

ISSN 0073-8417

# PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

**BIOLOGIE**

SERIE 11 · NUMMER 26 · 1978

FILM D 1267

Ovarentwicklung und Follikelbildung  
bei der Gallmücke *Heteropeza pygmaea*



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

*Angaben zum Film:*

Tonfilm (Komm., deutsch od. engl.), 16 mm, schwarzweiß, 102 m, 9½ min (24 B/s). Hergestellt 1975, veröffentlicht 1978.

Der Film wurde aus vorhandenem Material zusammengestellt und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Die Aufnahmen entstanden durch Dr. D.F. WENT aus dem Zoologischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds. Bearbeitet und veröffentlicht durch das Institut für den Wissenschaftlichen Film., Göttingen, Dr. H.-K. GALLE, Dr. T. HARD; Schnitt: H.H. HEUNERT; Trick: Atlantik-Film, Hamburg.

*Zitierform:*

WENT, D.F. und INST. WISS. FILM: Ovarentwicklung und Follikelbildung bei der Gallmücke *Heteropeza pygmaea*. Film D 1267 des IWF, Göttingen 1978. Publikation von D.F. WENT, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 11, Nr. 26/D 1267 (1978), 10 S.

*Anschrift des Verfassers der Publikation:*

Dr. D.F. WENT, Zoologisches Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, Universitätstr. 2, CH-8006 Zürich.

---

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

Sektion MEDIZIN

NATURWISSENSCHAFTEN

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Herausgeber: H.-K. GALLE · Schriftleitung: E. BETZ, I. SIMON

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftlichen Ergänzungen zu den Filmen des Instituts für den Wissenschaftlichen Film und der Encyclopaedia Cinematographica. Sie enthalten jeweils eine Einführung in das im Film behandelte Thema und die Begleitumstände des Films sowie eine genaue Beschreibung des Filminhalts. Film und Publikation zusammen stellen die wissenschaftliche Veröffentlichung dar.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN werden in deutscher, englischer oder französischer Sprache herausgegeben. Sie erscheinen als Einzelhefte, die in den fachlichen Sektionen zu Serien von etwa 500 Seiten zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus 4 Lieferungen mit einer entsprechenden Zahl von Einzelheften; jährlich erscheinen 1–4 Lieferungen in jeder Sektion.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film  
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen  
Tel. (05 51) 2 10 34

## FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

DIRK F. WENT, Zürich, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM,  
Göttingen:

Film D 1267

### **Ovarentwicklung und Follikelbildung bei der Gallmücke *Heteropeza pygmaea***

Verfasser der Publikation: DIRK F. WENT

Mit 2 Abbildungen

#### *Inhalt des Films:*

**Ovarentwicklung und Follikelbildung bei der Gallmücke *Heteropeza pygmaea*.** Die larvalen Ovarien der vivipar paedogenetischen Gallmücke *Heteropeza pygmaea* lassen sich in vitro kultivieren. Mit Hilfe eines Umkehrmikroskops mit Differentialinterferenzkontrastoptik und der Zeitrafferfilmtechnik wurden Filmaufnahmen gemacht, welche den gesamten Ablauf der Ovarentwicklung und Eibildung in vitro zeigen. Diese Entwicklungsvorgänge sowie zwei auffallende Bewegungsphänomene, nämlich das Pulsieren der Oozytenkerne während der Follikelbildung und die Rotation der Follikel, werden im Film mit verschiedener Zeitraffung und Vergrößerung dargestellt.

#### *Summary of the Film:*

**Ovary Development and Follicle Formation in the Gall Midge *Heteropeza pygmaea*.** The larval ovaries of the viviparous paedogenetic gall midge *Heteropeza pygmaea* can be cultured in vitro. With the aid of an inverted microscope equipped with differential interference contrast optics, time-lapse films have been made of ovary development and egg formation in vitro. The film shows these developmental processes as well as two conspicuous movement phenomena, pulsation of oocyte nuclei during follicle formation and rotation of follicles.

#### *Résumé du Film:*

**Développement ovarien et formation de la follicule chez l'itoniidide *Heteropeza pygmaea*.** Les ovaires des larves de l'itoniidide vivipare et pédogénétique *Heteropeza pygmaea* peuvent être cultivés in vitro. Le film a été réalisé à l'aide d'un microscope inversé équipé d'une optique à contraste interférentiel (d'après Nomarski) et selon la technique de la prise de vue accélérée. Il montre le développement complet de l'ovaire et la formation des œufs in vitro. Ces processus de développement ainsi que deux phénomènes de mouvement frappants, la pulsation des noyaux des oocytes pendant la formation des follicules et la rotation de ces follicules, ont été filmés avec des agrandissements et des vitesses différents.

## Allgemeine Vorbemerkungen

Die vivipare Gallmücke *Heteropeza pygmaea* vermehrt sich unter bestimmten Nahrungsbedingungen paedogenetisch, d.h. parthenogenetisch im Larvenstadium. Eine junge weibliche Larve wächst zu einer Mutterlarve heran, aus der am Ende der Entwicklung die jungen Larven schlüpfen (ULRICH [1]). Bei dieser larvalen Fortpflanzung sind Oogenese und Embryonalentwicklung vom normalen Typus abgewandelt (WENT [2]). Das Längenwachstum des Follikels und andere Vorgänge,

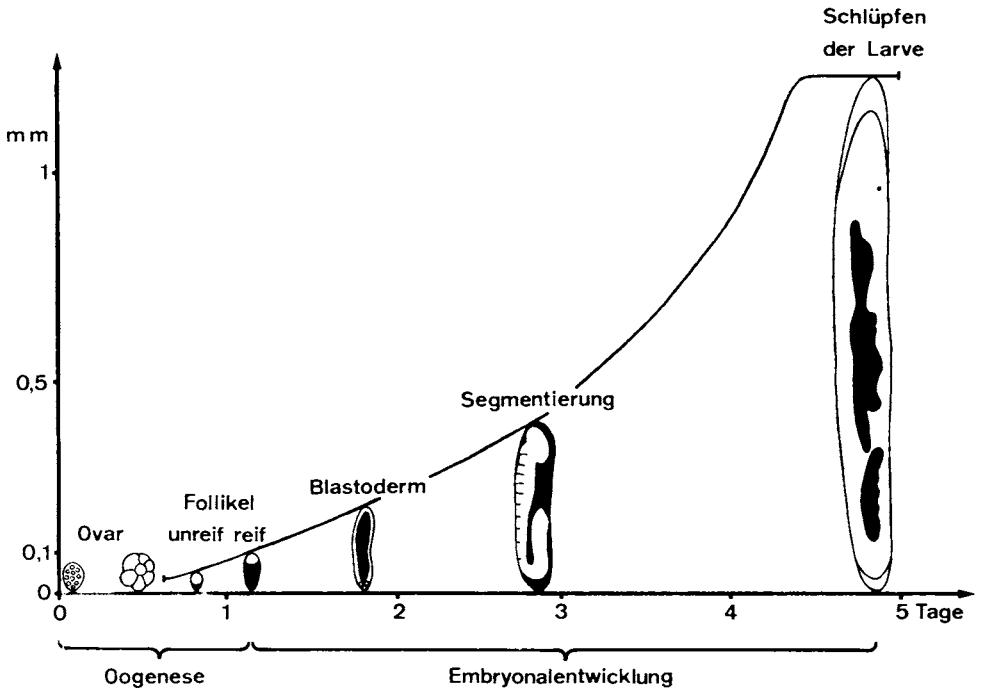


Abb.1. Ovar- und Embryonalentwicklung in der wachsenden Larve von *Heteropeza* bei 25° C. Der Nullpunkt auf der Abszisse bezeichnet den Zeitpunkt, in dem die Junglarve aus der Hülle der Mutterlarve schlüpft. Für eine ausführliche Beschreibung der einzelnen Entwicklungsstadien und der Methodik zur Erlangung der dargestellten Befunde siehe WENT [2]

die sonst bei Ovarien vom polytroph-meroistischen Typus während der Oogenese ablaufen, finden hier erst während der Embryonalentwicklung statt (Abb.1). Die meist eirunden, larvalen Ovarien produzieren Follikel, welche zusammengesetzt sind aus Oozyte, syncytialer Nährkammer und Follikelepithel (Abb.2). Die Follikel wachsen und reifen in der Hämolymphe der Larve, wo auch die anschließende Embryonalentwicklung durchlaufen wird.

Um die Bewegungsvorgänge bei der Bildung und dem Wachstum der Follikel beobachten zu können, wurde eine Methode zur In-vitro-Kultur der Ovarien aus-

gearbeitet (WENT [3]). Die Ovarien werden aus jungen Larven zur Zeit des Schlüpfens aus der Mutterlarve explantiert. Das Kulturmedium, bestehend aus larvaler Hämolymphe, wird wachsenden, mit Röntgenstrahlen behandelten *Heteropeza*-Larven entnommen; diese haben infolge der Bestrahlung keine Nachkommen und können als Hämolymphe-spender verwendet werden. Im Kulturmedium laufen sämtliche Prozesse der Oogenese normal ab. Bei zusätzlicher Anwesenheit von Fettkörper im Kulturtropfen wird auch die anschließende Embryonalentwicklung

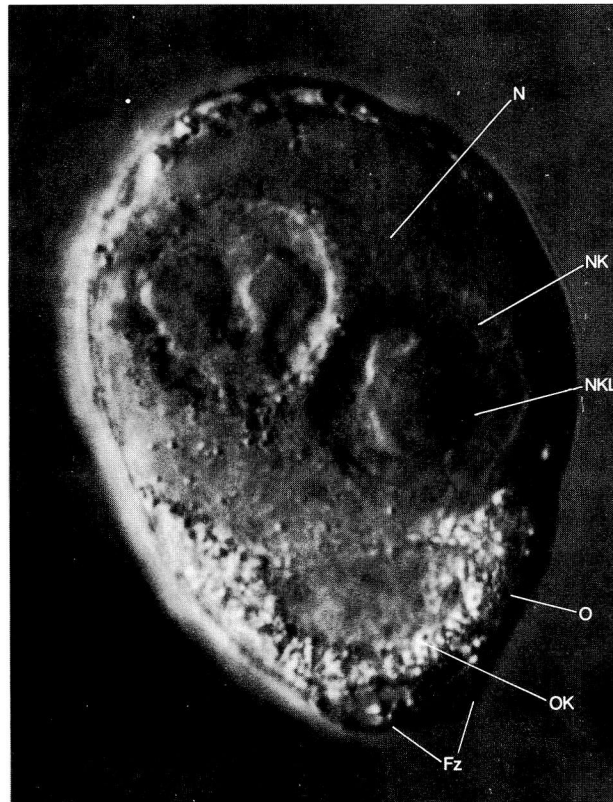


Abb.2. Junger, noch unreifer Follikel, kurz nach dem Verlassen des Ovars

Fz: Zellen des Follikelepithels; N: Nährkammer; Nk: Nährkern; Nkl: Nukleolus; O: Oozyte; Ok: Oozytenkern

vollständig durchlaufen (WENT [5]). Die Kultur der Ovarien in Hämolymphe wird auf einem Deckgläschen unter Paraffinöl durchgeführt. Die Präparate wurden von unten mit Hilfe eines Zeiss-Umkehrmikroskops gefilmt, das mit Differentialinterferenzkontrastoptik ausgerüstet war. Eine Zeitrafferapparatur (Paillard-Wild-Variotimer) ermöglichte eine angemessene Raffung der einzelnen Sequenzen. Die Auswertung der Zeitrafferfilme deckte zwei unerwartete Bewegungsphänomene auf, nämlich eine unablässige Pulsation der Oozytenkerne während der

Follikelbildung im Ovar sowie die Rotation der Follikel im Anschluß an ihre Zusammensetzung bis zum Ende der Oogenese (WENT [4]).

## Erläuterungen zum Film

### Wortlaut des gesprochenen Kommentars<sup>1</sup>

1. In der ersten Einstellung sieht man, wie Junglarven aus der Hülle einer sich paedogenetisch vermehrenden Mutterlarve schlüpfen.

40 B/min bis 20 B/h

Die Gallmücke *Heteropeza pygmaea* kann sich bereits als Larve parthenogenetisch vermehren. Bei dieser paedogenetischen Fortpflanzung wächst eine junge weibliche Larve zur Mutterlarve heran. In ihrem Innern entwickeln sich Larven, die dann aus der Mutterlarve schlüpfen.

Trickteil: Anhand eines Zeichentricks werden einige Vorgänge während der Oogenese und Embryonalentwicklung von *Heteropeza* erläutert und die Zusammensetzung eines Follikels erklärt.

### Schema.

Bei der paedogenetischen Fortpflanzung bilden die jungen Larven in ihren Ovarien unreife Follikel, die in die Leibeshöhle abgegeben werden. Die Follikel nehmen Nährstoffe aus der Haemolymphe auf und durchlaufen eine kurze Wachstums- und Reifungsphase. Noch bevor ihr Längenwachstum abgeschlossen ist, setzt bereits die Embryonalentwicklung ein, während der die Stoffaufnahme aus der Haemolymphe fort dauert. Nachfolgend wird der Film einige bisher unbekannte Bewegungsvorgänge zeigen, die während der Oogenese ablaufen.

Die vom Ovar gebildeten Follikel setzen sich zusammen aus der Oozyte mit Oozytenkern, der Nährkammer mit Nährkernen und dem Follikel-epithel.

Die nachfolgenden Sequenzen (2–9) zeigen zunächst den gesamten Ablauf der Ovar-entwicklung, Follikelbildung und -wachstum mit unterschiedlicher Zeitraffung und Vergrößerung und anschließend die Bewegungspänomene Pulsation und Rotation im einzelnen.

2. Bildfeldbreite 825 µm; Aufn.-Freq. 20 B/h; Dauer des Vorgangs: 3 Tage.

Diese Übersicht zeigt neun Ovarien, die aus jungen Larven entnommen sind und in larvaler Haemolymphe in vitro kultiviert werden. Die noch unreifen Follikel werden in großer Zahl aus den Ovarien freigelassen und durchlaufen nun die kurze Wachstums- und Reifungsphase der Oogenese.

Rechts im Bild ein einzelnes Ei, in dem nach vollendeter Reifung bereits die Furchung mit der intravitellinen Kernvermehrung beginnt.

In vitro dauert die Oogenese – die Follikelbildung mitgerechnet – etwa 50 Stunden. Inzwischen haben die meisten Eier die Oogenese beendet und die Embryonalentwicklung begonnen.

3. Bildfeldbreite 325 µm; Aufn.-Freq. 30 B/h; Dauer des Vorgangs: 3 Tage

---

<sup>1</sup> Die *Kursiv*-Überschrift entspricht dem Zwischentitel im Film. – Die eingerückten Abschnitte in Kleindruck geben zusätzliche Informationen.

Hier die Ovarien in stärkerer Vergrößerung. In dieser Entwicklungsphase setzen sich die Follikel zusammen. Hierbei werden Oozyte und Nährkammer von kleinen mesodermalen Zellen, den künftigen Follikelepithelzellen, umgeben.

Sobald die Follikel zusammengesetzt sind, beginnen sie sich zu drehen. Anfangs dauert eine Drehung 3–4 Stunden, später 5–7 Stunden. Die Follikel drehen sich auch außerhalb des Ovars weiter.

Erst am Ende der Oogenese hören die Drehbewegungen auf.

Solange die Follikel noch rund sind, drehen sie sich ungerichtet.

Während die Oozyte wächst, werden die Follikel oval und rotieren dann um ihre Längsachse.

Einzelne Follikel drehen sich nicht mehr. Kurz danach sind sie reif, und die Kernvermehrung setzt ein.

4. Bildfeldbreite 130  $\mu\text{m}$ ; Aufn.-Freq. 2 B/min;  
Dauer des Vorgangs: 1 Tag, 10 Stunden.

Diese Einstellung zeigt ein Ovar bei stärkerer Vergrößerung und geringerer Zeitraffung.

Bei der Explantation des Ovars ist seine Hülle an einer Stelle verletzt worden. Hier treten Zellen aus dem Ovar aus; die Bildung der Follikel ist dadurch nicht gestört. Sowohl innerhalb als auch außerhalb des Ovars werden normale Follikel zusammengesetzt, die die Oogenese vollständig durchlaufen. Auch die anschließende Embryonalentwicklung läuft ungestört ab.

Das Ovar hat anfangs einen Durchmesser von 70 Mikrometer. Es ändert seine Größe nur wenig, da ein Teil seines Inhalts an der verletzten Stelle austreten konnte. Bei ungestörter Entwicklung erreicht ein Ovar bis zur Abgabe der Follikel einen Durchmesser von etwa 100 Mikrometer.

Die Grenzen einzelner Follikel werden dadurch sichtbar, daß die künftigen Epithelzellen Oozyte und Nährkammer allmählich umgeben. In Kultur dauert die Follikelbildung etwa 24 Stunden.

Kurze Zeit ist der Oozytenkern sichtbar. In diesem Stadium ist die Oozyte noch klein. Die Nährkammer enthält meist 3–5 Nährkerne und stellt, da keine Zellgrenzen vorhanden sind, ein Synzytium dar. Die jungen Follikel haben einen Durchmesser von etwa 40 Mikrometer. Jetzt ist die straff gespannte Ovarhülle zu erkennen. An der veränderten Lage des Oozytenkerns wird deutlich, daß die Follikel sich zu drehen begonnen haben. In den Nährkernen haben die Nukleoli eine gelappte Form. In den Oozytenkernen sind sie nicht erkennbar.

Die Oozytenkerne verändern rhythmisch ihre Form.

5. Bildfeldbreite 80  $\mu\text{m}$ ; Aufn.-Freq. 3 B/min;  
Dauer des Vorgangs: 4,5 Stunden.

Im Ovar ist bereits nach der Explantation die rhythmische Formveränderung der Oozytenkerne zu beobachten. Eine Hin- und Herbewegung dauert etwa 5 Minuten. Das Pulsieren hört erst auf, wenn die Follikel das Ovar verlassen. Die Zellgrenzen der Oozyten sind nicht sichtbar. Ursache und Bedeutung der Kernbewegungen sind noch unbekannt. Nährkerne pulsieren nicht.

6. Bildfeldbreite 80  $\mu\text{m}$ ; Aufn.-Freq. 40 B/min;  
Dauer des Vorgangs: 12,5 Minuten.

Bei schwächerer Zeitraffung sind die beiden Kerntypen leicht zu unterscheiden. Der runde Nährkern zeigt Doppelkontur und ändert seine Form nicht, der Oozytenkern dagegen wechselt ständig Form und Lage.

7. Bildfeldbreite 33  $\mu\text{m}$ ; Aufn.-Freq 12 B/min;  
Dauer des Vorgangs: 21 Minuten.

Hier noch einmal ein pulsierender Oozytenkern und zwei Nährkerne in starker Vergrößerung.

8. Bildfeldbreite 80  $\mu\text{m}$ ; Aufn.-Freq. 3 B/min;  
Dauer des Vorgangs: 1 Stunde, 52 Minuten.

Noch während die Oozytenkerne pulsieren, beginnen sich die runden Follikel zu drehen.

9. Bildfeldbreite 80  $\mu\text{m}$ ; Aufn.-Freq. 3 B/min;  
Dauer des Vorgangs: 4 Stunden, 16 Minuten.

Diese beiden rotierenden Follikel haben sich gerade aus dem Ovar gelöst; sie sind noch rund und haben einen Durchmesser von etwa 50 Mikrometer. Während sich die Oozyten vergrößern, nehmen die Follikel ovale Form an und drehen sich dann um ihre Längsachse. Die strukturellen Grundlagen der Rotation sind noch unbekannt.

#### English Version of the Spoken Commentary<sup>1</sup>

*40 B/min bis 20 B/h*

The gall midge *Heteropeza pygmaea* can reproduce by paedogenesis. By means of this larval reproduction, a young female larva grows up to become a mother larva. Inside the larva embryos develop parthenogenetically and at the end of development young larvae crawl out of the mother larva.

In paedogenetic reproduction the larval ovaries produce small follicles which are released into the body cavity of the larva. The follicles absorb nutrients from the haemolymph and go through a short period of growth and maturation. Then embryonic development starts. Egg growth and intake of substances from the haemolymph continue throughout embryogenesis. The film shows some feature of oogenesis, in particular two newly discovered movement phenomena.

The follicles which are formed in the ovary consist of an oocyte with oocyte nucleus, a nurse chamber with nurse nuclei and the follicular epithelium.

This low power magnification shows nine ovaries explanted from young larvae and cultured in vitro in larval haemolymph.

The newly formed follicles are released from the ovaries. They pass through the short period of growth and maturation and complete oogenesis.

To the right an egg can be seen which has matured. It already begins cleavage with intravitelline nuclear multiplication. Oogenesis – including follicle formation –

<sup>1</sup> The headline in *italics* corresponds with the subtitle in the film.



takes about 50 hours in vitro. Meanwhile, most of the eggs have finished oogenesis and started embryonic development.

This sequence shows ovaries at a higher magnification. At this stage of development follicles are being composed. Small mesodermal cells, the prospective follicle cells, enclose each oocyte with its nurse chamber.

As soon as the follicles have been formed, they start to rotate. In the beginning one revolution takes 3 to 4 hours, later 5 to 7 hours. The follicles continue to rotate outside the ovaries. Only at the end of oogenesis does rotation stop. As long as the follicles are spherical, direction of rotation is random.

While the oocytes grow, the follicles assume oval shape; rotation now occurs around the longitudinal follicle axis.

Some of the follicles stop rotating. At about this time, they also finish maturation and start nuclear multiplication.

This sequence shows an ovary at higher magnification and its development at a slower time lapse rate. The ovarian sheath has been damaged at explantation. In one place cellular material flows out of the ovary; this does not interfere with follicle formation. Inside as well as outside the ovary normal follicles are formed, which complete the whole of oogenesis and also develop through embryogenesis. The diameter of the ovary is 70 micrometers at the beginning. It increases only slightly, since part of the ovarian contents flow out at the damaged site. Intact ovaries have a diameter of at least 100 micrometers at the moment of release of the follicles.

The contours of individual follicles become visible due to gradual enclosure of the oocytes and their nurse chambers by the prospective follicle cells. In vitro, follicle formation takes about 24 hours.

For a short time the oocyte nucleus is visible. At this stage the oocyte is still small. The nurse chamber usually contains 3 to 5 nurse nuclei and represents a syncytium, since there are no cell borders between the nuclei. The young follicles have a diameter of 40 micrometers.

Now the stretched ovarian sheath can be observed. From the altered position of the oocyte nucleus it is evident that follicle rotation has started. The nucleoli of the nurse nuclei have a lobed shape. In oocyte nuclei nucleoli are not visible.

The oocyte nuclei alter their shape rhythmically.

These continuous pulsating movements of oocyte nuclei can be observed in the ovary immediately after explantation. One pulsating movement to and fro takes about 5 minutes. The cell borders of the oocytes cannot be seen. Pulsation ceases only when the follicles leave the ovary. Nothing is known about the function of these nuclear movements. Nurse nuclei do not pulsate.

Oocyte and nurse nuclei can easily be distinguished when ovarian development is shown at a slower time lapse rate. The spherical nurse nucleus seems to have a double nuclear border and does not change its shape. The oocyte nucleus continuously alters shape and position.

Here a pulsating oocyte nucleus and two nurse nuclei are observed at a higher magnification.

The oocyte nuclei still pulsate when the follicles start to rotate in different directions.

These rotating follicles have just been released from the ovary; their shape is still spherical and their diameter is about 50 micrometers. As soon as the follicles have assumed oval shape due to the growth of the oocytes, rotation occurs around the longitudinal follicle axis. Origin and location of the forces causing rotation are still unknown.

### Literatur

- [1] ULRICH, H.: Generationswechsel und Geschlechtsbestimmung einer Gallmücke mit viviparen Larven. Verh. dt. Zool. Ges. in Wien 1962, Zool. Anz. Suppl. **26** (1962), 139–152.
- [2] WENT, D.F.: Zeitrafferfilmanalyse der Embryonalentwicklung in vitro der vivipar paedogenetischen Gallmücke *Heteropeza pygmaea*. Wilhelm Roux' Archiv **170** (1972), 13–47.
- [3] WENT, D.F.: In vitro culture of ovaries of a viviparous gall midge. In Vitro **13** (1977), 76–84.
- [4] WENT, D.F.: Pulsating oocytes and rotating follicles in an insect ovary. Devel. Biol. **55** (1977), 392–396.

### Filmveröffentlichung

- [5] WENT, D.F.: Die Embryonalentwicklung in vitro der Gallmücke *Heteropeza pygmaea*. Film W 970 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1969.

### Abbildungsnachweis

Abb. 1: D. F. WENT; Abb. 2: Einzelbild aus dem Film.