

Aus dem Max Planck-Institut für Biologie, Abt. Beermann, Tübingen

INTERZELLULÄRE BRÜCKEN (FUSOME) IM HODEN
UND IM EI-NÄHRZELLVERBAND VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Von

GÜNTHER F. MEYER

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Februar 1961)

1. Einleitung

In einer vor kurzem erschienenen Untersuchung von FAWCETT u. Mitarb. (1959) werden in verschiedenen Geweben, die eine gemeinsame und synchrone Entwicklung durchmachen, interzelluläre Brücken beschrieben. Im Gegensatz zu anderen interzellulären Verbindungen, z.B. den Desmosomen in Mesothel, Epidermis und im Herzmuskel (SELBY 1955, PORTER 1956, ODLAND 1958, HORSTMANN und KNOOP 1958, HAMA 1960, KARRER 1960, GRIMLEY 1960 u.a.) und den Plasmodesmen in Pflanzenzellen (STRUGGER 1957), kommen diese Brücken durch eine einzelne, große, ringförmige Öffnung zustande. Ihr Rand ist in besonderer Weise differenziert, und die elektronenmikroskopischen Bilder sprechen dafür, daß diese Brücken tatsächlich den freien Durchtritt von cytoplasmatischem Material einschließlich Mitochondrien gestatten. Nach den Untersuchungen von FAWCETT am Hoden verschiedener Tiere und an den Cnidoblasten von *Hydra* entstehen die interzellulären Brücken als Folge von unvollkommenen Zellteilungen, da bei der Plasmateilung die Ringfurche den Spindelrestkörper nicht durchtrennt. Nach Auflösung des Spindelrestkörpers bleibt die Öffnung bestehen, so daß eine vollkommene, plasmatische Kontinuität zwischen den Tochterzellen hergestellt ist. Diese Befunde von FAWCETT u. Mitarb. decken sich mit den Beobachtungen von HIRSCHLER (1935, 1948, 1953), der außerdem die Ursache für die räumliche Ordnung im Ei-Nährzellverband der Insektenovarien in der Ausrichtung der „Zellkoppeln“ auf die Centrofusome („Zentralspindeln“) sieht.

Fusomähnliche Strukturen in Ovarien wurden von BAUER (1953) beschrieben, der sie als Zellkoppelringe bezeichnet und mit einer Reihe von Mikrophotographien belegt. Nach A. MILLER (in Demerec 1950) kommen bei *Drosophila* interzelluläre Brücken vor, die Ei- und Nährzellen miteinander verbinden. Auch KING (1960) schreibt von Verbindungen in Form großer „Poren“ zwischen den einzelnen Zellen eines Nährzellverbandes. Außerdem spricht er von interzellulären Brücken zwischen der Eizelle und den ihr anliegenden Nährzellen, vermeidet aber eine Identifizierung beider Strukturen. Er vertritt die Auffassung, daß alle diese Verbindungen von Spindelresten bzw. unvollkommenen Plasmateilungen abstammen, hat aber keine eigenen Untersuchungen darüber angestellt.

Leider haben sich sehr viele Termini für diese interzellulären Verbindungsstrukturen eingeführt — *intercellular bridges*, *intercellular connections*, *attachment zones*, *Zwischenkörper*, *Zellkoppeln*, *Fusome* — um nur einige zu nennen. Für alle interzellulären Verbindungen, die durch eine kreisförmige Öffnung der Zellmembran mit besonderer Differenzierung des Randes zustande kommen, wird

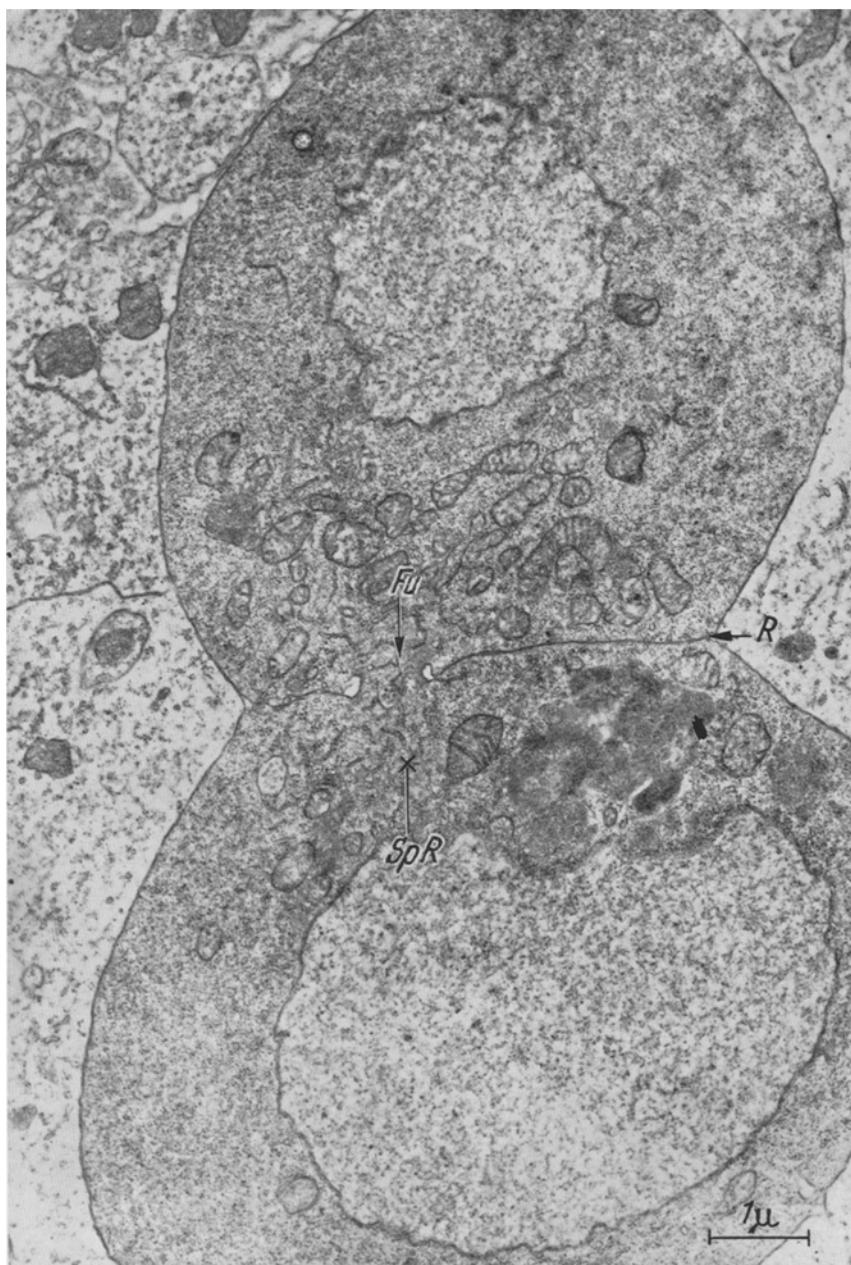


Abb. 1. Spermatogonien von *Drosophila*, 13 200 \times . *Fu* Fusom, Ringfurche, *SpR* Spindelrestkörper

im Rahmen dieser Untersuchung in Anlehnung an die Terminologie HIRSCHLERS der Ausdruck „*Fusom*“ verwendet. Eine genaue Beschreibung dieser Fusome im Ei-Nährzellverband, die sich gegenüber den interzellulären Brücken durch eine weitere Differenzierung auszeichnen, soll im Anschluß gegeben werden.

2. Material und Methodik

Ovarien und Hoden eines Wildstammes von *Drosophila melanogaster* wurden in Insektenringerlösung präpariert und in 1%iger OsO₄-Lösung fixiert. Einbettung über die Methanolreihe in Methacrylat. Die meisten Schritte wurden in einer 0,1%igen Lösung von Uranylacetat kontrastiert und dünn mit Kohle bedampft. Die Aufnahmen erfolgten mit einem Siemens-Elmiskop I.

3. Ergebnisse

Interzelluläre Brücken, die den von FAWCETT beschriebenen ähnlich sind, d. h. im Bereich der Öffnung eine stark osmiophile, ringförmige Verdickung aufweisen,

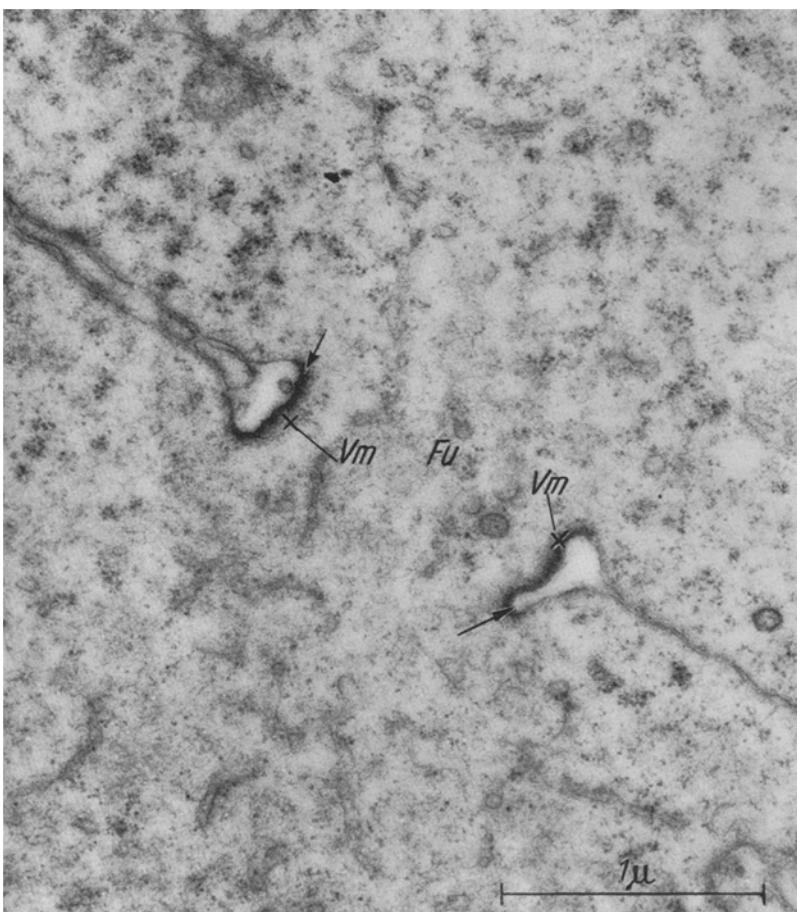


Abb. 2. Fusom zwischen Spermatocyten I von *Drosophila*, 35 000 ×. Fu Fusom, → osmiophiler Verstärkungsring, Vm Verschlußmaterial

kommen auch bei *Drosophila* im Hoden vor (Abb. 1 und 2). Diese interzellulären Strukturen gibt es bei Spermatogonien und Spermatocyten. Dagegen sind Spermatischen über einfache, undifferenzierte Plasmabrücken miteinander verbunden. Neben dem üblichen Typ der Verbindung (Abb. 1 und 2) wurde noch eine andere Form beobachtet (Abb. 3). Hier liegt keine freie Kommunikation vor, wie in den vorher angeführten Fällen, vielmehr wird die Öffnung zwischen den beiden Zellen durch

eine weitgehend homogene, helle Plasmazone ausgefüllt. Wahrscheinlich schließt sich an die Zellteilung ein bestimmtes Stadium an, in welchem noch kein Austausch größerer Plasmabestandteile, wie Mitochondrien oder Ribosomen, erfolgt. Bei dem die Öffnung ausfüllenden Plasmapfropfen handelt es sich vielleicht um einen in Auflösung befindlichen Spindelrest.

Von den interzellulären Brücken der Spermatogonien und Spermatocyten sind die des Ovars deutlich verschieden. In Abb. 4 sind solche Verbindungsstrukturen (*Fu*) zwischen der Eizelle und zwei ihrer Nährzellen zu sehen. Bei stärkerer Ver-

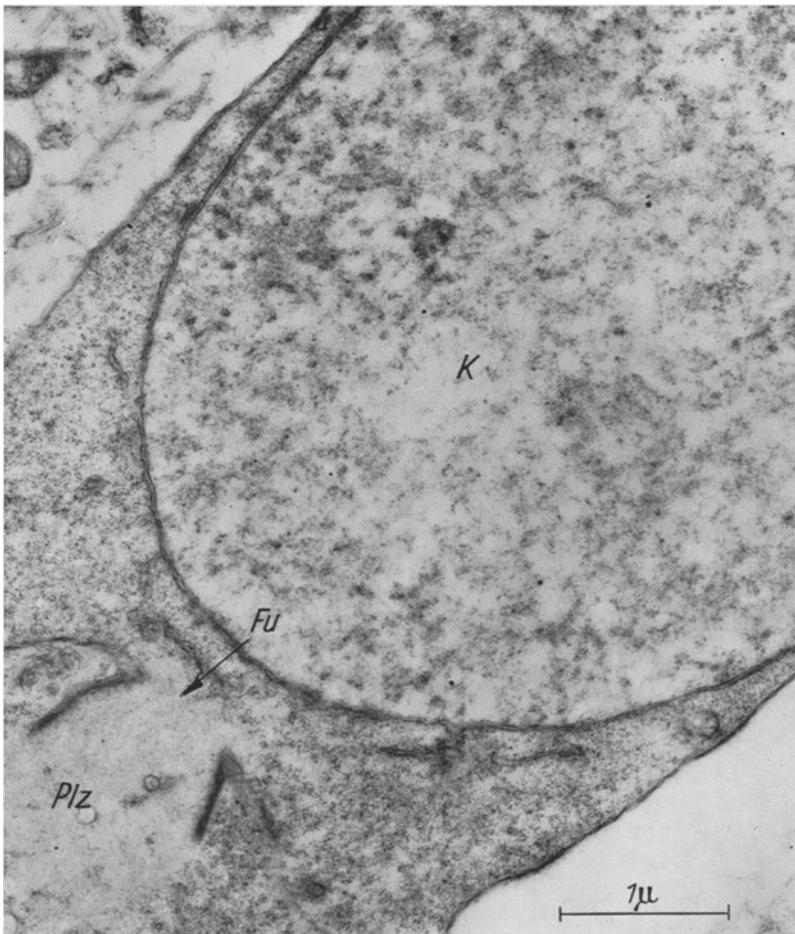


Abb. 3. Spermatogonie von *Drosophila*, 22 000 ×. K Kern, Fu Fusom, Plz „helle“ Plasmazone, vielleicht Spindelrest in Auflösung

größerung erscheint die Plasmamembran im Fusombereich umgebogen und spezifisch verändert (Abb. 5). Das stimmt mit den Verhältnissen im Hoden ungefähr überein. Es handelt sich wohl um eine Struktur, die der Stabilisierung solcher Öffnungen dient. Darüber hinaus jedoch findet sich an der Innenseite des Versteifungsringes eine Anhäufung von Material, das mehr oder weniger in das Lumen der Öffnung hineinragt (Abb. 4, 5, 6 und 7). Die Verbindung zwischen Ei- und

Nährzellen wird so teilweise oder ganz durch das genannte Material unterbrochen. Außerdem kommt es zum Aufbau einer, dem Verschlußmaterial eng anliegenden,

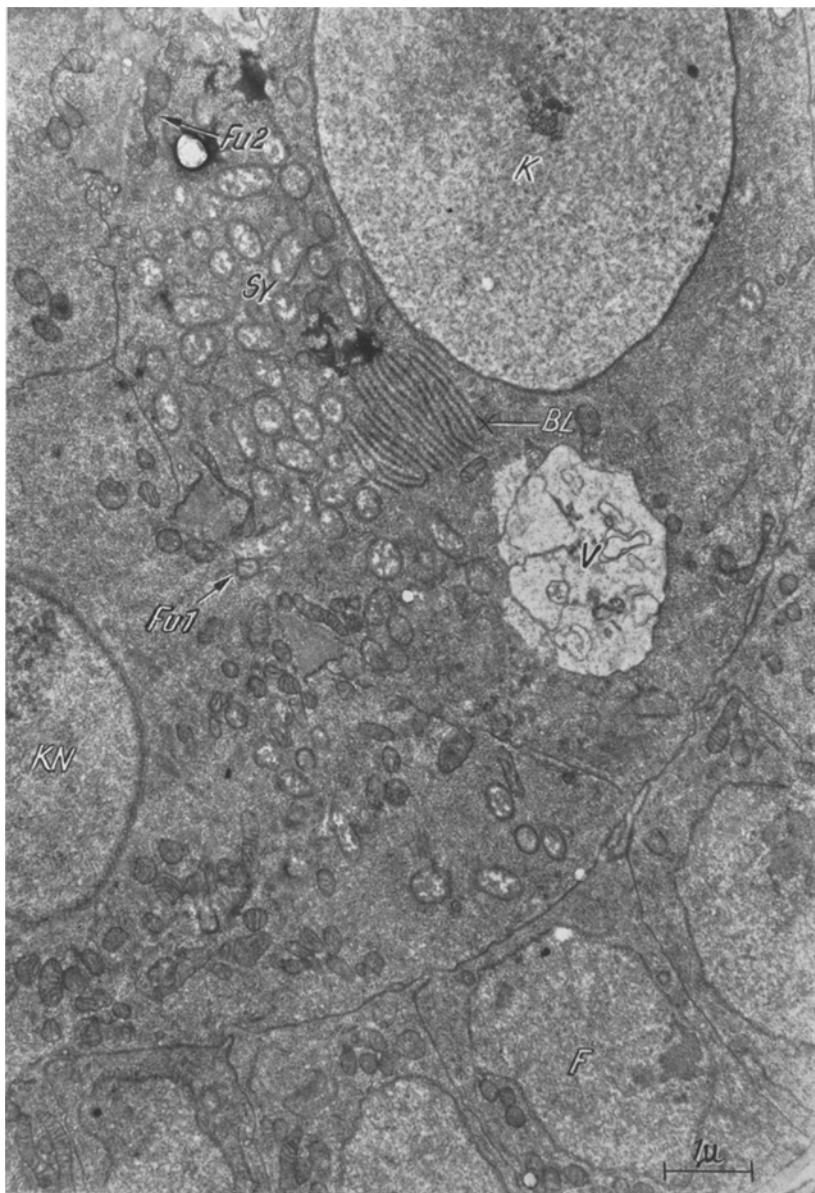


Abb. 4. Oocyte, Nähr- und Follikelzellen von *Drosophila*, 11 000×. *K* Kern der Oocyte, *Fu1* Fusom geöffnet, *Fu2* Fusom geschlossen, *BL* basophile Lamellensysteme, *Sy* symbiontenähnliche Körper, *V* Vakuole, in allen Ei- und Nährzellen vorhanden, *F* Follikelzellen

unvollkommenen Plasmamembran (Abb. 5). Eine ganze Reihe unterschiedlicher Öffnungszustände aus einem Ei-Nährzellverband ist in Abb. 6 zu sehen. Bei α ist die Öffnung des Fusoms ganz von dem schon genannten „Verschlußmaterial“

ausgefüllt, bei *b* ist diese im mittleren Bereich leicht verengt (vgl. die keilförmige Struktur des Materials in Abb. 4). Die Fusome in *c* und *d* schließlich sind geöffnet.

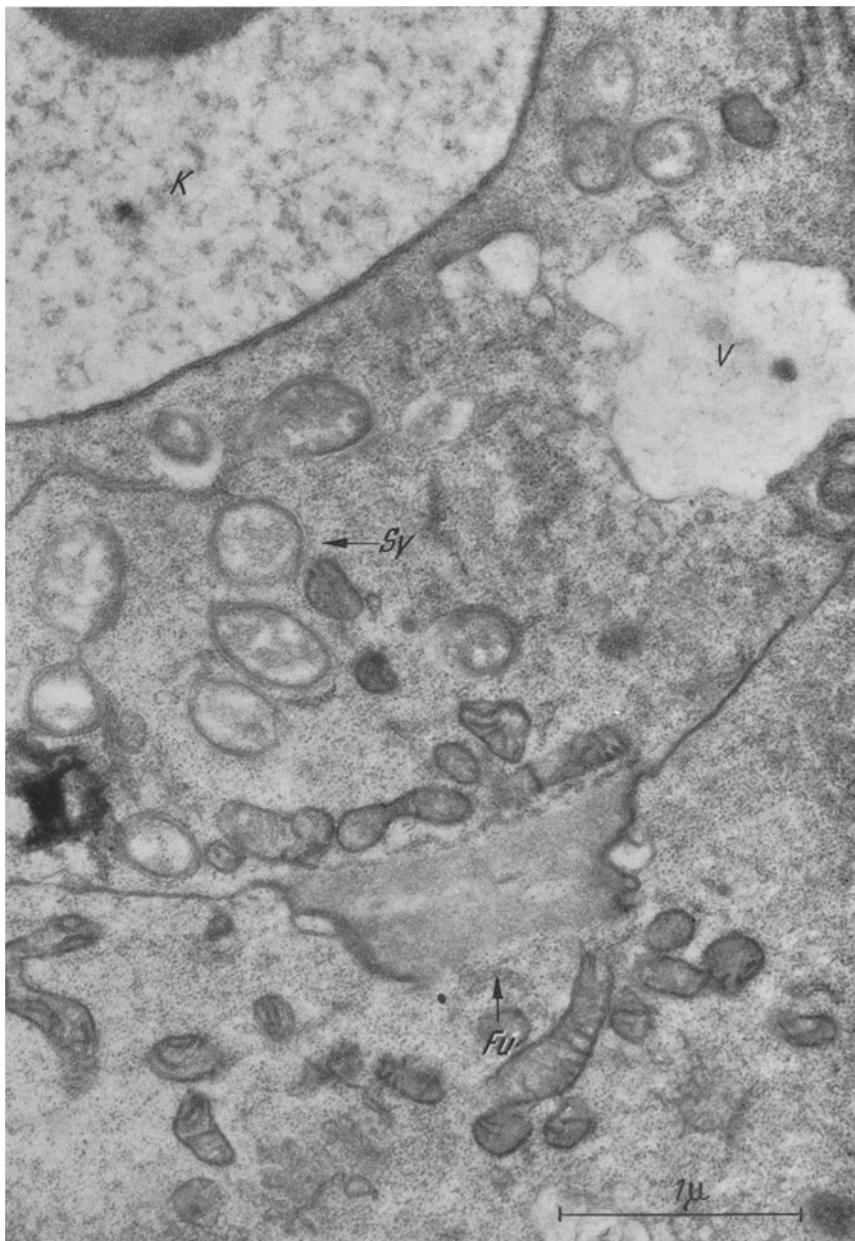


Abb. 5. Fusom geschlossen, $32000 \times$. *K* Kern der Oocyte, *V* Vakuole, *Sy* symbiontenähnliche Körper, *Fu* Fusom

Das „Verschlußmaterial“ ist bis auf einen Wulst am Rand der Öffnung reduziert, durch die in beiden Abbildungen (*c* und *d*) Mitochondrien hindurchtreten.

Messungen an Fusomen in Ei-Nährzellverbänden ungefähr gleichen Alters ergaben bei geöffnetem und geschlossenem Zustand annähernd den gleichen Durchmesser, sofern die Fusome median angeschnitten worden waren. Der maximale Durchmesser (z. B. $2\text{ }\mu$) entspricht der tatsächlichen Öffnung des Fusoms, nach unten abweichende Werte röhren von einer paramedianen Schnittführung her.

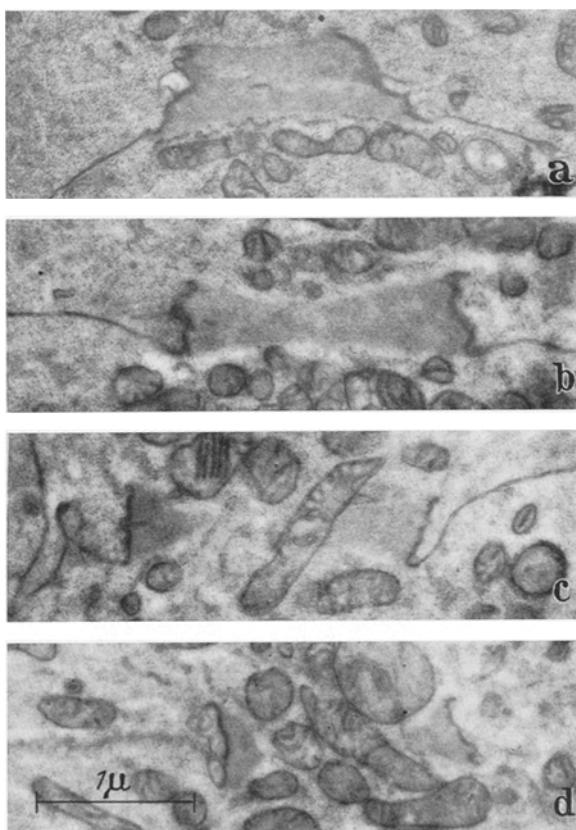


Abb. 6a—d. Verschiedene Öffnungszustände von Fusomen einer Eikammer, $21000\times$. a Fusom geschlossen, b mit Einschnürung in der Mitte, c in der Mitte geöffnet, Verschlußmaterial erstreckt sich keilförmig in die Öffnung hinein, Mitochondrien passieren das Fusom, d Fusom offen, das Verschlußmaterial ist bis auf einen Wulst am Versteifungsring verschwunden

Geschlossene Formen können demnach nur ausnahmsweise durch Tangentialanschnitte des Ringrandes und des Verschlußmaterials vorgetäuscht sein. Nach KING (1960) beträgt die Öffnung $4\text{ }\mu$ bzw. $5\text{ }\mu$ für die ganze Struktur einschließlich Ring, da es sich um ältere Ei-Nährzellverbände handelt (vgl. Abb. 11).

Auch im Lichtmikroskop können die Fusome beobachtet werden, besonders leicht in älteren Eikammern (Abb. 8); sie erweisen sich aber im Lebendpräparat als äußerst labile Strukturen. Ohne jede Schwierigkeit dagegen gelingt ihre Darstellung im gut fixierten Totalpräparat nach Boraxkarminfärbung. Unter günstigen Umständen bleiben sie auch im Quetschpräparat nach Carnoy-Fixierung und Karminessigsäurefärbung erhalten (BIER 1959).

Es war bisher ungeklärt, ob auch der hier beschriebene komplizierte Fusomotyp wie die einfachen interzellulären Brücken bei FAWCETT von einer unvollkommenen

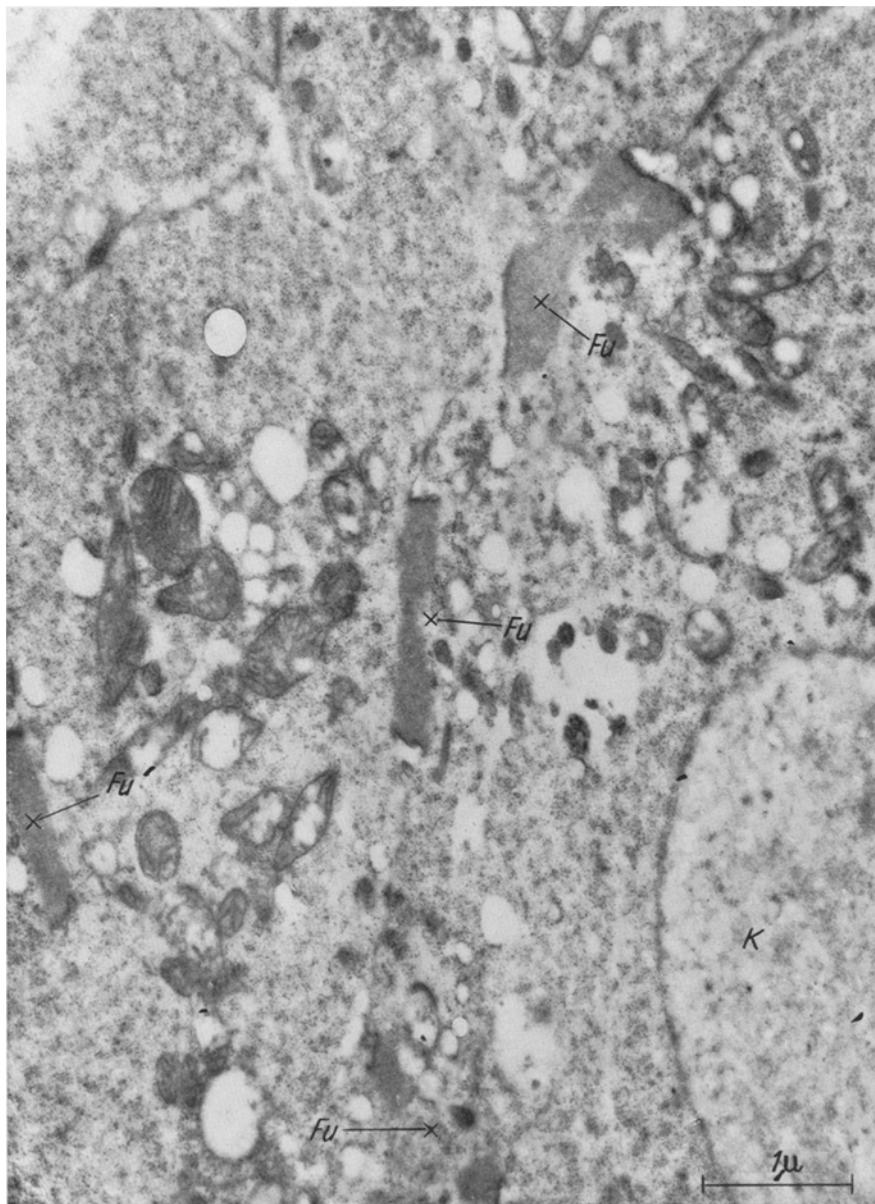


Abb. 7. Fusome im Germarium eines adulten Tieres, 20 000 \times . Es sind 4 Fusome in unterschiedlichem Öffnungszustand sichtbar. Die Zelle mit dem Kern K ist im hier abgebildeten Teil über 3 Fusome mit den umgebenden Zellen verbunden. Fu Fusome

Zellteilung mit Einschluß eines Spindelrestes abgeleitet werden kann. Dieser Annahme stand entgegen, daß das Verschlußmaterial keine Ähnlichkeit mit einem Spindelrest hat. Es besteht vielmehr aus einem weitgehend homogenen und nur

stellenweise ganz schwach fibrillären, sonst sehr fein granulierten Material. Auch im distalen Teil des Germariums verbinden zahlreiche Fusome mit Verschlußmaterial die noch nicht als Ei-Nährzellverband differenzierten Zellen (Abb. 7). Hier findet man alle möglichen unterschiedlichen Öffnungszustände, doch überwiegen deutlich die geschlossenen Fusome. Es wurde also im Ovar adulter Tiere nur der hochdifferenzierte Fusomtyp beobachtet. Nur in den noch sehr kleinen Ovarien

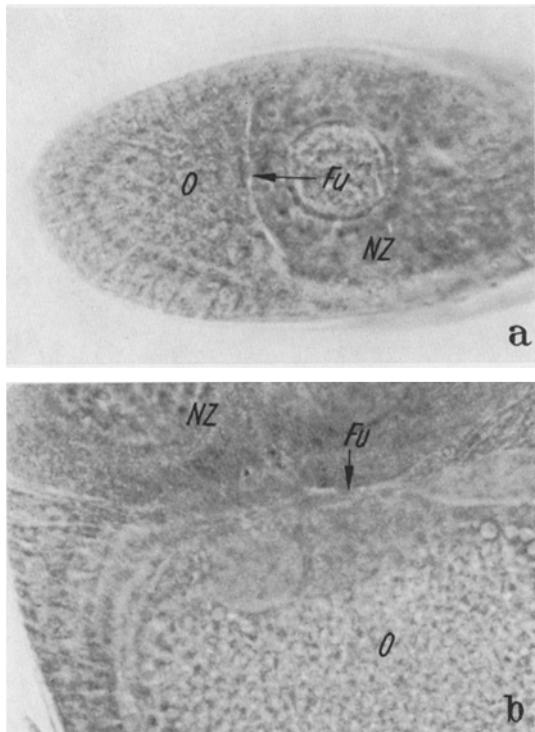


Abb. 8 a u. b. Fusome in älteren Eikammern, Fixierung CARNOY, Färbung mit Boraxkarmin, Totalpräparat, 400 \times . NZ Nährzellen, O Oocyten, Fu Fusome. Der Durchmesser beträgt in der jungen Eikammer (a) 6 μ , in der älteren (b) 10 μ

des dritten Larvenstadiums treten interzelluläre Brücken, wie die in Abb. 1 und 2 beschriebenen, auf, die einen Spindelrestkörper umfassen. Dieser ist aber weit lockerer gebaut und weniger osmiophil als das Verschlußmaterial der Fusome des adulten Tieres. Es erscheint demnach unwahrscheinlich, daß das Verschlußmaterial der eigentlichen Fusome mit dem Spindelrest identisch ist. Eine Erklärung seiner Entstehung ergibt sich bei Betrachtung der stark osmophilen Verstärkungsleiste, die die Öffnung begrenzt. Hier erscheint als schmaler Saum osmophiles Material, das als Verschlußmaterial in statu nascendi gedeutet werden kann (Abb. 9). Erst nach Auflösung des Spindelrestes — so scheint es jedenfalls — vermag es sich in die Öffnung hinein auszudehnen.

Nach den Vorstellungen von HIRSCHLER (1948, 1953) sollen speziell die Fusome des Ei-Nährzellverbandes von den Restkörpern der von ihm so benannten „Zentralspindeln“ („Centrofusome“) abstammen, die dessen Krümmung und die Lagebeziehung der Zellen bedingen. Unter „Zentralspindel“ versteht HIRSCHLER solche

Spindelreste, die die gemeinsame Zellachse mehrerer Zellen bilden. Solche „Zentralspindeln“ waren im dritten Larvenstadium nicht vorhanden. Dagegen fanden sich im larvalen Ovar von *Tipula* ganze Zellkomplexe, die über einen langen, mehrere Zellen verbindenden Spindelrest zusammenhingen (Abb. 10).

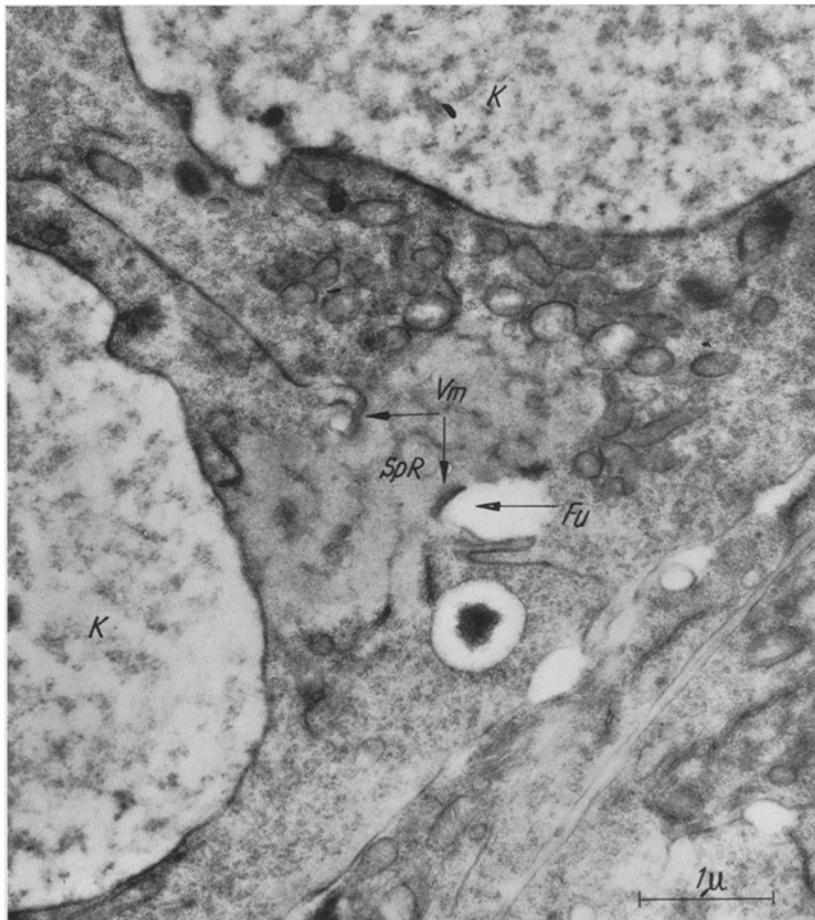


Abb. 9. Fusom in der larvalen Ovaranlage (3. Larvenstadium) von *Drosophila*, 18 000 ×. K Kerne, SpR Spindelrestkörper, Fu Fusom, Vm Beginn der Produktion von Verschlußmaterial

4. Diskussion

Verbindungen zwischen Ei und Nährzellen, die dem Transport von Nährstoffen und auch von bereits strukturierten Plasmabestandteilen in das schnell wachsende Ei dienen, sind wiederholt beschrieben worden (vgl. WEBER 1933 und EIDMANN 1941). Die Voraussetzung für den Übertritt von größeren geformten Plasmapartikeln (z. B. Mitochondrien) sind entsprechende Perforationen der Plasmamembran. Es liegen hier im Ei-Nährzellverband also andere Verhältnisse vor als in den Syncytien des Hodens, wo die Kontinuität protoplasmatischen Materials in erster Linie wahrscheinlich der Synchronisierung in der Entwicklung dient. Trotz der grundsätzlichen, strukturellen Ähnlichkeit von interzellulären

Brücken und Fusomen ergaben sich auch Zweifel, ob sich beide wenigstens morphologisch homologisieren lassen. Im larvalen bzw. präpupalen Ovar entstehen die

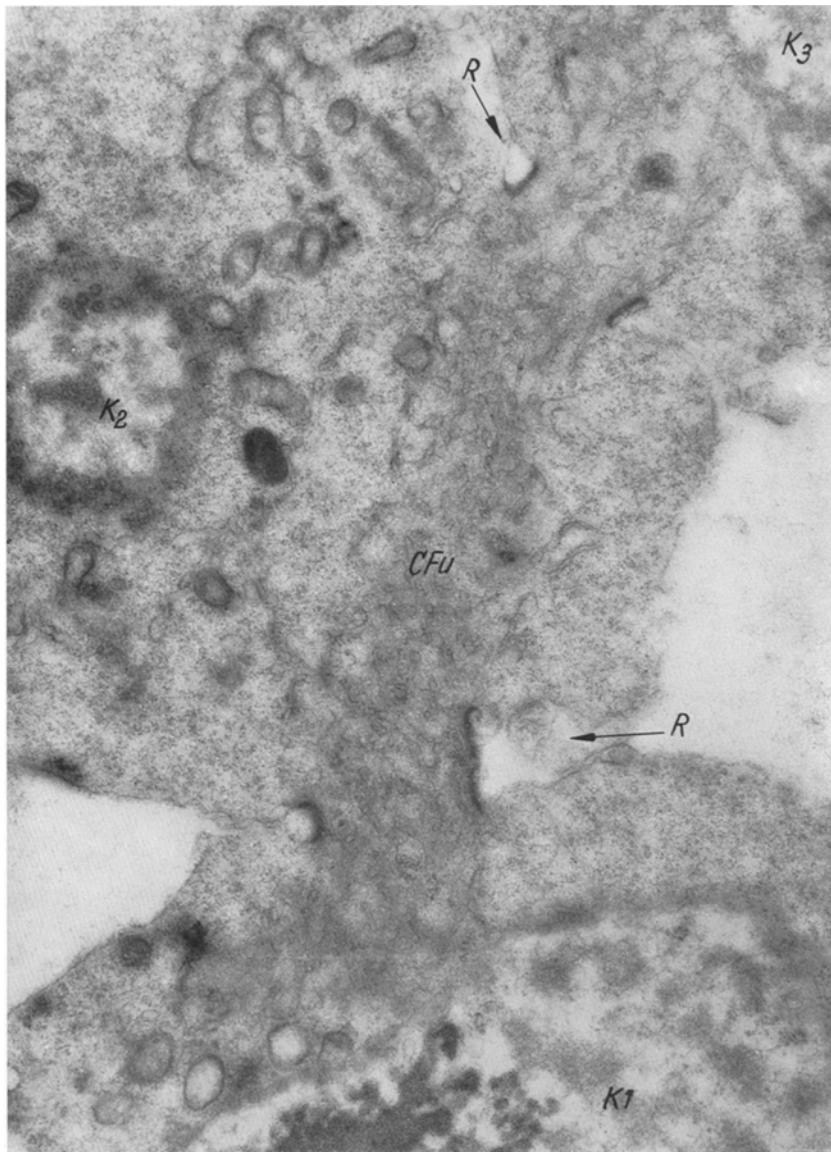


Abb. 10. „Centrofusom“ im Ovar von *Tipula paludosa*, 17 600 ×. *Fu* 1, *Fu* 2 Fusome zwischen 3 Zellen, die über das Centrofusom („Zentralspindel“) *CFu* miteinander verbunden sind. *K* 1, *K* 2, *K* 3 Kerne von Ei- bzw. Nährzellen, die auf diesem Stadium noch nicht unterschieden werden können, *R* Ringfurche

Verbindungen als Folge von unvollkommenen Plasmateilungen der Oogonien (vgl. Abb. 9 und 10) und ermöglichen zusätzlich über die „Zentralspindel“ bestimmte Ordnungsvorgänge im Verlauf der Differenzierung des Ei-Nährzellverbandes (vgl. Abb. 10). Im imaginalen Ovar dagegen, wo die endgültige Ausdifferenzierung der

Eianlagen das Bild beherrscht (Oogonienmitosen fehlen), werden nach den vorliegenden Befunden die fusomalen Beziehungen unübersichtlicher. Wie in Abb. 7 zu sehen ist, sind im Germarium schon vor der deutlichen Abgrenzung der Eikammern so viele Fusome vorhanden, daß die Annahme in Frage gestellt wird, ob sie alle aus Spindelrestkörpern entstanden sind. Nach dem Eintritt der Zellen



Abb. 11. Fusom in einer älteren Eikammer, 20 000 ×. R osmiophiler Ring, als Verstärkungsleiste gedeutet, VM Verschlußmaterial, M Mitochondrien bei Durchtritt durch die Öffnung

in das Vitellarium wird die Anzahl der Fusome reduziert. In jungen Eikammern sind auch Nährzellen noch über Fusome miteinander verbunden, später beschränken sich die Fusome auf die Plasmamembran zwischen Ei- und Nährzellen. Der Durchmesser der Fusome schwankt. Das Mittel liegt bei 2μ , kann aber in älteren Eikammern bis auf 10μ ansteigen (Abb. 8, 11). Da demnach Zahl, Lagebeziehung und Größe der Fusome im Verlauf des Wachstums der Eikammern beträchtlichen Veränderungen unterliegen, handelt es sich vielleicht doch nur zum Teil um analoge Strukturen zu den frühen larvalen und pupalen Fusomen. Auch HIRSCHLER (1948) hält die sekundäre Entstehung von Fusomen ohne Zusammenhang mit dem Spindelrest für möglich. Es besteht also durchaus die Wahrscheinlichkeit,

daß es sich um besondere Zellorgane des Ei-Nährzellverbandes handelt, durch die erst der Transport größerer Bestandteile des Nährstromes in Richtung zur Eizelle erfolgen kann. Über das weitere Schicksal der Fusome im reifenden Ei-Nährzellverband kann noch nichts Sichereres ausgesagt werden. Für solche Stadien, bei denen das Ei die Hälfte oder zwei Drittel der Eikammer ausfüllt, liegen nur lichtmikroskopische Beobachtungen vor. Im Totalpräparat erscheint zwischen den Nährzellen am Pol der Kammer und der großen Eizelle eine einzige Perforation, die elektronenmikroskopisch aber nicht untersucht wurde.

Es bleiben noch einige Überlegungen über die als Verschlußmaterial bezeichnete Substanz anzustellen, die in wechselndem Maße die Öffnung des Fusoms ausfüllt. Daß es sich hierbei nicht um Material des Spindelrestkörpers handeln kann, wurde schon erwähnt. Es ist vielmehr ziemlich sicher, daß dieses Material erst zu dem spezifischen Zweck des Schließens der Fusome gebildet wird, wenn auch der Beweis an Hand einer elektronenmikroskopischen Analyse allein natürlich nicht erbracht werden kann. Für diese Deutung sprechen die sehr unterschiedlichen Öffnungszustände der Fusome bei den Zellen ein- und desselben Ei-Nährzellverbandes. Aus dem gleichen Grunde können die Fusome des Ei-Nährzellverbandes auch nicht als Strukturen betrachtet werden, die der bloßen Synchronisierung dienen, wie z. B. im Hoden. Es muß sich bei dem hochdifferenzierten Fusomtyp um eine den Durchtritt von Zellmaterial nicht nur ermöglichte, sondern auch regulierende Struktur handeln. Diese Regulation kommt über die Neusynthese bzw. Auflösung der Verschlußsubstanz zustande, bzw. über den jeweiligen Gleichgewichtszustand dieser beiden Faktoren. Die Verschlußsubstanz wird wahrscheinlich vom osmiophilen Verstärkungsring gebildet (Abb. 2 und 9). Der Abbau könnte durch von der Nährzelle hervorgebrachte Enzyme geregelt werden. Auf eine dynamische Wechselwirkung zwischen Aufbau und Abbau deuten auch die offenen Fusome hin, bei denen immer ein kleiner Teil des Verschlußmaterials am Ring erhalten ist. So gesehen mag es sich auch bei den interzellulären Brücken des Hodens, die einen ähnlichen Bau besitzen, um Fusome handeln, die von der Zelle ständig in geöffnetem Zustand gehalten werden (vgl. Abb. 2). Da außerdem angenommen werden kann, daß es sich bei der Weitergabe deutoplasmatischer Produkte der Nährzellen nicht um einen kontinuierlichen, sondern um einen schubweisen Vorgang handelt, der zwischen Synthese in den Nährzellen und Ausstoßung des synthetisierten Materials in die Eizelle schwankt, erscheint ein regulierbarer Verschlußmechanismus während des Ablaufs der Synthese sinnvoll und zweckmäßig.

Wir haben also in diesen Fusomen des Ei-Nährzellverbandes eine spezialisierte Form der einfacheren intercellulären Brücke vor uns, die den besonderen physiologischen Verhältnissen im Ei-Nährzellverband angepaßt ist.

Summary

1. A detailed description is given of the structure of intercellular bridges connecting sister spermatogonia and spermatocytes in the testis as well as oocytes and nurse cells in the ovary of *Drosophila melanogaster*.

2. The differentiated type of intercellular bridge found in the ovary is called „fusom“, using a term introduced by HIRSCHLER (1948, 1953). The fusoms differ

from simple intercellular bridges by the fact that the opening is more or less closed by a specific sealing substance.

3. The sealing material seems to be produced by the stiff osmiophilic rim bordering the opening of the fusom.

4. Presumably the aperture of the fusom is controled by factors originating in the nurse cells, since both closed and opened fusoms are found to connect the same oocyte with different nurse cells.

Literatur

- BAUER, H.: Der Aufbau der Chromosomen aus den Speicheldrüsen von *Chironomus Thummi*.
KIEFER, Z. Zellforsch. **23**, 280—313 (1935).
- BIER, K. H.: Pers. Mitteilung 1960.
- DEMEREC, M.: Biology of *Drosophila*. New York: J. Wiley & Sons Inc. 1950.
- EIDMANN, H.: Lehrbuch der Entomologie. Berlin: Paul Parey 1941.
- FAWCETT, DON, W., I. SUSUMO and D. SLAUTTERBACK: The occurrence of intercellular bridges in groups of cells exhibiting synchronous differentiation. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 3, 453—460 (1959).
- GRIMLEY, PH. M.: The ultrastructure of cardiac desmosomes in the toad and their relationship to the intercalated disc. J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 2, 305—318 (1960).
- HAMA, K.: The fine structure of the desmosomes in frog mesothelium. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 575—578 (1960).
- HIRSCHLER, J.: Über eine Reihe von auf ihre fusomale Natur verdächtiger Zelleinrichtungen (Beiträge zum Fusomproblem). Ergebn. Zool. **8**, 329—414 (1935).
- Gesetzmäßigkeiten in den Ei-Nährzellverbänden. Zool. Jb. **61**, 141—236 (1948).
- Über den Anteil des Fusoms an dem Zustandekommen des Bukettstadiums und der bilateralen Symmetrie im tierischen Ei. Zool. Jb. **64**, 514—537 (1953).
- HORSTMANN, E., u. A. KNOOP: Elektronenmikroskopische Studien an der Epidermis. I. Rattenpote. Z. Zellforsch. **47**, 348—362 (1958).
- KARRER, H. E.: Cell interconnections in normal human cervical epithelium. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 1, 181—183 (1960).
- KING, R. C.: Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. IX. Studies on the cytochemistry and ultrastructure of developing Oocytes. Growth **24**, 265—323 (1960).
- MILLER, A.: Siehe M. DEMEREC.
- ODLAND, G. F.: The fine structure of the interrelationship of cells in human epidermis. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 525—538 (1958).
- PORTER, K. R.: Observations on the submicroscopic structure of animal epidermis. Anat. Rec. (Abstract) **118**, 433 (1954).
- SELBY, C. C.: An electron microscope study of the epidermis of mammalian skin in thin sections. I. Dermo-epidermal junction and basal cell layer. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 429—443 (1955).
- STRUGGER, S.: Der elektronenmikroskopische Nachweis von Plasmodesmen mit Hilfe der Uranylimprägnierung an Wurzelmeristemen. Protoplasma **48**, 231—236 (1957).
- Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Plasmodesmen des Urmeristems der Wurzelpitze von *Allium cepa*; ein Beitrag zur Kritik der Fixation und zur Beurteilung elektronenmikroskopischer Größenangaben. Protoplasma **47**, 365—367 (1957).
- WEBER, H.: Lehrbuch der Entomologie. Jena: Gustav Fischer 1933.

Dr. GÜNTHER F. MEYER, Max Planck-Institut für Biologie, Abt. Beermann,
Tübingen, Spemannstraße 34