



Doctoral Thesis

Untersuchungen zur Motorik und Funktion der Oozytenkernpulsation, Dotteroszillation und Keimstreifbildung von *Heteropeza pygmaea* (Diptera, Cecidomyiidae)

Author(s):

Kaiser, Johannes

Publication Date:

1987

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000412906> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

**Untersuchungen zur Motorik und Funktion
der Oozytenkernpulsation, Dotteroszillation
und Keimstreifbildung von Heteropeza pygmaea
(Diptera, Cecidomyiidae)**

A B H A N D L U N G
zur Erlangung des Titels eines Doktors
der Naturwissenschaften
der
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

JOHANNES KAISER
dipl. Zool. Universität Basel
geboren am 5. April 1943
von Thunstetten (BE)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. G. Benz, Referent
PD Dr. D.F. Went, Korreferent

1987

G. Benz

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Reaktionen zweier Bewegungsphänomene und eines embryonalen Gestaltungsprozesse in der Oogenese und Embryogenese von Heteropeza pygmaea (Diptera, Cecidomyiidae) auf die Anwesenheit von Drogen, die mit aktinhaltigen Mikrofilamenten (Cytochalasin B, Phalloidin) oder mit Mikrotubuli (Colchicin, Vinblastin, Nocodazol, Taxol) interagieren, wurden in vitro untersucht und u.a. mit Zeitraffung gefilmt.

Die eine Bewegung ist die amöboide Pulsation der Oozytenkerne im Ovar, während der Follikelbildung. Diese Oozytenkernpulsation wird durch Cytochalasin B innerhalb einer Minute arretiert und nach dessen Auswaschen in wenigen Minuten wieder in Gang gesetzt. Dagegen haben weder Colchicin noch Vinblastin eine hemmende Wirkung auf die Oozytenkernpulsation. Diese Evidenzen für ein aktinhaltiges Mikrofilamentnetzwerk als notwendiger Bestandteil der Motorik der Oozytenkernpulsation wurden ergänzt durch die immunologische Darstellung der Aktinverteilung im Ovar. Diese weist auf ein reichhaltiges Mikrofilamentnetzwerk sowohl in der hochmotilen Oozyte als auch in der nicht motilen Nährzelle hin. Für die Follikelbildung ist die Oozytenkernpulsation nicht essentiell, da auch bei inhibierter Pulsation Follikel entstehen.

Die zweite untersuchte Bewegung ist die konstante, starke, ungerichtete Oszillation des Dotters während der Furchung, die nur für die Dauer der Furchungsmitosen abrupt unterbrochen wird. Colchicin bringt die Dotterosozillation auf eine Weise zum Erliegen, die darauf hinweist, dass dieser Mikrotubuliblocker den Wiederbeginn der Dotterosozillation in den Anaphasen der jeweiligen Furchungsmitosen verhindert. Colchicindosen zwischen der Schwellendosis und der höchsten applizierbaren Konzentration (0.02-50 mM) lassen für die Colchicineffekte keine Dosiswirkungsbeziehung erkennen. Vinblastin arretiert die Dotterosozilla-

tion ebenfalls. Cytochalasin B beeinflusst die Dotteroszillation jedoch nicht. Das verwendete Lösungsmittel Dimethylsulfoxid verlängert sowohl die Phasen der Oszillation als auch die Ruhephasen. Die Dotteroszillation wird auf Grund der Resultate der Drogenexperimente, ihrer Musterlosigkeit, ihrer Koinzidenzen mit den Mitosezyklusphasen der synchronen Furchungsmitosen und der ultrastrukturellen Befunde (Diss. Junquera 1983) als ein Epiphänomen eines lokalen Tubulinaustauschs zwischen den Regionen der Mitosespindeln und dem zytoplasmatischen Bereich der Dotteroszillation gedeutet.

Bei dem Gestaltungsprozess handelt es sich um die Keimstreifbildung. Diese wird durch Cytochalasin B unterdrückt, nicht aber durch Drogen, die in den Aufbau der Mikrotubuli eingreifen. Die Wirkung aller verwendeter Drogen auf die Mitose wurde mit der Orcein-Milchsäure-Chromosomenfärbung sichtbar gemacht. Es zeigte sich, dass die Keimstreifbildung, inklusiv der Entwicklung der Kopflappen und der dorsalen Keimstreifstreckung, sogar in solchen Colchicin- und Vinblastindosen abläuft, welche die Mitose blockieren.

6. ABSTRACT

Two motion phenomena and one morphogenetic process in the oogenesis and early embryogenesis of the gall midge Heteropeza pygmaea have been investigated in vitro with drugs which interfere with actin-containing microfilaments (cytochalasin B, phalloidin) or with microtubules (colchicine, vinblastine, nocodazole, taxol). The effects of these drugs have been recorded by time-lapse cinemicrography.

The first analysed motion is the continuous, swift pulsation of the oocyte nuclei in the larval ovary, during follicle formation. The nuclear envelopes subsequently assume highly irregular shapes. Cytochalasin B arrested this nuclear pulsation within a few minutes. After removal of the agent, nuclear movement again resumed within minutes. In contrast, colchicine and vinblastine did not affect the nuclear pulsation. These findings show that microfilaments but not microtubules are involved in nuclear pulsation. Experiments designed to determine the distribution of actin in the ovarian cells by using indirect immunofluorescence microscopy indicate that the cytoplasm of the highly motile oocyte, but also that of the non-moving nurse cell are provided with a comprehensive network of actin-containing microfilaments. In spite of the suppression of nuclear movements by cytochalasin B, follicles were formed by the ovaries. Thus, the role of nuclear pulsation of the oocyte is still unclear.

The second investigated motion is the intense, randomly orientated oscillation of yolk particles during the interphases of the cleavage mitotic cycles. This oscillation of yolk stops abruptly in the prophase and starts again in the late anaphase of the cleavage mitoses. The data show that colchicine prevents the onset of oscillation of yolk particles in the anaphase immediately following application. The effects of colchicine are independent of the dose, between the threshold concentration of 0.02 mM

and the maximum concentration of 50 mM. The oscillation is also arrested by vinblastine. Cytochalasin B did not affect the oscillation. Dimethylsulphoxide prolonged the phases of oscillation as well as the rest periods. The data from the experiments with drugs, the failure of any pattern in the mode of oscillation, the coincidence of rest periods and cleavage mitoses and the findings in electronmicroscopy (thesis Junquera 1983), indicate that the oscillation is a secondary effect of a local interchange of tubulin between the regions of mitotic spindles and the cytoplasmic area of the yolk oscillation.

The morphogenetic process examined is germ band formation. Germ band formation was suppressed by cytochalasin B, but not by drugs which interfere with microtubules. The effects of all drugs used on mitosis were made visible by the orcein lactic acid staining method. Germ band formation, including development of the head lobes and dorsal germ band extension, was possible in the presence of those doses of colchicine and vinblastine which arrested the mitoses in metaphase stage.