



Title	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER KINETIK DER SPERMATOGENESE BEIM MINK (MUSTELA VISON) : I SAMENEPITHELZYKLUS IN DER PAARUNGSZEIT
Author(s)	TIBA, Tosiro; ISHIKAWA, Tsune; MURAKAMI, Akira
Citation	Japanese Journal of Veterinary Research, 16(2-3), 73-86
Issue Date	1968-09
DOI	https://doi.org/10.14943/jjvr.16.2-3.73
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/1901
Type	departmental bulletin paper
File Information	KJ00002369719.pdf



**HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER KINETIK
DER SPERMATOGENESE BEIM MINK
(*MUSTELA VISON*)**

I SAMENEPITHELZYKLUS IN DER PAARUNGSZEIT*¹

Tosiro TIBA, Tsune ISHIKAWA
und Akira MURAKAMI*²

*Institut für Veterinäre Obstetrik
Tierärztliche Fakultät
Hokkaido-Universität, Sapporo, Japan*

(Eingegangen am 27. Mai 1968)

EINLEITUNG

Als eine der unmittelbarsten Methoden für Untersuchung der Entstehungsursache der Samenepithelwelle dürfte man eine histologische Beobachtung der Welle in dem Samenkanälchenpräparat anführen, das man in der Pubertät gerade am Beginn der spermatogenetischen Aktivität aus dem Hoden einzeln isolierte und longitudinal schnitt. Für solche Untersuchung ist eine Tierart, die folgenden Forderungen erfüllen kann, wünschenswert:

- 1 Der Zeitpunkt des Anfangs der Spermatogenese soll durch die Inspektion oder Palpation des Tieres leicht und sicher erkannt werden können.
- 2 Je nach Bedarf sollte man eine bestimmte Zahl der Tiere leicht sammeln können, da zum obiger. Zeitpunkt kein erheblicher Unterschied bei den einzelnen Individuen erkannt werden kann.

Als die den vorausgeschickten Bedingungen entsprechende Tierart haben die Verfasser den Mink ins Auge gefasst.

Der Mink hat nur eine Paarungszeit mit der Geburt im Frühling, und durch die ganze Dauer einer Paarungszeit erfährt das Männchen eine grosse Schwankung in der spermatogenetischen Aktivität. Die Angaben der Voruntersucher^{2,4,7,8)} über die jahreszeitliche Schwankung in der samenbildenden Tätigkeit können wie folgt zusammengefasst werden:

Bei den Ende April oder Anfang Mai geborenen Männchen kann man eine beginnende Zunahme des Hodendiameters im Oktober oder im November erkennen, d. i. also im 6. oder 7. Lebensmonat. Die Hoden vergrössern sich mit der Zeit,

*¹ Referat, erstattet in der 62. Sitzung der Japanischen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Gifu, Oktober 1966

*² Shine Mink AG., Hiroshima, Hokkaido

um im Februar oder im März den Höhepunkt zu erreichen. Auch histologisch durchläuft das Hodengewebe einen mit der Hodenvergrösserung schritthaltenden Veränderungsprozess. Seit dem Beginn der Spermatogenese am Anfang Dezember vermehren sich die Samenzellen allmählich, und im Januar kommt die Zeit, wo man bei allen den Tieren die ausgebildeten Spermatozoen enthaltenden Samenkanälchen finden kann. Der Höhepunkt der samenbildenden Tätigkeit ist im März, und die Begattungen finden auch in diesem Monat am häufigsten statt. Nach der etwa einmonatigen Paarungszeit beginnt sich der Testikel zu verkleinern. Bei manchen Fällen sollte man schon Ende März histologisch eine beginnende regressive Veränderung an den Samenzellen beobachten können. Der Rückbildungsprozess schreitet im Laufe der Zeit fort, und im Mai kommt ein vollkommener Ruhezustand der Spermatogenese. Dieses Ruhestadium dauert bis zum Wiederbeginn der Spermatogenese im November desselben Jahres, d. i. also etwa 6 Monate lang.

Der oben beschriebene Veränderungsprozess des Hodendiameters ist durch die äussere Palpation leicht zu verfolgen, und deshalb stellt sich die Schwankung der Hodengrösse als ein gutes Merkmal für Unterscheidung zwischen den oben genannten verschiedenen Stadien der Hodentätigkeit dar. Ausserdem, weil kein erheblicher Unterschied bei den Individuen in jedem Zeitpunkt des Vorhandenseins der Diameterschwankung erkannt wird, ist es leicht möglich, sich in einer beliebigen Zeit eine bestimmte Zahl der Tiere zu verschaffen.

Ein anderer Grund dafür, dass der Mink zur Untersuchung der Samenepithelwelle mit Vorliebe angewandt wurde, liegt darin, dass die Samenkanälchen des Minks viel weniger geschlängelt sind als z. B. die des Bullen, und es deswegen leicht ist, ein langes Kanälchen ohne Verletzung zu isolieren und ein Längsschnittpräparat zuzurichten.

Nun, wenn man die Entstehungsursache der Samenepithelwelle durch die histologische Beobachtung der kinetischen Veränderung des Samenepithels in den verschiedenen Stadien der spermatogenetischen Tätigkeit erfassen will—das ist der ursprüngliche Zweck der Verfasser—, sind zuerst gründliche Kenntnisse von den histologischen Bildern der Zellgemeinschaften im Samenepithelzyklus und der Samenepithelwelle auf der Höhe der Funktionstüchtigkeit des Hodens i. e. in der Paarungszeit durchaus notwendig. Denn diese Kenntnisse werden eine grosse Rolle als Kriterium bei der vergleichenden Beobachtung der histologischen Veränderungen des Samenepithels in den obenerwähnten Stadien der Hodenfunktion spielen müssen.

Aus diesen Gründen wurde zunächst eine Untersuchung des Zyklus und der Welle des Samenepithels in der Paarungszeit angestellt. In der vorliegenden Untersuchung aber wird nur eine Beobachtung des Zyklus—erst auf Grund der

Resultate dieser Beobachtung kann man zur Untersuchung der Welle fortschreiten —behandelt.

MATERIAL UND METHODE

Wie in Tabelle 1 eingetragen, handelt es sich in der vorliegenden Untersuchung um 4 Minke von derselben Rasse im gleichen Alter. Weil sie alle in ein und derselben Farm

TABELLE 1 Versuchstiere

TIER	RASSE	GEBURTSTAG	HODENENTNAHME NACH SCHLACHTUNG
B ₁	Pastell	30 IV 1964	29 III 1965
B ₂	„	26 IV „	„
B ₃	„	4 V „	„
B ₄	„	29 IV „	„

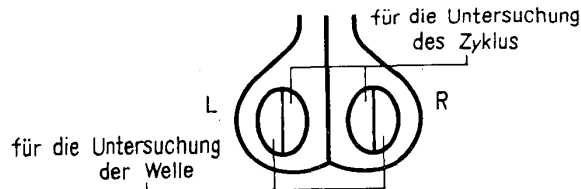
erzeugt und gefüttert worden waren, dürfte man annehmen, dass sie unter fast gleichen Fütterungs- und Haltungsverhältnissen aufgewachsen sind.

Der Grund, warum im März die Hoden entnommen wurden, liegt, wie schon eingehend erklärt, darin, dass die spermatogenetische Tätigkeit in diesem Monat den Höhepunkt erreicht. Es bleibt jedoch unbestimmt, ob die Tiere in der Tat Fertilität hatten oder nicht. Insofern es den in der Farm gezüchteten Mink betrifft, ist es eigentlich unmöglich, die Fertilität des Männchens genau festzustellen, da man ein Weibchen in der Farm eine ganze Paarungssaison hindurch wenigstens mit zwei verschiedenen Männchen kreuzen lässt und daher den Vater der erzeugten Jungen nicht identifizieren kann. In der vorliegenden Untersuchung wurden also nur die Männchen sorgfältig ausgewählt, welche eine Paarungssaison hindurch mehr als zweimal die Weibchen gedeckt hatten, wobei in ihrem Deckakt nichts Abweichendes gefunden wurde, und welche in der Palpation unmittelbar vor der Hodenentnahme die Hoden von ganz normaler Grösse, Konsistenz sowie Lage erkennen liessen.

Die Versuchsminke wurden durch subkutane Injektion von Strychninnitrat getötet, um unmittelbar nach der Hodenentnahme aus den Leichen die Haut abziehen zu können. Als die generalisierten Krämpfe vor dem Tod der injizierten Tiere kaum verschwunden waren, wurden die Hoden abgeschnitten und sogleich in Helly'sche Fixierungsflüssigkeit eingetaucht. Vor der Eintauchung aber wurden die entnommenen Hoden longitudinal in zwei gleiche Teile zerschnitten, um dadurch eine schnelle Durchtränkung der Fixierungsflüssigkeit ins Hodengewebe zu ermöglichen. Zur Untersuchung des Samenepithelzyklus wurde, wie in Abbildung 1 gezeichnet, immer die innenseitige Hälfte der entzwei zerschnittenen Hodenstücke gebraucht. Die aussenseitige Hälfte wurde für eine spätere Untersuchung der Samenepithelwelle aufbewahrt, wodurch man eine Untersuchung der Korrelation zwischen Zyklus und Welle in ein und demselben Hoden anstellen können wird.

Das herausgenommene Hodenstück (innenseitige Hälfte des ganzen Hodens) wurde für 5~6 Stunden fixiert, nach der gangbaren Regel entwässert, in Paraffin eingebettet, und wurde in toto zur Dicke von 5 μ geschnitten.

ABBILDUNG 1 Entnahme der Hodengewebestücke



ERGEBNISSE

1 Einteilung des Samenepithelzyklus

Als eine Einteilung des Samenepithelzyklus, die der Beobachtung des Zyklus sowie der Welle zugrunde liegt, wurde die Klassifikation nach ORTAVANT aufgenommen (Tab. 2).

TABELLE 2 Einteilung des Samenepithelzyklus nach ORTAVANT

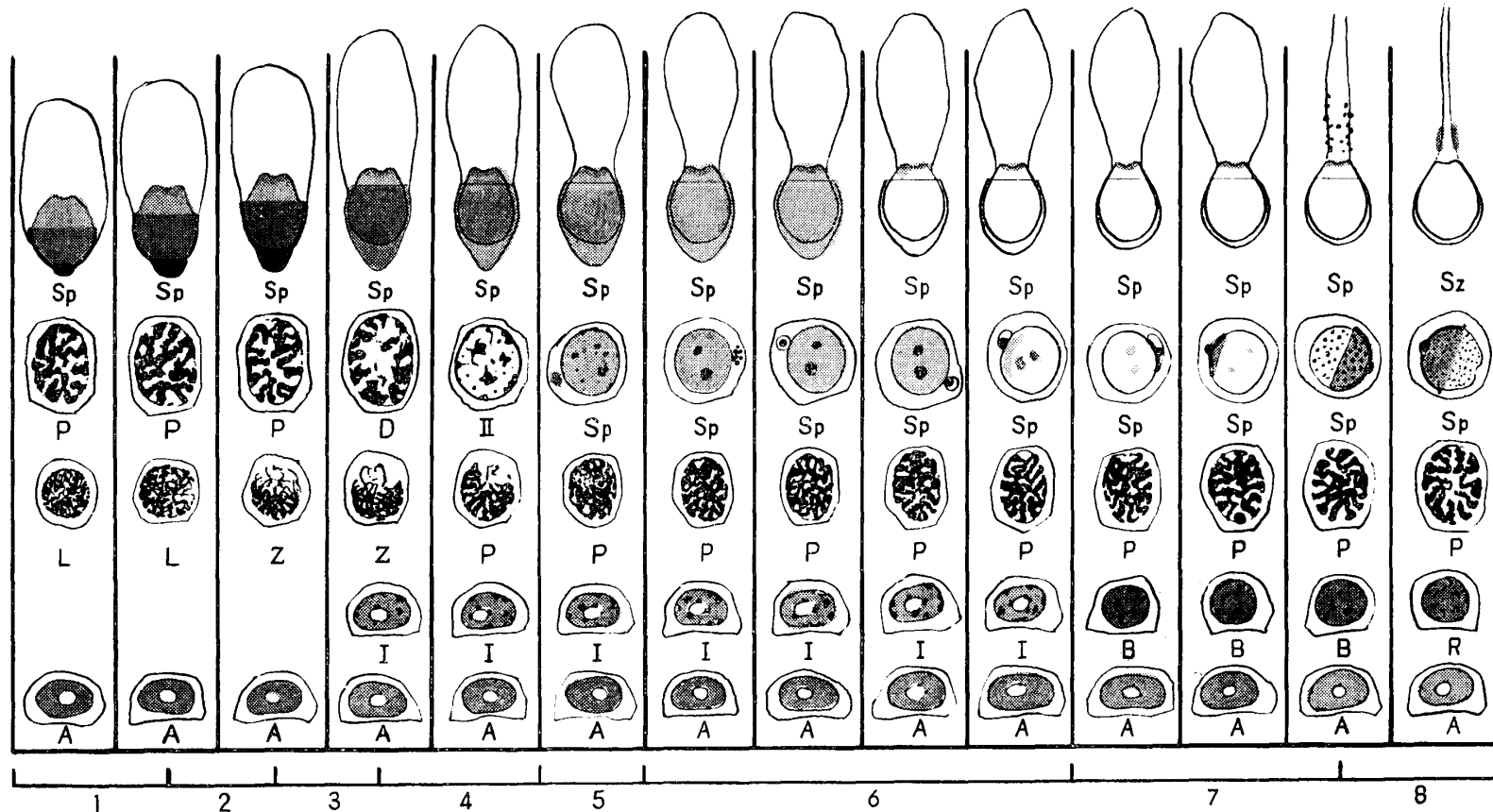
STADIUM	VERÄNDERUNGEN
1 Verschwinden der Spermien aus dem Kanälchenlumen	→ Beginn der Färbbarkeitserhöhung und Verlängerung der Spermatidenkerne
2 Beginn der Kernverlängerung der Spermatiden	→ Beginn ihrer Bündelung
3 Beginn der Spermatidenbündelung	→ Beginn der ersten Meiose
4 Beginn der ersten Meiose	→ Abschluss der zweiten Meiose
5 Beendigung der zweiten Meiose	→ Beginnendes Erscheinen der staubigen Chromatingranula in den neu gebildeten Spermatidenkernen
6 Erscheinen der staubigen Chromatingranula in den jungen Spermatiden	→ Moment, in dem die älteren, gebündelten Spermatiden den Kontakt mit den Kernen der Sertoli'schen Zellen verlieren
7 Anfang der zentripetalen Wanderung der reifen (älteren) Spermatiden	→ Moment, wo sie das Kanälchenlumen umgrenzen
8 Ende der zentripetalen Wanderung der Spermien	→ Ausscheidung aller Spermien aus dem Samenepithel ins Kanälchenlumen

Die Zellgemeinschaften, die auf Grund der obigen Klassifikation in 8 Stadien eingeteilt wurden, sind in Abbildung 2 übersichtlich gezeigt.

Unter verschiedenen Generationen von Samenzellen in diesen Zellgemeinschaften sind die Spermatogonien und die primären Spermatozyten im Ruhestadium am schwersten zu identifizieren. Die morphologischen Kennzeichen dieser Zellarten können wie folgt zusammengefasst werden:

A-Spermatogonien: Diese Zelle hat einen grossen, ovalen, bisweilen runden Kern, in

ABBILDUNG 2 Zellgemeinschaft in jedem Stadium im Samenepithelzyklus



NB. A : A-Spermatogonien
 I : I-Spermatogonien
 B : B-Spermatogonien
 R : ruhende primäre Spermatozyten
 L : Leptotän
 Z : Zygotän
 P : Pachytän
 D : Diakinese
 II : sekundäre Spermatozyten
 Sp : Spermatozyten
 Sz : Spermatozoen

Spermatogenese beim Mink I

dem sich die hellblau gefärbten und wie Stäubchen aussehenden Chromatine verteilen. Im Zentrum des Kerns liegt ein grosser mit Thionin-PAS sehr blass färbbarer und oft etwas glänzender Nukleolus. Die grosse Achse des ovalen Kerns läuft fast immer parallel zur Tubuluswand. Das Zytoplasma ist verhältnismässig spärlich und färbt sich blassrot, aber manchmal wird es sehr vergrössert und nimmt zugleich eine dunkelrote Farbe an.

Die A-Spermatogonien sind durch einen genzen Zyklus in allen Stadien vorhanden. Aber die Zellen in der beginnenden mitotischen Teilung sind nur schwer von den später beschriebenen I-Spermatogonien zu unterscheiden, weil in diesen A-Spermatogonien sich die feinen, gleichmässig verteilten Chromatine allmählich zu einigen groben Granula zusammenballen und infolgedessen ein so ähnliches Aussehen wie beim I-Spermatogonium bekommen.

I-Spermatogonien (intermediäre Spermatogonien): Der Kern ist meistens oval und beinahe gleich gross wie beim A-Spermatogonium, aber im Unterschied zum A-Spermatogonium enthalten sie in ihrem Kern zweierlei Chromatine, d. h. staubige Chromatine und krustenartige Chromatine. Die letzteren werden in der Regel an der Innenfläche der Kernmembran und der Oberfläche des Nukleolus, klebend beobachtet. Der Nukleolus ist wie beim A-Spermatogonium sehr deutlich sichtbar. Man findet diese Zellart in den Stadien 3~6.

B-Spermatogonien: Die B-Spermatogonien besitzen einen kugeligen, oft ovalen Kern, der immer kleiner als bei den beiden vorgenannten Spermatogonien ist. Das Chromatin ist krustenartig und klebt meistens an der Innenfläche der Kernmembran und an der Oberfläche des Nukleolus, der nicht so deutlich in Erscheinung tritt. Nur in den Stadien 7 und 8 kann man diese Zelle finden.

Primäre Spermatozyten im Ruhestadium: Ihre Zellkerne sind in den morphologischen Kennzeichen den B-Spermatogonien äusserst ähnlich, so dass sie leicht mit diesen Spermatogonien verwechselt werden können. Die ruhenden primären Spermatozyten, die am Ende des Stadiums 7 und im Stadium 8 zum Vorschein kommen, gehen am Ende des Stadiums 8 und oder im Stadium 1 ins Preleptotän oder ins Leptotän über, wobei man die jetzt in die frühe Prophase der meiotischen Teilung tretenden, primären Spermatozyten leicht von den B-Spermatogonien unterscheiden kann.

2 Frequenz des Stadiums im Samenepithelzyklus

Die verschiedenen Zellgemeinschaften, die in der Beobachtung der Hodenquerschnitte angetroffen wurden, hat man auf Grund der oben beschriebenen Klassifikation respektive in 8 Stadien eingeteilt und registriert. Es wurde der Prozentsatz eines jeden Stadiums an der Totalzahl aller gemerkten Stadien gerechnet.

Hierbei aber wurden nur die runden oder rundlichen Querschnitte beobachtet, bei denen sich der Querdurchmesser zum Längsdurchmesser wie 1 : 1,4 oder kleiner verhält. Näheres über diese Umstände siehe das frühe Referat von TIBA.

Die Zahl der beobachteten Stadien bei jedem Tier in jedem Hoden wird in Tabelle 3 eingetragen.

Aus dem χ^2 -Test über die in Tabelle 3 gezeigten Frequenzen der Stadien ergibt sich,

TABELLE 3 Zahl der beobachteten Stadien

		C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	TOTAL
B ₁	D ₁	8	23	27	22	12	36	44	28	200
	D ₂	12	24	13	15	16	39	45	36	200
B ₂	D ₁	17	27	22	15	14	30	45	30	200
	D ₂	17	16	22	19	23	20	41	42	200
B ₃	D ₁	16	20	12	25	11	34	52	30	200
	D ₂	26	16	21	9	21	27	42	38	200
B ₄	D ₁	13	10	15	10	15	42	58	37	200
	D ₂	21	12	7	14	13	33	59	41	200

NB. B: Individuum
 C: Stadium
 D₁: rechtseitiger Hoden
 D₂: linkseitiger Hoden

Im folgenden werden dieselben Bezeichnungen gebraucht.

dass die Differenz in der Verteilung der Frequenz zwischen jedem von den 8 Hoden mit $P < 0,01$ signifikant ist ($\chi^2_8 = 91,588$). Dies bedeutet, dass man dazu gezwungen wird, die Fragen betreffs der Frequenz des Stadiums, soweit es unsere Versuchstiere anbetrifft, überhaupt nicht in umfassender Weise in der Spezies des Minks, sondern ausschliesslich im einzelnen in jedem Hoden jedes Individuums zu behandeln. Unter diesen Umständen werden sich natürlich grosse Schwierigkeiten nicht nur bei der Diskussion über die Frequenz des Stadiums, sondern auch bei der Betrachtung eines Zusammenhangs der Frequenz mit einem anderen Faktor wie z. B. der Länge des Segments in der Samenepithelwelle darbieten. Die Verfasser haben also nur die Hoden, zwischen denen kein erheblicher Unterschied in der Verteilung der Frequenz erkannt wird, folgenderweise ausgewählt:

Zuerst schliesst man eine Serie von Zahlenwerten der Frequenzen in einem oder, wenn nötig, mehreren Hoden aus den ganzen Daten betreffs aller der 8 Hoden aus, und dann prüft man die somit übrig erhaltenen Daten durch den χ^2 -Test.

Aus dieser Prüfung ergibt sich, dass unter Ausschluss von B₄-D₁ und B₄-D₂ nur eine schwach signifikante Differenz ($P < 0,05$) zwischen jedem der 6 übrigen Hoden erkannt wird ($\chi^2_6 = 56,448$).

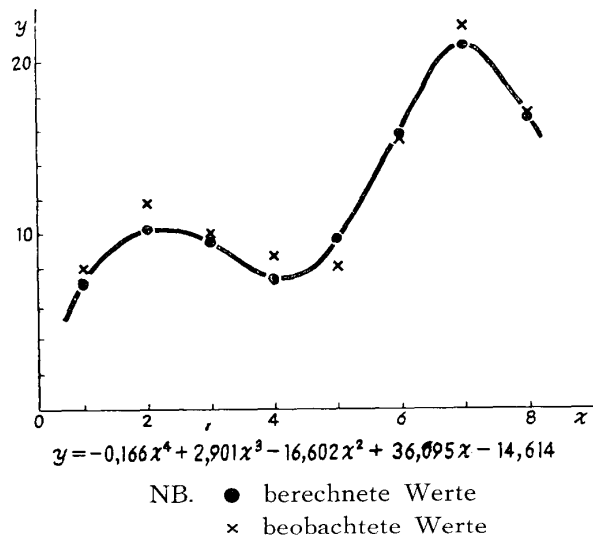
Auf dieses Prüfungsergebnis hin wurde die Vertrauensgrenze der Frequenz (%) jedes Stadiums in den 6 Hoden (B₁-D₁, B₁-D₂, B₂-D₁, B₂-D₂, B₃-D₁ & B₃-D₂) berechnet (Tab. 4). Hierbei aber wurde keine Prüfung der abnormalen Zahlenwerte angestellt, da befürchtet wurde, dass die Zahl der behandelten Fälle durch Verwerfung der abnormalen Werte geringer würde.

Abbildung 3 zeigt, dass durch Anwendung der Methode der kleinsten Quadrate die Regressionskurve y (Durchschnittsfrequenz jedes Stadiums aus 6 Hoden) in Bezug auf x

TABELLE 4 Vertrauensgrenze der Frequenz des Stadiums (%)—an 6 Hoden

	P \geq 95%	P \geq 99%
C ₁	4,9 \geq 7,8 \geq 11,2	3,6 \geq 7,8 \geq 13,4
C ₂	8,2 \geq 10,4 \geq 12,9	7,0 \geq 10,4 \geq 14,4
C ₃	6,7 \geq 9,6 \geq 12,9	5,3 \geq 9,6 \geq 15,0
C ₄	5,7 \geq 8,6 \geq 11,9	4,4 \geq 8,6 \geq 14,0
C ₅	5,6 \geq 7,9 \geq 10,6	4,5 \geq 7,9 \geq 12,3
C ₆	11,8 \geq 15,4 \geq 19,2	10,0 \geq 15,4 \geq 21,6
C ₇	20,4 \geq 22,4 \geq 24,4	19,3 \geq 22,4 \geq 25,6
C ₈	14,2 \geq 16,9 \geq 19,9	12,7 \geq 16,9 \geq 21,7

ABBILDUNG 3 Regressionskurve bezüglich der Frequenz (%) des Stadiums—an Durchschnittswerten aus 6 Hoden



(Stadium) folgende Gleichung ergibt:

$$y = -0,166x^4 + 2,901x^3 - 16,602x^2 + 36,095x - 14,614$$

Eine interessante Tatsache ist von ORTAVANT berichtet, dass im Vergleich einer Summe der Frequenzen der Stadien 1~3 mit derjenigen der Stadien 5~8, beim Bullen und Schafbock die erstere grösser ist, dagegen dieses Verhältnis bei der Ratte und dem Eber umgekehrt ist. So haben also auch die Verfasser vom gleichen Gesichtspunkt aus einen Vergleich der Summe der Frequenzen der Stadien 1~4 mit derjenigen der anderen angestellt. Hierbei aber wurde der Vergleich unter Ausschluss der 2 obenerwähnten Fälle (B₄-D₁ & B₄-D₂) durchgeführt, also an 6 Hoden.

TABELLE 5 Summe der Frequenzen der Stadien $C_1 \sim C_4$ und die von $C_5 \sim C_8$

		$C_1 \sim C_4$	$C_5 \sim C_8$	TOTAL
B ₁	D ₁	80	120	200
	D ₂	64	136	200
B ₂	D ₁	81	119	200
	D ₂	74	126	200
B ₃	D ₁	73	127	200
	D ₂	72	128	200

Aus dem χ^2 -Test der obigen Daten wird folgendes verdeutlicht: Bei B₂-D₁ kann man nicht darauf schliessen, dass die Summe der ersten Hälfte der Stadien kleiner als 50% ist ($P < 0,05$); aber bei allen anderen Fällen kann man aussagen, dass dieselbe immer niedriger als 50% ist ($P < 0,05$).

Bei diesem Test sind die summierten Frequenzen bei B₄ wie folgt:

		$C_1 \sim C_4$	$C_5 \sim C_8$	Total
B ₄	D ₁	48	152	200
	D ₂	54	146	200

Wie schon aus der dortigen Tabelle ersichtlich ist, sind die Werte von $C_1 \sim C_4$ viel kleiner als die bei den anderen vorgenannten Fällen.

DISKUSSION

Wenn man die Berichte von Voruntersuchern über die Frequenz des Stadiums im Samenepithelzyklus überblickt, wird man eine übereinstimmende Meinung darüber nur schwer finden können, ob die Frequenz des Stadiums einen wesent-

Autoren	Tierart	Zahl der eingeteilten Stadien des Zyklus	Unterschied beim Individuum oder Hoden
1 ORTAVANT	Bulle, Schafbock	8	unwesentlich
2 HOCHEREAU	Bulle	8	"
3 AMANN	"	8	"
4 KRAMER	"	10	wesentlich
5 TIBA	"	10	"
6 ROOSEN-RUNGE & GIESEL	Ratte	8	"
7 LEBLOND & CLERMONT	"	14	unwesentlich
8 HOCHEREAU	"	8	"

lichen Unterschied bei den Einzelindividuen und Einzelhoden zeigt oder nicht. Die Meinungen der Voruntersucher über diese Frage können sich wie oben zusammenfassen lassen.

In dieser Tabelle ist zu beachten, dass es sich beim Bullen um zweierlei Klassifikationen des Zyklus handelt, und dass sich die Untersuchungsergebnisse mittels einer Klassifikation (1~3) von denjenigen mittels der anderen (4, 5) unterscheiden. Hiergegen aber sind die bei der Ratte erzielten Ergebnisse sogar unter Anwendung derselben Klassifikation voneinander recht different (6, 8). Obwohl man also die Nichtübereinstimmung der Ansichten über die Variation der Frequenz des Stadiums nicht unmittelbar auf den Unterschied der verwandten Klassifikation zurückführen darf, scheint den Verfassern doch dass das Abhängigkeitsverhältnis des Resultats von der Klassifikation, insofern es den Bullen betrifft, eine Frage ist, die einmal wohlbedächtig zu untersuchen ist.

Die Einteilung des Zyklus in der vorliegenden Untersuchung ist dieselbe wie bei ORTAVANT, HOCHEREAU, AMANN und ROOSEN-RUNGE & GIESEL; und das erzielte Ergebnis weist darauf hin, dass die Differenz zwischen den 8 Hoden der 4 Tiere signifikant ist ($P < 0,01$), und diejenige zwischen den 6 Hoden der 3 Tiere schwach signifikant ist ($P < 0,05$). Im Vergleich dieses Resultats mit den Angaben von den obengenannten Voruntersuchern stimmt das unserige mit dem von ROOSEN-RUNGE & GIESEL überein. Aber eigentlich ist dieser Vergleich unvernünftig, da die angewandten Tierarten nicht dieselben sind. Unser Ergebnis ist natürlich mit demjenigen beim Mink von einem anderen Untersucher in Vergleich zu stellen, aber die Verfasser haben bisher keinen Bericht über die Frequenz des Stadiums beim Mink finden können.

Aber auf alle Fälle weist gerade die Tatsache, dass man auch beim Mink immer nur die Zellgemeinschaften von bestimmten Arten, wie sie bei anderen Tierarten gefunden werden, im Samenepithel antreffen kann, darauf hin, dass die die Zellgemeinschaften zusammensetzenden Samenzellen von verschiedenen Generationen auch bei dieser Tierart einen sehr regelmässigen zeitlichen Ablauf der Veränderung erfahren. Angenommen, dass dieser zeitliche Ablauf der Samenepithelsveränderung sehr unregelmässig wäre, dann müssten, in Widerspruch zur Erfahrung, allerlei Zellgemeinschaften gefunden werden. Also, wenn die Variabilität der Frequenz des Stadiums, mit anderen Worten die Variabilität der relativen Fortbestandsdauer des Stadiums, auf Grund unserer Resultate zu ausdrücklich hervorgehoben wird, führt das unmittelbar zur Verneinung des Samenepithelzyklus an sich. Aber andererseits, wenn man die relative Fortbestandsdauer des Stadiums für gar nicht variabel hält, dann wird die Kontinuität der Segmentnummer in der Samenepithelwelle gestört werden. Hier erübrigt es sich, über die Kontinuitätsstörung der Segmentnummer zu sprechen, weil das schon in

TIBA's Untersuchung der Spermatogenese des Bullen durch das Modell-Experiment über die Korrelation zwischen Zyklus und Welle hinreichend diskutiert wurde. Wenn man aber die von TIBA aufgestellte Voraussetzung, dass die Frequenz des Stadiums (relative Fortbestandsdauer des Stadiums) innerhalb der Grenze schwankt, in der die Schwankung die Kontinuität der Segmentnummer nicht stört, verfechten will, soll man einen Inhalt des Begriffs dieser Grenze vom experimentellen Gesichtspunkt aus konkreter und genauer darstellen. Die eben gestellte Frage über die Grenze würde jedoch in das Gebiet einer anderen sehr grundlegenden Untersuchung über die Kinetik der Spermatogenese fallen, und deswegen berühren die Verfasser hier diesen Gegenstand nicht.

Dass die Variabilität der Frequenz des Stadiums nicht zu ausdrücklich betont werden darf, ist schon aus den Resultaten von den Verfassern selbst verdeutlicht. Hier muss man die Tatsache ins Gedächtnis zurückrufen, dass die Differenz der Frequenz zwischen den Hoden bald signifikant (in 8 Hoden, B_4-D_1 und B_4-D_2 eingeschlossen), bald nur schwach signifikant (in 6 Hoden unter Ausschluss derselben Hoden) ist. Aus dieser Tatsache wird man verstehen, dass man überhaupt bei einer Untersuchung der Frage über die Existenz der signifikanten Differenz in der Frequenz zwischen den Hoden, mit anderen Worten gesagt, über das Vorhandensein einer Unbeweglichkeit der Frequenz in einer Spezies, grosse Sorgfalt auf das Stichprobenverfahren verwenden soll.

Der Vergleich der zusammengezählten Frequenzen der Stadien 1~4 mit denjenigen der Stadien 5~8 ist ein interessantes Problem. In 5 von den 6 untersuchten Hoden ist die Summe der ersten Stadien, wie früher gemerkt, niedriger als 50% ($P < 0,05$). Nach ORTAVANT ist die Summe der Stadien 1~3 bei der Ratte und dem Schwein kleiner als die der Stadien 5~8. Also dürfte man annehmen, dass der Mink, soweit es diesen Vergleich anbetrifft, mit jenen 2 Tierarten nahe verwandt wäre. Die Fragen über eine solche Anhäufungssumme der Frequenz jedes Stadiums scheinen den Verfassern einer eingehenderen Untersuchung wert zu sein, da solch eine analytische Untersuchungsmethodik vom dynamischen Gesichtspunkt aus gerade in einem Gebiet wie der Kinetik der Spermatogenese sehr erfolgreich sein muss.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden histologische und quantitative Untersuchungen des Sameneithelzyklus in der Paarungszeit beim Mink angestellt.

Acht Hoden von vier gesunden erwachsenen Minken der Pastell-Rasse (Tab. 1) wurden in Helly'scher Flüssigkeit fixiert, nach der gangbaren Regel geschnitten, und mit Thionin-PAS gefärbt. Der Sameneithelzyklus wurde nach der Klassifikation von ORTAVANT in 8 Stadien eingeteilt (Abb. 2 & 4~11).

Um zu prüfen, ob die Differenz in der Verteilung der Frequenz des Stadiums zwischen jedem einzelnen Hoden signifikant oder nicht ist, wurde der χ^2 -Test angewandt (Tab. 3). Daraus ergab sich, dass die Differenz zwischen den 8 Hoden mit $P < 0,01$ hoch signifikant ist, aber dass, wenn 2 Testikel aus einem Individuum ausgeschlossen werden, nur eine schwach signifikante Differenz ($P < 0,05$) zwischen jedem der 6 übrigen Hoden erkennbar ist.

Die Vertrauensgrenzen der Frequenz jedes Stadiums in den 6 Hoden wurden berechnet (Tab. 4), und die Gleichung der Regressionskurve y (Durchschnittsfrequenz jedes Stadiums aus 6 Hoden) mit Bezug auf x (Stadium) wurde durch Anwendung der Methode der kleinsten Quadrate bestimmt (Abb. 3).

Ausserdem wurde ein Vergleich der zusammengezählten Frequenzen der Stadien 1~4 mit denjenigen der Stadien 5~8 versucht. Es wurde verdeutlicht, dass die Verteilung der Frequenz des Stadiums beim Mink mit derjenigen bei der Ratte und dem Schwein Aehnlichkeit hat (Tab. 5).

Für die stets bereitwillige Uebernahme der elektronischen Berechnung bezüglich der statistischen Grunddaten in dieser Untersuchung sind wir Herrn K. TAKAYA am Forschungsinstitut für Angewandte Elektrizität der Hokkaido-Universität zu grosser Dankbarkeit verpflichtet.

Histological Studies on the Kinetics of the Spermatogenesis in the Mink (*Mustela vison*)

I Cycle of the Seminiferous Epithelium in the Breeding Season

In order to clarify the origin of the wave pattern of the seminiferous epithelium, the present authors have carried out histological studies of seasonal changes in the seminiferous epithelium of mink testis. The mink's testes begin to increase in size prior to the commencement of the breeding season, and maintain this enlarged size until the height of the season, then they gradually atrophy. Therefore, this species should be very suitable for investigating wave pattern development and regression of the seminiferous epithelium.

The first step necessary for the authors to clarify the wave patterns is to investigate the cycle of the seminiferous epithelium during the height of the breeding season.

We used eight testes from 4 healthy adult male minks, of Pastell breeding, in this study (tab. 1). These testes were fixed with Helly's solution, then sectioned and stained by the thionine-PAS method. ORTAVANT's classification of the cyclic

changes occurring in the seminiferous epithelium was used in our study (figs. 2 & 4~11).

The significance of difference in the frequency of stages between each testis was estimated by means of χ^2 -test (tab. 3). A high significant difference was obtained from 8 testes of 4 individuals ($P < 0.01$), but the difference of 6 testes excepting 2 of one individual was less significant ($P < 0.05$).

The confidence limits of the frequency of stages were evaluated for these 6 testes (tab. 4). The equation for the regression curve of the average frequency of each stage from the 6 testes as a function of the stage was determined by the method of least squares (fig. 3).

In comparing the first 4 stages of the cycle with those of the last 4 a pattern was seen in the mink that is similar to the boar and the rat (tab. 5).

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) AMANN, R. P. (1962): *Amer. J. Anat.*, **110**, 49
- 2) HEMMINGSEN, B. (1967): *Nord. VetMed.*, **19**, 71
- 3) HOCHEREAU, M.-T. (1962): «Etude comparée de la vague spermatogénétique chez le taureau et chez le rat» Mémoire présenté à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris
- 4) ISHIKAWA, T., TIBA, T., KAGOTA, K., KAWABE, K. & KINOSHITA, S. (1965): *Jap. J. vet. Res.*, **13**, 1
- 5) KRAMER, M. F. (1960): Spermatogenesis in the bull (Inaug. Diss., Utrecht, auf niederländisch mit englischer Zusammenfassung)
- 6) LEBLOND, C. P. & CLERMONT, Y. (1952): *Amer. J. Anat.*, **90**, 167
- 7) LUNDH, E. (1961): *Våra Pälsdjur*, **32**, 380
- 8) ONSTAD, O. (1967): Studies on postnatal testicular changes, semen quality, and anomalies of reproductive organs in the mink. A clinical, histological, and histochemical study, *Acta endocr., Copenh.*, Suppl. No. 117
- 9) ORTAVANT, R. (1959): "Spermatogenesis and morphology of spermatozoon" Reproduction in domestic animals II, Ed. COLE, H. H. & CUPPS, P. T., New York: Academic Press
- 10) ROOSEN-RUNGE, E. C. & GIESEL, L. O. (1950): *Amer. J. Anat.*, **87**, 1
- 11) TIBA, T. (1965): Methodologisch orientierte quantitative Untersuchung der Spermatogenese beim Bullen—an drei Fällen von Asthenospermie, die mit Aspermie einhergeht, *Jap. J. vet. Res.*, Suppl. No. 2

ERKLÄRUNG DER TAFEL

Querschnitte der Samenkanälchen in verschiedenen Stadien des
Samenepithelzyklus beim Mink

Färbung mit Thionin-PAS

Abb. 4 Stadium 1

Abb. 5 Stadium 2

u. dgl. m.

