

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 1318/1972

Chlamydomonas reinhardtii (Volvocales)
Asexuelle Fortpflanzung

Mit 2 Abbildungen

GÖTTINGEN 1972

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Chlamydomonas reinhardii (Volvocales) **Asexuelle Fortpflanzung¹**

U. SCHLÖSSER, Göttingen

Allgemeine Vorbemerkungen

Die einzellige diözische Grünalge *Chlamydomonas reinhardii*² DANGEARD ist ein beliebtes Objekt für fortpflanzungsphysiologische und genetische Experimente. Es wurden von dieser Art fast ausschließlich die beiden von GILBERT M. SMITH (1950) aus Erdproben isolierten (+)- und (—)-Klone benutzt. Die bevorzugte Verwendung dieser Stämme beruht einerseits auf ihrer leichten Kultivierbarkeit in rein anorganischen Flüssigkeits- und Agarmedien. Im Gegensatz zu vielen anderen *Chlamydomonas*-Formen wachsen sie innerhalb weiter Grenzen von Temperatur und Beleuchtungsstärke schnell und ohne kulturtechnische Schwierigkeiten. Andererseits lassen sich sexueller und asexueller Fortpflanzungsmodus experimentell absolut sicher trennen. Durch Überführen in stickstoff-freies Medium und anschließende Belichtung können junge Zellen quantitativ zu Gameten umgestimmt werden (SAGER and GRANICK [4], [5], TRAINOR [8], KATES and JONES [3]). Mischt man so erhaltene Gametensuspensionen von (+)- und (—)-Klon dieser isogametischen Art, so ergibt sich die für Chlamydomonaden typische Abfolge von Stadien der sexuellen Fortpflanzung: Agglutination der Geißelspitzen, Paarbildung, Plasmogamie, Zygotenbildung (siehe dazu den Film von GRELL [9]). In der vollständigen mineralischen Nährlösung pflanzen sich die Zellen

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 9 u. 10.

² Es sind verschiedene Schreibweisen des Artnamens in Gebrauch: reinhardtii, reinhardtii, reinhardi und reinhardii. Erst nach Fertigstellung des Films wurde bemerkt, daß der korrekte Artnamen, der zu Ehren des russischen Botanikers REINHARD aufgestellt wurde, nach GOROSCHANKIN (1891) *reinhardi* lauten muß.

dagegen ausschließlich asexuell fort. Bei geeigneter Temperatur, Beleuchtung und CO₂-Versorgung wird jede Zelle zwangsläufig nach beendeter Wachstumsphase zu einem Sporangium, d. h. innerhalb der Mutterzellwand teilt sich der Protoplast in Zoosporen auf, die dann mit einem speziellen Mechanismus freigesetzt werden. Der vorliegende Film behandelt Stadien der Sporangienbildung und der Zoosporenfreisetzung. Nach diesem Film und weiteren lichtmikroskopischen Beobachtungen läßt sich die asexuelle Fortpflanzung von *C. reinhardi* mit folgenden morphologischen Details charakterisieren: Zu Beginn werden die beiden Geißeln der teilungsbereiten Zelle eingezogen. Der Kern bewegt sich vom vorderen Zelldrittel zum Geißelpol (Abb. 1 a); gleichzeitig wandern die beiden dort gelegenen pulsierenden Vakuolen auseinander. Der Nucleolus wird unsichtbar. Die Chromosomen formieren sich (Abb. 1 b), ordnen sich in der Metaphasenplatte (Abb. 1 c) und trennen sich in der Anaphase. Zwei neue Tochterkerne mit je einem Nucleolus erscheinen (Abb. 1 d). Gleichzeitig hat sich die Zahl der pulsierenden Vakuolen verdoppelt. Bei der nun folgenden Längsteilung schnürt sich der Protoplast samt Chloroplast und Pyrenoid irisblendenartig durch. Innerhalb der Mutterzellwand drehen sich die beiden Tochterzellen um 90°, so daß die Ebene der nun folgenden Längsteilung senkrecht zu der vorigen liegt. Es entstehen sukzedan in strenger Aufeinanderfolge von Kernteilung und Plasmateilung wie oben, entsprechend den Umweltbedingungen, 4, 8, 16 oder 32 Mitosporen. Diese umgeben sich während der Zellteilungen mit Gallerte. Beim reifen Sporangium umhüllt dann die geweitete Mutterzellwand (= Sporangienwand) einen Gallertkörper, in den die funktionsfähig begeißelten Zoosporen unbeweglich eingebettet sind. Der Gallertkörper spielt offensichtlich als Quellkörper beim Mechanismus der Zoosporenfreisetzung eine wichtige Rolle. Unter geeigneten Bedingungen, wobei vor allem die Belichtung nach einer Dunkelzeit wirksam ist, wird die Freisetzung ausgelöst. Ein enzymatischer Faktor, den offenbar die Zoosporen im Sporangium abgeben, macht zunächst die Sporangienwand dehnbare und löst sie dann ganz auf (SCHLÖSSER [6]). Während der enzymatisch katalysierten Verschleimung der Sporangienwand beginnt nun der Gallertkörper zu quellen. Damit wird auch die Bewegung der Zoosporen in Gang gesetzt; sie fangen bei langsamer Geißelbewegung an, hin- und herzurücken. Mit fortschreitender Gallertequellung, die sich bis über das Doppelte des ursprünglichen Sporangienendurchmessers ausdehnen kann (Abb. 2 b), machen sich die Zoosporen unter heftiger Hin- und Herbewegung von der Gallertemasse, die sie deutlich behindert, frei und schwimmen davon. Die zurückgelassene Gallerte und die Reste der Sporangienwand gehen bald darauf vollständig in Lösung. Der Mechanismus der Sporenfreisetzung scheint hier also im Zusammenwirken von enzymatischer Auflösung der Sporangienwände und unbegrenzter Quellung eines Gallertkörpers zu bestehen.

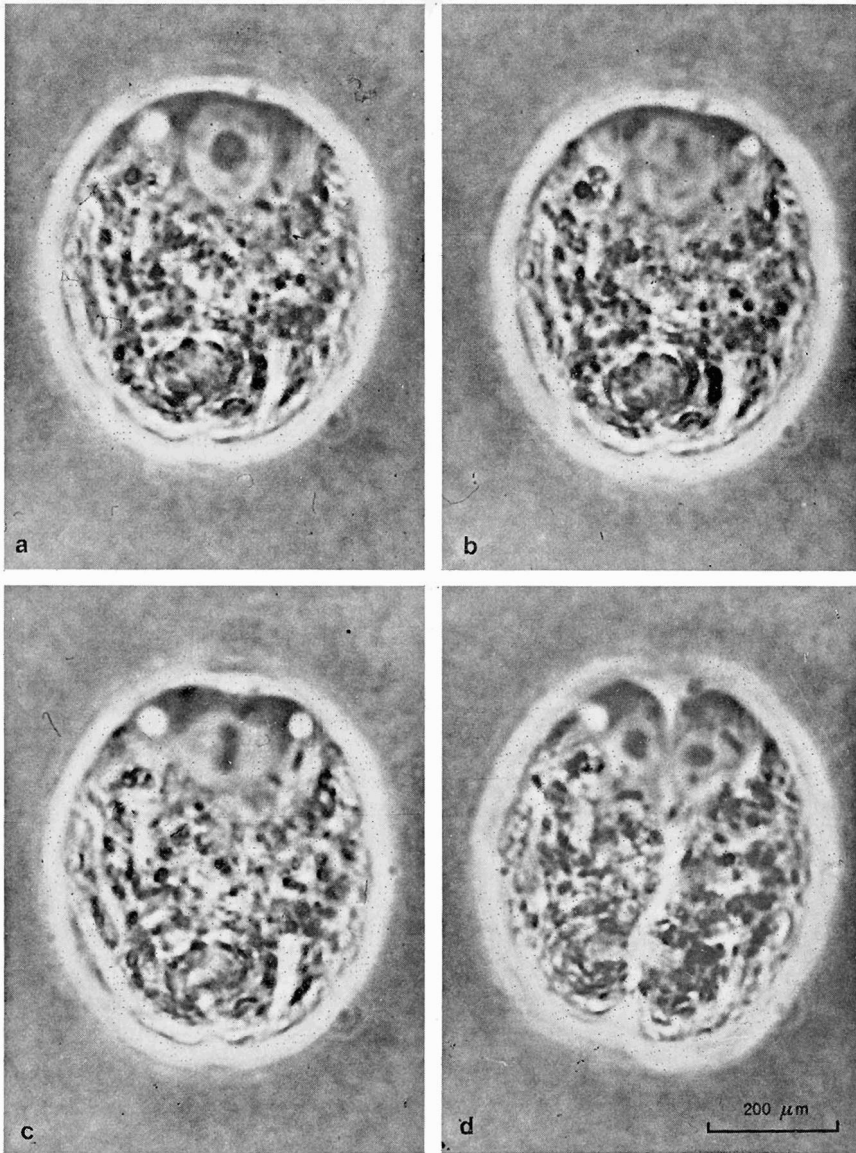


Abb. 1. Kernphasenwechsel während der Zellteilung bei *Chlamydomonas reinhardtii*. Phasenkontrastaufnahme. a) Der Kern mit Nucleolus ist zum Apikalpol gewandert; die dort gelegenen pulsierenden Vakuolen sind dabei seitlich ausgewichen. b) Der Nucleolus ist verschwunden, Chromosomen formieren sich. c) Ausbildung der Metaphasenplatte. d) Während der Plasmateilung erscheinen die beiden Tochterkerne mit Nucleoli

Dieser Fortpflanzungsverlauf gilt zunächst für *C. reinhardi*. Die asexuelle Fortpflanzung anderer Arten der formenreichen Sammelgattung *Chlamydomonas* kann in vielen Teilen ganz unterschiedlich ablaufen. So ziehen manche Arten z. B. die Geißeln zu Beginn der Sporangienbildung nicht ein, die Geißelbeweglichkeit bleibt dann auch bei reifen Sporangien erhalten. Das Pyrenoid kann vor der Teilung verschwinden, um erst in

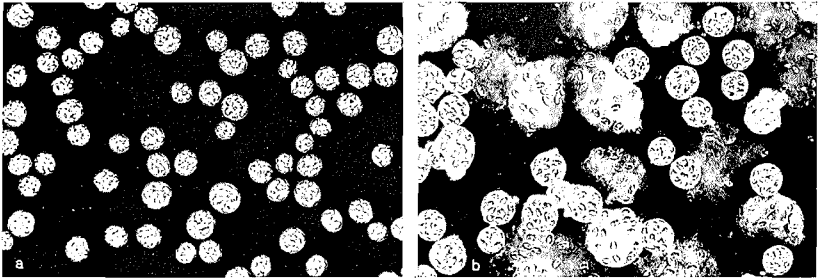


Abb. 2. Zoosporenfreisetzung in einer synchronisierten Kultur von *Chlamydomonas reinhardi* var. *dystokos*. Kontrastierung mit Auszuchtusche. a) Sporangien. b) Zoosporenfreisetzung unter Quellung von Gallerte aus dem Sporangieninneren nach Zusatz eines arteigenen wandlösenden Enzyms

fertiggeteilten Tochterzellen wieder zu erscheinen. Eine enzymatische Auflösung der Sporangienwände läßt sich bei einigen Arten nachweisen (SCHLÖSSER, z. Z. laufende Untersuchungen), andere jedoch öffnen ihre Sporangien zur Freisetzung am Geißelpol, und die Sporangienwände bleiben erhalten.

Zur Entstehung des Films

Die Algen wurden in durchlüfteten mineralischen Flüssigkeitskulturen synchron angezogen. Geeignete Zellstadien wurden für die Aufnahmen auf die flüssigkeitsbedeckte Agarfläche einer Spezialekammer (HEUNERT [2]) übertragen.

Objekt für die Aufnahme der Sporangienbildung war *Chlamydomonas reinhardi* 11-32/89 aus der Sammlung von Algenkulturen des Pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Göttingen und für die Aufnahme der Freisetzung eine aus diesem Stamm neu isolierte Variante „dystokos“ (griech. = schwer gebärend). Bei dieser Variante erfolgt gegenüber dem Ausgangsstamm die Zoosporenfreisetzung nur unter besonderen Bedingungen. Die Kulturbedingungen ließen sich so einstellen, daß die Variante stundenlang quantitativ im Sporangienstadium vorlag (Abb. 2 a). Solche Sporangien wurden durch Zufuhr des sporangienwandlösenden Enzyms von Kulturen des Ausgangsstammes zu sofortiger Freisetzung angeregt. Die im normalen mikroskopischen Präparat nicht erkennbaren Sporangiegallerten wurden durch Kontrastierung mit Auszuchtusche (schwarze Perltsche) sichtbar gemacht. Bezüglich der Details

über Synchronkultur, Nachweis und Gewinnung des sporangienwandlösenden Enzyms siehe SCHLÖSSER [6].
Aufnahmetechnik: Mikroskopische Phasenkontrastaufnahme.

Filmbeschreibung¹

Zoosporen

24 B/s und 150 B/s

1. und 2. Einstellung: Zoosporen in Bewegung
Bildfeldbreite 113 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s
3. bis 5. Einstellung: Geißelbewegung bei festgelegten Einzelzellen
Bildfeldbreite 85,7 μm ; Aufn.-Freq. 150 B/s

Einziehen der Geißeln vor Beginn der Zellteilung

2 B/min

6. und 7. Einstellung: Kontinuierliches Einziehen der Geißeln
zu 6. Bildfeldbreite 60 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/min
zu 7. Bildfeldbreite 45,5 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/min

Zellteilung

8 B/s bis 2 B/min

8. Einstellung: Übersicht bis zum 1. Teilungsschritt. Die Geißeln werden eingezogen. Zellkern mit Nucleolus, pulsierende Vakuolen und Pyrenoid sind sichtbar. Der Protoplast teilt sich längs, und fast gleichzeitig drehen sich die beiden entstehenden Tochterzellen um 90°. Bildfeldbreite 45,5 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/min
9. Einstellung: Vakuolentätigkeit
Bildfeldbreite 46,3 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/s
10. Einstellung: Der Kern bewegt sich zum Geißelpol, gleichzeitig wandern die pulsierenden Vakuolen auseinander. Der Nucleolus verschwindet. In der Zellwand sind deutlich Löcher für die Geißeln zu sehen. Die Chromosomen formieren sich, legen sich zur Metaphaseplatte zusammen und trennen sich in der Anaphase. Gleichzeitig hat sich die Zahl der pulsierenden Vakuolen verdoppelt (in dieser Einstellung sind 2 \times 3 Vakuolen sichtbar!?). Es erscheinen die beiden Tochterkerne mit je einem Nucleolus. Der Protoplast teilt sich samt Chloroplast und Pyrenoid irisblendenartig längs durch.
Bildfeldbreite 28 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

11. Einstellung: Wie 10. Einstellung
Bildfeldbreite 28 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/s
12. Einstellung: Zellteilung wie 10. Einstellung bis zum 8-Zellstadium und anschließende Freisetzung. Nach der 1. Zellteilung drehen sich die beiden Tochterzellen nur um 30° , vermutlich infolge Behinderung in der Aufnahmekammer. Die Geißeln sind im reifen Sporangium deutlich sichtbar. Vor der sehr schnell ablaufenden Freisetzung nimmt das Sporangium ruckartig etwas an Volumen zu.
Bildfeldbreite 28 μm ; Aufn.-Freq. 30 B/min. Ab 4-Zellstadium 8 B/min
13. Einstellung: Übersicht der asexuellen Fortpflanzung vom Einziehen der Geißeln bis zur Freisetzung von 16 Zoosporen. Die Drehung der Tochterzellen nach der 1. Zellteilung ist sehr deutlich erkennbar, ebenso die plötzliche geringe Volumenzunahme des Sporangiums vor Beginn der Freisetzung.
Bildfeldbreite 28 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/min

Chlamydomonas reinhardtii var. *dystokos*
Freisetzen der Zoosporen nach Enzymzugabe
12 und 24 B/s

14. Einstellung: Drei Sporangien zeigen in dieser Übersicht nach Zugabe des sporangienwand-lösenden Enzyms Quellung und Beginn der Zoosporenbewegung.
Bildfeldbreite 113 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s
15. bis 17. Einstellung: Sporangienquellung, Zoosporenbewegung in der (nicht sichtbaren) Sporangien-gallerte, Freisetzung teilweise durch Aufplatzen der Wand. Die Sporangienwand ist in der 15. Einstellung erkennbar.
Bildfeldbreite 61 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s

Quellen der Gallerte; Tuschepräparat
12 B/s

18. Einstellung: Gequollene Gallertkörper von fünf Sporangien, die sich durch zufällig koordinierten Schlag herausragender Geißeln drehen.
Bildfeldbreite 74 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s
19. Einstellung: Quellung eines einzelnen Sporangiums und Beginn der Zoosporenbewegung im Quellkörper.
Bildfeldbreite 61 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s

Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] GOROSCHANKIN, J. N.: Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Systematik der Chlamydomonaden. II. Chlamydomonas Reinhardi (DANG.) und seine Verwandten. Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou N. S. 5 (1891), 101—142.
 - [2] HEUNERT, H. H.: Methoden zur Verhinderung von Schärfenschwankungen bei Zeitrafferaufnahmen von Agarkulturen. Research Film 4, H. 4, Göttingen 1962.
 - [3] KATES, J. R., and R. F. JONES: The control of gametic differentiation in liquid cultures of Chlamydomonas. J. Cell Comp. Physiol. 63 (1964), 157—164.
 - [4] SAGER, RUTH, and S. GRANICK: Nutritional studies with Chlamydomonas reinhardi. Ann. New York Acad. Sci. 56 (1953), 831.
 - [5] SAGER, RUTH, and S. GRANICK: Nutritional control of sexuality in Chlamydomonas reinhardi. J. gen. Physiol. 37 (1954), 729—742.
 - [6] SCHLÖSSER, U.: Enzymatisch gesteuerte Freisetzung von Zoosporen bei Chlamydomonas reinhardii DANGEARD in Synchronkultur. Arch. Mikrobiol. 54 (1966), 129—159.
 - [7] SMITH, G. M.: Sexuality, zygote formation, and zygote germination in Chlamydomonas. Proc. 7th Int. Bot. Congr., Stockholm (1950), 836—837.
 - [8] TRAINOR, F. R.: A comparative study of sexual reproduction in four species of Chlamydomonas. Amer. J. Bot. 46 (1959), 65—70.
-
- [9] GRELL, K. G.: Morphologie und Fortpflanzung der Phytomonaden. Film C 883 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1964.

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1972 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 105 m 10 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden in den Jahren 1966/67. Veröffentlichung aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen, Dr. U. SCHLÖSSER, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE, H. D. KUSMIERZ, H. H. HEUNERT.

Inhalt des Films

Es werden Stadien der asexuellen Fortpflanzung bei der einzelligen Grünalge *Chlamydomonas reinhardi* gezeigt. Folgende Einzelheiten der Sporangienbildung sind zu sehen: Einziehen der Geißeln, Kernwanderung zum Geißelpol, Mitose mit Chromosomenbewegung, Verschwinden des Nucleolus wäh-

rend der Mitose, Verdoppelung der pulsierenden Vakuolen, Plasmateilung und Drehung der Tochterprotoplasten nach der ersten Teilung um 90°. Die Zoosporenfreisetzung wird experimentell durch Inkubation reifer Sporangien mit einem arteigenen sporangienwand-lösenden Enzym ausgelöst. Die Zoosporen sind im Sporangium in einen Gallertkörper eingebettet; dieser quillt während der enzymatisch katalysierten Sporangienwand-Verflechtung unbegrenzt, und im Verlaufe der Quellung beginnt die Geißelbewegung der Zoosporen.

Summary of the Film

The film shows various stages of the asexual propagation of the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardi*. It demonstrates the following details of the sporangia formation: retraction of the flagellae, movement of the nucleus to the flagella pole, mitosis and movement of the chromosomes, disappearance of the nucleolus during mitosis, doubling of the pulsating vacuoles, division of the protoplast, and rotation of the daughter protoplasts through the angle of 90° after the first division step. The liberation of the zoospores is experimentally triggered by a species-specific sporangium wall-dissolving enzyme. The zoospores are embedded inside the sporangium in a jelly, which swells during the course of the enzymatic sporangium wall dissolution. During this swelling the movement of the zoospore flagellae is initiated.

Résumé du Film

Le film fait voir la reproduction asexuée de *Chlamydomonas reinhardi*, Chlorophycée unicellulaire, dans plusieurs phases. Quelques prises de vue nous montrent les stades différents de la zoosporulation: la réduction des fouets, la migration du noyau à la partie antérieure, le mécanisme mitotique, la disparition du nucléole au cours de la mitose, le redoublement des vacuoles pulsatiles, la division du corps protoplasmatique en deux et rotation de 90° des protoplastes filles. La libération des zoospores est provoquée expérimentellement par l'aide d'un enzyme spécifique. Cet enzyme fait solutionner la membrane de sporange. Les zoospores dans le sporange sont entourés de substance gélatinée; elle renfle au moment de la décomposition enzymatique de la membrane mère. Le mouvement des flagelles commence au cours du renflement.