

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 1664/1970

Thraustochytrium kinnei (Thraustochytriaceae) Vegetative Entwicklung

Mit 5 Abbildungen

GÖTTINGEN 1971

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Thraustochytrium kinnei (Thraustochytriaceae) **Vegetative Entwicklung¹**

A. GAERTNER, Bremerhaven

Allgemeine Vorbemerkungen

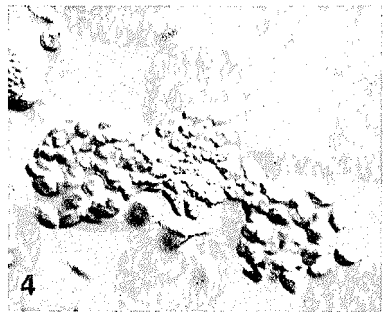
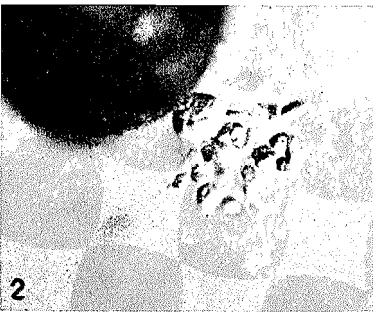
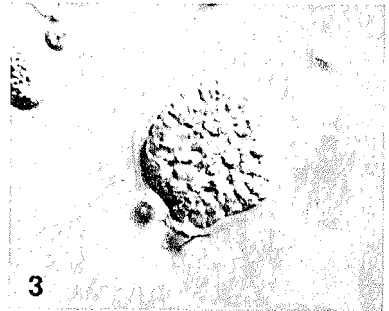
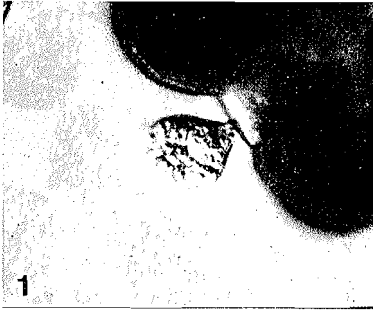
Der Pilz *Thraustochytrium kinnei* wurde durch GAERTNER [1] erstmalig aus der Umgebung von Helgoland (Deutsche Bucht, Nordsee) isoliert und durch GAERTNER [2] als neue Art beschrieben. Er gehört zu der durch SPARROW [4] aufgefundenen Familie der Thraustochytriaceae, welche nach SPARROW [5] den Saprolegniales als zweigeißelige, monozentrische Form zugeordnet werden muß. Der Pilz wächst saprophytisch auf toten Substraten oder schwach parasitisch auf in ihrer Entwicklung gehemmten grünen, roten oder braunen Algen und läßt sich mit sterilisierten *Pinuspollen* gut ködern. Er ist offensichtlich an höhere Wassertemperaturen gebunden, da sein gehäuftes Auftreten in der Deutschen Bucht, besonders im Seewasser um Helgoland, erst in den Sommermonaten (GAERTNER [2], [3]) nachzuweisen ist.

Aufgrund unzureichender Kulturbedingungen ging der Pilz nach seiner Beschreibung wieder verloren und konnte im Zuge der laufenden Untersuchungen im Rahmen des Schwerpunktprogramms „Meeresforschung“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft² reisoliert werden. Von diesen Isolaten werden zur Zeit 10 Stämme verschiedener Herkunft in Bremer-

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 10—12.

² Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Förderung dieser Arbeiten im Rahmen einer Sachbeihilfe des Schwerpunktprogramms Meeresforschung; Frau RENATE EHLKEN, Frl. DAGMAR NÖHRING, Frau REGINA KLAUS für technische Hilfe sowie Frl. INGRID HARRIGFELD für ihre ständigen Bemühungen um die Erhaltung der Isolationen. Den Firmen Farbwerke Höchst und Lederle Arzneimittel danke ich für das Zurverfügungstellen der zur Isolation notwendigen großen Mengen der Antibiotika Penicillin und Streptomycin bzw. Chlortetracyclin.

haben gehalten, von denen zwei Stämme, die Isolationsnummern 1709c und 1694d zur Abfassung dieses Enzyklopädiefilms herangezogen wurden. Sämtliche Isolate entsprechen in allen Teilen der Erstisolation von 1964, welche der Beschreibung (GAERTNER [2]) zugrundegelegt hat.



Sporulation bei *Thraustochytrium kinnei*

Abb. 1. Das birnenförmige Sporangium gliedert sich in die Zoosporen und den Restkörper

Abb. 3. Das größere, mit einer dicken hyalinen Wand versehene Sporangium entstammt einer alternierenden Kultur

Abb. 2. Nach Verquellen der Sporangiumwand werden die Zoosporen beweglich und schwärmen aus

Abb. 4. Es entläßt im Gegensatz zum Sporangium mit dünner Wand die Zoosporen an seiner Basis ins umgebende Medium

Der Vegetationskörper des Pilzes ist monozentrisch, epi- und endobiontisch, bestehend aus dem birnenförmigen Sporangium $14-17 \times 17-19 \mu\text{m}$ groß, welches mit seinem spitzen Ende durch ein endobiontisches Rhizoid im Substrat verankert ist. Am distalen Teil gliedert sich

vor der Ausbildung der Zoosporen ein Restkörper ab (Abb. 1), über dem sich die Zoosporen kalottenförmig ausdifferenzieren. Die Zoosporen werden sofort nach Verquellen der Wand des Sporangiums beweglich und schwärmen nach allen Seiten aus (Abb. 2). Zurück bleibt der Restkörper mit dem anhaftenden unteren Teil der Sporangiumwand, welche

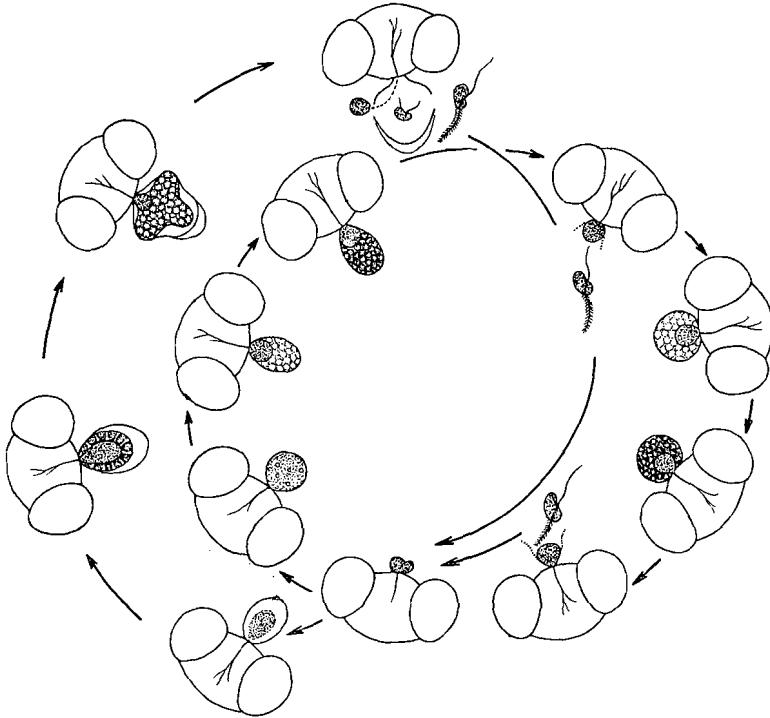


Abb. 5. Vervollständigtes Schema des Entwicklungsganges von *Thraustochytrium kinnei* GAERTNER nach GAERTNER (1970)

Die zweigeißelige Zoospore setzt sich an einem Pollenkorn fest (im Schema unten Mitte), bildet ein verzweigtes Rhizoid aus und entwickelt sich unter Abgliederung eines Restkörpers zum Sporangium mit dünner Wand (linke Hälfte des geschlossenen Kreises). Unter Zurücklassen des Restkörpers (rechts oben) schwärmt das Sporangium durch Verquellen des apikalen Teiles, und aus dem Restkörper des alten Sporangiums entwickelt sich ein neues mit neuem Restkörper. Anschließend schwärmt auch dieses aus. Dies wiederholt sich solange, bis das Substrat erschöpft ist. Unter noch zur Zeit unbekanntenen Bedingungen entstehen in älteren Kulturen aus Zoosporen dickwandige Sporangien (Schema links), welche an der Basis aufreißen und Zoosporen und Restkörper entlassen. Ihre Sporen entwickeln sich so wie die Zoosporen aus dünnwandigen Sporangien

als ringförmige, flache Schale dem Restkörper ansitzt. Unter Ausnutzung des vorhandenen Rhizoids proliferiert das Sporangium, indem aus dem Restkörper ein neues Sporangium wird, welches erneut unter Ausbildung eines Restkörpers Zoosporen entläßt. Dieser Vorgang wiederholt sich solange, bis das Substrat erschöpft ist.

Während die Erstentwicklung vom Festsetzen der Zoospore bis zum Zoosporen entlassenden Sporangium bei Zimmertemperatur etwa sechs Stunden in Anspruch nimmt, dauert die Proliferation bis zur Entlassung der Zoosporen ca. drei bis vier Stunden, je nach Erschöpfungsgrad des Substrates.

In alternden Kulturen entstehen unter noch unbekanntem Voraussetzungen größere Sporangien mit dicker, hyaliner Wand (Abb. 3). Diese Sporangien entlassen, nachdem in verschiedenen Teilungsschritten grob strukturierte Zwischenstationen durchlaufen sind, ihre Zoosporen im Gegensatz zu den Sporangien mit dünner Wand dadurch, daß sich das Sporangium an der Basis öffnet oder dort sogar ganz abreißt. Die Zoosporen quellen in dichten Haufen heraus und werden alsbald beweglich (Abb. 4). Hierbei wird der Restkörper zur Seite gedrängt, bleibt aber durch einen feinen Faden mit der Ansatzstelle des Rhizoides verbunden.

Die Zoosporen, 4,5 bis $4,8 \times 2,5$ bis $3 \mu\text{m}$ groß, haben zwei seitlich inserierte, $10 \mu\text{m}$ lange Geißeln. Von diesen ist die in der Bewegung vorangestellte Geißel eine Flimmergeißel und die nach hinten gerichtete Cilie als Peitschengeißel (whiplash type) ausgebildet. Die Zoosporen dienen dem Pilz als bewegliche Fortpflanzungskörper und sind chemotaktisch reizbar. Unter Ausführung klopfender und zitternder Suchbewegungen setzen sie sich am Substrat fest, ziehen die Geißel in den Zoosporenkörper ein und durchdringen die Wand des Substrates mit einem anfänglich sehr feinen, später sich derber entfaltenden, verzweigten Rhizoid. Hiermit nehmen sie die Nahrungsstoffe auf und leiten sie dem ehemaligen Körper der Zoospore zu, welcher zum Vegetationskörper wird.

Der Pilz gedeiht nach Befreiung von den begleitenden Bakterien und Protozoen auf durch ca. 1% Agar verfestigte Seewassernährböden 30—32% Salinität, denen als Nährstoffkomponenten 0,03% Biomalz, 0,003% Pepton aus Casein (Merck) und 0,001% Hefeextrakt (Merck oder Difco) zugesetzt sind. Bei der Kultur ist darauf zu achten, daß das Agar genügend Flüssigkeit abscheidet und daß durch häufiges Überspülen mit dieser Flüssigkeit die beimpfte Oberfläche ständig neu befeuchtet wird. Die Kulturen müssen spätestens nach vier Wochen neu übergeimpft werden, sollen sie nicht verlorengehen.

Zur Arbeit mit diesem Organismus werden Subkulturen in Petrischalen von 5 cm \varnothing , beschickt mit sterilem Seewasser, angelegt, denen eine Spatelspitze sterilisierter Pinuspollen hinzugefügt wird. Die Ent-

nahmen und die Abimpfungen aus diesem Material erfolgen dann entsprechend den jeweiligen Bedürfnissen.

Der besondere Wert dieses Enzyklopädiefilmes liegt neben der dokumentarischen Erfassung der Entwicklungsvorgänge des Pilzes in seiner Eigenschaft als Bestimmungshilfe, da Entwicklungsvorgänge und die Vorgänge der Zoosporentlassung zur Abgrenzung der Arten und Gattungen in taxonomischer und systematischer Hinsicht bei niederen Pilzen herangezogen werden.

Filmbeschreibung¹

1. Übersichtsbild der schwimmenden Zoosporen. Die Zoosporen schwimmen zwischen dem als Köder zugegebenen Pollen von *Pinus montana* umher. Einzelne Pollenkörner sind bereits besiedelt. Die Bewegung der Geißeln ist gelegentlich zu beobachten, an den Pollenkörnern sind einzelne, sich entwickelnde Thalli sichtbar.

Vergr. 34,4fach, Aufn.-Freq. 24 B/s

Schwimmende Zoosporen

200 B/s

2. bis 4. Die Zoosporen wurden in einem dünnen Film auf Seewasseragar gezwungen, sich nur in einer Ebene fortzubewegen. Durch diesen dünnen Wasserfilm war es möglich, die Bewegung in der Schärfenebene zu halten, so daß der Geißelschlag laufend verfolgt werden konnte.

Unter Phasenkontrast und Zeitdehnung ist die Bewegung der Geißeln gut sichtbar. Die beflimmerte Geißel wird in der Bewegungsrichtung vorangestellt.

Vergr. 59,5fach, Aufn.-Freq. 200 B/s

Zoosporen auf Seewasseragar Einziehen der Geißeln

24 B/s

5. Verhalten einer eben auf dem Agar festgesetzten Zoospore mit noch schlagenden Geißeln.

6. Einziehen der Geißeln, beobachtet an der oberen Spore von den zwei Individuen in der Bildmitte. Die Geißeln werden am Insertionspunkt langsam in den Zoosporenkörper aufgenommen („eingezogen“).

7. Der gleiche Vorgang an einem anderen Objekt. Von der Dreiergruppe in der Bildmitte ist die obere Spore zu beobachten. Abrunden

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

des Körpers der Spore nach dem Einziehen der Geißeln. Einstellung 5—7 im Phasenkontrast.

Vergr. 87fach, Aufn.-Freq. 24 B/s

Rhizoidwachstum

4 B/min

8. Sehr feine und vielfältig verzweigte Rhizoide wachsen an einer Stelle aus dem ehemaligen Körper der Zoospore heraus und dienen der Anheftung am Substrat und der Aufnahme der Nährstoffe.

Beginn der Rhizoidbildung mit einem feinen, noch wenig verzweigten Faden.

9. Am gleichen Objekt die weitere Entwicklung des Rhizoides. Vergrößerung des Vegetationskörpers und Ausschwärmen der Zoosporen.

Vergr. 87fach, Aufn.-Freq. 2 B/min

10. Das fein verzweigte Rhizoid zweier Vegetationskörper vergrößert aufgenommen.

Einstellung 8—10 im Phasenkontrast.

Vergr. 94fach, Aufn.-Freq. 4 B/min

Festsetzen der Zoosporen an Pinuspollen in Seewasser

2 B/s und 24 B/s

11. Die Zoospore schwimmt auf das Pollenkorn zu und setzt sich fest, wobei es zu klopfenden Bewegungen ihres Körpers kommt.

Aufn.-Freq. 2 B/s

12. Anschließend erfolgen Bewegungen in kurzen Zeitintervallen, in denen die Spore das Substrat „betrillert“ ehe sie sich endgültig festsetzt, die Geißel einzieht und sich abrundet.

Einstellungen 11 und 12 im Hellfeld.

Vergr. 87fach, Aufn.-Freq. 24 B/s

Entwicklung von Zoosporangien Ausschwärmen der Zoosporen

1 B/min bis 8 B/min

24 B/s

13. Entwicklungsgang des Heranwachsens des Pilzthallus aus dem ehemaligen Körper der Zoospore. Hierbei vergrößert sich derselbe, wird birnenförmig, und im Plasma eingelagerte grobe Körper von Reservestanz werden sichtbar. Diese Körper verändern ihre Lage in der Zelle. Das Rhizoid wird im Pollenkorn sichtbar.

Vergr. 158fach, Aufn.-Freq. 2 B/min

14. Erste Phase des Heranwachsens des Thallus. Seine Gestalt wird birnenförmig, und es wird Reservesubstanz eingelagert.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 1 B/min

15. Der gleiche Vorgang an einem anderen Objekt. Deutlich ist hier das dickere Rhizoid im Pollenkorn zu sehen.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 1 B/min

16. Anschließend teilen sich die verschieden großen Körper der Reservesubstanz wieder auf, und es erfolgt an der Basis des Thallus die Abgliederung des Restkörpers. Ihm sitzt der Zoosporen bildende Teil des Sporangiums kalottenförmig auf. Die Reifung der Zoosporen erfolgt nach Aufteilen des Plasmas in Portionen, die anfänglich radiär angeordnet sind. Anschließend Individualisierung der Sporen und Ausschwärmen derselben nach ihrer Reife. Zurück bleibt der Restkörper, aus dem sich ein neuer Thallus mit einem neuen Restkörper bildet. Dieser Vorgang wird „Proliferation“ genannt.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 8 B/min

17. Ausschwärmen der Zoosporen in Normalfrequenz. Bei der Entlassung der Zoosporen bläht sich die Wand des Sporangium auf und die Sporen folgen ihr an der Peripherie. Dann verquillt die Wand, und die Sporen schwärmen, gleich beweglich, aus. Zurück bleibt der Restkörper mit der unteren, verdickten Wand des Sporangium. Diese sitzt ihm wie eine ringförmige kleine Schüssel auf.

Einstellungen 13 bis 17 im Interferenzkontrast nach NOMARSKI aufgenommen.

Vergr. 86,5fach, 24 B/s

Proliferation aus dem Restkörper

24 B/s und 2 B/min

18. Entlassung der Sporen an einem anderen Objekt.

Aufn.-Freq. 24 B/s

19. Am gleichen Objekt, zeitgerafft, die Proliferation, bei der aus dem Restkörper unter Ausnutzung des vorhandenen Rhizoid ein neuer Vegetationskörper wird. Dieser sekundäre Vorgang der Besiedlung läuft etwa in der halben Zeit ab wie der primäre. Er kann mehrfach erfolgen; solange bis das Substrat erschöpft ist. Die aus der Proliferation hervorgegangenen Sporangien sind im allgemeinen breiter als hoch.

Einstellungen 18 und 19 im Interferenzkontrast nach NOMARSKI aufgenommen.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 2 B/min

Sporangien mit verdickter Wand Ausschwärmen der Zoosporen

4 B/min und 24 B/s

20. und 21. Unter noch unbekanntem Bedingungen entstehen Zoosporangien mit verdickter Wand. Nach Übertragen in frisches Seewasser schwärmen diese aus, indem sie sich an der Basis öffnen und die Zoosporen dicht gepackt in Haufen heraustreten.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 4 B/min und 24 B/s

22. Freisetzen der Zoosporen. Das Sporangium ist an seiner Basis abgerissen und wird durch die darin befindlichen Sporen durch das Gesichtsfeld bewegt.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 4 B/min

23. Ausschwärmen der Zoosporen eines separat liegenden dickwandigen Sporangium. Wiederum Öffnen des Sporangium an seiner Basis, Heraustreten der Zoosporenmassen und Freisetzen des Restkörpers nach dem Ausschwärmen der Sporen.

Einstellungen 20 bis 23 im Interferenzkontrast nach NOMARSKI aufgenommen.

Vergr. 86,5fach, Aufn.-Freq. 24 B/s

Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] GAERTNER, A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Struktur der Geißeln von *Thraustochytrium* sp. Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh. **9** (1964), 25—30.
- [2] GAERTNER, A.: Ökologische Untersuchungen an einem marinen Pilz aus der Umgebung von Helgoland. Helgoländer wiss. Meeresunters. **15** (1967), 181—192.
- [3] GAERTNER, A.: Die Fluktuationen mariner niederer Pilze in der Deutschen Bucht 1965 und 1966. Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh. Sonderb. **3** (1968), 105—120.
- [4] SPARROW, F. K.: Biological observations on the marine fungi of Woods Hole waters. Biol. Bull. **70** (1936), 236—263.
- [5] SPARROW, F. K.: Aquatic Phycomycetes, second revised edition. Ann Arbor. The University of Michigan Press. 1960.
- [6] GAERTNER, A.: Sporulation bei *Thraustochytriaceae*. Inst. Wiss. Film, Göttingen. (In Vorbereitung.)

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1970 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß. 112 m, 10½ min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1970. Veröffentlichung aus der Botanischen Abteilung des Instituts für Meeresforschung, Bremerhaven, Dr. A. GAERTNER, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE, H. H. HEUNERT.

Inhalt des Films

Der marine Pilz, *Thraustochytrium kinnei* GAERTNER (1967), Familie Thraustochytriaceae, gehört jener Gruppe von Thraustochytrien an, welche aus einem Restkörper proliferieren, d.h. ein neues Sporangium bilden. Er unterscheidet sich von den übrigen Vertretern jener Gruppe, insbesondere von *Thraustochytrium motivum* GOLDSTEIN dadurch, daß die Sporangiumwand beim Entlassen der Zoosporen bis auf einen kleinen Rest verquillt. Der Ablauf der Entwicklung des Pilzes von der Zoospore bis zum schwarmreifen Zoosporangium wird verfolgt einschließlich der Bewegung der zwei Geißeln der Zoosporen, ihres Festsetzens am Substrat und des Einziehens der Geißeln. Außer einem vollständigen Zyklus der Proliferation konnte erstmalig der Keimungsvorgang dickwandiger Zoosporangien ausgelöst werden. Auch diese bilden einen Restkörper aus, welcher beim Schwärmvorgang durch die Öffnungen an der Basis des Sporangium mit den Sporenmassen herausgedrängt wird. Die Bedeutung dieses Enzyklopädiefilms besteht einerseits in der dokumentarischen Erfassung der Abläufe der einzelnen Zyklen, andererseits in seiner Eigenschaft als wirksame Bestimmungshilfe, da die entsprechenden Vorgänge zur Abgrenzung in taxonomischer und systematischer Hinsicht als Bestimmungsmerkmale herangezogen werden.

Summary of the Film

The marine fungus, *Thraustochytrium kinnei* GAERTNER (1967), family Thraustochytriaceae, belongs to the group of the Thraustochytrids, which are able to proliferate from a remaining body, e.g. they are able to form a new sporangium from it. The fungus is determined from the other members of this group especially *Thraustochytrium motivum* GOLDSTEIN by the deliquescence of the wall of the sporangium when zoospore release takes place. The development of the fungus from motile zoospore till to the swarming sporangium is shown inclusive motility of cilia, settling of zoospores at the surface of substrate and the incorporation of the cilia into the body of the zoospore. The full cycle of proliferation is shown as well as the germination of thick walled zoosporangia, found in older cultures. Those sporangia are opening at their base, the spores are getting out in big clusters and become motile outside and inside the sporangium. The remaining body is pressed out, fixed with a thin thread at the rhizoid. The importance of this encyclopaedic film will be found in documentation of the processes of development of the fungus as well as in being a helpful tool in taxonomic and systematic work, because those processes are used to distinguish different species.

Résumé du Film

Le champignon marin *Thraustochytrium kinnei* GAERTNER (1967), famille des Thraustochytriaceae, fait partie de ce groupe de Thraustochytries qui prolifèrent à partir d'un corps restiforme, c'est-à-dire qui reconstituent un nouveau sporange. Il se différencie des autres représentants de ce groupe, en particulier de *Thraustochytrium motivum* GOLDSTEIN, en ce que la paroi du sporange se gonfle, à l'exception d'un petit reste, lors de la libération des zoospores. On peut observer tout le processus du développement du champignon, depuis la zoospore jusqu'à la formation du zoosporange gonflé de zoospores; on voit également les battements dont sont animés les deux flagelles des zoospores, la fixation des zoospores sur le substratum et la perte des flagelles. Outre le cycle complet de la prolifération, il a été possible de dégager, pour la première fois, le phénomène de la germination de zoosporanges à parois épaisses. Ceux-ci constituent de même un corps restiforme qui sera expulsé en même temps que les masses de spores lors de la dispersion des spores, par les ouvertures situées à la base du sporange. L'importance de ce film de l'encyclopédie consiste en ce qu'il a permis de saisir en un film documentaire les processus des différents cycles, d'une part, et, d'autre part, en ce qu'il apporte une contribution appréciable sur le plan de la détermination, puisqu'on se sert des divers phénomènes comme de critères déterminatifs permettant d'établir les délimitations taxonomiques et systématiques.