

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Wissenschaftlicher Film C 1149/1975

**Ungeschlechtliche und geschlechtliche Fortpflanzung
der coccalen Grünalge *Eremosphaera viridis***

Begleitveröffentlichung von

Prof. Dr. L. KIES, Hamburg

Mit 6 Abbildungen

GÖTTINGEN 1976

Ungeschlechtliche und geschlechtliche Fortpflanzung der coccalen Grünalge *Eremosphaera viridis*

L. KIES, Hamburg

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Die überwiegend im Süßwasser lebenden Vertreter der Ordnung Chlorococcales sind einzellige oder koloniebildende, im vegetativen Zustand unbegeißelte und mit einer Zellwand versehene Grünalgen. Sie pflanzen sich ungeschlechtlich durch Zoosporen oder Autosporen fort. Eine geschlechtliche Fortpflanzung ist nur bei wenigen Gattungen bekannt. Wenn sie stattfindet, dann meist als Verschmelzung von Isogameten, seltener als Anisogamie oder Oogamie.

Eremosphaera viridis ist eine in Moorgewässern vorkommende einzellige coccale Grünalge, die sich überwiegend nur ungeschlechtlich fortpflanzt, und zwar durch Bildung von 2 oder 4 Autosporen je Mutterzelle. Es gelingt jedoch, in Kulturen auch die geschlechtliche Fortpflanzung durch Oogamie auszulösen (KIES [2]). Beide Arten der Fortpflanzung werden im Film gezeigt.

Bemerkungen zum Material

Die kugelförmigen Zellen von *Eremosphaera viridis* sind bis zu 200 μm groß und mit bloßem Auge noch sichtbar. Die Alge (Abb. 1) besitzt eine ringsum gleich dicke, feste Zellwand. Besonders auffällig ist der große, kugelförmige Zellkern, der in einer Plasmatasche in Zellmitte aufgehängt ist. Von hier ziehen dünne Plasmastränge durch die große Zellsaftvakuole hindurch zum wandständigen Plasmabelag, der viele mit einem Pyrenoid versehene Chloroplasten beherbergt. Die radial verlaufenden Plasmastränge enthalten ebenfalls Chloroplasten. Die Chloroplasten besitzen je nach den Lichtbedingungen bei der Aufzucht wechselnde Mengen an Pyrenoid- und Stromastärke. Bei teilungsbereiten vegetativen Zellen und Oogonien ist Stärke besonders reichlich vorhanden. Im Cytoplasma fallen weiterhin Öltröpfchen und rhombische Kristalle auf (FORT und KALINA [1], KIES [2], SMITH and BOLD [3]).

Bei der ungeschlechtlichen Fortpflanzung von *Eremosphaera viridis* entstehen überwiegend 2 Autosporen, seltener 4 Autosporen je Mutterzelle,

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

die dann sukzedan gebildet werden. In den Kulturen kommt es daneben auch zur „Häutung“ der *Eremosphaera*-Zellen, d. h. zur Bildung von mehreren ineinandergeschachtelten Zellwänden um eine vegetative Zelle ohne vorhergehende Sporenbildung. Dieser Vorgang wird im Film nicht gezeigt. Die geschlechtliche Fortpflanzung, eine Oogamie, wurde an dem

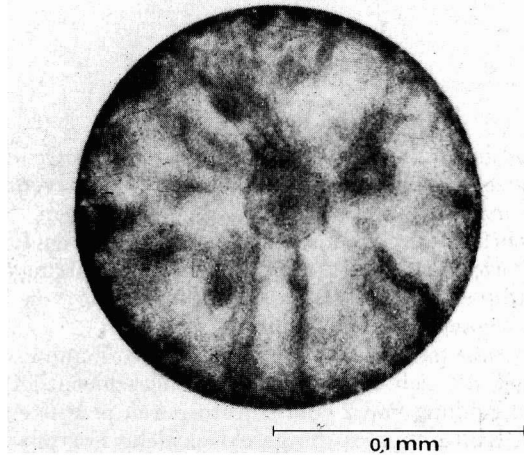


Abb. 1. Vegetative Zelle von *Eremosphaera viridis* im optischen Schnitt. In der Mitte der Zelle der große Zellkern. Von ihm aus ziehen radial verlaufende Plasmastränge durch die Zellsaftvakuole hindurch zum peripheren Plasmabelag, der viele linsenförmige Chloroplasten enthält

vorliegenden Stamm zum ersten Male beobachtet (KIES [2]). *Eremosphaera viridis* ist homothallisch. Vegetative Zellen eines Klones differenzieren sich zu Oogonien oder Spermatogonien. Im Oogonium entsteht nur ein Ei, das Spermatogonium bildet sukzedan 16, 32 oder 64 zweigeißelige, nackte Spermatozoiden aus. Das Ei wird noch innerhalb des Oogoniums befruchtet. Die von einer dicken, kompliziert gebauten Wand umgebene Zygote liegt innerhalb der Wand des Oogoniums. Unbefruchtete Oogonien können sich zu Parthenosporen entwickeln.

Bemerkungen zur Methodik

Die Autosporenbildung wird durch Übertragung von Zellen aus älteren Kulturen in frische Nährlösung ausgelöst. Die Sexualisierung wird erreicht, indem Zellen aus älteren Kulturen zusammen mit dem verbrauchten Nährmedium in flache Uhrgläschen pipettiert und bei erhöhter Lichtintensität und zusätzlich gebotenen CO_2 gehalten werden. Über Einzel-

heiten der Methodik vgl. KIES [2]. Die Differenzierung der Gametangien beginnt 3—4 Tage nach Versuchsbeginn, innerhalb von 5—7 Tagen nach Versuchsbeginn kommt es unter den gewählten Versuchsbedingungen zur Zygotenbildung.

Für die Filmaufnahmen wurden die Algen überwiegend in feuchten Kammern gehalten, für kürzere Einstellungen genügten Deckglaspräparate.

Bemerkungen zum Ablauf der ungeschlechtlichen Fortpflanzung

Die kurz vor der Teilung stehenden Autosporenmutterzellen fallen gegenüber jüngeren vegetativen Zellen durch ihre dunkelgrüne Farbe auf, die durch eine besonders dichte Packung der Chloroplasten hervorgerufen wird. Die Autosporen entstehen sukzedan. Nach der Mitose erfolgt die Zweiteilung des Protoplasten. Es entstehen zwei oder nach einem weiteren Teilungsschritt vier Tochterzellen, die zunächst nackt sind. Sie umgeben sich, wie bei den coccalen Algen üblich, noch innerhalb der Mutterzellwand mit einer eigenen, vollständigen Zellwand. Die Wand der Mutterzelle wird gedehnt, schließlich platzt sie und entläßt die Autosporen (Abb. 2), die zunächst infolge der gegenseitigen Abplattung innerhalb der Mutterzelle eine halbkugelförmige bzw. tetraedrische Gestalt besitzen, sich aber nach dem Freiwerden zur Kugelform abrunden. Die zellulosische Mutterzellwand bleibt in der Nährlösung noch lange erhalten. Sie weist eine deutlich fibrilläre Struktur auf (im Film nicht dargestellt).

Bemerkungen zum Ablauf der geschlechtlichen Fortpflanzung

Die am vorliegenden Material erstmals in Kulturen beobachtete geschlechtliche Fortpflanzung ist eine Oogamie.

Die Oogonien unterscheiden sich von jüngeren vegetativen Zellen morphologisch nur durch ihre dunkelgrüne Farbe; von den ebenfalls dunkelgrünen, teilungsbereiten, vegetativen Zellen unterscheiden sie sich durch die starke Anhäufung von Stärke in den Chloroplasten (Abb. 5).

Vegetative Zellen, die sich zu Spermatogonien entwickeln, fallen frühzeitig durch ihre bräunliche, später rötliche Verfärbung auf. Die Farbänderung ist auf eine Speicherung großer Mengen von Carotinoiden in den fortschreitend degenerierenden Chloroplasten der Spermatozoidinitialen zurückzuführen. Die sekundär entstehenden Carotinoide werden innerhalb der Plastiden in Öltröpfchen abgelagert. Während der Verfärbung des Spermatozoniums kommt es zu mehreren unmittelbar nacheinander ablaufenden sukzedanen Kern- und Zellteilungen. Es entstehen 16, 32 oder 64 nackte Plasmaportionen, die späteren Spermatozoiden (Abb. 3). Diese platten sich gegenseitig ab, so daß bei oberflächlicher Einstellung eine hexagonale Anordnung sichtbar wird. Während der Spermatogenese wandern die in vegetativen Zellen überwiegend peripher

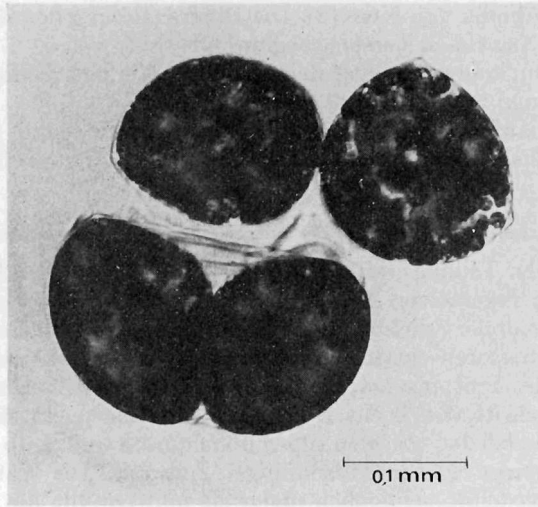


Abb. 2. Freisetzen von 4 Autosporen von *Eremosphaera viridis* aus einer Mutterzelle. Die zunächst tetraedrischen Autosporen runden sich später zur Kugelform ab

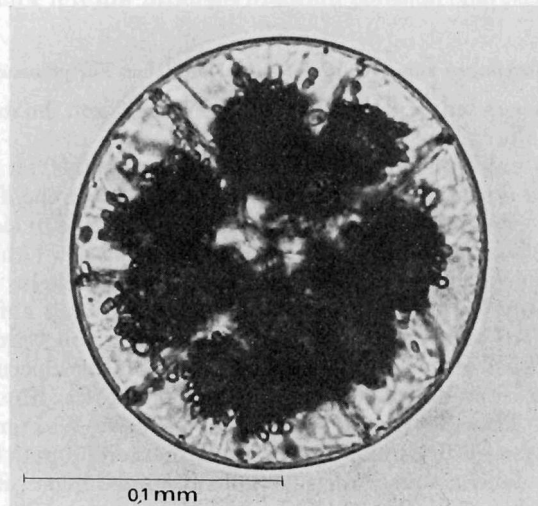


Abb. 3. 16zelliges Entwicklungsstadium eines Spermatogoniums. Die degenerierenden (durch Carotinoide rotbraun verfärbten) Plastiden häufen sich um die Zellkerne der Spermatozoidinitialen an

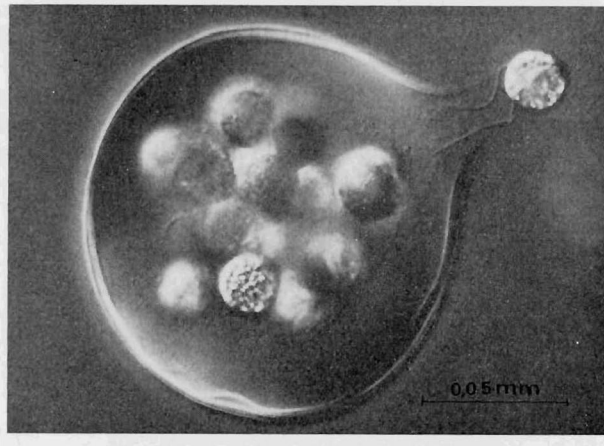


Abb. 4. Freisetzen der Spermatozoiden aus dem Spermatogonium. Eines der nackten, 2-geißeligen Spermatozoiden verläßt gerade das Spermatogonium durch die kurz vorher entstandene Öffnung. Die Spermatozoiden sind zunächst in ausströmendes gallertiges Material eingebettet

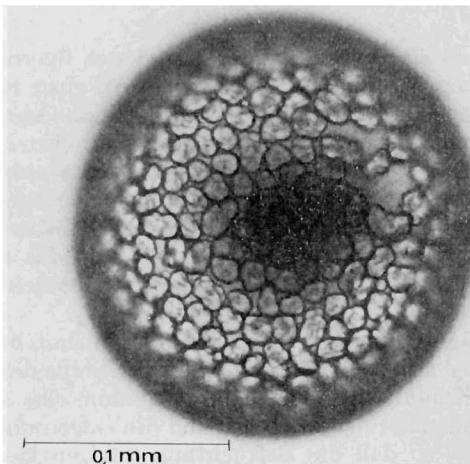


Abb. 5. Reifes Oogonium mit dem noch unbefruchteten Ei, dessen Chloroplasten reichlich Stärke gespeichert haben

gelagerten Plastiden zu den Kernen hin, bis diese schließlich von degenerierten Plastiden völlig umgeben sind (Abb. 3). — Kurz nachdem die Plastiden wiederum in Peristrophe gewandert sind, kommt es zur Verkleinerung und Abrundung der nackten Plasmaportionen, bedingt durch die Tätigkeit neu auftretender pulsierender Vakuolen. Schließlich werden je Spermatozoid zwei gleichlange Geißeln ausgebildet, die fertigen Sper-

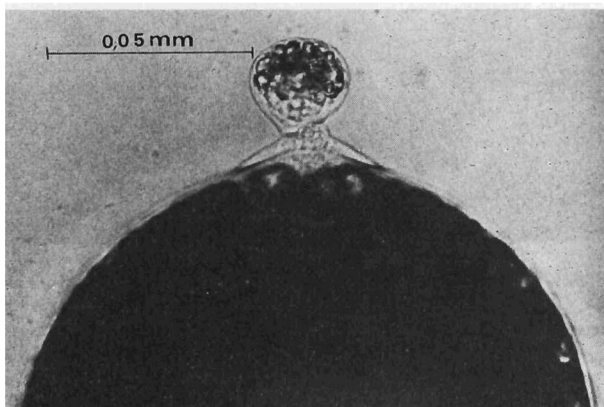


Abb. 6. Ein Spermatozoid hat sich an einem Oogonium festgeheftet. Das Oogonium antwortet mit der Ausbildung einer Empfängnispapille an der Kontaktstelle

matozoiden beginnen sich innerhalb der Wand des Spermatogoniums mit zunehmender Geschwindigkeit zu bewegen. An einer nicht vorhersehbaren Stelle baucht die Wand des Spermatogoniums aus, es entsteht eine Öffnung, durch welche die Spermatozoiden einzeln austreten (Abb. 4). Obwohl die Geißeln der Spermatozoiden schon stark beweglich sind, erfolgt die Freisetzung der männlichen Gameten weitgehend passiv. Die Spermatozoiden sind zunächst in gallertigem bis feinkörnigem Material eingebettet, das kontinuierlich aus der Öffnung des Spermatogoniums strömt. Erst außerhalb des Spermatogoniums schwimmen sie sich frei.

Die sich relativ träge bewegenden Spermatozoiden umschwimmen ein Oogonium und setzen sich schließlich an beliebiger Stelle der Oogoniumwand fest. An der Kontaktstelle bildet das Oogonium eine Vorwölbung, die als Empfängnispapille fungiert. Die Wand des Oogoniums quillt und wird lokal aufgelöst, so daß die Befruchtung erfolgen kann (Abb. 6). Der Übertritt des männlichen Kernes kann im Film leider nicht gezeigt werden. Nach der Befruchtung bemerkt man in der jungen Zygote viele pulsierende Vakuolen, durch deren Tätigkeit sich das Volumen der

Zygote verringert. Sie liegt schließlich frei innerhalb der Wand des Oogoniums. Die Wand der reifen Zygote ist mehrschichtig und von komplizierter Struktur. Sie schützt den lebenden Protoplasten vor der Austrocknung. Die Zygotenkeimung wurde bisher noch nicht beobachtet.

Erläuterungen zum Film¹

Zeitraffung 1 : 2 bis 1 : 16000

Normale Geschwindigkeit

1. Übersichtsaufnahme mehrerer vegetativer Zellen von *Eremosphaera viridis*, sowie leerer Zellhüllen.

Bildfeldbreite 1300 μm , Aufn.-Freq. 12 B/h

Eremosphaera viridis ist eine einzellige, bis zu 200 μm große, coccale Grünalge, die in sauren Gewässern vorkommt.

2. Einzelzelle.

Bildfeldbreite 310 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s

Von dem großen, zentral gelegenen Zellkern ziehen dünne Plasmafäden durch die Zellsaftvakuole hindurch zum wandständigen Plasmabelag. Dieser enthält viele linsenförmige Chloroplasten in einschichtiger Lage. Die kugelförmige Zelle besitzt eine relativ dicke, glatte Zellwand.

3. Chloroplasten einer vegetativen Zelle.

Bildfeldbreite 100 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/min

Jeder Chloroplast besitzt ein Pyrenoid mit einer hohlkugelförmigen Stärkehülle. Junge, vegetative Zellen haben nur kleine Schollen von Stromastärke in den Chloroplasten. Am linken Bildrand ist ein Chloroplast in Teilung zu sehen.

4. Bildung und Freisetzung von zwei Autosporen aus einer Mutterzelle.

Bildfeldbreite 600 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/min

Eremosphaera pflanzt sich ungeschlechtlich durch Autosporen fort. Jede Mutterzelle bildet 2 oder 4 Tochterzellen, die sich jeweils mit einer neuen Zellwand umgeben. Die Mutterzelle platzt und entläßt die Autosporen.

5. Freisetzung von vier Autosporen aus einer Mutterzelle und deren Abrundung.

Bildfeldbreite 600 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/s, 4 B/min und 30 B/h

Diese Zelle enthält vier sukzedan entstandene Autosporen. Sie sind zunächst tetraederförmig.

Nach dem Freiwerden runden sie sich ab und wachsen zur normalen Zellgröße heran.

¹ Die klingedruckten Abschnitte geben den Wortlaut des im Film gesprochenen Kommentars wieder. — Die *Kursiv*-Überschrift entspricht dem Zwischentitel im Film.

6. Junges Spermatogonium.

Bildfeldbreite 210 μm ; Aufn.-Freq. 30 B/h

Eremosphaera pflanzt sich geschlechtlich durch Oogamie fort.

6a. Sukzedane Kern- und Zellteilungen in einem Spermatogonium.

Bildfeldbreite 310 μm ; Aufn.-Freq. 30 B/h

In den Spermatogonien entstehen sukzedan bis zu 64 nackte Plasmaportionen, die späteren Spermatozoiden. Während der Spermatogenese degenerieren die Chloroplasten. In ihnen sammeln sich carotinoidhaltige Öltröpfchen an.

7. Naheinstellung eines Spermatogoniums, pulsierende Vakuolen, beginnende Abrundung der Spermatozoiden.

Bildfeldbreite 150 μm ; Aufn.-Freq. 30 B/min

Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man den hexagonalen Umriß der aneinandergedrückten Plasmaportionen, die sich durch die Tätigkeit pulsierender Vakuolen verkleinern und abrunden.

8. Verkleinerung und Beweglichwerden der Spermatozoiden.

Bildfeldbreite 150 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

Jedes Spermatozoid besitzt zwei gleichlange Geißeln, pulsierende Vakuolen, einen deutlich granulierten Zellkern und mehrere degenerierte Chloroplasten.

9. Zunehmende Beweglichkeit der Spermatozoiden im Spermatogonium.

Bildfeldbreite 390 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/min

In der letzten Phase der Abrundung nimmt die Beweglichkeit der Spermatozoiden stark zu.

10. Freisetzen der Spermatozoiden.

Bildfeldbreite 270 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s

Das Freisetzen der Spermatozoiden erfolgt nach lokaler Verquellung der Wand des Spermatogoniums. Die Spermatozoiden treten einzeln durch den entstandenen Porus nach außen. Beim Austritt sind die beiden gleichlangen Geißeln gut zu erkennen.

11. Reifes Oogonium.

Bildfeldbreite 390 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s

Die Oogonien, in denen je ein Ei entsteht, unterscheiden sich von vegetativen Zellen durch ihre dunkelgrüne Farbe. Die dicht gepackten parietalen Chloroplasten enthalten reichlich Stärke.

12. Naheinstellung der Chloroplasten eines Oogoniums.

Bildfeldbreite 80 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

Jeder Chloroplast des Oogoniums besitzt neben einer dicken Stärkehülle des Pyrenoides viele große Schollen von Stromastärke.

13. Spermatozoiden umschwärmen ein Oogonium.

Bildfeldbreite 1860 μm ; Aufn.-Freq. 30 B/h

Die Spermatozoiden bewegen sich unter Drehung um ihre Längsachse relativ langsam vorwärts auf die Oogonien zu, die sie zunächst umschwimmen und vorübergehend berühren.

14. Anheftung eines Spermatozoides am Oogonium, Ausbildung einer Empfängnispapille durch das Oogonium.

Bildfeldbreite 600 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s und 15 B/min

Mit seinem plastidenfreien Vorderpol setzt sich ein Spermatozoid — zuweilen auch mehrere — an der Wand des Oogoniums an und führt danach kreisende, immer langsamer werdende Bewegungen aus. Unter dem Einfluß des Spermatozoides quillt die Oogoniumwand an der Anheftungsstelle auf.

Das Ei bildet eine Vorwölbung, die als Empfängnispapille bezeichnet wird. Der Eikern wandert von der Zellmitte in die Nähe dieser Papille.

15. Naheinstellung der Empfängnispapille mit ansitzendem Spermatozoid.

Bildfeldbreite 160 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/h

Hier die Empfängnispapille bei stärkerer Vergrößerung. Sie enthält plastidenfreies Cytoplasma in lebhafter Bewegung.

16. Einstellung unmittelbar vor der Plasmogamie.

Bildfeldbreite 150 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

An der Kontaktstelle zwischen Oogonium und Spermatozoid ist eine Öffnung in der Oogoniumwand entstanden. Nun kann die Befruchtung erfolgen.

17. Kontraktion der jungen Zygote.

Bildfeldbreite 390 μm ; Aufn.-Freq. 3 B/min

Nach erfolgter Verschmelzung des Spermatozoides mit dem Ei kontrahiert sich die junge Zygote. Sie hebt sich dabei allmählich von der Wand des Oogoniums ab.

18. Tätigkeit pulsierender Vakuolen während der Kontraktion.

Bildfeldbreite 100 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s

Die Volumenverringering wird bewirkt durch die Tätigkeit pulsierender Vakuolen, die im Bild selbst nicht sichtbar sind. Bei ihrem Platzen werden die Chloroplasten ruckartig zur Seite gedrängt.

19. Reifende Zygote innerhalb der Wand des Oogoniums.

Bildfeldbreite 390 μm ; Aufn.-Freq. 30 B/h

Die Zygote reift innerhalb der Wand des Oogoniums heran. Oft sind an der Empfängnispapille anhaftende Reste von Chloroplasten und Lipoidtröpfchen des Spermatozoides zu sehen.

20. Reife Zygote mit geschrumpftem Protoplasten (Standaufnahme).

Bildfeldbreite 260 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s

Reife Zygoten, deren Inhalt geschrumpft ist, lassen eine dicke Zygotenwand erkennen. Diese ist mehrschichtig. Ihre Mittelschicht weist eine charakteristisch genoppte Struktur auf.

Literatur

- [1] FOTT, B. und T. KALINA: Über die Gattung *Eremosphaera* De Bary und deren taxonomische Gliederung. *Preslia* **34** (1962), 348—358.
- [2] KIES, L.: Oogamie bei *Eremosphaera viridis* De Bary. *Flora Abt. B*, **157** (1967), 1—12.
- [3] SMITH, R. L., and H. C. BOLD: Investigations of the algal genera *Eremosphaera* and *Oocystis*. *Phycological Studies VI*. The University of Texas Publication, Publication No. 6612 (1966), 121 pp.

Angaben zum Film

Der Film wurde 1975 veröffentlicht und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt. Tonfilm, 16 mm, schwarzweiß, 80 m, 7 ½ min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden in den Jahren 1969 bis 1973. Veröffentlichung aus dem Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg, Prof. Dr. L. KIES, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE; Aufnahme und Schnitt: C. LUDWIG.

Inhalt des Films

Der Film dokumentiert die Autosporenbildung und den Ablauf der Oogamie bei der einzelligen coccalen Grünalge *Eremosphaera viridis*. Gezeigt werden: die Entstehung und Freisetzung von Autosporen (2 oder 4 je Mutterzelle), die sukzedane Bildung von Spermatozoiden in den Spermatogonien (16, 32 oder 64 Stück je Spermatogonium), deren Freisetzung, ihre Anheftung am Oogonium (in jedem Oogonium entsteht nur ein Ei), die Ausbildung einer Empfängnispapille durch das Oogonium und die Zygotenbildung.

Summary of the Film

The film shows autospore formation and oogamy in the unicellular chlorococcalean alga *Eremosphaera viridis*: the development and release of autospores (2 or 4 per mother cell), the successive formation of spermatozooids (16, 32 or 64 per spermatogonium), their release and adhesion to the oogonium (the oogonium develops one egg only), the formation of a fertilization papilla through the oogonium and zygote formation.

Résumé du Film

Le film montre la formation d'autospores et le déroulement de l'oogamie chez l'algue verte coccale unicellulaire *Eremosphaera viridis*. On peut voir: la formation et la libération d'autospores (2 ou 4 par cellule), suivie de la formation des spermatozoides dans les spermatogonies (16, 32 ou 64 par spermatogonie), leur libération, leur adhésion à l'oogone (il ne se forme qu'un œuf dans chaque oogone), la formation par l'oogone d'une papille de fécondation et la formation du zygote.