischen Nucleolus und Kernhülle als austretende und die vor der Kernhülle im Cytoplasma liegenden als ausgetretene Nucleolarsubstanz richtig identifiziert. Nach POLLISTER, GETTNER & WARD (1954) sollen in Frosch-Oocyten zwischen Caryo- und Cytoplasma fädige Verbindungen bestehen, die über elektronendichte Körper in der Kernhülle führen und gelegentlich im Nucleolus enden.

### BEZIEHUNGEN ZWISCHEN OOCYTE UND FOLLIKEL

Unter Beziehungen zwischen Oocyte und Follikel seien zunächst nur die cytomorphologischen verstanden. Am Ende des Stadiums I ist die Oocyte von einem einschichtigen Follikelepithel umgeben, das mit ziemlich glatter, allerdings gewellter Kontur an die ebenfalls glatte Oocytenmembran grenzt. Zwischen beiden Zellmembranen liegt der Interzellularraum mit wechselnder Breite (Abb. 2). Nach außen schließt sich

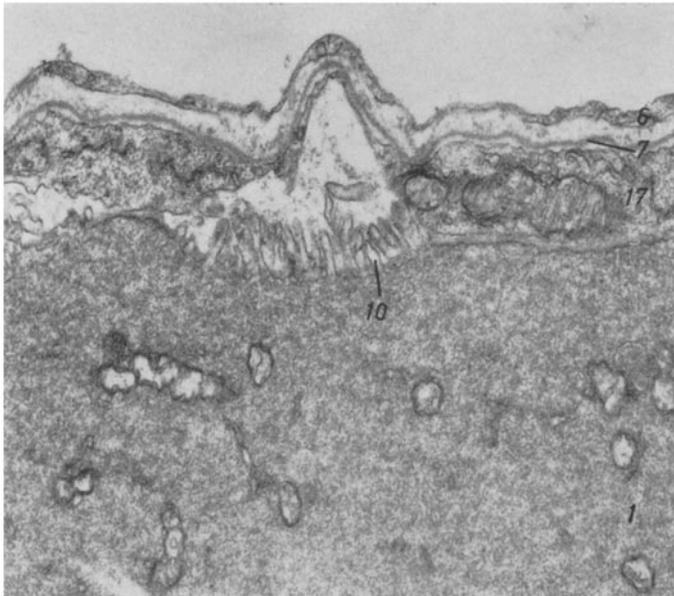


Abb. 25: Gruppen von Mikrovilli an der Oberfläche einer Oocyte von *Callionymus lyra*. Darüber Follikelepithel und einschichtige Basalmembran. (16 650 : 1)

die Basalmembran an (s. u.), jetzt noch aus einer Schicht bestehend, und schließlich wird am Ende des Stadiums I bereits die Theca folliculi aufgebaut. Kurz vor Beginn der intensiven Dotterbildung wellt sich die Oocytenmembran auf. An den vorgewölbten Stellen tritt sie in unmittelbaren Kontakt mit der Zellmembran der Follikelzelle, dazwischen liegen die Reste des Interzellularraumes mit sehr unterschiedlicher Breite. Die Theca bildet ein geschlossenes Lager.

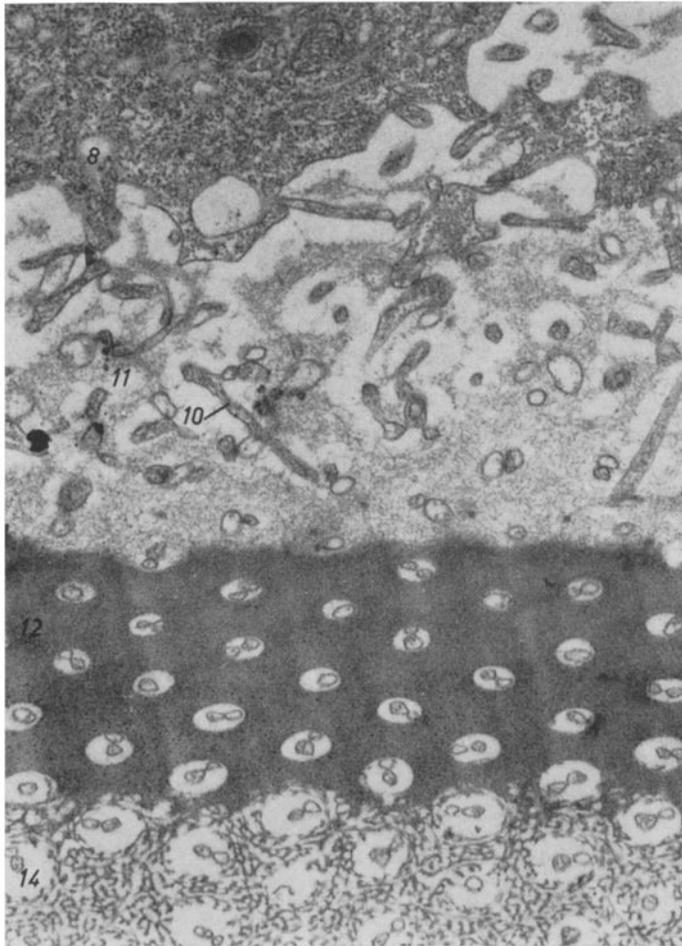


Abb. 26: Schrägschnitt durch die Corticalschichten, die Zona pellucida und das Follikel epithel. Zahlreiche Zellfortsätze stellen die innige Verbindung zwischen Oocyte und Follikelzellen her. (*Agonus cataphractus*; 19 350 : 1)

Am innigsten ist der Kontakt, wenn in der nun folgenden Phase die Oocytenmembran an den Stellen, an denen sie direkt an die Follikelzellmembran grenzt, sich unter Vesikelbildung auflöst. Dadurch verschwindet die Oocytenmembran über kurze Abschnitte, und hier stoßen nun Cytoplasma der Eizelle und Zellmembran der Granulosa-Zelle direkt aneinander. Selten ist sogar eine Kontinuität von Cytoplasma der Oocyte und der Follikelzelle zu beobachten (Abb. 3) – selten wahrscheinlich deshalb, weil das engbegrenzte Verschwinden der Zellmembranen ein nur vorübergehender, sehr kurzfristiger Vorgang ist. Die Membranen werden repariert (die Oocytenmembran mit Hilfe des Materials aus den Membransäckchen), und der Interzellularraum wird wiederhergestellt.

Die Eizelle treibt Mikrovilli in den Interzellularraum vor. Die Anordnung der Mikrovilli richtet sich nach der späteren Ausbildung der Eioberfläche. Bei *Callionymus* stehen die Mikrovilli in Gruppen zusammen (Abb. 25), zwischen denen später die

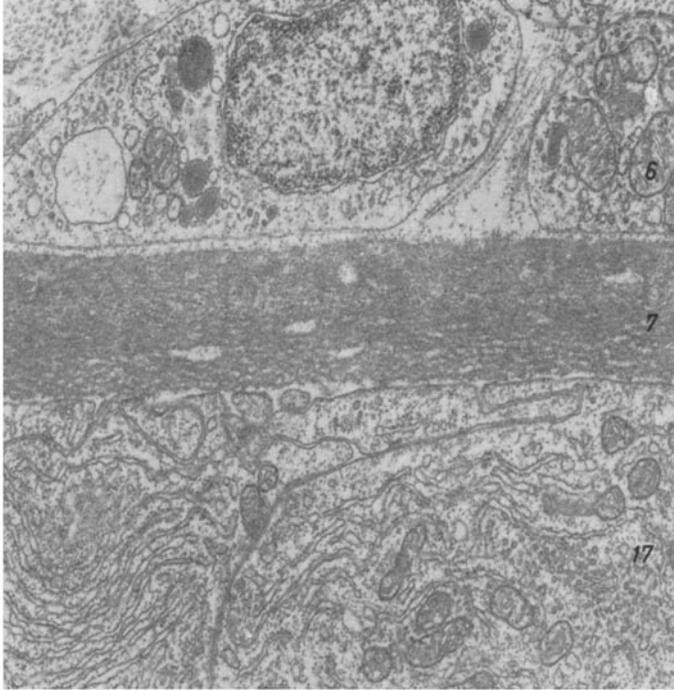


Abb. 27: Ineinander verzahnte Zellen des Follikelepithels, vielschichtige Basalmembran und locker gebaute Theca einer Oocyte von *Myoxocephalus scorpius*. (17 100 : 1)

wabenartigen Leisten der Eirinde angelegt werden (Abb. 5). Zwischen den Mikrovilli wird homogene, dichte Substanz auf die Oocytenmembran aufgelagert. Damit setzt die Rindenbildung ein, so daß die Mikrovilli schließlich durch radiale Kanäle nach außen treten. In den perioocytären Interzellularraum wird eine gleichmäßig granuliert Substanz abgegeben, und die Follikelzellen liegen in fast gleichem Abstand von der Eirinde. Dadurch wird aus dem Interzellularraum der helle Saum der Zona pellucida. Der innige Kontakt zwischen Oocyte und Follikel wird einmal durch die Mikrovilli hergestellt, zum anderen durch Ausläufer der Follikelzellen (Abb. 26). Diese Ausläufer durchsetzen die Zona pellucida und dringen in die Kanäle des Cortex ein (GÖTTING 1965). Der Stoffaustausch wird sich zum größten Teil über die Zellfortsätze abspielen, eine Kontinuität des Cytoplasma von Follikel und Oocyte war in diesem Entwicklungsstadium nicht nachweisbar.

Das Follikelepithel bildet eine massive Schicht aus Zellen, die ineinander durch Aus- und Einwölbungen verzahnt sind. Die Interzellularräume sind schmal (Abb. 27). Sie bilden ein Kanalsystem, das die direkte Verbindung zwischen dem System der

Basalmembran und der Zona pellucida herstellt. Die Zellen des Follikelepithels sind reich an Vesikeln, an Ergastoplasma und an Mitochondrien. Es lassen sich zwei Zelltypen unterscheiden, wohl aufzufassen als Ausdruck verschiedener stoffwechselphysiologischer Phasen: Zellen mit vielen Mitochondrien und wenig Ergastoplasma und Zellen, reich an Ergastoplasma, dafür mit wenigen Mitochondrien.

Ein vielschichtiges System dient dem Follikelepithel als Basale und wird daher „Basalmembran“ genannt, obwohl diese Basalmembran keine Membran im elektronenmikroskopisch definierten Sinne ist, wie sie bereits beschrieben wurde.

In jungen Oocyten ist die Basalmembran einschichtig (Abb. 2), und sie bleibt bei einigen Arten auch einschichtig bis zur Ovulation. Bei anderen Fischen nimmt die Zahl der Schichten dagegen mit dem Heranreifen der Eizelle zu, so daß die Basalmembran ein mächtiges Lager zwischen Theca und Follikelepithel bildet. Innerhalb der Basalmembran kann man unterscheiden zwischen einer inneren Zone, in der die Schichten voneinander getrennt sind, und einer äußeren Zone, deren Schichten nicht klar abgesetzt erscheinen.

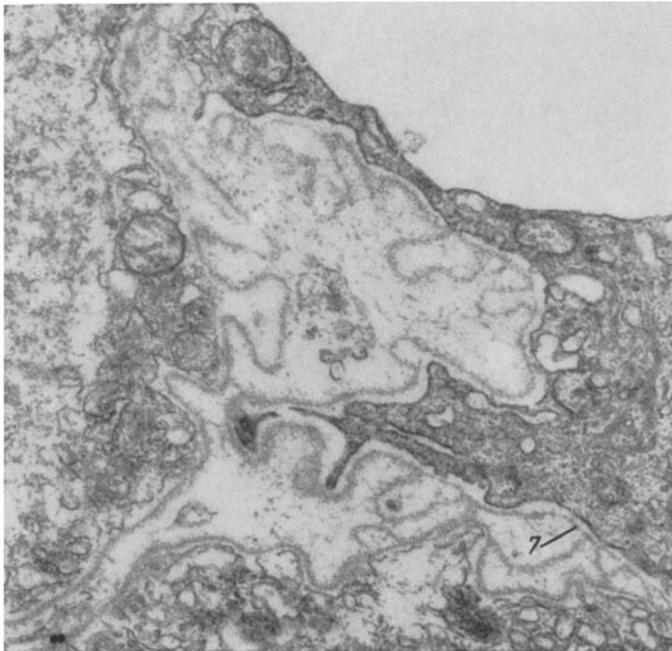


Abb. 28: Hohlräume in einem ausgelagerten Ovar, deren innere Begrenzung von der Basalmembran des ehemaligen Follikels gebildet wird. (*Merlangius merlangus*; 19 800 : 1)

Nach neueren Ergebnissen (PEASE 1960, WOHLFARTH-BOTTERMANN brieflich) besteht die Basalmembran aus vernetzten fädigen Elementen. Sie stellt einen Ultrafilter dar, dessen „Porenweite“ nach den physiologischen Erfordernissen verändert werden kann. Basalmembranen finden sich da, wo Bindegewebe mit Epithelien in Berührung

kommt. In ihrem Bau unterscheidet sich die Basalmembran der Fisch-Oocyten nicht von den üblichen Basalmembranen. Sie spielt allerdings eine besondere Rolle bei der Ovulation: an ihr trennt sich die reife Eizelle vom Ovarialgewebe. Ausgelagerte Ovarien zeigen die Hohlräume (Abb. 28), die vorher die Oocyten enthielten, ausgekleidet von der Basalmembran. Insofern ist die Beziehung zwischen Basalmembran und Bindegewebe (Theca) doch enger als PEASE (1960) annimmt, so daß die herkömmliche Auffassung beibehalten werden sollte, wonach die Basalmembran zum Bindegewebe gerechnet wird – wenigstens so lange, bis etwas über ihre Entstehung bekannt ist. Die Zellen der Theca folliculi liegen lockerer nebeneinander als die des Follikelepithels, sind nicht ineinander verzahnt. Sie sind reich an Mitochondrien.

Gelegentlich treten Kapillaren bis an die Oocyte heran. An diesen Stellen besteht die Schranke nur aus wenigen Schichten (Abb. 29). Das Epithel der Kapillare und die bindegewebigen Schichten des Follikels werden aufgelöst. Die Barriere setzt sich dann aus folgenden Bestandteilen zusammen: (1) Endothel der Kapillare, (2) plasmatische Zwischenschicht anstelle von Epithel der Kapillare und bindegewebigen Follikelhüllen, (3) Basalmembran des Follikels, (4) inneres Follikelepithel, (5) Zona pellucida. Diese enge Beziehung zwischen Blutkreislauf und Oocyte erleichtert den raschen Stoffaustausch sicher ganz wesentlich.

Die hier gemachten Beobachtungen stimmen im wesentlichen mit den Verhältnissen bei anderen Objekten überein. So wurden von KEMP (1956) an jungen Frosch-Oocyten Mikrovilli nachgewiesen, ebenso Fortsätze der Follikelzellen. BEAMS & KESSEL (1963) fanden Mikrovilli in Oocyten von Crustaceen, MÜLLER (1962) und MÜLLER & STERBA (1963) bei Zahnkarpfen (*Cynolebias belotti*), FLÜGEL (1964a) bei *Salvelinus* und *Salmo*, WARTENBERG (1962) bei Amphibien, ANDERSON & BEAMS (1960) beim Meerschweinchen, WARTENBERG & STEGNER (1960) auch beim Menschen.

WISCHNITZER (1963, 1964) bemühte sich darum, durch klare Definitionen Ordnung in das Durcheinander der Bezeichnungen zu bringen. Er unterscheidet von außen nach innen: (1) das Oberflächenepithel als äußerste Decke, gebildet vom Peritoneum oder vom inneren Ovariepithel, (2) die Theca folliculi als mittleres Bindegewebslager, (3) das Follikelepithel, (4) die Zona pellucida, die in sich einschließt (a) außen ein homogenes Lager, das von den Makrovilli der Follikelepithelzellen durchsetzt wird und (b) die Zona radiata als dickere, nichtzellige Schicht, die der Oocyte unmittelbar benachbart ist und die von Mikro- und Makrovilli perforiert wird, (5) die Plasmalemma zwischen Zona radiata und peripherem Oocytenplasma.

Zu diskutieren ist vor allem die Frage, ob man die Zona pellucida in der geschilderten Weise abgrenzen kann. Zona radiata und homogene Schicht sind schließlich in der Konsistenz und Struktur etwas völlig Verschiedenes. Die helle homogene Schicht geht aus dem Interzellularraum hervor, in dem sich bestimmte Substanzen, vor allem Mucopolysaccharide, sammeln. Die Zona radiata ist dagegen eine feste Schicht, durchbrochen von radialen Kanälen, und bildet die spätere Eirinde. Sie besteht jedoch ebenfalls vorwiegend aus Mucopolysacchariden, so daß anzunehmen ist, daß sie aus der homogenen Schicht durch Kondensierung des Materials entsteht. Der Ausdruck „Zona radiata“ sollte allerdings in diesem Zusammenhang vermieden und durch Cortex radiatus ersetzt werden, da mit Zona radiata ursprünglich eine zellige Struktur im Follikel der Mammalia gemeint ist.



Abb. 29: Peripheres Plasma, Rinde und Follikel einer Oocyte von *Pleuronectes platessa* (unten) und eine Kapillare (oben) mit Blutkörperchen. Wenigschichtige Barriere (10 800 : 1)

Im Follikel der Teleosteer sind demnach von außen nach innen folgende Schichten zu unterscheiden: (1) das Oberflächenepithel, (2) die Theca folliculi, (3) die Basalmembran, (4) das Follikel­epithel, (5) die Zona pellucida, entstanden aus dem perioocytären Interzellularraum, dazu (a) die Zona pellucida sensu strictu als äußerer,

heller Saum, (b) der Cortex radiatus, dazu (a) der Cortex radiatus externus mit Differenzierungen, ( $\beta$ ) der Cortex radiatus internus mit Differenzierungen, (6) die Oocytenmembran mit ihren Differenzierungen, (7) das Cytoplasma der Oocyte.

Die engen topographischen Beziehungen zwischen den Mikrovilli und den Ausläufern der Follikelzellen lassen auf enge stoffwechselphysiologische Beziehungen schließen. DURAND (1958) hat bei *Gryllus* nachgewiesen, daß radioaktiv markiertes Thymidin in Kern und Cytoplasma der Follikelzellen inkorporiert wird und daß etwas von dieser Substanz durch die Follikelzell-Ausläufer in das Oocytenplasma eindringt.

Der Stoffaustausch soll erleichtert werden durch Desmosomen. So werden nach FLÜGEL (1964b) im Follikel epithel von *Salvelinus* Desmosomen angelegt, die den Kontakt zwischen den Zellen auch dann noch aufrechterhalten, wenn die Follikelzellen auseinanderweichen. Bei *Lebistes* stellen Desmosomen eine Verbindung her zwischen Oocyte und Follikel epithelzellen (JOLLIE & JOLLIE 1964a). Nach ANDERSON & BEAMS (1960) entstehen bei *Cavia* an den Stellen, wo die Membranen der Ausläufer der Follikelzellen auf die Oocytenmembran treffen, Desmosomen. Demgegenüber konnten bei kritischer Prüfung in der vorliegenden Untersuchung Desmosomen weder zwischen zwei Follikelzellen noch zwischen Follikelzelle und Oocyte festgestellt werden.

JOLLIE & JOLLIE (1964b) haben bei *Lebistes* eine „pseudoplacentale Barriere“ beschrieben, die aus sechs bis sieben Lagern besteht und einen Vergleich mit der Schranke oviparer Fische herausfordert. Ein solcher Vergleich muß zwar letzten Endes unbefriedigend bleiben, weil es sich hier um unbefruchtete Oocyten, dort um sich bereits entwickelnde Embryonen mit eigenem Blutkreislauf handelt. Es ist jedoch interessant festzustellen, daß die Zahl der Schichten der Barriere nicht unter ein bestimmtes Minimum sinkt, das bei 5 bis 6 liegt. Der Stofftransport über diese Schranke erfolgt in beiden Fällen durch Pinocytose. Entsprechende Vesikel sind in allen Zellschichten nachzuweisen.

#### ARTGEBUNDENE UNTERSCHIEDE IM BAU DER OOCYTEN UND DES FOLLIKELS

Die im Bau der Oocyten und des Follikels auftretenden Unterschiede bestehen vor allem in abweichender Ausbildung der Corticalschichten und der Basalmembran. Der Aufbau der Eirinde läßt eine Einteilung in zwei Gruppen zu: (1) Der Cortex bleibt auch in der reifen Oocyte relativ schmal. Er umfaßt höchstens zwei Schichten, die in sich homogen sind. Die äußere Schicht kann leistenförmige Erhebungen tragen. Hierher gehören die Eizellen von *Callionymus lyra* und *Pleuronectes platessa* (Beispiel: Abb. 5). (2) Der Cortex internus differenziert sich nach innen in mehrere radial hintereinanderliegende Bündel. Dadurch wird die Rinde beträchtlich verstärkt. Hierher gehören die Oocyten der Gadiden, der Cottiden und der Agoniden (Beispiel: Abb. 6). Bei den Gadiden liegen 7 bis 8 solcher Bündel hintereinander, bei Cottiden und Agoniden konnten über 20 festgestellt werden. Entsprechend wurde die Dicke des Cortex bei *Micromesistius pontassou* mit 3,8  $\mu$ , bei *Agonus cataphractus* mit 7,2  $\mu$  gemessen.

Nach dem Bau der Basalmembran des Follikels lassen sich unterscheiden: (1) Oocyten, bei denen die Basalmembran des Follikels einschichtig bleibt. Zu dieser

Gruppe sind *Callionymus lyra* und die Gadiden zu zählen (Beispiel: Abb. 3). Die Basalmembran ist etwa  $0,04 \mu$  dick. (2) Oocyten mit einer mehrschichtigen folliculären Basalmembran. Diese Basalmembran besteht bei den jüngsten Oocyten des Stadiums I aus nur einer Schicht, der dann während der Entwicklung bis zur Ovulation weitere Schichten aufgelagert werden. Hierher gehören *Pleuronectes platessa*, *Agonus cataphractus* und *Myoxocephalus scorpius* (Beispiel: Abb. 27). Jede einzelne Schicht ist so dick wie die Basalmembran unter (1). Die Gesamtbreite liegt in reifenden Oocyten von *Pleuronectes platessa* bei  $0,44 \mu$ , von *Myoxocephalus scorpius* und *Agonus cataphractus* bei  $0,95 \mu$ .

Die Regel, daß planktische Eier ihrer höheren Verlustrate wegen in größerer Zahl und daher geringerer Größe produziert werden als demersale, trifft im Falle der hier untersuchten Fischarten nur bedingt zu. *Myoxocephalus scorpius* und *Agonus cataphractus* legen benthische Eier. Diese Eier sind groß und durch eine vielschichtige Rinde gut geschützt. Sie entwickeln sich im Falle des Seeskorpions in etwa fünf Wochen, beim Steinpicker brauchen sie fast ein Jahr. Entsprechend müssen die Agonus-Eier mit mehr Vorratsstoffen versorgt werden als die Seeskorpion-Eier. Das bedeutet, daß von gleich großen Weibchen beider Arten das Agonus-Weibchen wesentlich weniger Eier legen kann als das *Myoxocephalus*-Weibchen (Tab. 1). Es sei hier auf das Extrem in der Gruppe hingewiesen: Nach NIKOLSKI (1957) legt der im Baikalsee endemische *Abyssocottus korotneffi* nur 40 Eier, die allerdings einen Durchmesser von  $4,5 \text{ mm}$  haben.

Tabelle 1

Eizahlen und Eigrößen der untersuchten Fische

Art	Eityp	Durchmesser (mm)	Länge des ♀ (cm)	Eizahl	Autor
<i>A. cataphractus</i>	demersal	1,76–2,23	16	2 375	GÖTTING 1961
<i>M. scorpius</i>	demersal	1,95–2,51	18	17 300	GÖTTING 1961
<i>P. platessa</i>	planktisch	1,84–1,96	37	137 800	BAGENAL 1958
<i>M. merlangus</i>	planktisch	0,97–1,32	36,5	1 064 900	MESSTORFF 1959
<i>C. lyra</i>	planktisch	0,69–0,94		?	

Die Eier von *Callionymus lyra*, *Pleuronectes platessa*, *Merlangius merlangus* und *Micromesistius pontassou* sind planktisch. Über die Fruchtbarkeit der erst- und der letztgenannten Art ist nichts bekannt. Die Körperformen von Scholle und Wittling sind so verschieden, daß sich kaum ein Vergleich durchführen läßt. Es wird immerhin deutlich, daß die kleineren Eier des Wittlings in bedeutend größerer Zahl produziert werden als die etwa doppelt so großen der Scholle. Die Zahl der Eier liegt bei beiden wesentlich höher als bei Arten mit benthischen Gelegen. Die Dicke der Hüllschichten ist stark herabgesetzt. Während es bei den Gadiden jedoch noch bündelartige Verstärkungen gibt, wenn auch sehr viel weniger als bei *Myoxocephalus* und *Agonus*, besteht die Eirinde bei *Callionymus* und *Pleuronectes* nur aus dem homogenen Teil des Cortex. Die bei *Callionymus* aufgesetzten Leisten dienen vielleicht der Verstärkung der Hüllschichten. Die planktischen Eier brauchen nur eine kurze, von der Wassertemperatur

abhängige Zeit für ihre Entwicklung. Ihr spezifisches Gewicht ist etwas niedriger als das des umgebenden Meerwassers, so daß sie sich bei unbewegtem Wasser an der Oberfläche sammeln, sich aber auch bei Seegang in den oberen, wärmeren und sauerstoffreicheren Schichten halten. Die benthischen Eier haben im Gegensatz dazu auf Grund ihres kompakteren Baues ein höheres spezifisches Gewicht, so daß sie absinken. Ihre Versorgung mit Frischwasser wird dadurch gesichert, daß sie wenig unter der Niedrigwasserlinie angeheftet werden, wo durch den Tidenhub und die witterungsbedingten Wasserbewegungen ein kräftiger Austausch gewährleistet wird. Die dicke Rindenschicht verleiht den demersalen Eiern hohe Druckbeständigkeit. Das ist besonders für die Eier wichtig, die in die Brandungszone geraten.

Es läßt sich also im großen und ganzen feststellen, daß die *planktischen Eier leichter gebaut sind als die benthischen*, aber es gibt unter ihnen verschiedene, artbedingte Spezialbildungen und *keinen Generaltypus „des planktischen Eies“ schlechthin*.

#### Schlußbetrachtungen

Im Vergleich zu anderen, spezialisierten Zelltypen bietet die Oocyte dem Lichtmikroskopiker wenig an Strukturgehalt. Sie scheint arm an Differenzierungen und kommt dadurch dem abstrahierten Typus der Zelle nahe (ANKEL 1933).

Aber auch in dieser strukturarmen Zelle laufen normalerweise die Reifungs-, Wachstums- und Dotterbildungsprozesse in mustergültiger Ordnung ab. In eng benachbarten Zellteilen entstehen zum Beispiel bestimmte Reservestoffe, die unabhängig voneinander und trotzdem in bestimmter zeitlicher Koordination gebildet werden. Von wo die Anregung zu diesem Geschehen ausgeht und wie die Abstimmung erfolgt, ist nicht bekannt. Das Differenzierungsgeschehen muß ein Ausdruck der der Eizelle innewohnenden oogenetischen Potenz sein. ANKEL (1930) definiert den Begriff der „oogenetischen Potenz“ wie folgt: „... die oogenetische Potenz“ kann „aufgefaßt werden als eine Veranlagung der Zelle, unter gegebenen Umständen ein Differenzierungsgeschehen in Gang zu setzen, das, bei gleichbleibenden äußeren Umständen, innerhalb bestimmter Zeiten zu bestimmten Resultaten führt. Dieses Differenzierungsgeschehen besteht wahrscheinlich aus dem Ablauf einer Reihe von Reaktionen, die, jede für sich, eine bestimmte Geschwindigkeit aufweisen und durch Abstimmung ihrer Ablaufgeschwindigkeiten gegeneinander zu einem geordneten Ganzen, in diesem Falle zu einer reifen, entwicklungsreifen Eizelle führen.“

Die elektronenmikroskopische Untersuchung hat nun ergeben, daß die Oocyte keineswegs arm an Differenzierungen ist. Nur werden die meisten Strukturinhalte erst bei stärkerer Vergrößerung sichtbar. Es zeigt sich insbesondere eine Fülle von Membranen, die intrazelluläre Gebiete voneinander abschließen. Das lichtmikroskopisch einheitlich aussehende Cytoplasma erweist sich damit in Wirklichkeit als hochkompliziertes System weitgehend isolierter und mehr oder weniger ineinander verschlungener Räume. Damit wird verständlich, daß verschiedene Stoffbildungsvorgänge eng benachbart und doch scharf begrenzt ablaufen können. Insbesondere wird die Tätigkeit der Mitochondrien als Kleinstlaboratorien erst durch die Kenntnis ihrer Feinstruktur verständlich.

Die ausgedehnten Membransysteme des endoplasmatischen Reticulum grenzen nicht nur Plasmabereiche voneinander ab, sie stellen gleichzeitig eine große Reaktionsoberfläche dar, durch die zu bestimmten Zeiten auf bestimmte Reize hin stofflicher Austausch erfolgen kann. Solcher Austausch ist auch an anderen Membranen, der Oocytenmembran zum Beispiel, zu erwarten und nach der Theorie der Grenzmembranen (W. J. SCHMIDT 1955) durchaus möglich. Die lipoidhaltigen Stellen der Membran sind für die Aufnahme und Abgabe hydrophober, die lipoidfreien für das Eindringen und Austreten hydrophiler Stoffe verantwortlich. Die Stoffpassage wird durch schnelle Wandlung der Membrantextur auf Reize hin möglich, die wiederum auf der Kontraktilität der Proteinfila beruht.

Die membranumschlossenen Räume sind oft schmal und langgestreckt und erwecken den Eindruck, es handele sich um Kanäle. Solche Kanäle können als Verbindungswege zwischen verschiedenen Zellbereichen aufgefaßt werden. Andere Verbindungen werden durch die Vesikel hergestellt, die auch einen Teil des Stofftransportes zwischen den Follikelzellen und der Oocyte übernehmen.

Die Follikelzellen „helfen“ der Oocyte bei ihrer Vorbereitung zur Aufnahme des Spermium und der damit einsetzenden Ontogenese. Sie liefern die Substanzen, die als Dotter den deutoplasmatischen Anteil der Zelle darstellen und die für die frühen Entwicklungsstadien nach der Befruchtung benötigt werden. Diese Substanzen werden zum überwiegenden Teil nur vom Blut übernommen und weitergegeben, zum kleineren Teil in den Follikelzellen selbst synthetisiert, die daher reich sind an Ergastoplasma. Der innige Kontakt zur Oocyte wird durch Zellausläufer hergestellt. Die Verbindung bleibt auch dann noch erhalten, wenn die Eizelle sich mit dicken Hüllschichten umgibt. Dazu werden Porenkanäle um die Zellfortsätze offengehalten, die sich erst dann durch Verquellung schließen, wenn bei der Ovulation der enge Kontakt zum Follikel gelöst wird.

Der Bau des Follikels und der Corticalschichten der Oocyte ist lichtmikroskopisch oft untersucht worden, doch bei verschiedenen Tiergruppen mit unterschiedlichen Ergebnissen, die damit auch zu verschiedenen Deutungen führten. Die elektronenoptisch gewonnene Kenntnis der Feinstruktur zeigt nun, daß der Aufbau des Follikels bei den Teleosteen mit dem der Amphibien zumindest in der topographischen Anordnung der Schichten übereinstimmt, während sich über die Herkunft der einzelnen Teile in vielen Fällen noch nichts sagen läßt. Es wird aber deutlich, daß hier ein allgemeines Prinzip verwirklicht ist.

Dasselbe gilt für den Bau der Barriere zwischen Oocyte und Kapillaren. Die Zahl der Schichten kann aus noch nicht erklärbaren Gründen nicht unter ein bestimmtes Minimum sinken. Zwei Möglichkeiten sind denkbar: (1) es würde bei weiterer Verringerung der Schichtzahl die Gesamt-Filtrationsleistung nicht ausreichend sein oder (2) jede Schicht hat eine spezifische Filtrationswirkung nur für bestimmte Stoffe, so daß sie unentbehrlich ist. Weitere Untersuchungen müssen ergeben, welche Möglichkeit zutrifft. Wesentliche Bedeutung als Ultrafilter scheint der Basalmembran zuzukommen. Das elektronenmikroskopische Bild gibt einen Eindruck vom Bau dieses oft vielschichtigen Systems aus vernetzten fädigen Elementen, dessen Funktion vielleicht mit Hilfe der oben geschilderten Theorie der Grenzmembranen erklärbar wird.

Das Lichtmikroskop zeigt im Cytoplasma nur höchst langsame Veränderungen: Zonenbildung im Plasma, Anreicherung von Dotter erfolgen über einen langen Zeit-

raum. Das Elektronenmikroskop erweckt, obwohl es direkt nur ein statisches Bild liefert, den Eindruck hoher Dynamik in der Zelle. Vesikel wandern, Membranen entstehen, werden umgebaut, umgelagert, lösen sich wieder auf. Trotz (oder infolge?) dieser Dynamik herrscht in der Zelle ein wohlabgewogenes Gleichgewicht. Nur so kann die spätere Ontogenese vorbereitet werden. Einzelheiten dieser Vorbereitung und ihre Bedeutung für die Embryonalentwicklung sind nicht bekannt. Aber es deutet alles darauf hin, daß bei den Teleosteen – ähnlich wie bei den Amphibien – die normale Entwicklung von der inneren Struktur des Eies abhängt, nicht von einer bestimmten Lage und Richtung der aufeinanderfolgenden Furchungsteilungen.

So ist die Oocyte ein sinnvolles Ganzes, nur zu verstehen aus der gemeinsamen Betrachtung von Struktur und Funktion. Das Elektronenmikroskop ermöglicht das bessere Erkennen der Strukturen und erleichtert damit das Verständnis der funktionellen Zusammenhänge.

Die Elektronenmikroskopie mag zunächst als immer enger werdende Spezialisierung der Strukturbetrachtung erscheinen. Sie ist in Wirklichkeit nur einer der Wege, die einer exakten Naturwissenschaft zur Verfügung stehen, um über die Kenntnis der submikroskopischen Strukturen zur Kenntnis des molekularen Feinbaus und damit zur Erkenntnis der kausalen Zusammenhänge zu gelangen.

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Feinstruktur verschiedener Entwicklungs-Stadien von Oocyten mariner Teleosteer wurde elektronenmikroskopisch untersucht.
2. Das überwiegende Strukturelement sind Membranen und Membransysteme.
3. Die primäre Oocytenmembran im engeren Sinne ist eine typische Zellmembran, die sich nicht von anderen Zellmembranen unterscheidet.
4. In jungen Entwicklungsstadien ist der Kontakt zwischen Oocyten und Follikel besonders eng. Die Oocytenmembran und der Interzellularraum verschwinden in engbegrenzten Bereichen.
5. Die Oocytenmembran bildet Mikrovilli, die entweder gleichmäßig über die Eizelloberfläche verteilt sind oder in Gruppen zusammenstehen.
6. Außerhalb der Oocyte wird zwischen den Mikrovilli eine homogene Substanz angelagert und damit die Bildung der Corticalschichten eingeleitet.
7. Die Eirinde (Cortex) besteht aus zwei Schichten. Die äußere kann leistenförmige Erhebungen tragen, aus der inneren können sich fibrilläre Bündel differenzieren, die die Hülle enorm verstärken. Die Verbindung nach außen wird durch Radialkanäle aufrechterhalten, die sich erst kurz vor der Eiablage durch Verquellung der Fibrillenbündel schließen.
8. Die Kernhülle besteht aus einer äußeren und einer inneren Membran, dazwischen liegt die perinucleäre Zisterne. Poren sind häufig, annulusartige Strukturen seltener.
9. Die Kerne vergrößern während des Wachstums der Oocyten ihre Oberfläche durch Ausbuchtungen, in denen gewöhnlich ein Nucleolus liegt. Nucleolarmaterial wird an das Cytoplasma abgegeben.
10. Von der Kernhülle schnüren sich Vesikel in das Cytoplasma ab, die sich in jungen

Oocyten zu Membransäckchen formieren. Die Membransäckchen umgrenzen größere, weitgehend geschlossene Bezirke im Plasma, in denen unter Beteiligung von Mitochondrien Dotter gebildet wird. Sie wandern dann nach außen und zerfallen unter der Zellmembran in Vesikel.

11. Ergastoplasma findet sich reichlich in den Zellen des Follikelepithels, kaum in der Oocyte selbst.
12. Mitochondrien treten zuerst in Kernnähe auf, später erfüllen sie das Cytoplasma. Die Form ihrer Innenstrukturen ist variabel.
13. Durch konzentrische Umgruppierung der Innenstrukturen gehen aus den Mitochondrien vielschichtig-membranöse Körper hervor, die in älteren Oocyten enge topographische Beziehung zu dem spärlich vorhandenen Ergastoplasma haben.
14. Die Mitochondrien geben nach Umordnung ihrer Innenstrukturen langgestreckte, schmale Vesikel an das Cytoplasma ab. Damit wird nicht nur membranöses Material geliefert, es öffnet sich auch eine direkte Verbindung vom inneren Chondrioplasma zum Cytoplasma.
15. Das diffus aus dem Kern austretende Material wird – wenigstens zum Teil – in den Hohlkehlen aufgewundener Mitochondrien konzentriert.
16. Die in den Mitochondrien nachgewiesenen osmiophilen Partikel sind nicht Zentren der Dotterbildung (wie vielleicht bei *Rana*).
17. Zwei Wege der Dotterbildung werden unterschieden: frei im Cytoplasma oder innerhalb membranumschlossener Bezirke. Im Cytoplasma entsteht vor allem Lipoid-Dotter, innerhalb von Membranen Eiweißdotter.
18. Der „Dotterkern“ der Fischeocyten ist einfach granulär ohne weiteren Strukturinhalt. Er besteht aus Kernmaterial, das sich in einem mittleren Cytoplasmabereich vielleicht unter Mithilfe von Mitochondrien gesammelt hat und zur Zellperipherie wandert, wobei sich der Komplex wieder auflöst.
19. Die Dalton-Komplexe bestehen aus 4 bis 5 flachen Zisternen, die nach den Seiten Vesikel abschnüren.
20. Vesikel verschiedenster Herkunft übernehmen einen Teil des Stofftransportes in der Eizelle und als Pinocytose-Vesikel auch den Austausch zwischen Follikelzellen und Oocyte.
21. Ribosomen treten im Cytoplasma der Oocyte erst dann auf, wenn Nucleolarsubstanz den Kern verlassen hat.
22. Der zur Oocyte gehörende Follikel besteht aus dem Follikelepithel, der Basalmembran und der Theca folliculi.
23. Der Interzellularraum zwischen Oocyte und Follikelepithel wird durch Einlagerung vor allem von Mucopolysacchariden zur Zona pellucida.
24. Bei der Ovulation trennt sich die Oocyte entlang der Basalmembran vom Follikel.
25. Die Barriere zwischen Blut und Oocyte besteht aus mindestens fünf Schichten.
26. Eine klare Definition der Strukturen zwischen Oberflächenepithel und Oocytenplasma wird angestrebt.
27. Die als Ultrafilter dienende Basalmembran ist in artspezifischer Weise ein- oder vielschichtig.
28. Demersale Eier sind widerstandsfähig durch dicke Hüllschichten. Planktische Eier

sind leichter gebaut, weichen in Einzelheiten der Konstruktion aber bei verschiedenen Arten voneinander ab.

29. Das Differenzierungsgeschehen ist Ausdruck der der Eizelle innewohnenden oogenetischen Potenz.
30. Nur die gemeinsame Betrachtung von Struktur und Funktion vermag zum vollen Verständnis der in der Oocyte ablaufenden Vorgänge zu führen.

Herrn Prof. Dr. W. E. ANKEL möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank sagen, daß er die Arbeiten im Gießener Zoologischen Institut ermöglichte und stetes Interesse an ihrem Fortgang nahm. Weiter danke ich den Kollegen von der Biologischen Anstalt Helgoland für ihre Unterstützung bei der Beschaffung des Materials, dem Lande Hessen für die Bereitstellung eines vierwöchigen Arbeitsplatzes an der Meeresstation der Biologischen Anstalt Helgoland und der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die Elektronenmikroskop und Ultramikrotom zur Verfügung stellte. Herrn Prof. WOHLFAHRT-BOTTERMANN (Bonn) und Mitarbeitern danke ich für Gastfreundschaft und erste Einführung in elektronenmikroskopische Arbeitsweisen.

#### ZITIERTE LITERATUR

- AFZELIUS, B. A., 1955. The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with the electron microscope. *Expl Cell Res.* **8**, 147–158.
- 1956. Electron microscopy of Golgi elements in sea urchin eggs. *Expl Cell Res.* **11**, 67–85.
- ANDERSON, E. & BEAMS, H. W., 1960. Cytological observations on the fine structure of the guinea pig ovary with special reference to the oogonium, primary oocyte and associated follicle cells. *J. Ultrastruct. Res.* **3**, 432–446.
- ANKEL, W. E., 1930. Die atypische Spermatogenese von *Janthina* (*Prosobranchia*, *Ptenoglossa*). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **11**, 491–608.
- 1933. Ei und Eibildung. In: Handwörterbuch der Naturwissenschaften. Hrsg. von R. Dittler, G. Joos, E. Korschelt (u. a.). 2. Aufl. G. Fischer, Jena **3**, 7–36.
- ARNDT, E. A., 1960a. Über die Rindenvakuolen der Teleosteroozyten. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **51**, 209–224.
- 1960b. Untersuchungen über die Eihüllen von Cypriniden. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **52**, 315–327.
- BAGENAL, T. B., 1958. The fecundity of Clyde plaice. *J. mar. biol. Ass. U.K.* **37**, 309–313.
- BEAMS, H. W., 1964. Cellular membranes in oogenesis. In: Cellular membranes in development. Proceedings . . . Ed. by M. Locke. Acad. pr., New York, 175–219.
- & KESSEL, R. G., 1963. Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk. *J. Cell Biol.* **18**, 621–649.
- BERNHARD, W., GAUTIER, A. & OBERLING, C., 1951. L'ultrastructure du nucléole de quelques cellules animales, révélée par le microscope électronique. *C. r. Séanc. Soc. Biol.* **145**, 566.
- BERTIN, L., 1958. Sexualité et fécondation. In: Traité de zoologie. Publ. sous la direction de P.-P. Grassé. Masson, Paris **13**, 2, 1584–1652.
- BLANCHETTE, E. J., 1961. A study of the fine structure of the rabbit primary oocyte. *J. Ultrastruct. Res.* **5**, 349–363.
- BRACHET, J., 1960. Ribonucleic acids and the synthesis of cellular proteins. *Nature, Lond.* **186**, 194–199.
- CALLAN, H. G. & TOMLIN, S. G., 1950. Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. *Proc. R. Soc. London (B)* **137**, 367–378.
- CASLEY-SMITH, J. R., 1964. The Brownian movements of pinocytotic vesicles. *Jl R. microsc. Soc.* (Ser. 3) **82**, 257–261.
- CHANDRA, S., 1962. The reversal of mitochondrial membrane. *J. Cell Biol.* **12**, 503–513.

- CHOPRA, H. C., 1960. Cytological and cytochemical study of the growing oocytes of the fish, *Boleophthalmus dussumerii*. *Cellule* **60**, 301–318.
- COWDEN, R. R., 1963. Cytochemical studies of oocyte growth in the lancelet, *Branchiostoma caribaeum*. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **60**, 399–408.
- DALTON, A. J., 1961. Golgi apparatus and secretion granules. *In: The cell*. Ed. by J. Bracher & E. Mirsky. Acad. pr., New York **2**, 603–619.
- DANIELLI, J. F., 1958. Surface chemistry and cell membranes. *In: Surface phenomena in chemistry and biology*. Ed. by J. E. Danielli, K. G. A. Pankhurst & A. C. Riddiford. Pergamon pr., London, 246–265.
- & DAVSON, H. A., 1935. A contribution to the theory of permeability of thin films. *J. cell. comp. Physiol.* **5**, 495–508.
- DANIELS, E. W., 1964. Origin of the Golgi system in amoebae. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **64**, 38–51.
- DURAND, M., 1958. Incorporation de thymidine tritiée dans l'ovaire des Gryllides. *Expl Cell Res.* **15**, 257–259.
- EPSTEIN, M. A., 1957. The fine structural organisation of Rous tumour cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 851–858.
- ERB, W. & MAURER, W., 1962. Autoradiographische Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Oocyten und Eizellen. *Z. Naturf.* **17b**, 268–273.
- ESTABLE, E. & SOTELO, R., 1954. The behavior of the nucleolonemata during mitosis. *In: Fine structure of cells*. 8th Int. Congr. Cell Biol., Leiden. Wiley, New York, 170–190.
- FAVARD, P. & CARASSO, N., 1958. Origine et ultrastructure de plaquettes vitellines de la planorbe. *Archs Anat. microsc. Morph. exp.* **47**, 211–234.
- FELDHERR, C. M. & HARDING, C. V., 1964. The permeability characteristics of the nuclear envelope at interphase. *In: Protoplasmatologia*. Hrsg. von L. V. Heilbrunn & F. Weber. Springer, Wien **5**, 2, 35–50.
- FERNÁNDEZ-MORÁN, H., 1962. Cell membrane ultrastructure: low-temperature electron microscopy and X-ray diffraction studies of lipoprotein components in lamellar systems. *In: Ultrastructure and metabolism of the nervous system*. Ed. by S. R. Korey (a. o.). Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (*Res. Publ. Ass. Res. nerv. ment. Dis.* **40**, 235–267.)
- FICQ, A., 1955. Étude autoradiographique du métabolisme de l'oocyte d'*Asterias rubens* au cours de la croissance. *Archs Biol.* **66**, 509–524.
- FLÜGEL, H., 1964a. Electron microscopic investigations on the fine structure of the follicular cells and the zona radiata of trout oocytes during and after ovulation. *Naturwissenschaften* **51**, 564–565.
- 1964b. Desmosomes in the follicular epithelium of growing oocytes of the eastern brook trout *Salvelinus fontinalis* (Electron microscopic investigations). *Naturwissenschaften* **51**, 566.
- 1964c. On the fine structure of the zona radiata of growing trout oocytes. *Naturwissenschaften* **51**, 542.
- FRANCHI, L. L., MANDL, A. M. & ZUCKERMAN, S., 1962. The development of the ovary and the process of oogenesis. *In: The ovary*. Ed. by S. Zuckerman. Acad. pr., New York, 1–88.
- FRANZ, V., 1907. Über die Bedeutung des sog. „Dotterkerns“ im Schollenei. *Verh. dt. zool. Ges.* **17**, 99–105.
- GALL, J. G., 1964. Electron microscopy of the nuclear envelope. *In: Protoplasmatologia*. Hrsg. von L. V. Heilbrunn & F. Weber. Springer, Wien **5**, 2, 4–25.
- GONZALES, F. & KARNOVSKY, M. J., 1961. Electron microscopy of osteoblasts in healing fractures of rat bone. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 299–316.
- GÖTTING, K. J., 1961. Beiträge zur Kenntnis der Grundlagen der Fortpflanzung und zur Fruchtbarkeitsbestimmung bei marinen Teleosteen. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **8**, 1–41.
- 1964. Entwicklung, Bau und Bedeutung der Eihüllen des Steinpickers (*Agonus cataphractus* L.). *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **11**, 1–12.
- 1965. Die Feinstruktur der Hüllschichten reifender Oocyten von *Agonus cataphractus* L. (Teleostei, Agonidae). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **66**, 405–414.

- GRANBOULAN, N. & GRANBOULAN, P., 1964. Cytochimie ultrastructurale du nucléole. 1. Mise en évidence de chromatine à l'intérieur du nucléole. *Expl Cell Res.* **34**, 71-87.
- GURAYA, S. S., 1965. A comparative histochemical study of fish (*Channa marulius*) and amphibian (*Bufo stomaticus*) oogenesis. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **65**, 662-700.
- HARRIS, H., 1965. Die Ribonucleinsäuren im Zellkern und Cytoplasma tierischer Zellen. *Endeavour* **24**, 50-56.
- Hsu, W. S., 1962. An electron microscopic study on the origin of yolk in the oocytes of the ascidian *Boltenia villosa* STIMPSON. *Cellule* **62**, 147-155.
- JOLLIE, W. P. & JOLLIE, L. G., 1964a. The fine structure of the ovarian follicle of the ovoviparous Poeciliid fish, *Lebistes reticulatus*. 1. Maturation of follicular epithelium. *J. Morph.* **114**, 479-502.
- 1964b. The fine structure of the ovarian follicle of the ovoviparous Poeciliid fish, *Lebistes reticulatus*. 2. Formation of follicular pseudoplacenta. *J. Morph.* **114**, 503-526.
- KEMP, N. E., 1956. Electron microscopy of growing oocytes of *Rana pipiens*. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 281-292.
- KESSEL, R. G., 1964. Intranuclear annulate lamellae in oocytes of the tunicate, *Styela partita*. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **63**, 37-51.
- 1965. The role of the Golgi complex in the formation of secretion in the test cells of the follicle of the tunicate, *Ciona*. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **66**, 106-117.
- & KEMP, N. E., 1962. An electron microscope study on the oocyte, test cells and follicular envelope of the tunicate, *Molgula manhattensis*. *J. Ultrastruct. Res.* **6**, 57-76.
- KOMNICK, H. & WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E., 1964. Morphologie des Cytoplasmas. *Fortschr. Zool.* **17**, 1-154.
- LAHAYE, J., 1961. Étude histologique et histochimique de l'ovogénèse chez *Alosa alosa*. C. r. Séanc. mens. Soc. Sci. nat. phys. Maroc **27**, 151-155.
- LANZAVECCHIA, G., 1960. The formation of the yolk in frog oocytes. *Proc. Eur. reg. Conf. Electron Microsc., Delft* **2**, 746-749.
- LEBLOND, C. P. & AMANO, M., 1962. Synthetic processes in the cell nucleus. 4. Synthetic activity in the nucleolus as compared to that in the rest of the cell. *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 162-174.
- MESSTORFF, J., 1959. Untersuchungen über die Biologie des Wittlings *Merlangius merlangus* (L.) in der Nordsee. *Ber. dt. Wiss. Komm. Meeresforsch.* **15**, 277-334.
- MIRSKY, A. E. & OSAWA, S., 1961. The interphase nucleus. In: The cell. Ed. by J. Brachet & A. Mirsky. Acad. pr., New York, **2**, 677-770.
- MÜLLER, H., 1962. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Bildung der Eihüllen bei Zahnkarpfen. *Zool. Anz. (Suppl. Bd)* **25**, 294-306.
- & STERBA, G., 1963. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Bildung und Struktur der Eihüllen bei Knochenfischen. 2. Die Eihüllen jüngerer und älterer Oozyten von *Cynolebias belotti* STEINDACHNER (Cyprinodontidae). *Zool. Jb. (Anat. ontog. Tiere)* **80**, 469-488.
- NAYYAR, R. P., 1964. The yolk nucleus of fish oocytes. *Q. Jl microsc. Sci.* **105**, 353-358.
- NIKOLSKI, G. W., 1957. Spezielle Fischkunde. A. d. Russ. Dt. Verl. d. Wiss., Berlin, 632 pp.
- NOVIKOFF, A. B., 1961. Mitochondria (Chondriosomes). In: The cell. Ed. by J. Brachet & A. Mirsky. Acad. pr., New York, **2**, 299-421.
- OSADA, M., 1959. Electron-microscopic studies on protozoa. 1. Fine structure of *Entamoeba histolytica*. *Keijo J. Med.* **8**, 99-103.
- PALADE, G. E., 1955. A small particulate component of the cytoplasm. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 59-68.
- & PORTER, K. R., 1954. Studies on the endoplasmic reticulum. 1. Its identification in cells in situ. *J. exp. Med.* **100**, 641-656.
- PARKS, H. F., 1962. Unusual formation of ergastoplasm in parotid acinous cells of mice. *J. Cell Biol.* **14**, 221-235.
- PEACHY, L. D., 1962. Accumulation of divalent ions in mitochondrial granules of intact cells. In: Proceedings of the 5th Int. Congr. for electron microscopy, Philadelphia, Pa, 1962. Ed. by S. S. Breese. Acad. pr., New York, **2**, 1-3.
- PEASE, D. C., 1960. The basement membrane: substratum of histological order and complexity.

- In: Verhandlungen des 4. Int. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin 1958. Hrsg. von W. Bargmann (u. a.). Springer, Berlin, 2, 139–155.
- PETRY, G. & KÜHNEL, W., 1965. Der Feinbau des Dottersackepithels und dessen Beziehung zur Eiweißresorption (Kaninchen). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **65**, 27–46.
- POLLISTER, A. W., GETTNER, M. & WARD, R., 1954. Nucleocytoplasmic interchange in oocytes. *Science, N. Y.* **120**, 789.
- PORTER, K. R., 1961. The ground substance; observations from electron microscopy. In: The cell. Ed. by J. Brachet & A. Mirsky. Acad. pr., New York, 2, 621–675.
- RAVEN, C. P., 1961. Oogenesis: The storage of developmental information. Pergamon pr., London, 274 pp.
- REBHUN, L. I., 1956. Electron microscopy of basophilic structures of some invertebrate oocytes. 1. Periodic lamellae and the nuclear envelope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 93–104.
- RHODIN, J., 1954. Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Godvil, Stockholm.
- ROBERTSON, J. D., 1959. The ultrastructure of cell membranes and their derivations. *Biochem. Soc. Symp.* **16**, 3–43.
- ROSE, G. G., 1961. The Golgi complex in living osteoblasts. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 463–478.
- RUNNSTRÖM, J., 1963. Sperm-induced protrusions on sea urchin oocytes: A study of phase separation and mixing on living cytoplasm. *Devl Biol.* **7**, 38–50.
- RUSKA, H., 1962. Über funktionelle Konsequenzen der Vielphasigkeit der Zelle. *Proc. 4th Int. Congr. Neuropath.* **2**, 42–49.
- SCHMIDT, W., 1962. Struktur und Leistung des Golgi-Apparates. *Fortschr. Med.* **80**, 737–742.
- SCHMIDT, W. J., 1955. Die Erforschung molekularer Texturen tierischer Zellen und Gewebe an Hand der Polarisationsoptik. *Nova Acta Leopoldina (N.F.)* **17**, 497–516.
- SCHNEIDER, L., 1964. Morphogenese und Dynamik cytoplasmatischer Membranen. *Zool. Anz. (Suppl. Bd)* **28**, 243–272.
- SESHACHAR, B. R. & NAYYAR, R. P., 1963. Intranuclear lipids in the early oocytes of *Heteropneustes fossilis* (Teleostei). *Q. Jl microsc. Sci.* **104**, 69–73.
- SITTE, P., 1961. Die submikroskopische Organisation der Pflanzenzelle. *Ber. dt. bot. Ges.* **74**, 177–206.
- SOTELO, J. R. & PORTER, K. R., 1959. An electron microscope study of the rat ovum. *J. biophys. biochem. Cytol.* **5**, 327–343.
- STAHL, A. & LERAY, C., 1961. L'ovogenèse chez les poissons téléostéens. 1. Origins et signification de la Zona radiata et des ses annexes. *Archs Anat. microsc. Morph. exp.* **50**, 251–268.
- STICH, H., 1956. Bau und Funktion der Nukleolen. *Experientia* **12**, 7–14.
- SWIFT, H., 1956. The fine structure of annulate lamellae. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 415–418.
- TELFER, W. H., 1961. The route of entry and localization of blood proteins in the oocytes of saturniid moths. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 747–759.
- VINCENT, W. S., 1957. Some studies on differentiation and development of the oocyte. In: The beginnings of embryonic development. Ed. by A. Tyler, R. C. v. Borstel, C. B. Metz. Am. Advmt Adv. Sci., Washington, D.C. **48**, 1–22.
- VINCENTIS, M. de, 1960. Osservazioni autoradiografiche sul metabolismo dell'ovocita in crescita di *Antedon rosacea* LAMARCK. *Rc. Ist. Sci. Camerino* **1**, 308–316.
- 1962. Weitere autoradiographische Beobachtungen betreffend den Stoffwechsel der wachsenden Oocyte des *Antedon rosacea* LAMARCK. *Naturwissenschaften* **49**, 262–263.
- VOGELL, W., 1963. Struktur und funktionelle Biochemie der Mitochondrien. 1. Die Morphologie der Mitochondrien. In: Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle. Wiss. Konf. d. Ges. Dt. Naturf. u. Ärzte, Rottach-Egern 1962. Springer, Berlin, 56–68.
- WARD, R. T., 1962. The origin of protein and fatty yolk in *Rana pipiens*. 2. Electron microscopical and cytochemical observations of young and mature oocytes. *J. Cell Biol.* **14**, 309–341.

- WARTENBERG, H., 1962. Elektronenmikroskopische und histochemische Studien über die Oogenese der Amphibieneizelle. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **58**, 427–486.
- & STEGNER, H. E., 1960. Über die elektronenmikroskopische Feinstruktur des menschlichen Ovarialeies. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **52**, 450–474.
- WATSON, M. L., 1955. The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 257–270.
- 1959. Further observations on the nuclear envelope of the animal cell. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 147–156.
- WEISSENFELS, N., 1958a. Über die Entleerung und Entwicklung der Mitochondrien und den Feinbau des Cytoplasmas von embryonalen Zellen. *Z. Naturf.* **13b**, 182.
- 1958b. Über die Entstehung der Promitochondrien und ihre Entwicklung zu funktionstüchtigen Mitochondrien in den Zellen von Embryonal- und Tumorgewebe. *Z. Naturf.* **13b**, 203–205.
- WISCHNITZER, S., 1958. An electron microscope study of the nuclear envelope in amphibian oocytes. *J. Ultrastruct. Res.* **1**, 201–222.
- 1961. The amphibian oocyte nucleus. *Nucleus* **4**, 177–198.
- 1963. The ultrastructure of the layers enveloping yolk-forming oocytes from *Triturus viridescens*. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **60**, 452–462.
- 1964. An electron microscope study of the formation of the zona pellucida in oocytes from *Triturus viridescens*. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* **64**, 196–209.
- WITTMANN, H. G., 1963. Übertragung der genetischen Information. *Naturwissenschaften* **50**, 76–88.
- WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E., 1957a. Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. *Naturwissenschaften* **44**, 287–288.
- 1957b. Cytologische Studien. 4. Die Entstehung, Vermehrung und Sekretabgabe der Mitochondrien von *Paramecium*. *Z. Naturf.* **12b**, 164–167.
- 1963. Grundelemente der Zellstruktur. *Naturwissenschaften* **50**, 237–249.
- WORLEY, L. G. & MORIBER, L. G., 1961. The origin of protein yolk from the Golgi apparatus in gastropods. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **23**, 352–356.
- YAMAMOTO, T. S., 1963. Eggs and ovaries of the stickleback, *Pungitius tymensis*, with a note on the formation of a jelly-like substance surrounding the egg. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.* (Ser. 6) **15**, 190–199.
- YASUZUMI, G. & TANAKA, H., 1957. Electron microscope studies on the fine structure of the ovary. 1. Studies on the origin of yolk. *Expl Cell Res.* **12**, 681–685.