

## Genetische Aktivität der Keimbahnchromosomen während des Eiwachstums von Gallmücken (Cecidomyiidae)

### Genetic activity of the germ line chromosomes during oocyte growth of the gall midges (Cecidomyiidae)

WERNER KUNZ

Zoologisches Institut der Universität Münster

#### Abstract

The function of the supernumerary germ line chromosomes (E chromosomes) of the gall midges is hitherto unknown. Cytological, autoradiographical and electron microscopical investigations on *Wachtliella persicariae* reveal that the E chromosomes in all probability are duplicates of the normal S chromosomes, but in oogenesis they are regulated in an absolute different way than the S chromosomes which are inactivated and form a karyosome. The E chromosomes, on the contrary, despiralize and synthesize high molecular weight RNA, probably of messenger type because no nucleoli could be found during the whole period of RNA production.

Die Gallmücken haben in den Zellen der Keimbahn viel mehr Chromosomen als im Soma. Bei der Differenzierung des Somas wird schon in den frühen Furchungsteilungen der Großteil der Chromosomen eliminiert und nimmt nicht mehr an der Keimblatt- und Organbildung teil, während die Keimzellen die volle Chromosomenzahl behalten. Man nennt den auch im Soma vorkommenden Satz S-Chromosomen, die noch zusätzlich in der Keimbahn vorhandenen Chromosomen E-Chromosomen. Obwohl die Cytologie der Keimbahnchromosomen bei zahlreichen Gallmücken untersucht worden ist (zusammenfassende Darstellung siehe WHITE 1954), konnten bisher noch keine Aussagen über ihre Funktion gemacht werden. Unbekannt ist, a) ob die E-Chromosomen einen eigenen genetischen Inhalt haben oder lediglich Duplikate der S-Chromosomen sind und b) ob sie

überhaupt jemals aktiv werden oder genetisch inert sind, wie das für das Keimbahnchromatin von *Ascaris* vermutet wird (5; MORITZ, mündliche Mitteilung).

a) Bei der Unterfamilie der Cecidomyiinen, zu denen auch das Versuchstier dieser Arbeit, *Wachtliella persicariae*, gehört, werden in den weiblichen Reifeteilungen wahrscheinlich nur die S-Chromosomen, nicht hingegen die E-Chromosomen reduziert (6). Diese werden vielmehr in voller (diploider) Anzahl auf die Nachkommen übertragen. Da das Spermium nur S-Chromosomen (in haploider Zahl) einbringt (3), werden die E-Chromosomen vollständig über die weibliche Linie weitergegeben. Jedoch ist unbekannt, ob es von Generation zu Generation immer wieder dieselben Chromosomen sind, die sich keimbahnbegrenzt fortpflanzen, oder ob die Sonderung von S- und E-Chromosomen in jedem Zyklus neu erfolgt.

Im Hinblick auf die Frage, ob die E-Chromosomen eine eigene Sorte von Chromosomen sind, ist interessant, daß ihre Zahl bei *Wachtliella* (und anderen Gallmücken) das genaue Vielfache der S-Chromosomen ist. *Wachtliella* hat 8 S- und 32 E-Chromosomen. Schon dieser Befund läßt es möglich erscheinen, daß die E-Chromosomen in stammesgeschicht-

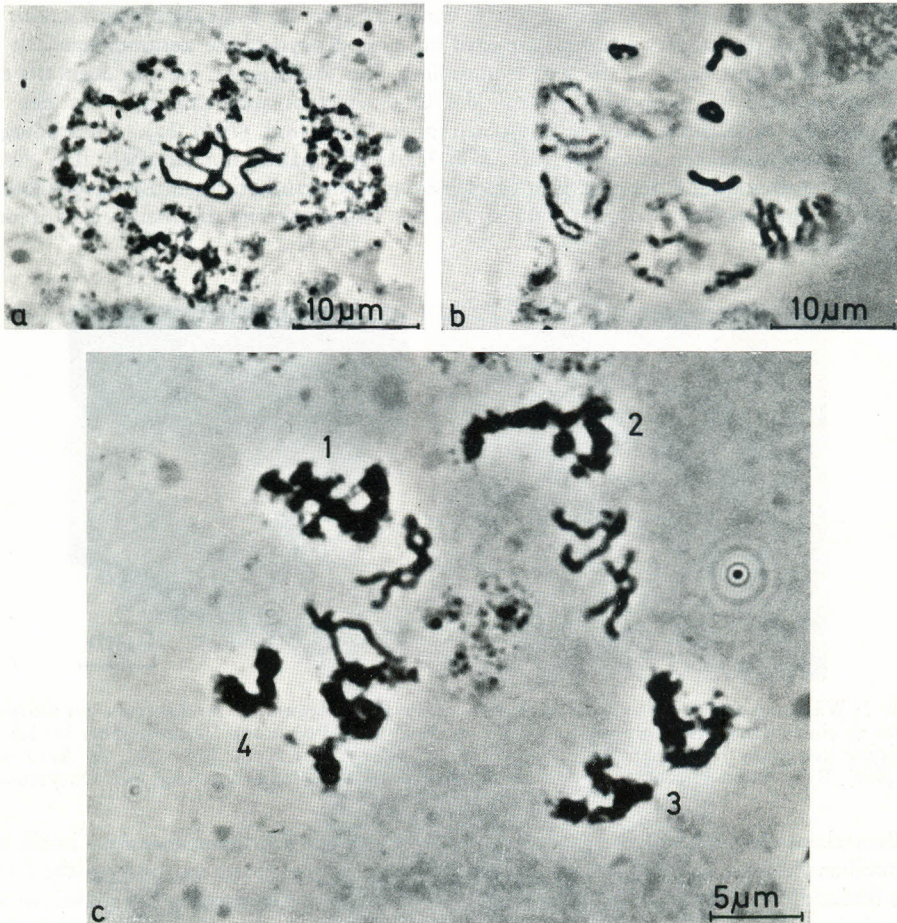


Abb. 1: Oogonien-Interphasen in Feulgen-Quetschpräparates. Im Innern des Kerns die 8 positiv heteropyknotischen S-Chromosomen (sوماتisch gepaart), außen die 32 entspiralisierten E-Chromosomen (a), die nach Kältebehandlung auch in 16 Paaren (b, nicht alle im Schärfebereich der Abbildung) oder als 4 »Polytändchromosomen« in Erscheinung treten können (c). Bei starker Quetschung zerfallen die Polytändbündel in zwei (einander homologe?) Partner (c, unten).

licher Vorzeit durch endomitotische Vermehrung aus den S-Chromosomen entstanden sind. Hinzu kommen weitere Indizien.

In den Oogonien und Oocyten sind die S-Chromosomen auch in der Interphase positiv heteropyknotisch und liegen im Zentrum des Kerns, während die E-Chromosomen diffus sind und den peripheren Bereich des Zellkerns erfüllen (Abb. 1a, 2a). Wegen der starken Entspiralisierung ist eine Abgrenzung einzelner E-Chromosomen normalerweise nicht möglich. Nach längerer Kältebehandlung schrumpfen sie jedoch manchmal zusammen und sind dann wie die S-Chromosomen somatisch gepaart (Abb. 1b). In anderen Fällen wird eine Paarung sichtbar, die ganz analog der polytänen Bündelung der Riesenchromosomen zu sein scheint (Abb. 1c). Die Zahl der E-Chromosomen-Bündel ist 4 und stimmt somit mit dem haploiden Satz der S-Chromosomen überein. Jedes E-»Polytänchromosom« müßte aus 8 Einzelchromosomen bestehen. Diese Befunde machen wahrscheinlich, daß die E-Chromosomen Duplikate der S-Chromosomen sind und die Keimbahnkerne demnach polyploid wären.

b) Die E-Chromosomen werden aus den meiotischen Vorgängen, den Reifeteilungen und der Somabildung ebenso herausgehalten wie die Nährzellen der Insekten. Kommt ihnen auch eine ähnliche Aufgabe zu? Die polyploiden Chromosomen der Nährzellen sind während der Oogenese wie in einer Interphase entspiralisiert, im Gegensatz zum Genom des Oocytenkerns, das positiv heteropyknotisch zu einer Karyosphäre zusammengeballt ist. Entsprechendes gilt auch für die E-Chromosomen von *Wachtliella*, die sich ebenfalls entspiralisieren und im peripheren Bereich des Oocytenkerns auch räumlich von den zur Karyosphäre verdichteten S-Chromosomen abgetrennt sind (Abb. 2a). Autoradiographische Untersuchungen nach Injektion von  $^3\text{H}$ -Uridin haben nun ergeben, daß die E-Chromosomen während des gesamten Eiwachstums RNS synthetisieren. Demgegenüber ist die S-Chromosomen-Karyosphäre im Innern des Oocytenkerns die meiste Zeit inaktiv (Abb. 2b).

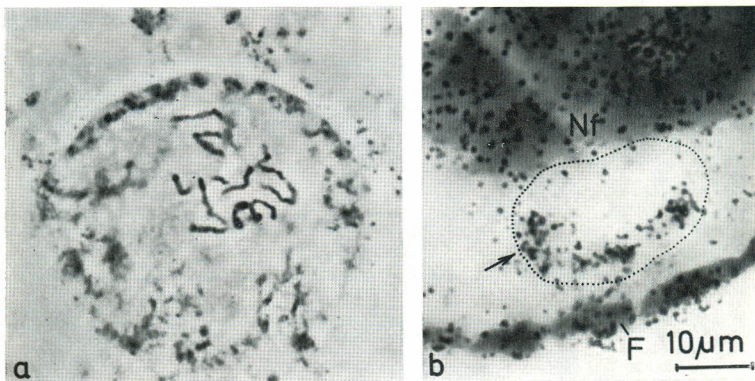


Abb. 2: Während des Eiwachstums vereinigen sich die S-Chromosomen im Zentrum des Oocytenkerns zu einer inaktiven Karyosphäre (a, Karmin-Essigsäure-Präparat). Demgegenüber bleiben die peripher gelegenen E-Chromosomen entspiralisiert und synthetisieren RNS ( $\rightarrow$ ) (b, Autoradiographie). F = Follikelepithel, Nf = Nährfach; die punktierte Linie umgrenzt den Oocytenkern.

Bemerkenswert ist, daß einander offenbar entsprechende Chromosomensätze in ein und demselben Zellkern unterschiedlich reguliert werden können. Seine morphologische Parallele findet dieses Phänomen in einer deutlichen räumlichen Abgrenzung der inaktiven von den aktiven Chromosomen. Die S-Chromosomen sind in Lamellen eingehüllt und dadurch gegenüber den außen liegenden E-Chromosomen abgekapselt (Abb. 3).

Von welcher Natur ist nun die an den E-Chromosomen gebildete RNS? Da in lichtmikroskopischen und ultrastrukturellen Untersuchungen keine Nukleolen im Oocytenkern gefunden werden konnten, handelt es sich wahrscheinlich um messenger-RNS. Eine

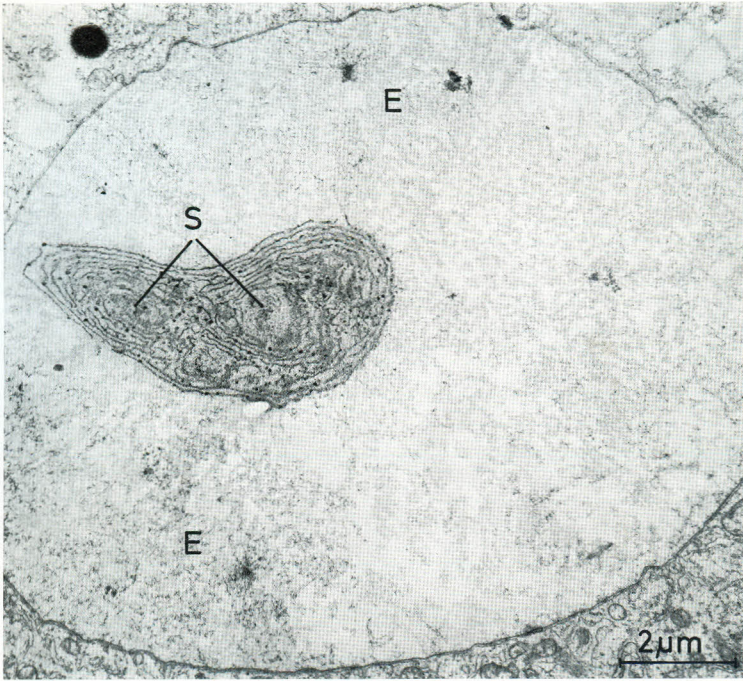


Abb. 3: Die S-Chromosomen (S) des Oocytenkerns sind in einem Lamellenkörper eingeschlossen. E = Bereich der E-Chromosomen; keine Nukleolen.

mRNS-Bildung im Kern der heranwachsenden Oocyte wäre für Insekten mit meroistischem Ovary ein neuartiger Fall.

Für die ribosomale RNS-Synthese kommt der Oocytenkern allerdings wegen des Fehlens von Nukleolen nicht in Frage. Die rRNS-Versorgung der Oocyte muß daher von anderen Kernen übernommen werden. Auch hierin sind die Gallmücken wieder als Sonderfall ausgezeichnet. *Wachtliella* besitzt nicht nur Nährzellen mit ausgedehnten Nukleolen

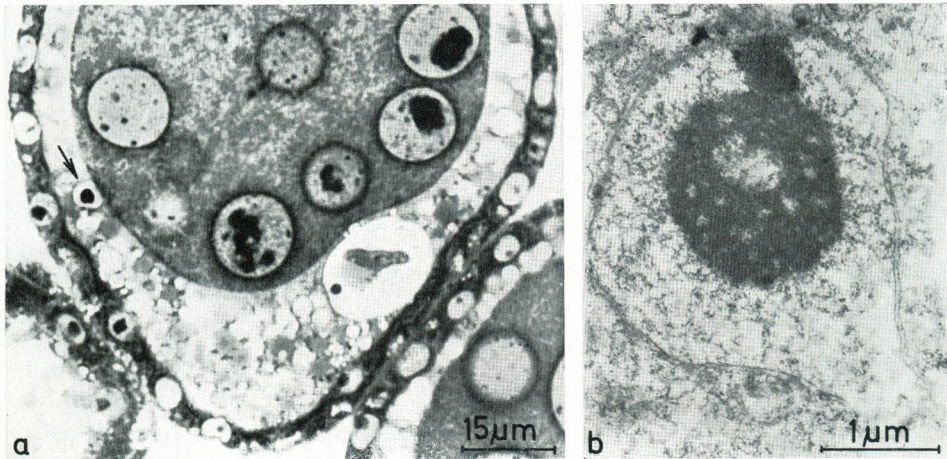


Abb. 4: a) Längsschnitt durch einen Follikel von *Wachtliella* (Toluidinblaufärbung). Die Nährzellen enthalten große Nukleolen, der Oocytenkern besitzt neben dem zentral gelegenen Lamellenkörper seitlich einen Binnenkörper (Proteinkugel, siehe 1). In der Oocyte befindet sich außerdem ein kleiner Zusatzkern mit großem Nukleolus (→). – b) Ultrastruktur des Zusatzkerns.

und intensiver RNS-Synthese (Abb. 2b, 4a), sondern außerdem noch in der Oocyte mindestens einen kleinen Zusatzkern (Abb. 4a), der einen großen Nukleolus enthält (Abb. 4b). Dieser akzessorische Zellkern dürfte ebenfalls ribosomale RNS liefern, jedoch ist ein solcher Prozeß wegen der geringen Größe des Kerns ( $\text{\O} 3 \mu\text{m}$ ) autoradiographisch nicht faßbar. Gegen Ende des Eiwachstums hat der Zusatzkern seine Aufgabe offenbar erfüllt; denn er geht zugrunde und kann sich daher nicht an der Aufregulierung des Zygotenkerns beteiligen, wie das bei Vertretern anderer Gallmückengruppen nachgewiesen wurde (2).

Mit verschiedenen Methoden gelingt es, in der Frühentwicklung auch die Keimzellen zur Elimination der E-Chromosomen zu veranlassen. Solche Versuchstiere bilden zwar Gonaden aus, jedoch wird das Eiwachstum schon frühzeitig abgebremst (4). Die von den E-Chromosomen produzierte messenger-RNS scheint demnach ein essentieller Faktor für ein komplettes Eiwachstum zu sein.

### Schrifttum

1. BIER, K., W. KUNZ und D. RIBBERT: Struktur und Funktion der Oocytenchromosomen und Nukleolen sowie der Extra-DNS während der Oogenese panoistischer und meroistischer Insekten. *Chromosoma* 23, 214–254 (1967). – 2. CAMENZIND, R.: Die Zytologie der bisexualen und parthenogenetischen Fortpflanzung von *Heteropeza pygmaea* WINNERTZ, einer Gallmücke mit pädogenetischer Vermehrung. *Chromosoma* 18, 123–152 (1966). – 3. GEYER-DUSZYŃSKA, I.: Chromosome behavior in spermatogenesis of *Cecidomyiidae* (Diptera). *Chromosoma* 11, 499–513 (1961). – 4. GEYER-DUSZYŃSKA, I.: Genetic factors in oogenesis and spermatogenesis in *Cecidomyiidae*. *Chromosomes Today* 1, 174–178 (1966). – 5. LIN, T. P.: The chromosomal cycle in *Parascaris equorum* (*Ascaris megaloccephala*): oogenesis and diminution. *Chromosoma* 6, 175–198 (1954). – 6. MATUSZEWSKI, B.: Oogenesis in *Mikiola fagi* HART. (*Cecidomyiidae*; Diptera). *Chromosoma* 12, 741–811 (1962). – 7. WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution, 2nd ed. Cambridge: University Press 1954.

Die Untersuchungen werden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. Verf. dankt Fr. G. BOHR für technische Assistenz.

Dr. W. Kunz, Zoologisches Institut der Universität, 44 Münster (Westf.), Badestr. 9

### Diskussion

H. SAUER, Heidelberg: Wie lange verbleibt die markierte RNS im Oocytenkern?

W. KUNZ: Ein Transport der Oocytenkern-RNS ins Ooplasma ist nicht nachweisbar, weil größere Mengen markierter RNS aus dem Nährfach in die Oocyte einströmen.

W. SCHNETTER, Heidelberg: Sind Sie sicher, daß die RNS am Oocytenkern nicht in den viel stärker markierten Nährzellkernen gebildet worden ist und erst sekundär zum Oocytenkern gelangt ist? In Abb. 2b liegt markierte RNS nur am äußersten Rand des Oocytenkerns, während – wie Abb. 3 vermuten läßt – die entspiralisierten E-Chromosomen einen großen Teil des Oocytenkernraums einnehmen.

W. KUNZ: Sekundäre Einwanderung von RNS in den Oocytenkern ist möglich. Im Ultradünnschnitt der Abb. 3 sind die S-Chromosomen nur lateral getroffen worden und daher nur auf kleiner Fläche zu sehen. Schnitte durch das Zentrum des Oocytenkerns zeigen hingegen, daß die S-Chromosomen einen großen Raum einnehmen, während die E-Chromosomen auf einen schmalen, peripheren Bereich des Kerns beschränkt sind.

H. ULRICH, Zürich: Ist die Anzahl der E- und S-Chromosomen konstant? Wie ist die Geschlechtsbestimmung? Geschlechtsunterschiede in E- und S-Zahl, in Eliminationsvorgang? Wie ist das Geschlechtsverhältnis? Handelt es sich um eine Ein- oder Mehrschritt-Elimination? Vergleich mit *Heteropeza*.

W. KUNZ: Bei *Wachtliella* liegen nur wenige Chromosomenzählungen vor. Die ♀♀ haben 8, die ♂♂ 6 S-Chromosomen. In meinen Zuchten traten ♂♂ nur in sehr geringem Prozentsatz auf. Die E-Chromosomen werden bei beiden Geschlechtern in der 4. Furchungsteilung eliminiert; bei ♂♂ werden in der 7. Teilung 2 weitere Chromosomen ausgestoßen.