

Apoptose der rechten Mandibelknospe während der Ontogenese von Thysanopteren – ein sich zweifach wiederholendes Phänomen

Gerald Moritz, Gunther Tschuch & Angelika Steller

Institut für Zoologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Abstract: Apoptosis of the right mandible limb in Thysanoptera ontogeny – a twice recurring phenomenon.

Thrips exhibit a wide range of biology. Larvae and adult stages feed on the cells of angiosperms and gymnosperms, with a few on ferns and mosses and others predatory on small arthropods, but with many feeding only on fungal hyphae or spores. All larvae and adults of these species have unique asymmetric mouthparts with only the left mandible, although development of paired mandibular appendages occurs twice during ontogeny – in the embryonic and the metamorphic stages. Numerous cells of the right mandible shrink, their nuclei become pycnotic and their cytoplasm gets brighter just before katabolism or pupal phase. These cells then die due to programmed cell death.

Key words: Thysanoptera, *Frankliniella occidentalis*, *Hercinothrips femoralis*, PCD (programmed cell death), apoptosis, metamorphosis, asymmetric mouthparts

Gerald Moritz, Gunther Tschuch, Angelika Steller, Lehr- und Forschungsbereich Entwicklungsbiologie, Domplatz 4, D-06099 Halle, E-mail: moritz@zoologie.uni-halle.de

Bei allen Insekten mit holometamorphem Entwicklungsgang werden Größe und Gestalt im Verlauf der Ontogenese festgelegt. Die Larven unterscheiden sich oftmals extrem von den späteren Imagines. Dieser larvenspezifische Habitus ist von zahlreichen imaginifugalen Merkmalen geprägt, die während der Metamorphose beseitigt werden müssen. Diese Entwicklungsphase ist vergleichbar mit den Vorgängen während der Embryogenese, da nun in einem zweiten Schritt genetische, neuronale und hormonale Prozesse erneut aktiviert werden, die durch Proliferation, Zellwachstum und Zelltod (=Apoptose) den Abbau und Umbau sowie die Neogenese imaginipetaler Merkmale einleiten. Aufgrund des imagoähnlichen Phänotyps der Larvenstadien der Thysanoptera und der vermeintlichen „Rekonstruktion“ dieses adulten Status bezeichnete TAKAHASHI (1921) diese Form der Metamorphose als Remetabolie. Spontan initiierte Defekte während der Embryonalentwicklung zeigen allerdings darüber hinaus, dass eine Vorbereitung des Adultstatus bereits durch die Anlage imaginärer Stammzellcluster erfolgt (MORITZ 1997). Da Habitat und Ernährungsweise der Larvenstadien und Imagines keine Unterschiede aufweisen, sind typische, asymmetrische Mundgliedmaßen in beiden ontogenetischen Phasen nicht verwunderlich (MORITZ 1988, 1989). Interessant ist jedoch, warum zwischen zwei hoch spezialisierten Merkmalskomplexen ein Prozess der Destruktion liegt und wieso die Neogenese zu einem ontogenetisch vergleichbaren Resultat führt.

Material und Methoden

Für die Untersuchung der Ontogenese der Thysanoptera existieren Stammzuchten von *Hercinothrips femoralis*, *Parthenothrips dracaenae*, *Frankliniella occidentalis*, *Frankliniella tenuicornis*, *Thrips tabaci* und *Suocerathrips linguus*. Die beiden Panchaethripinen wurden auf *Ficus*-Arten, *F. occidentalis* auf *Phaseolus vulgaris*, *F. tenuicornis* auf *Triticum aestivum* und *Hordeum vulgare*, *T. tabaci* auf *Allium porrum* und *S. linguus* auf *Sansevieria*-Arten gehalten. Für die Tierhaltung wurde ein Lichtregime von L:D = 16 h: 8 h (6:00 Uhr Licht an) eingehalten und für exakte Ontogeneseuntersuchungen eine Klimakammer (Sanyo) bei 23°C und 80% relativer Luftfeuchte betrieben.

Histologische Untersuchungen: Besonders kompliziert ist die Anfertigung von Schnittserien dotterreicher Eisysteme unmittelbar nach der Oviposition. Um überhaupt Schnitte anfertigen zu können, wurden frühe Stadien in einer auf 60 °C erhitzten Lösung nach Petrunkevitch fixiert, spätere Stadien entsprechend in

Carnoy bei Zimmertemperatur. Kontrastierungen erfolgten mit Azan, Hämatoxylin-Eosin sowie Feulgens Reagenz (ROMEIS 1989). Lichtmikroskopische Aufnahmen erfolgten an einem Leica DM5000 B mit Hilfe einer digitalen Kamera DC480 (Leica). Unter Verwendung von Automontage (Syncroscope, Cambridge) konnten mehrere Bilder am PC montiert und somit in ihrer Tiefenschärfe verbessert werden. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen erfolgten am Hitachi SEM 2400, nachdem die Tiere in einer modifizierten Carnoyschen Flüssigkeit fixiert und in einer Alkoholreihe entwässert wurden. Vor dem Trocknen wurden die Tiere aus absolutem Ethanol in HMDS (Hexamethyldisilazan) überführt (NATION 1983). Insbesondere für die Larvenstadien wurde Aceton als Intermedium für die Verwendung der Critical Point Technik verwendet. Anschließend erfolgte in einer Sputteranlage (Balzer) die Beschichtung der Tiere in einer Argon-Atmosphäre mit einem dünnen Goldfilm. Die Dokumentation des Bildmaterials erfolgte auf ILFORD plus-FP4 125 Rollfilm.

Ergebnisse und Diskussion

Die Larven und adulten Thysanopteren saugen an Pilzsporen und -hyphen, Algen, Moosen, Farnen, Nackt- und Bedecktsamern sowie an kleinen Arthropoden (MORITZ et al. 2001, 2004). Dabei benutzen sie asymmetrisch stechend-saugende Mundwerkzeuge, die aus einer linken, das Wirtsmaterial zertrümmernden, blind endenden Mandibel, sowie aus zwei, sich funktionell zu einem Röhrrchen verbindenden Maxillarstiletten bestehen (Abb. 1, 2). Die rechte Mandibel ist bei den Larven und Imagines aller untersuchten Arten nicht ausgebildet, obwohl die Anlage für deren Ausbildung vorhanden ist. So kann man im späten präkatatreptischen Eisystem einen in das Dottermaterial invaginierten Keimstreif verfolgen, der neben den Kopflappen bereits die Knospen der thorakalen Extremitäten erkennen lässt (Abb. 3). Die Segmentierung breitet sich von diesem Bildungszentrum in Richtung Kopf und Abdomen aus. In der cephalen Region differenzieren sich die Antennenanlagen, gefolgt von den Labial-, Maxillen- und Mandibelknospen. Nach HEMING (1980) erscheinen bei *Haplothrips verbasci* zuerst die Anlagen der Maxillen, gefolgt vom Labium und den Mandibeln. Die Maxillen untergliedern sich dann in einen inneren und äußeren Bereich, aus dem die Laciniae und die Stilette hervorgehen. Bei *Hercinothrips femoralis* ist dieses Stadium 60 h \pm 6h nach der Oviposition erreicht. In dieser Phase hat sich der Keimstreif vollständig von der Serosa gelöst und ist s-förmig in das Dottermaterial eingesunken. Zwei Zellgruppen fallen durch ihre Kernstrukturen und Plasmafärbungen in dieser Phase besonders auf. Innerhalb der Abdominalschleife sind dies die noch teilweise extraembryonal liegenden Urkeimzellen und die unmittelbar an die Labrumregion sich anschließenden Mandibelknospen (Abb. 3). Bislang wurde der programmierte Zelltod (PCD) basierend auf Untersuchungen an *Drosophila melanogaster* und *Manduca sexta* als ein fundamentaler Prozess der postembryonalen Entwicklung (FAHRBACH et al. 2005), aber auch der Embryogenese eingestuft (ABRAMS et al. 1993). Heute geht man davon aus, dass der PCD verschiedene Funktionen hat und bei zahlreichen blastokinetischen sowie morphogenetischen Prozessen des Organismus auftreten kann. Er hilft larvale Strukturen während der Metamorphose zu beseitigen, trägt bei der Organisation einer optimalen Zellzahl bei und beseitigt kranke oder entartete Zellen (JACOBSON et al., 1997; STELLER 1995). Die Vorgänge der Reduktion der rechten Mandibel sind darüber hinaus eine Sonderform des PCD, da diese Induktion nur einseitig erfolgt und sich auch auf weitere Strukturen ausdehnt. So kommt es nicht zur Ausbildung des *M. retractor mandibulae dexter*, des Nervus mandibularis dexter (Abb. 4), sowie der rechten Mandibeldrüse. Darüber hinaus werden während der Metamorphose die larvalen Kopfstrukturen aufgelöst und ähnlich wie bei der Embryogenese geht die Entwicklung der asymmetrischen Mundwerkzeuge von einem nahezu kompletten Status der gnathalen Anlagen aus (Abb. 5). Erst in den darauf folgenden Schritten kommt es wiederum zum PCD im rechten Mandibelbereich. Evolutionsbiologisch wird die Ausbildung der asymmetrischen Mundwerkzeuge in dieser Ordnung mit der ursprünglichen Lebensweise im Detritus und der Ernährung von Sporen in Zusammenhang gebracht. Aufgrund der Eroberung verschiedenster Habitate und Wirtspflanzen gilt die zweifache Renaissance dieser hoch spezialisierten Mundgliedmaßen zumindest als bewundernswert. Mehr als die Hälfte der Thysanoptera gehören zu den Phlaeothripidae, der einzigen Familie der Unterordnung Tubulifera, die zahlreiche apotype Merkmalskombinationen vereint und von der die Mehrzahl sekundär wieder Hyphen- und Sporenfresser geworden sind. Auch bei diesen Arten zeigen die adulten und larvalen Stadien gleiche Ernährungsweisen und beeindrucken ebenfalls durch die phylogenetischen Degenerationsprozesse der rechten Mandibel während der Metamorphose.

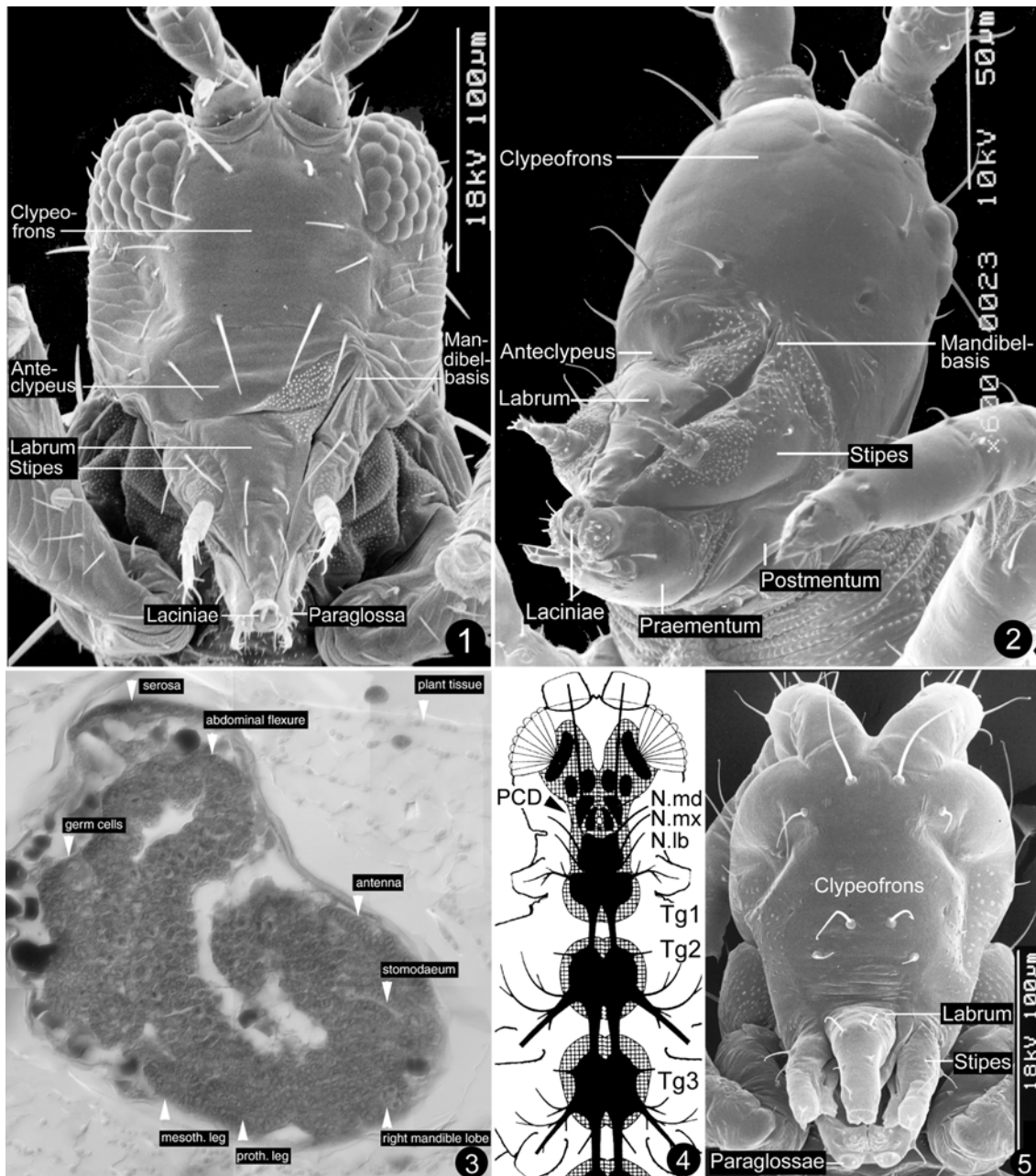


Abb. 1: *F. occidentalis*, Imago, ventral, SEM-Aufnahme: Kopf und Mundkegelregion.
 Abb. 2: *F. occidentalis*, Zweitlarve, ventro-lateral, SEM-Aufnahme: Kopf und Mundkegelregion.
 Abb. 3: *H. femoralis*, Embryo, 60h ± 6h post Oviposition, lateraler Schnitt 6 µm, Azan-Kontrastierung, Bildmontage mit Software Automontage: präkatatreptischer Embryo, Kopflappen mit Mundgliedmaßen- und thorakalen Extremitätenknospen, die Abdomenschlinge zeigt extraembryonales Urkeimzellcluster und der Kopflappen lässt nach der Labralregion den programmierten Zelltod der rechten Mandibelknospe erkennen.
 Abb. 4: *H. femoralis*, Imago, Frontalschnitt des Nervensystems, Neuropilem schwarz, Cortex gerastert, rechts degenerierte Mandibularganglionregion.
 Abb. 5: *F. occidentalis*, Puppe, ventral, SEM-Aufnahme: Kopf- und Mundkegelregion während der Metamorphose.

Bei der Untersuchung dieses sehr spezifisch ablaufenden PCD während der primären und sekundären Embryogenese lassen sich konservierte Prozesse vermuten, die unabhängig von einer adaptiven Radiation am Grundmuster anscheinend nichts mehr verändern lassen. Die vorgestellten Resultate stellen somit nur die Basis für spezielle Untersuchungen und Nachweisverfahren apoptotischer Prozesse bei dieser Insektenordnung dar.

Dank

Wir danken LAURENCE MOUND (Canberra) für zahlreiche kritische Hinweise und ANTOON LOOMANS (Wageningen) für die stete Bereitschaft uns bei der Erhaltung der Stammzuchten zu helfen.

Literatur

- ABRAMS, J.M., WHITE, K., FESSLER, L.I. & STELLER, H. (1993): Programmed cell death during *Drosophila* embryogenesis. – *Development* 117: 29-43.
- FAHRBACH, S.E., NAMBU, J.R. & SCHWARTZ, L.M. (2005): Programmed cell death in insect neuromuscular systems during metamorphosis. – In: L.I. GILBERT, K. IATROU, S.S. GILL (Editors): *Comprehensive Molecular Insect Science*, Vol. 2. Development. Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo: 406 pp.
- HEMING, B.S. (1980): Development of the mouthparts in embryos of *Haplothrips verbasci* (OSBORN) (Insecta, Thysanoptera, Phlaeothripidae). – *J. Morph.* 164: 235-263.
- JACOBSON, M.D., WEIL, M. & RAFF, M.C. (1997): Programmed cell death in animal development. – *Cell* 88: 347-354.
- MORITZ, G. (1988): Die Ontogenese der Thysanoptera (Insecta) unter besonderer Berücksichtigung des Fransenflüglers *Hercinothrips femoralis* (O.M. REUTER, 1891) (Thysanoptera, Thripidae, Panchaethripinae). II. Mitteilung: Erst- und Zweitlarve. – *Zool. Jb. Anat.* 117: 299-351.
- MORITZ, G. (1989): Die Ontogenese der Thysanoptera (Insecta) unter besonderer Berücksichtigung des Fransenflüglers *Hercinothrips femoralis* (O.M. REUTER, 1891) (Thysanoptera, Thripidae, Panchaethripinae). IV. Mitteilung: Imago - Kopf. – *Zool. Jb. Anat.* 118: 273-307.
- MORITZ, G. (1997): Structure, growth and development. – In: T. LEWIS (Editor), *Thrips as crop pests*. CAB International, Wallingford, Oxon: 740 pp.
- MORITZ, G., MORRIS, D.C. & MOUND, L.A. (2001): *ThripsID* - Pest thrips of the world. An interactive identification and information system. – Aciar CD-ROM, CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.
- MORITZ, G., MOUND, L.A., MORRIS, D.C. & GOLDARAZENA, A. (2004): *Pest thrips of the world* (CD ROM) – CBIT University of Brisbane, Brisbane.
- NATION, J.L. (1983): A new method using Hexamethyldisilazane for preparation of soft insect tissues for scanning electron microscopy. – *Stain Technol.* 58: 347-351.
- ROMEIS, B. (1989): *Mikroskopische Technik*. – Urban & Schwarzenberg, München Wien, Baltimore: 697 pp.
- STELLER, H. (1995): Mechanisms and genes of cellular suicide. – *Science* 267: 1445-1449.
- TAKAHASHI, R. (1921): The metamorphosis of Thysanoptera, with notes on that of Coccidae. – *Zool. Mag.*, Tokyo 35: 80-85.