

ISSN 0073-8417

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

BIOLOGIE

SERIE 15 · NUMMER 3 · 1982

FILM C 1392

**Strukturveränderungen des Primärkerns und
Kernteilungen bei *Acetabularia cliftonii***



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch oder engl.), 16 mm, farbig, 149 m, 14 min (24 B/s). Hergestellt 1977/78 und 1980, veröffentlicht 1980.

Der Film ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Veröffentlichung aus dem Institut für Pflanzenphysiologie und Zellbiologie der Freien Universität Berlin, Dr. H.-U. KOOP, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. T. HARD; Kamera: Dr. h.c. H.-H. HEUNERT; Schnitt: B. MILTHALER; Zeichentrickherstellung: Atlantik-Film, Hamburg.

Zitierform:

KOOP, H.-U., und INST. WISS. FILM: Strukturveränderungen des Primärkerns und Kernteilungen bei *Acetabularia cliftonii*. Film C 1392 des IWF, Göttingen 1980. Publikation von H.-U. KOOP, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 15, Nr. 3/C 1392 (1982), 20 S.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Dr. H.-U. KOOP, Max-Planck-Institut für Zellbiologie, Rosenhof, D-6802 Ladenburg.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion MEDIZIN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

NATURWISSENSCHAFTEN

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

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftliche Ergänzung 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 zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus mehreren Lieferungen.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen
Tel. (05 51) 202202

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

HANS-ULRICH KOOP, Berlin, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM,
Göttingen:

Film C 1392

**Strukturveränderungen des Primärkerns und Kernteilungen bei
*Acetabularia cliftonii***

Verfasser der Publikation: HANS-ULRICH KOOP

Mit 8 Abbildungen

Inhalt des Films:

Strukturveränderungen des Primärkerns und Kernteilungen bei *Acetabularia cliftonii*. Während des Entwicklungsganges von *Acetabularia*, einer mehrere Zentimeter großen einzelligen und einkernigen marinen Grünalge, vollzieht sich auf der Ebene des Zellkernes eine Reihe tiefgreifender Veränderungen, welche mit Hilfe spezieller Beobachtungskammern sichtbar gemacht werden können. Der Zygotenkern („Primärkern“) nimmt an Größe während des Wachstums der Zelle um mehr als den Faktor 10000 zu. Gleichzeitig entwickelt sich ein großer Nukleolus. Seine Aufgliederung in viele einzelne Nukleoli läßt sich verfolgen. Im Phasenkontrast erkennt man die Differenzierung des Nukleolus in die dichtere „Cortex“ und das weniger dichte „Core“. Die Entstehung nukleolarer Kavernen („Vakuolen“) und ihre Entleerung in den Kernraum zeugen von der Dynamik nukleolarer Prozesse. In der voll ausgewachsenen Zelle mit maximalem Hut wird die Teilung des Primärkernes vorbereitet. Der Kern verringert seine Größe, Nukleolen verschmelzen miteinander, bis schließlich nur noch einer übrigbleibt. Die Entstehung und Bildungsweise einer riesigen intranukleären Spindel ist zu beobachten. Mitosen der bei der Primärkernteilung – vermutlich der Meiosis – entstandenen Sekundärkerne und ihre Wanderung im Stiel und in den Hutkammern schließen sich an. Vor der Cystenbildung vergrößern sich die Sekundärkerne zum „weiße-Fleck-Kern“. Seine Aufhängung im Cytoplasma der Hutkammer wird demonstriert. Abschließend zeigt der Film die erste Sekundärkernmitose in der Cyste.

Summary of the Film:

Structural Changes of the Primary Nucleus and Nuclear Divisions in *Acetabularia cliftonii*. The development of *Acetabularia*, a several centimeter big unicellular and uninucleate marine green alga, is accompanied by a number of important changes at the level of the nucleus, which have been made visible by the use of special observation-chambers. The zygote nucleus (“primary nucleus”) increases by a factor of more than 10000 during the vegetative growth of the cell. At the same time a huge nucleolus develops and splits up into several nucleoli. Phase contrast optics reveal the differential density of nucleolar “cortex” and

“core”. The formation of nucleolar cavernae (“vacuoles”), bursting into the nuclear lumen, demonstrates the dynamics of nucleolar activity. When the cell is fully developed and has a maximum sized cap, the division of the primary nucleus is initiated. The size of the nucleus is reduced, nucleoli fuse, until only one persistent nucleolus is left. The appearance of a huge intranuclear spindle and its mode of formation are demonstrated. The film then shows mitotic divisions of “secondary nuclei” which have been formed by the probably meiotic division of the primary nucleus. Migration of the secondary nuclei in the stalk and in the chambers of the cap is demonstrated. Secondary nuclei then increase prior to the formation of cysts to form the “white spot nuclei”. Their anchoring in the cytoplasm of the cap, and finally, the first mitosis of a secondary nucleus in the cyst are shown.

Résumé du Film:

Changements structurels du noyau primaire et division nucléaire chez *Acetabularia cliftonii*. *Acetabularia* est une algue verte marine. Elle est unicellulaire, ne possède qu'un seul noyau et mesure plusieurs centimètres de hauteur. Lors du développement de l'algue, le noyau subit d'important changements morphologiques. Ceux-ci ont pu être filmés à l'aide de chambre d'observation spécialement conçues à cet effet. Entre le stade du zygote et de la cellule végétative, le noyau (noyau primaire) augmente son volume d'environ 10000 X. Pendant la même période, le nucléole s'agrandit également puis se scinde en plusieurs parties. Le microscope à contraste de phase révèle des densités optiques différentes entre le «cortex» et le «core» du nucléole. La formation de cavernae «vacuole intranucléolaires» se déversant dans le noyau, démontre une intense activité nucléolaire. Lorsque la cellule est complètement développée et que son chapeau a atteint sa taille maximum, la division du noyau (noyau primaire) commence. La taille du noyau diminue, les nucléoles disparaissent à l'exception d'un seul. On voit alors se former dans le noyau un énorme fuseau de division.

Le film montre ensuite la division mitotique des noyaux secondaires qui ont été formés par la division, probablement méiotique du noyau primaire. On assiste à la migration des noyaux secondaires dans le pied et dans les chambres du chapeau.

Les noyaux secondaires augmentent alors de volume avant la formation des cystes et deviennent les «Weiß-Fleck-Stadium».

Leur mise en place dans le cytoplasme du chapeau, et finalement la première mitose d'un noyau secondaire dans un cyste sont également montrés.

Allgemeine Vorbemerkungen

Im Entwicklungsgang von *Acetabularia* (Fig. 1) sind bezüglich der Ebene des Zellkernes bzw. der Zellkerne zwei verschiedene Phasen deutlich zu unterscheiden. Es fällt auf, daß die vegetative Zelle – Riesenzelle – durch einen einzigen Riesenkern gekennzeichnet ist, während die generativen Stadien sich durch extreme Vielkernigkeit (cönocytische Organisationsform) und sehr kleine Kerne auszeichnen. Auf diesen Gegensatz hat bereits HAEMMERLING ([4]) in seiner ersten Beschreibung, die von der Entdeckung des Kernes der *Acetabularia*-Zelle berichtet, hingewiesen. Der Kern der vegetativen Zelle (Primärkern) gehört zu den größten Zellkernen überhaupt. Diese Besonderheit und eine spezielle cytoplasmatische Zone, welche den Kern umgibt, ermöglichten die „klassischen“ Experimente der Kernimplantation und Kerntransplantation (HAEMMERLING [5]), welchen wir prinzipielle Erkenntnisse über die Interaktion zwischen Cytoplasma und Zellkern verdanken.

Grundlegende cytologische Untersuchungen aus dem Jahre 1939 (SCHULZE [14]) erfuhr in den letzten Jahren wesentliche Erweiterungen durch ausführliche elektronenmikroskopische Untersuchungen (BOLOUKHÉRE [2], WOODCOCK and MILLER [18], [19], FRANKE et al. [3], BERGER et al. [1]). Der extrem große Nukleolus weist die typische Untergliederung in einen granulären und einen granulo-fibrillären Teil

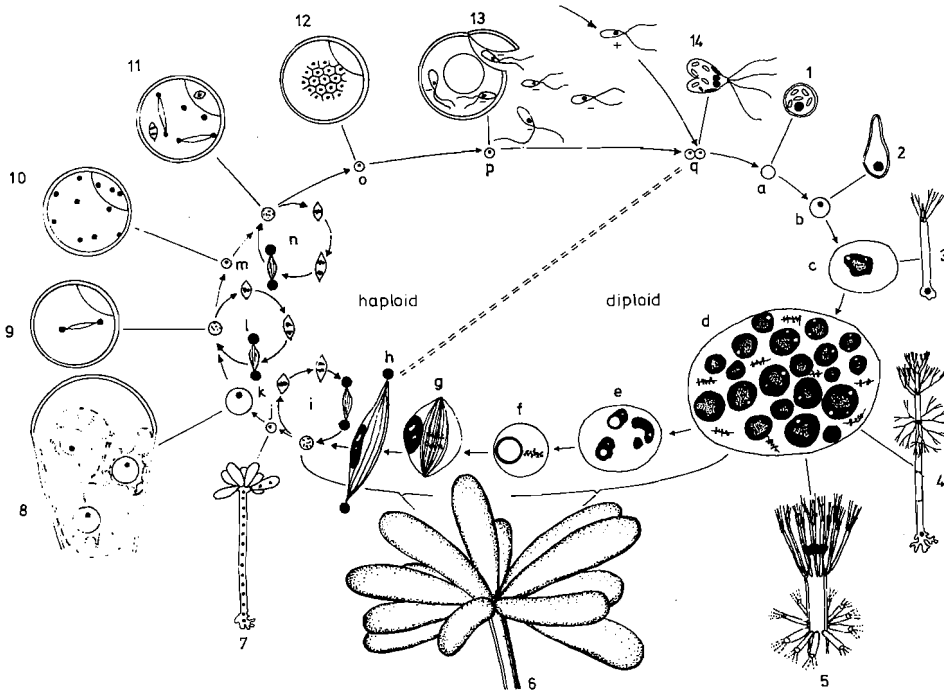


Abb. 1. Entwicklungsschema von *Acetabularia cliftonii*

auf. Zonen geringerer Dichte erscheinen als „Nukleolarvacuolen“. Die Kernhülle besitzt eine extrem hohe Kernporendichte. Die bisher nur für *Dasycladales* beschriebene spezifisch strukturierte, an den Kern sich anschließende Plasmaschicht („perinukleäres Plasma“) scheint die morphologisch sichtbare Grundlage für die bei *Acetabularia* auftretenden Kern-Plasma-Wechselwirkungen darzustellen.

Die Entdeckung von Lampenbürstenchromosomen im Primärkern – die elektronenmikroskopische Darstellung ihrer Transcriptionsprodukte gelang ebenso wie die der Transcriptionsprodukte der ribosomalen DNA des Nukleolus (s. SPRING et al. [15], [16]) – vertiefte unsere Kenntnisse über den Primärkern von *Acetabularia* und unterstützte die bereits aus genetischen Untersuchungen (KOOP [6], [7]) resultierende Vermutung, daß die Teilung des Primärkernes meiotischer Natur sein dürfte. Die Entwicklung einer Methode, welche die Beobachtung des Kernes über längere Zeit in situ gestattet (KOOP et al. [12], SPRING et al. [16]) vervollständigen unsere heutige Kenntnis von den karyologischen Veränderungen im Laufe des Entwicklungsganges von *Acetabularia* (Abb. 1; eine ausführliche Diskussion dieser Vorstellungen findet sich bei KOOP [8]).

Demnach vollzieht sich mit dem Wachstum der Zelle (Abb. 1; 1-6) ein Anwachsen des Zellkernes um mehr als den Faktor 10000 (Abb. 1; a-d). Gleichzeitig entwickelt sich ein großer Nukleolus, welcher sich bei den meisten Arten in mehrere Nukleoli aufgliedert. Kennzeichnend für den vegetativen Kern sind ferner lampenbürstenartige Chromosomen (SPRING et al. [15], [16]). Hat die Zelle einen Hut maximaler Größe entwickelt (Abb. 1; 6), so wird die Teilung des Kernes (KOOP et al. [11], [13]) eingeleitet (Abb. 1; d-g). Die Anzahl der Nukleolen wird reduziert. Es bleibt ein einziger Nukleolus erhalten. Die Größe des Kernes nimmt im Durchmesser von etwa 150 μm auf etwa 40 μm ab. Die Chromosomen kondensieren. Schließlich entsteht ein riesiger intranukleärer Spindelapparat (Abb. 1; g), der nach seiner telophasischen Streckung (Abb. 1; h) mehr als 120 μm lang ist. Aus der Teilung des Primärkernes entstehen zunächst zwei „Sekundärkerne“ (Abb. 1; h). Diese teilen sich mehrfach mitotisch (Abb. 1; i) und wandern durch den Stiel in die Hutkammern ein (Abb. 1; 7). Hier erfolgt ein Anwachsen der Sekundärkerne zum „Weiße-Fleck-Kern“. Der Kerndurchmesser nimmt von etwa 5 μm auf etwa 25 μm zu (Abb. 1; 8, k). Bei der Cystenbildung sind diese Kerne in ihrer Lage in der Hutkammer fixiert. Die Verankerung der Kerne wird durch ein Microtubuli enthaltendes (WOODCOCK [17]) System cytoplasmatischer Fäden bewirkt, welche strahlenförmig vom Kern ausgehen. In der Cyste kommt es zu einer zweiten Phase von Sekundärkernmitosen (Abb. 1; 1). Bei einigen Arten schließt sich eine Ruhepause unterschiedlicher Dauer an (Abb. 1; 10, m). Schließlich leitet eine dritte Phase von Sekundärkernmitosen (Abb. 1; n) die Gametenbildung (Abb. 1; 11, 12) ein. Mit der Entlassung der Gameten (Abb. 1; 13) ist die generative Phase im Entwicklungsgang von *Acetabularia* abgeschlossen.

Zur Entstehung des Films

Während der Arbeiten zu einem Hochschulunterrichtsfilm über den gesamten Entwicklungsgang von *Acetabularia* (KOOP [20]) wurde ein Verfahren entwickelt, mit dem es möglich ist, den Primärkern von *Acetabularia* in situ lebend zu beobachten (KOOP et al. [12]). Dieses Verfahren liefert bei der Art *Acetabularia cliftonii* besonders gute Ergebnisse, weil deren Rhizoid in der Regel nur schwach entwickelt ist. Daher wurde für den vorliegenden Film diese Art gewählt. Mit dem genannten Verfahren konnten nun die bisherigen Befunde, die ausschließlich auf der Untersuchung fixierten, toten Materials oder isolierter Zellkerne beruhten, durch die direkte Beobachtung des lebenden Systems ergänzt werden. Insbesondere die erstmalige Dokumentation der Teilung des Primärkernes (KOOP et al. [11], [13]) am IWF unterstrich die Tatsache, daß die Untersuchung des lebenden Systems ein wesentlicher Bestandteil biologischer Analyse sein sollte. Aus der Beobachtung des Primärkernes und der Sekundärkerne von *Acetabularia* ergab sich eine so große Zahl interessanter Vorgänge - z. B. Primärkernwachstum, Nukleolenvergrößerung und -aufgliederung, Aktivität nukleolarer Kavernen, Primärkernverkleinerung, Reduktion der Nukleolenzahl mit extrem großen Nukleolarvacuolen, Bildungsweise der riesigen intranukleären Spindel, Sekundärkernmitosen, Sekundärkernmigration - , daß es angezeigt schien, diesen vorliegenden Film, der sich speziell mit der Karyologie befaßt, herzustellen. Dieses Vorhaben wurde durch eine Sachmittelbeihilfe der Deutschen For-

schungsgemeinschaft unterstützt (Ko 632/2). Weitere Informationen, die besonders den Prozeß der Sekundärkernmigration betreffen, sind in zwei weiteren Forschungsfilmen enthalten, welche intrazelluläre Transportsysteme in *Acetabularia* untersuchen (KOOP und KIERMAYER [9], [10], [21], [22]).

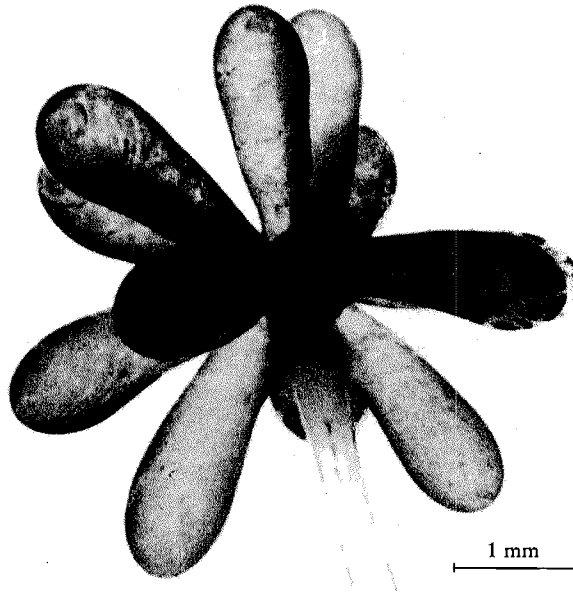


Abb. 2. Gekammerter „Hut“ einer Zelle von *Acetabularia cliftonii*

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars¹

Zeitraffung 1 : 3 bis 1 : 5700; normale Geschwindigkeit

Eine ausgewachsene Zelle von *Acetabularia cliftonii* trägt an der Spitze des Stiels einen gekammerten Hut.

Die Kernwanderungen während verschiedener Entwicklungsstadien der Alge sind Gegenstand des Films.

Objektfeldbreite 7,5 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 B/h

Der wenige Millimeter große Keimling enthält einige Chloroplasten und hat an seiner Spitze verzweigte Haare. Im basalen Teil befindet sich der Zellkern, der sog. Primärkern.

Das nächste untersuchte Entwicklungsstadium ist die etwa 6 cm große vegetative Zelle: Sie hat apikal zahlreiche Haarwirtel gebildet und basal ein Rhizoid, mit dem sie sich am Substrat verankert.

¹ Die *Kursiv*-Überschrift entspricht dem Zwischentitel im Film.

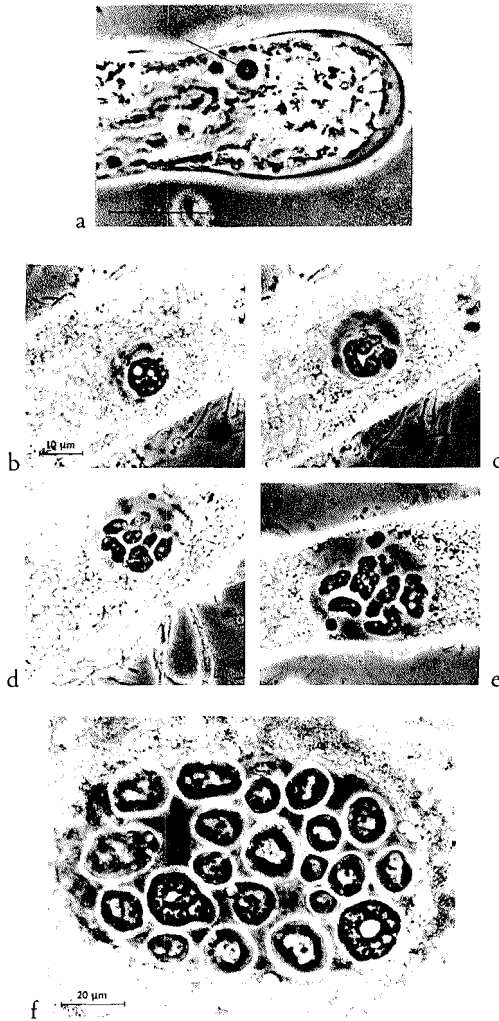


Abb. 3. Wachstum des Primärkernes von *Acetabularia cliftonii* (Phasenkontrast).
a: Kern in einem 10 Tage alten Keimling. Der Kern erscheint als optisch helle Struktur, der dichtere Nukleolus (No) erscheint dunkel
b-e: Aufteilung des Nukleolus in einem *Acetabularia-cliftonii*-Kern einer 15 Tage alten Zelle in mehrere Untereinheiten. Die Aufnahmen zeigen denselben Kern zum Zeitpunkt $t = 0$ (3b), nach 8 h (3c), 26 h (3d) und 57 h (3e). Besonders in Abb. 3b und 3e sind „Nukleolarvakuolen“ deutlich
f: Primärkern von *Acetabularia cliftonii* in einer Zelle kurz vor der Hutbildung. Der Kern hat einen Durchmesser von mehr als $100 \mu\text{m}$ und enthält eine Vielzahl von Nukleolen

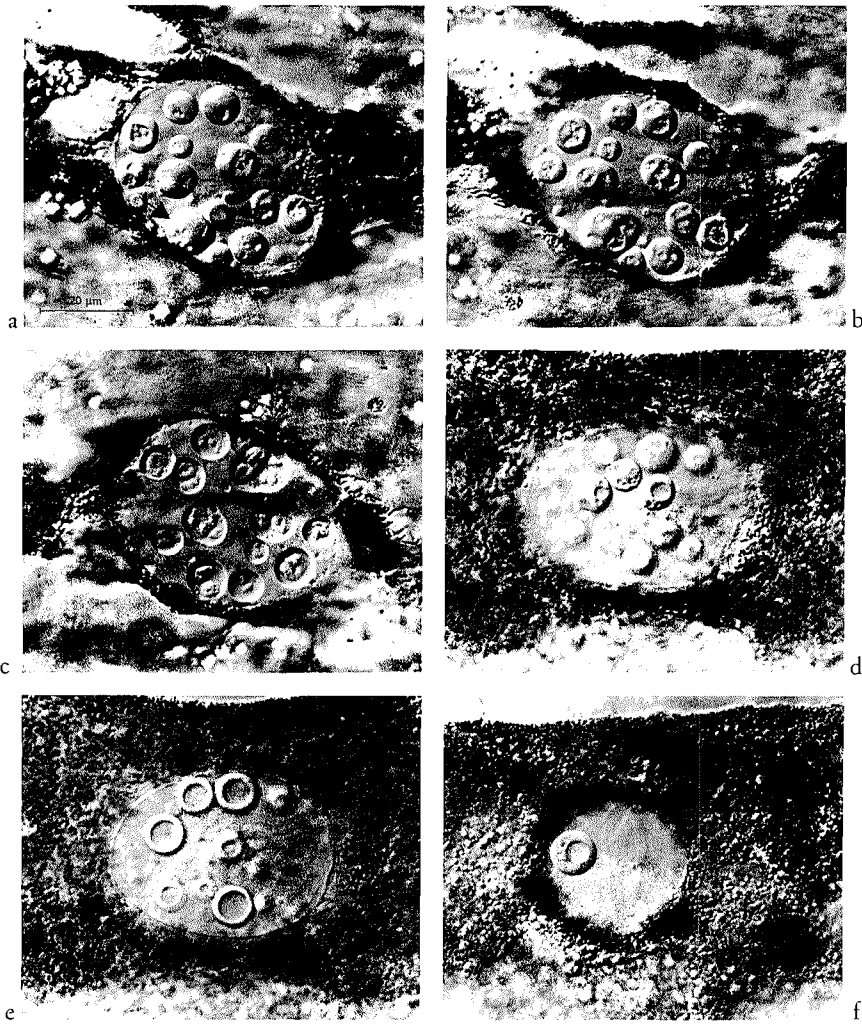


Abb. 4. Teilung des Primärkernes von *Acetabularia cliftonii* (Nomarski Differentialinterferenzkontrast).

a-c demonstriert die Verschmelzung von drei in a gekennzeichneten Nukleolen; d-f zeigt die Abnahme des Kernvolumens vor der Teilung, die mit der Bildung von extrem großen (4e) Nukleolarvakuolen verbundene Reduzierung der Nukleolen bis auf einen persistierenden Nukleolus sowie die intranukleäre Teilungsspindel mit metaphasisch angeordneten Chromosomen (4f).

Die Aufnahmen zeigen einen identischen Kern zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb einer Gesamtzeit von 3 Tagen

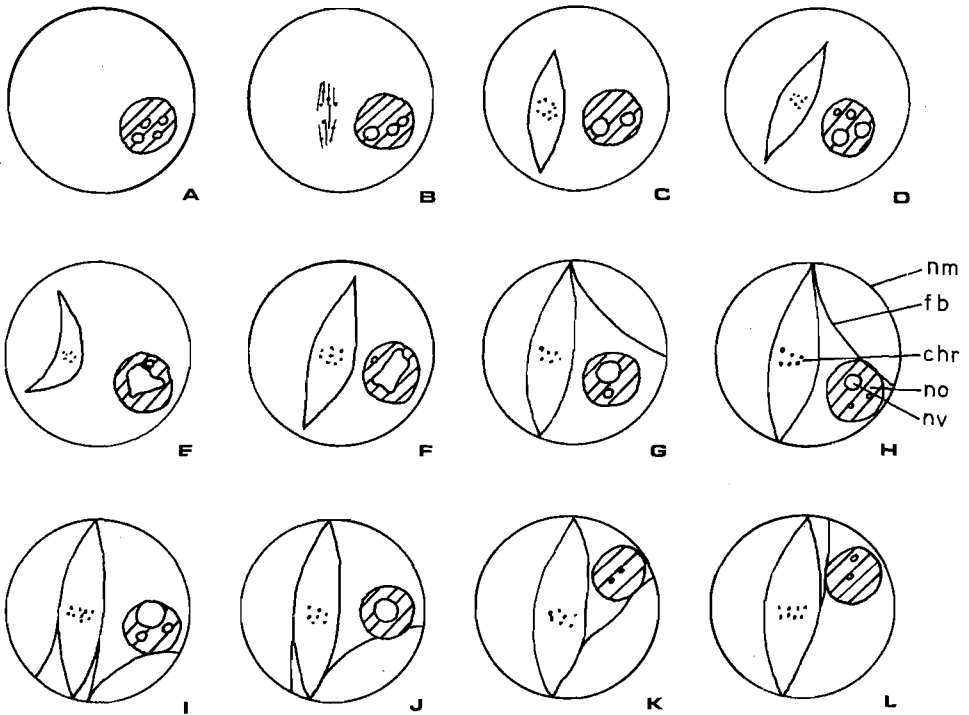


Abb. 5. Einzelbildanalyse der Spindelbildung im Primärkern von *Acetabularia cliftonii* (derselbe Kern wie in Abb. 3). Einzelaufnahmen aus dem Film wurden auf eine Mattscheibe projiziert und auf Transparentpapier übertragen. Nachdem der Kern nur noch einen Nukleolus enthält (Abb. 5A), entsteht zunächst eine Spindel von der Länge des halben Kerndurchmessers (Abb. 5C). Diese Spindel ist frei im Kern beweglich (Abb. 5C–F), bis sie zur Länge des Kerndurchmessers herangewachsen ist (Abb. 5G). Nun wird das seitliche Anlagern neuer Fibrillenbündel an die bereits vorhandene Spindel beobachtet. Durch die Anlagerungsbewegung kann die Lage des Nukleolus im Kern verändert werden. (Abb. 5 I–K)

Die Aufnahmen entstanden zum Zeitpunkt 0 (A), nach 40 min (B), 1 h 40 min (C), 2 h (D), 3 h (E), 3 h 20 min (F), 5 h 48 min (G), 6 h (H), 6 h 40 min (I), 7 h (J), 8 h (K), 8 h 20 min (L)
 chr: Chromosomen; fb: Fibrillenbündel; nm: Kernmembran; no: Nukleolus, nv: Nukleolarvakuole

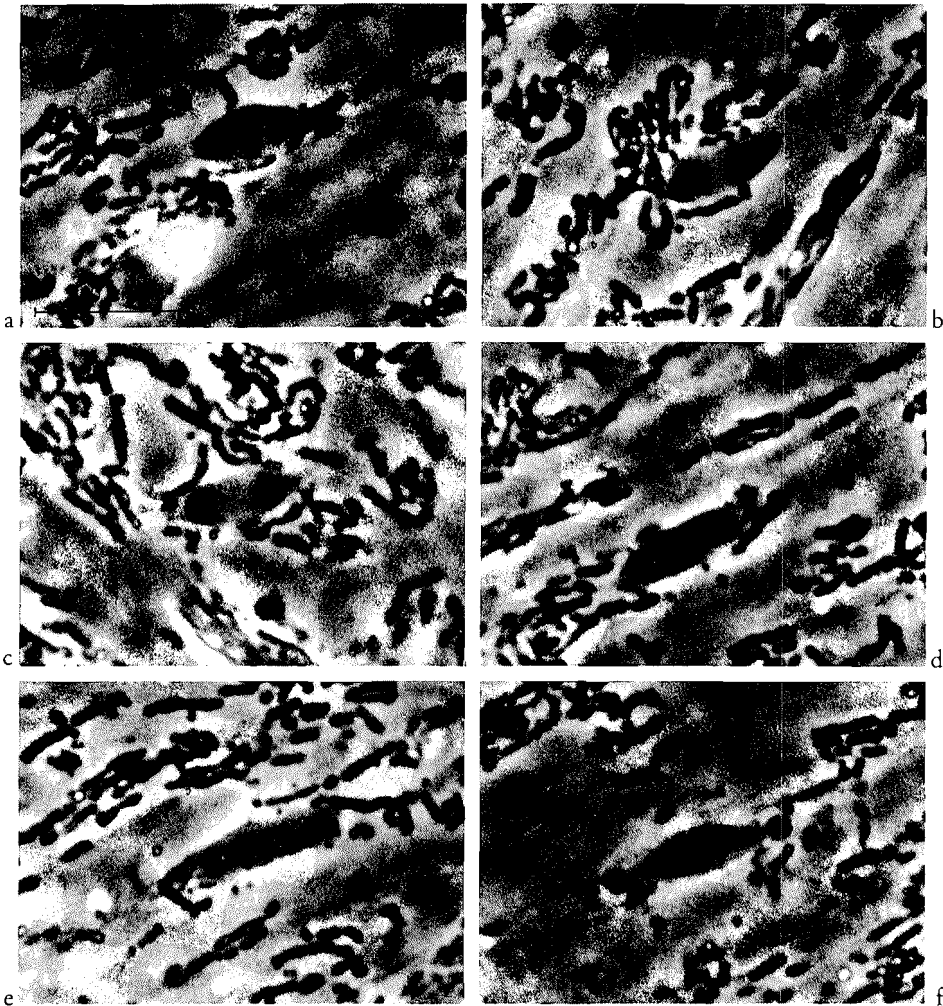


Abb. 6. Teilung eines Sekundärkernes von *Acetabularia cliftonii*.
a: Metaphase; b, c: Anaphase; d-f: Telophase. Die Aufnahmen entstanden zum Zeitpunkt $t = 0$ (6a), nach 5 min (6b), nach 8 min (6c), nach 13 min (6d), nach 19 min (6e) und nach 23 min (6f)

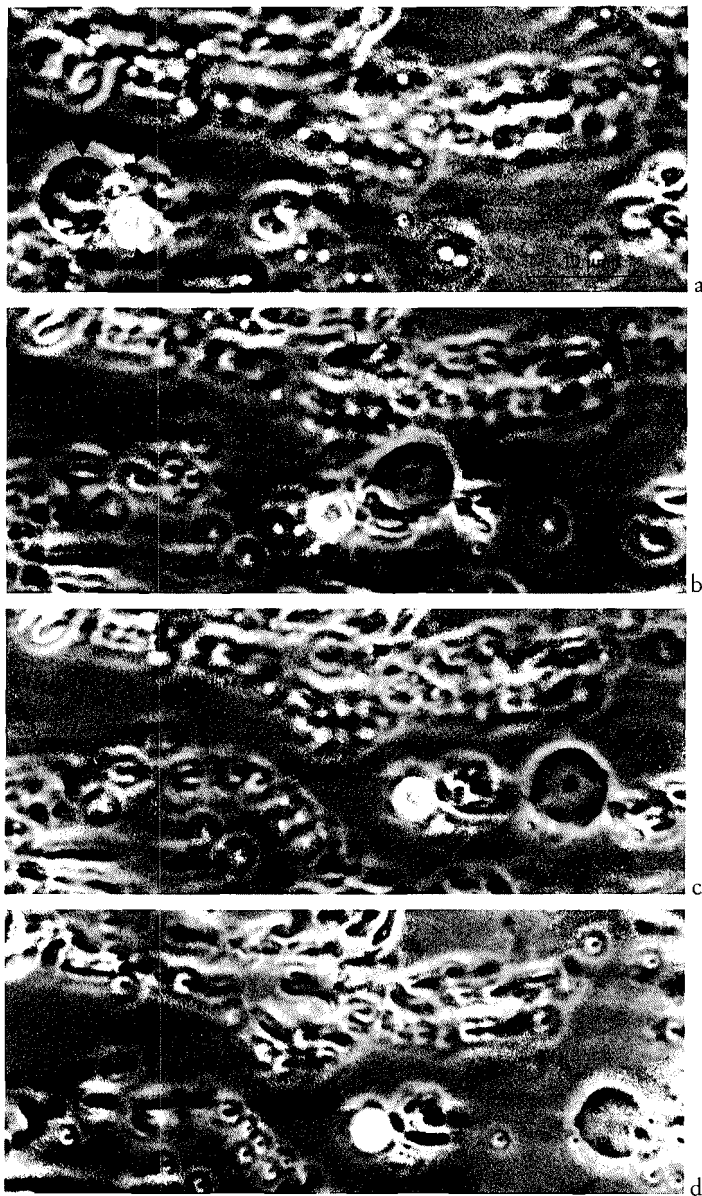


Abb. 7. Sekundärkernwanderung im Stiel von *Acetabularia cliftonii*. Ein Sekundärkern (←) überholt eine Gruppe von Chloroplasten sowie einem Lipidtropfen (▼), welche auf derselben Strömungsbahn transportiert werden wie der Sekundärkern. a (0 s); b (13 s); c (21 s); d (32 s)

In der ausgewachsenen Zelle sind die Haarwirtel abgefallen; der Hut ist voll entwickelt.

Der Primärkern ist inzwischen zu einem Riesenkern herangewachsen. Nach seiner Teilung in zwei Tochterkerne entstehen mitotisch mehrere tausend Sekundärkerne. Sie wandern durch den Stiel in die Hutkammern.

In den Hutkammern bildet sich um jeden Sekundärkern eine Cyste. In ihnen laufen weitere Mitosen ab.

Die Cysten entlassen zweigeißlige Gameten; je zwei Gameten verschmelzen zur Zygote. Die karyologischen Veränderungen während der Gameten- und Zygotenbildung werden im folgenden nicht berücksichtigt. –

Der Entwicklungszyklus ist geschlossen, wenn die Zygote zum Keimling herangewachsen ist. Er enthält einen Kern, der nur wenige Mikrometer groß ist und beträchtlich an Größe zunehmen wird. Im Phasenkontrast erscheint der Nukleolus dunkel.

Objektfeldbreite 51,5 µm; Phasenkontrast (Phako); Aufn.-Freq. 15 B/min

Er besteht zunächst aus einer runden Einheit; seine Randzone, die „Cortex“, erscheint optisch dichter als der innere Bereich, das „Core“.

Während sich der Kern vergrößert, gliedert sich der Nukleolus in Untereinheiten auf. Bei dieser und den folgenden Einstellungen ist die Zeitraffung so gewählt, daß die Vorgänge, die einige Tage beanspruchen, in weniger als einer Minute dargestellt werden.

Objektfeldbreite 125 µm; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/h

Noch einmal die Vergrößerung des Kernvolumens und die Aufgliederung des Nukleolus. Durch die lange Aufnahmedauer haben sich Protozoen, die versehentlich ins Präparat geraten sind, stark vermehrt.

Im Inneren der Nukleolen entstehen Kavernen, die sich in den Kernraum entleeren. Sie werden als Nukleolarvakuolen bezeichnet.

Die Tätigkeit der Nukleolarvakuolen hängt vermutlich mit Transportvorgängen aus dem Nukleolus in den Kernraum zusammen und ist damit sichtbares Zeichen der Dynamik nukleolarer Prozesse.

Objektfeldbreite 120 µm; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/h

Nach etwa 2 Monaten Entwicklung ist der Primärkern auf 150 Mikrometer herangewachsen und enthält ca. 20 Nukleolen. Dann ist die vegetative Zelle mehrere Zentimeter groß.

Objektfeldbreite 120 µm; Phako; Aufn.-Freq. 8 B/min

Der Riesenkern ist etwa 10000mal größer als der Zygotenkern, aus dem er hervorgegangen ist. Er gehört damit zu den größten Zellkernen überhaupt und ist unter bestimmten Bedingungen sogar mit bloßem Auge sichtbar.

Objektfeldbreite 160 µm; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/h

Hat die *Acetabularia*-Zelle den Hut voll ausgebildet, so wird die Teilung des Primärkerns eingeleitet. Um den Kern herum, der im Hellfeld farblos erscheint, ist eine starke Ansammlung von Chloroplasten entstanden.

Objektfeldbreite 605 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 24 B/s

In der folgenden Interferenzeinstellung hat sich der Primärkern bereits um die Hälfte verkleinert und enthält wesentlich weniger Nukleoli als zuvor. Die auf wenige Minuten geraffte Aufnahme gibt die Vorgänge wieder, die innerhalb von 8 Tagen zur Kernteilung führen.

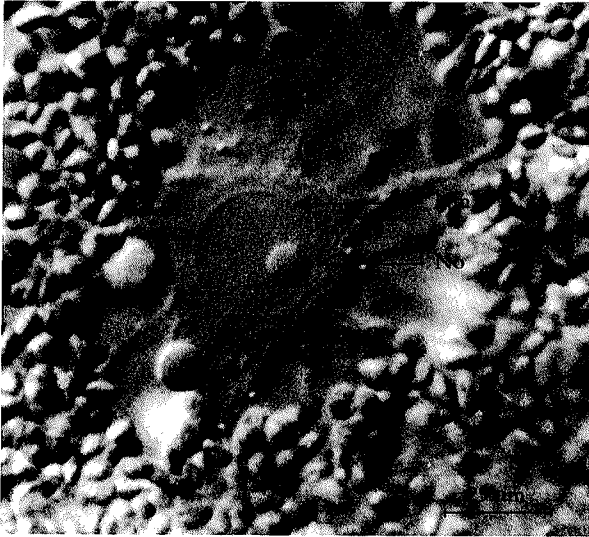


Abb. 8. „Weißer-Fleck“-Kern von *Acetabularia cliftonii*. Vor der Zystenbildung findet man die Sekundärkerne in den Hutkammern in zytoplasmatischen Taschen, welche strahlenförmig erscheinen und der Verankerung der Kerne in der Hutkammer dienen. No: Nukleolus, Nm: Kernmembran

Der Primärkern liegt im Inneren des Rhizoids und ist daher einer direkten Beobachtung nicht zugänglich. Diese und die vorangegangenen Einstellungen werden möglich, wenn das Rhizoid einer Zelle mit einer speziellen Vorrichtung zwischen Objektträger und Deckglas eingequetscht wird. Der Kern wird in den Stiel hinausgedrückt, um ein möglichst flaches Präparat zu erzielen.

Kern und Cytoplasma überstehen den Quetschvorgang ohne bleibende Schädigung, so daß langfristige karyologische Untersuchungen möglich sind. Auf diese Weise wurde erstmals das Verhalten des Riesenkerns bis zu seiner Teilung verfolgt. Im einzelnen konnte so die Ausbildung der dichten zytoplasmatischen Zone beobachtet werden, das Verhalten der Nukleoli und die Verringerung der Kerngröße vor der Teilung, sowie die Entstehung und Bildungsweise der intranukleären Spindel während der Teilung.

Objektfeldbreite 120 µm; Interferenzkontrast (Inko); Aufn.-Freq. 30 B/h

Etwa 4 Tage vor der Teilung verkleinern sich die Nukleolen zunehmend und verschmelzen miteinander; ihre Zahl verringert sich. Extrem große Nukleolarvakuolen entstehen durch Zusammenfließen mehrerer kleiner Vakuolen.

Das chloroplastenreiche Cytoplasma zieht sich vom Kern zurück; das geschieht hier zu beiden Seiten des Kerns besonders deutlich. Es entsteht der Eindruck, als würden Substanzen aus dem Kern ausgeschieden. – Die Anzahl der Nukleolen verringert sich weiter, bis etwa 2 Tage vor der Teilung nur noch ein einziger Nukleolus übrig bleibt. Der Durchmesser des Kerns hat sich auf 30 Mikrometer reduziert, zu Beginn der Einstellung war er annähernd doppelt so groß. – In dieser Zeit kondensieren die winzigen Chromosomen, die in diesem Kern nicht sichtbar werden. Bald wird sich der Spindelapparat bilden: seine Achse wird von rechts oben nach links unten verlaufen. Die Spindel ist zunächst noch klein, dreht sich geringfügig innerhalb des Kerns und vergrößert sich durch Anlagerung neuer Faserbündel, die den Nukleolus verlagern können. Der Nukleolus legt sich der Kernhülle flach an. Beim Übergang von der Ana- zur Telophase streckt sich der Kern in die Länge.

Objektfeldbreite 120 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 30 B/h

Der Spindelapparat von *Acetabularia* gehört zu den größten überhaupt. In diesem Kern werden die kondensierten Chromosomen und die Anaphasebewegung sichtbar.

Objektfeldbreite 120 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 2 B/min

Ein Kern, der während der Telophase aus der Zelle isoliert wurde, zeigt, daß zwei sehr kleine Tochterkerne an den Polen des verlängerten Spindelrestes entstanden sind. Indizien sprechen dafür, daß es sich um eine meiotische Teilung handelt.

Objektfeldbreite 120 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 1 B/s

7–10 Stunden nach der Teilung des Primärkerns beginnen die Tochterkerne, die sogenannten Sekundärkerne, sich mitotisch zu teilen. – Durch die starke Zeitraffung erscheint die Plasmaströmung extrem schnell. Die Teilungsform entspricht der des Primärkerns. Die neuentstandenen Kerne werden sich nach weiteren 7 bis 10 Stunden erneut teilen.

Objektfeldbreite 120 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/min

Hier haben sich bereits die Chromosomen in der Metaphaseplatte angeordnet und trennen sich in der Anaphase voneinander.

Objektfeldbreite 120 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/min

Während der gesamten Teilung verbleiben die Sekundärkerne mehr oder weniger am Ort.

Am Ende der Telophase werden die Tochterkerne vom Spindelrest abgerissen.

Objektfeldbreite 155 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/min

Sie wandern, nachdem sie sich vielfach vermehrt haben, im Stiel aufwärts in Richtung auf die Hutkammern.

Sie bewegen sich auf definierten, plasmatischen Bahnen und überholen dabei die langsameren Chloroplasten.

Objektfeldbreite 120 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 8 B/s

Ihre Bewegung wird durch das Zusammenwirken von Mikrofilamenten und Mikrotubuli ermöglicht.

Objektfeldbreite 65 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 24 B/s

In einem Ausschnitt einer Hutkammer wandern 2 Sekundärkerne aus der linken Bildhälfte heraus nach rechts oben und schieben dabei die Chloroplasten beiseite.

Objektfeldbreite 155 µm; Inko; Aufn.-Freq. 24 B/s

Später stellen sie ihre Wanderung ein und schwellen an. Ihr Durchmesser hat sich von weniger als 5 auf etwa 25 Mikrometer vergrößert.

Beim Nachfocussieren werden durch leichten Druck auf die Hutkammer die Chloroplasten vom Kern verdrängt. Es werden Plasmafäden sichtbar, die Mikrotubuli enthalten und den Kern am Ort verankern.

Objektfeldbreite 63 µm; Inko; Aufn.-Freq. 15 B/min

Die Kerne haben sich in den Hutkammern in regelmäßigen Abständen angeordnet. Auf dieses sog. „Weiße-Fleck-Stadium“ folgt die Cystenbildung.

Objektfeldbreite 2 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 20 B/min

Jede Cyste enthält zunächst einen einzigen Kern, der sogleich in Teilung geht.

Auch diese Teilung verläuft intranukleär mit telophasischer Spindelstreckung.

Durch weitere Mitosen wird die Cyste vielkernig.

Später schließt sich mit der Gameten- und Zygotenbildung der Entwicklungsgang der *Acetabularia*.

Objektfeldbreite 200 µm; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/min

English Version of the Spoken Commentary¹

Time Lapse 1 : 3 to 1 : 5700; Normal Speed

A fully grown cell of *Acetabularia cliftonii* shows a cap, built of several chambers, at the tip of its thin cylindrical stalk. Changes in the cell nucleus at different stages of the development of this green alga are to be analysed in this film.

The germling, only a few millimeters in size, contains some chloroplasts and has branched hairs at its apical end. The cell nucleus, called the "primary" nucleus, is located in the basal region.

The stage studied next is the vegetative cell, about 6 centimeters in length. Several whorls of hairs have been formed at its apical end. A rhizoid at the basal end attaches the cell to its substratum.

The fully grown cell has lost its hairs the cap has reached its maximal size. Meanwhile, the primary nucleus has developed into a giant nucleus.

After its division into two daughter-nuclei several thousand "secondary nuclei" are formed mitotically. These are transported through the stalk into the chambers of the cap.

Here, a cyst is formed around each secondary nucleus.

Further mitotic divisions occur in the cyst. The cyst later forms and releases biflagellate gametes, which, when pairs of them fuse, will produce zygotes. The karyological events during gametogenesis and zygote formation are not covered by this film. The life cycle starts again, when the zygote gives rise to the germling.

¹ The headline in *italics* corresponds with the subtitle in the film.

It contains a nucleus, which measures only a few micrometers. It will later increase dramatically. In phase contrast the nucleolus appears as a dark structure.

Initially, the nucleolus consists of one spherical structure; its outer region, the "cortex" appears denser than the inner region, the "core".

During the growth of the nucleus, the nucleolus splits up into several nucleoli. In this and the following sequences time lapse reduces the events of several days to only a few minutes in the film.

Again, the growth of the nucleus, and the splitting up of the nucleolus. Due to the long duration of filming this shot, accidental protozoa have reproduced in the specimen.

Inside the nucleolus cavernae are formed enlarged, and emptied into the nuclear lumen. They are called "nucleolar vacuoles".

Supposedly, they are related to the transport of substances from the nucleolus to the nuclear lumen. Thus, they are an indicator of the dynamics of nucleolar activities.

After about 2 months, the primary nucleus with about 20 nucleoli has a diameter of more than 150 micrometers. At this stage the vegetative cell is several centimeters long.

The giant nucleus is in comparison with the zygote nucleus, which produced it, approximately tenthousand times larger. It is one of the biggest nuclei known. Under certain conditions, it is visible with the naked eye.

When the *Acetabularia*-cell has developed a fully-grown cap at its apical end, the division of its giant nucleus is induced. A dense cytoplasmic zone, rich in chloroplasts, is then formed around the nucleus.

In the following sequence in interference-contrast the nucleus is already a bit smaller and contains less nucleoli than a nucleus of maximal size. The sequence represents 8 days of continuous observation, reduced by time lapse to only a few minutes.

Primary nuclei are located inside the rhizoid and can therefore not be observed normally. This sequence like the preceding ones is made possible, when the rhizoid is mounted between a microscopic slide and cover slip in a special "pressing-chamber" device. The nucleus is moved out of the rhizoid into the stalk and may then, if the cell is pressed thin enough, be observed directly. Nucleus and cytoplasm survive the damage due to pressing of the cell. Thus it is possible to perform long-term karyological studies.

By this method, it has been possible for the first time to observe the division of the giant nucleus. The take now demonstrates the dense cytoplasmic zone surrounding the nucleus, which is about to divide. Fusions of nucleolar portions, a slight reduction of the nuclear size, and the development of an intranuclear spindle apparatus will soon follow.

About four days before nuclear division, the nucleolar portions decrease in volume and start to fuse. Their number is reduced. Extremely large nucleolar vacuoles are formed by the fusion of smaller ones.

The dense cytoplasmic zone retracts from the nucleus, this is especially evident on either side of the nucleus. The impression is, that the nucleus appears to release material.

Reduction of the number of nucleoli precedes, until, about 2 days prior to the division, only one nucleolus is left. The diameter of the nucleus is now 30 micrometers. At the beginning of this sequence it was about twice as big. The minute chromosomes which are not visible in this nucleus, would now be condensing.

Now, an intranuclear spindle-apparatus is about to be formed. It will first be seen in an almost vertical orientation.

Initially the spindle is small and may move inside the nucleus. It grows by the lateral addition of new fiber bundles, which by their movement may translocate the nucleolus. The nucleolus gets into close association with the nuclear envelope. During ana-to telophase transition, the nucleus elongates.

The primary nucleus of *Acetabularia* forms one of the biggest spindles known. In the division of this nucleus, condensed chromosomes and their movement at anaphase will be visible.

A primary nucleus, isolated at telophase, shows two small daughter-nuclei at the poles of the elongated spindle. There is evidence that this division might be a meiotic division.

About 7-10 hours after the division of the primary nucleus, the daughter-nuclei called "secondary nuclei", start dividing mitotically. Extreme time lapse makes protoplasmic streaming appear very rapid. The mode of division is similar to that of the primary nucleus.

The newly formed nuclei will redivide after about 7 to 10 hours.

Here, chromosomes are arranged at metaphase and move apart at anaphase.

Throughout the division, the position of the nuclei is hardly changed.

At the end of telophase, the daughter-nuclei are torn off the spindle-remnants. The nuclei migrate after they have multiplied mitotically, through the stalk into the chambers of the cap.

They move along distinct cytoplasmic striations and thereby overtake the chloroplasts.

Their movement depends on an interaction of microtubules and microfilaments.

In one of chambers of the cap it is possible to observe the migration of two secondary nuclei. They move from the lower left to the upper right corner, pushing aside chloroplasts.

Later, migration of nuclei stops. The nuclei increase from less than five to about 25 micrometers in diameter. Upon refocussing the chloroplasts are displaced from the nucleus by applying slight pressure.

Cytoplasmic filaments containing microtubules now become visible. They anchor the nuclei in position.

The nuclei are now arranged at equidistant positions to each other. This so-called - "White-spot-stage" will later lead to cyst formation.

Each cyst initially contains only one nucleus, which immediately starts dividing again.

This division is also on intranuclear division with spindle-elongation at telophase. Many mitotic divisions lead to a multinucleate cyst.

Later, the life cycle of *Acetabularia* will be closed with gametogenesis and the subsequent formation of zygotes.

Literatur

- [1] BERGER, S., W. HERTH, W. W. FRANKE, H. FALK, H. SPRING, and H. G. SCHWEIGER: Morphology of the nucleo-cytoplasmic interactions during the development of *Acetabularia* cells. II. The generative phase. *Protoplasma* 84 (1975), 223-256.
- [2] BOLOUKHÈRE, M.: Ultrastructure of *Acetabularia mediterranea* in the course of formation of the secondary nuclei. In: *Biology of Acetabularia*. J. BRACHET and S. BONOTTO, eds.) New York 1970, pp. 145-175.
- [3] FRANKE, W. W., S. BERGER, H. FALK, H. SPRING, U. SCHEER, W. HERTH, M. F. TRENDELENBURG, and H. G. SCHWEIGER: Morphology of the nucleo-cytoplasmic interactions during the development of *Acetabularia* cells. I. The vegetative phase. *Protoplasma* 82 (1974), 249-282.
- [4] HAEMMERLING, J.: Entwicklung und Formbildungsvermögen von *Acetabularia mediterranea*. *Biol. Zentralbl.* 51 (1931), 633-647.
- [5] HAEMMERLING, J.: Nucleo-cytoplasmic interactions in *Acetabularia* and other cells. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 14 (1963), 65-92.
- [6] KOOP, H.-U.: Kreuzungsexperimente bei *Acetabularia mediterranea*. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 89 (1976), 499-505.
- [7] KOOP, H.-U.: Genetic aspects of *Acetabularia mediterranea*. In: *Progress in Acetabularia research*. (C. L. F. WOODCOCK ed.) London, New York 1977, pp. 7-18.
- [8] KOOP, H.-U.: The life cycle of *Acetabularia* (Dasycladales, Chlorophyceae): A compilation of evidence for meiosis in the primary nucleus. *Protoplasma* 100 (1979), 353-366.
- [9] KOOP, H.-U., and O. KIEMAYER: Protoplasmic streaming in the giant unicellular green alga *Acetabularia mediterranea*. I. Formation of intracellular transport systems in the course of cell differentiation. *Protoplasma* 102 (1980), 147-166.
- [10] KOOP, H.-U., and O. KIEMAYER: Protoplasmic streaming in the giant unicellular green alga *Acetabularia mediterranea*. II. Differential sensitivity of movement systems to substances acting on microfilaments and microtubuli. *Protoplasma* 102 (1980), 295-306.
- [11] KOOP, H.-U., H.-H. HEUNERT, and R. SCHMID: Division of the primary nucleus of *Acetabularia*. *Protoplasma* 93 (1977), 131-134.
- [12] KOOP, H.-U., H. SPRING, H.-H. HEUNERT, and R. SCHMID: Continuous observation of the giant primary nucleus of *Acetabularia* in situ. *Protoplasma* 96 (1978), 89-99.
- [13] KOOP, H.-U., R. SCHMID, H.-H. HEUNERT, and H. SPRING: Spindle formation and division of the giant primary nucleus of *Acetabularia* (Chlorophyta, Dasycladales). *Differentiation* 14 (1979), 135-146.
- [14] SCHULZE, K. L.: Cytologische Untersuchungen an *Acetabularia mediterranea* und *Acetabularia wettsteinii*. *Arch. Protistenk.* 92 (1939), 179-225.
- [15] SPRING, H., U. SCHEER, W. W. FRANKE, and M. F. TRENDELENBURG: Lampbrush - type chromosomes in the primary nucleus of the green alga *Acetabularia mediterranea*. *Chromosoma* 50 (1975), 25-43.
- [16] SPRING, H., D. GRIERSON, V. HEMLEBEN, M. STOEHR, G. KROHNE, J. STADLER, and W. W. FRANKE: DNA contents and numbers of nucleoli and pre-rRNA genes in nuclei of gametes and vegetative cells of *Acetabularia mediterranea*. *Exp. Cell Res.* 114 (1978), 203-215.
- [17] WOODCOCK, C. L. F.: The anchoring of nuclei by cytoplasmic microtubules in *Acetabularia*. *J. Cell Sci.* 8 (1971), 611-621.

- [18] WOODCOCK, C. L. F., G. J. MILLER: Ultrastructural features of the life cycle of *Acetabularia mediterranea*. II. Events associated with the division of the primary nucleus and the formation of cysts. *Protoplasma* 77 (1973), 331-341.

Filmveröffentlichungen

- [19] KOOP, H.-U., und INST. WISS. FILM: Entwicklung von *Acetabularia* (Dasycladales). Film C 1298 des IWF, Göttingen 1978. Publikation von H.-U. KOOP, *Publ. Wiss. Film.,* Sekt. Biol., Ser. 13, Nr. 31/C 1298 (1980), 23 S.
- [20] KOOP, H.-U., O. KIEMAYER und INST. WISS. FILM: Stadienspezifische Protoplasmaströmung im Stiel von *Acetabularia mediterranea*. Film C 1384 des IWF, Göttingen 1980.
- [21] KOOP, H.-U., O. KIEMAYER und INST. WISS. FILM: Wirkung von Cytochalasin B und Anti-Mikrotubuli-Stoffen auf die Plasmaströmung von *Acetabularia mediterranea*. Film C 1385 des IWF, Göttingen 1980.

Abbildungsnachweis

Abb. 1 und 4: H.-U. KOOP; Abb. 2, 3, 5-7: Einzelaufnahmen aus dem Film.