

ISSN 0073-8417

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

BIOLOGIE

SERIE 13 · NUMMER 31 · 1980

FILM C 1298

Entwicklung von Acetabularia (Dasycladales)



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch od. engl.), 16 mm, farbig, 169 m, 15 1/2 min (24 B/s). Hergestellt 1977/78, veröffentlicht 1978.

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, W. STEIN; Schnitt: Dr. h. c. H.-H. HEUNERT, B. MILTHALER.

Zitierform:

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.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Dr. H.-U. KOOP, MCD-Biology, Campus Box 347, University of Colorado, Boulder Colorado 80309 USA.

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. (0551) 21034

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

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

Film C 1298

Entwicklung von *Acetabularia* (Dasycladales)

Verfasser der Publikation: HANS-ULRICH KOOP

Mit 1 Tabelle und 8 Abbildungen

Inhalt des Films:

Entwicklung von *Acetabularia* (Dasycladales). Nach der Vorstellung voll entwickelter Zellen werden die Cystenbildung in den Kammern des Hutes und die Entstehung der Gameten in den frei gewordenen Cysten demonstriert. Über die Entlassung der Gameten und die Bildung der Zygoten kommt es zur Entstehung der jungen Keimlinge. Ihr Heranwachsen zur voll entwickelten Zelle beginnt mit der Differenzierung in einen apikalen und einen basalen Zellpol. An der Basis bildet sich ein Rhizoid, am Apex kommt es zur Verlängerung des zylindrischen Zellkörpers (Stiel) und in regelmäßigen Abständen zur Bildung von Wirbeln verzweigter Haare. Am Ende der Entwicklung steht die Bildung des typischen Hutes.

Im Zellkern der einkernigen Riesenzelle vollziehen sich tiefgreifende Veränderungen im Verlaufe der Entwicklung. Der Kern nimmt an Größe zu. In seinem Inneren wächst der zunächst kleine Nukleolus stark heran und teilt sich in einzelne Portionen auf. Deutliche Vakuolentätigkeit kennzeichnet den Nukleolus als dynamische Struktur. Vor der Teilung des Zellkernes werden Kern- und Nukleolarvolumen reduziert. Es entsteht eine riesige intranukleäre Teilungsspindel, die sich in der Telophase in die Länge streckt.

An den Spindelpolen gliedern sich kleine Tochterkerne ab. Die Teilungen dieser „Sekundärkerne“ und ihre Wanderung durch den Stiel in die Hutkammern führt zur Bildung der Cysten, worauf weitere Kernteilungen einsetzen. Erneute Teilungsaktivität wird während der Gametenbildung beobachtet.

Der Film zeigt erstmals den lebenden Riesenkern und seine Teilung *in situ*. Er gibt damit neue Impulse für die Forschung an *Acetabularia*.

Summary of the Film:

Development of *Acetabularia* (Dasycladales). The film starts with the demonstration of completely developed vegetative cells. Thereafter, the formation of cysts in the chambers of the cap and gametogenesis inside the cysts are shown. The release of gametes is followed by the formation of zygotes and germlings. A rhizoid forms at the basal pole of the germling. The cylindrical stalk grows and produces whirls of ramified hairs at the apical pole. Vegetative

growth is completed by the formation of a typical reproductive cap. A number of significant changes occur in the nucleus during the development of the uninucleate giant cell. The nuclear volume increases. The initially small nucleolus increases as well and splits up into several nucleolar units. It is characterized as a very active structure by the great number of nucleolar vacuoles, which are permanently formed.

Nuclear and nucleolar volumes are reduced again, when the nucleus prepares for division. A huge intranuclear spindle is formed, which elongates at telophase. Small daughter-nuclei appear at the poles of the elongated spindle. The division of these „secondary“ nuclei and their migration through the stalk into the chambers of the cap lead to the formation of cysts. More nuclear divisions are found after cyst formation and during gametogenesis.

The film shows for the first time the living giant nucleus and its division *in situ*. Thus, new possibilities for the research on *Acetabularia* are demonstrated.

Résumé du Film:

Développement de l'*Acetabularia* (Dasycladales). Le film montre tout d'abord des cellules complètement développées, mais étant encore au stade végétatif. Ensuite sont montrées la formation des cystes dans les loges du chapeau reproducteur et celle des gamètes dans les cystes isolés. A la libération des gamètes font suite la formation des zygotes et des jeunes plantules. Leur croissance commence avec le développement d'un pôle apical et d'un pôle basal et se poursuit avec la formation des rhizoïdes, à la base de l'algue, et d'un siphon cylindrique portant plusieurs verticilles stériles sériés dans sa région apicale. La phase végétative se termine par la formation d'un chapeau reproducteur typique.

Au cours du développement de l'*Acetabularia*, le noyau unique situé dans les rhizoïdes, subit des transformations profondes. La taille du noyau augmente. Le petit nucléole s'accroît considérablement et se transforme en plusieurs amas, révélant sa structure dynamique par la présence de vacuoles. Lorsque le noyau primaire se prépare pour la division, sa taille et celle du nucléole diminuent. A ce moment se forme un énorme fuseau intranucléaire, qui s'allonge à la télophase. Aux pôles du fuseau apparaissent deux petits noyaux secondaires, issus du grand noyau primaire. Les noyaux secondaires continuent à se diviser et migrent dans les loges du chapeau, où a lieu la formation des cystes. De nouvelles divisions nucléaires ont lieu après la formation des cystes et aux cours de la gametogenèse.

Le film montre, pour la première fois, le gigantesque noyau vivant et sa division *in situ*. Il contribue ainsi à promouvoir les recherches sur l'*Acetabularia*.

Allgemeine Vorbemerkungen

a) *Acetabularia* als Forschungsobjekt

Die marine Grünalge *Acetabularia mediterranea* und andere Arten aus der Ordnung der Dasycladales (Chlorophyceae, Chlorophyta) wird bereits seit mehr als hundert Jahren wissenschaftlich untersucht. Umfangreiche Analysen ihrer Entwicklung stammen von WORONINE [26] und von DE BARY und STRASBURGER [4]. Daß Acetabularien heute zu den klassischen Untersuchungsobjekten auf den Gebieten der Entwicklungsbiologie, Molekularbiologie und Zellbiologie gehören, geht vor allem auf das Werk JOACHIM HÄMMERLINGS zurück. Er entdeckte, daß diese mehrere Zentimeter großen Organismen nicht nur einzellig waren, sondern auch nur einen einzigen Zellkern aufwiesen (HÄMMERLING [6], [7]). In der Folge entwickelte HÄMMERLING die Techniken der Kernamputation, der Kerntransplantation und der

Kernimplantation, Techniken, denen wir grundsätzliche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Kern-Cytoplasma-Interaktion verdanken (HÄMMERLING [8], SCHWEIGER [22]). Über die heutige Forschung an *Acetabularia* wird u. a. auf regelmäßig stattfindenden internationalen Symposien vorgetragen. Schwerpunkte sind die Realisation der genetischen Information von Zellkern und Organellen, die Wechselwirkungen zwischen Zellkern und Zytoplasma allgemein, elektrophysiologische Eigenschaften von *Acetabularia*, ihre vielfältigen einer circadianen Rhythmik folgenden Aktivitäten, morphologische und biochemische Charakterisierung von Prozessen der Morphogenese.

Die als Buch veröffentlichten Ergebnisse der Symposien über *Acetabularia* mögen als Informationsquelle zu diesen Fragestellungen dienen (BRACHET und BONOTTO [3], BONOTTO et al. [1], [2], WOODCOCK [25]).

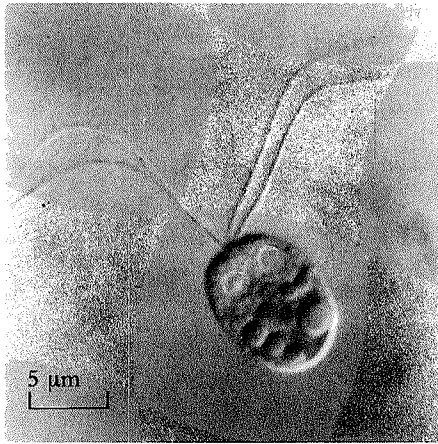


Abb. 1. Zellen von *Acetabularia mediterranea*, auf Steinen wachsend

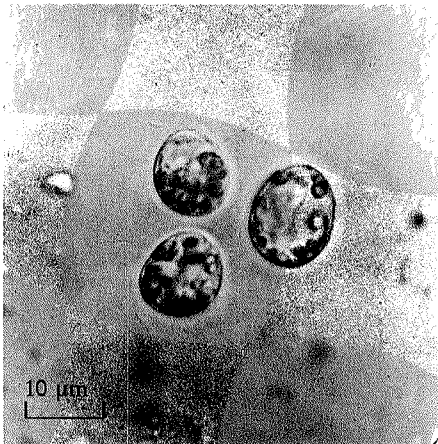
b) Der Entwicklungsgang

Der Entwicklungsgang von *Acetabularia* wurde zum ersten Mal umfassend von SCHULZE [21] untersucht. In den letzten Jahren kam dann eine Reihe von neuen Untersuchungen hinzu, die es erforderlich machten, einige von SCHULZES Vorstellungen zu revidieren (GREEN [5], SPRING et al. [23], [24], KOOP [10], [12], [13], KOOP et al. [17], [18], [20]). Die heutigen Vorstellungen über den Entwicklungsgang – eine Zusammenfassung findet sich bei KOOP [14] – treffen neue Aussagen zur Entstehung der generativen Kerne („Sekundärkerne“) aus dem vegetativen Kern („Primärkern“) und zur Lage der Meiose. Die Arbeiten am vorliegenden Film hatten wesentlichen Anteil an der Entwicklung unserer heutigen Vorstellungen.

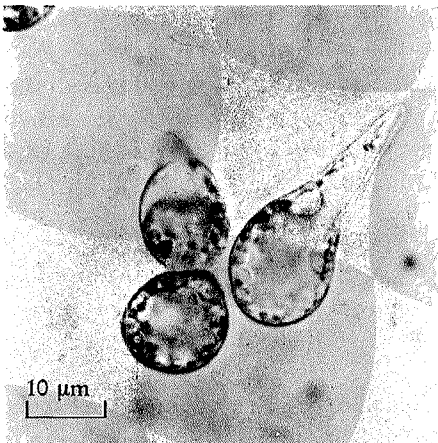
Die meist auf Steinen oder anderem Substrat flacher tropischer oder subtropischer Küstengewässer wachsenden Algen (Abb. 1) (zur Kultur im Laboratorium siehe



a



b

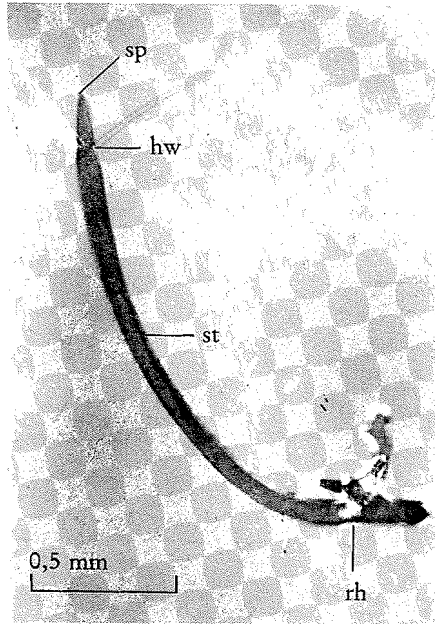


c

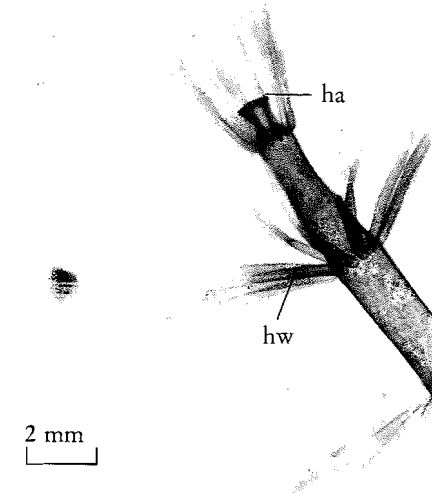
Abb. 2. Zygote und Zygotenkeimung bei *Acetabularia mediterranea*

(2a): Das Kopulationsprodukt zweier Iso-gameten trägt 4 Geißeln. Die unterhalb der Geißeln liegenden Kerne sind noch nicht miteinander verschmolzen

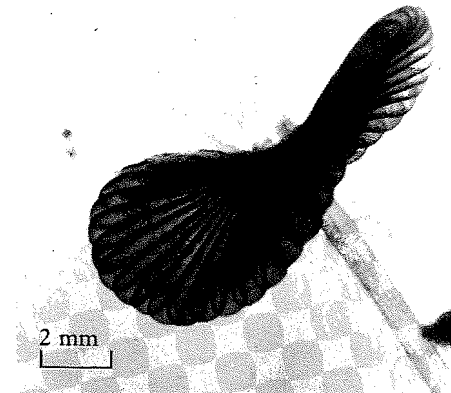
(2b, 2c): Auskeimung einer Gruppe von 3 Zygoten. Die Zygoten haben ihre Geißeln verloren, sich abgerundet und festgesetzt (2b). Die Keimung beginnt ohne Ruhepause (2c)



a



b



c

Abb. 3. Heranwachsen der vegetativen Zelle von *Acetabularia mediterranea*

(3a): Etwa 2-3 Wochen alter Keimling. Eine Differenzierung in Stiel (st) Spitze (sp) mit Haarwirtel (hw) und Rhizoid (rh) ist bereits deutlich erkennbar

(3b): Apikaler Abschnitt einer etwa 3 Monate alten Zelle mit mehreren Haarwirteln (hw) und einer Hutanlage (ha)

(3c): Apikaler Abschnitt einer etwa 4 Monate alten Zelle mit voll entwickeltem Hut

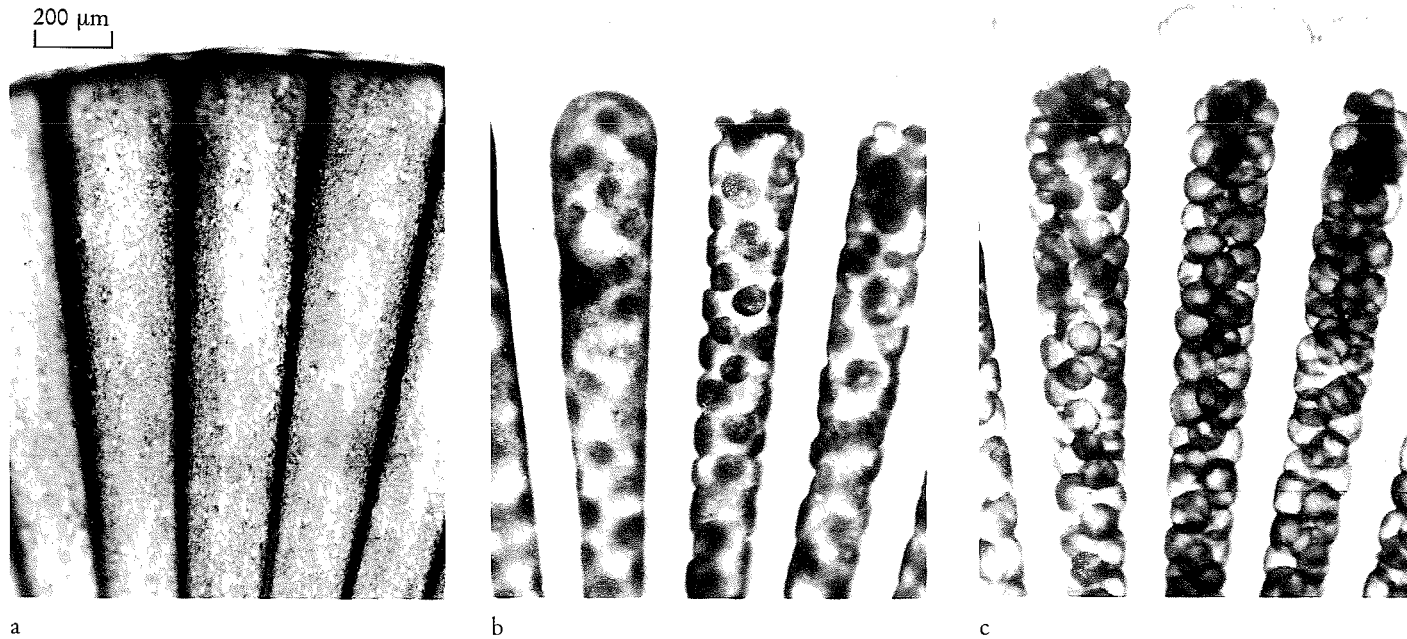
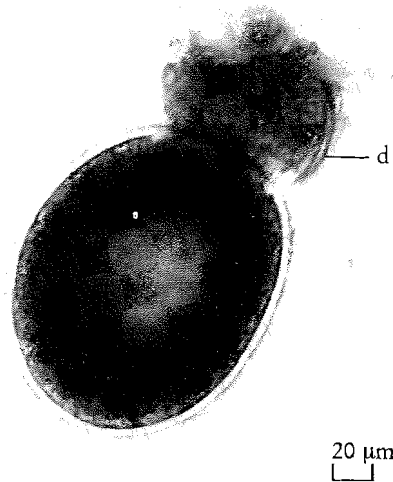


Abb. 4. Cystenbildung in den Hutkammern von *Acetabularia mediterranea*

(4a): Die Sekundärkerne sind als weiße Flecke in den Hutkammern erkennbar

(4b): Die Abgrenzung von Plasmaportionen um jeden Kern herum beginnt

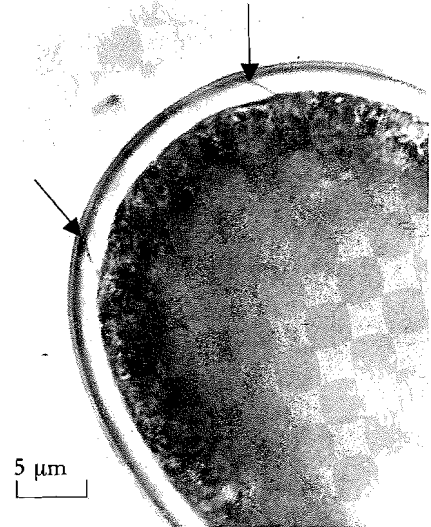
(4c): Die Abgrenzung der Cystenportionen ist erfolgt



a



b



c

Abb. 5. Gametenbildung in Cysten von *Acetabularia mediterranea*

(5a): In der Wand einer jungen Cyste ist die Öffnungsstelle des Deckels bereits erkennbar

(5b): In der Cyste sind die einzelnen Plasmaportionen der entstehenden Gameten zu erkennen

(5c): Die Entlassung der Gameten erfolgt nach Absprengen des präformierten Deckels (d) der Cyste

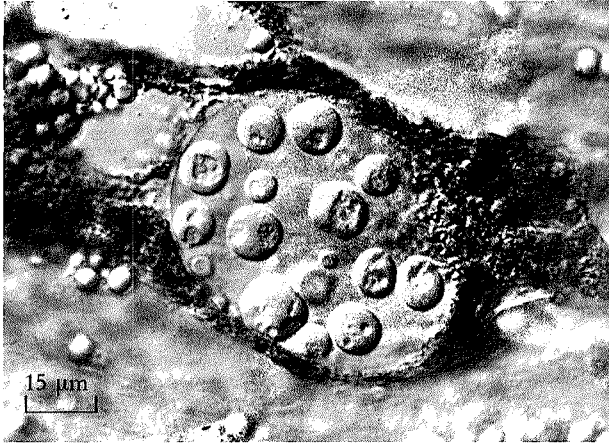
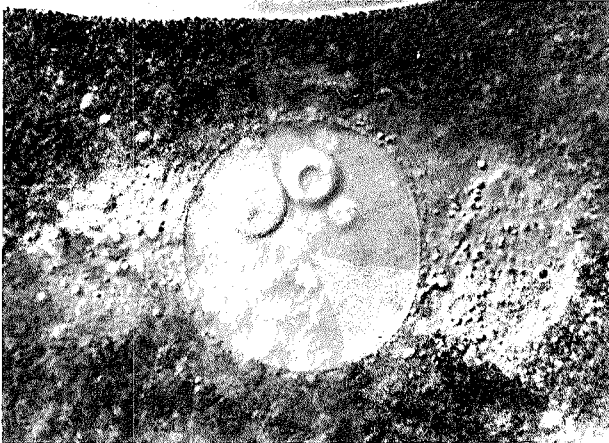


Abb. 6. Primärkernteilung bei *Acetabularia cliftonii*

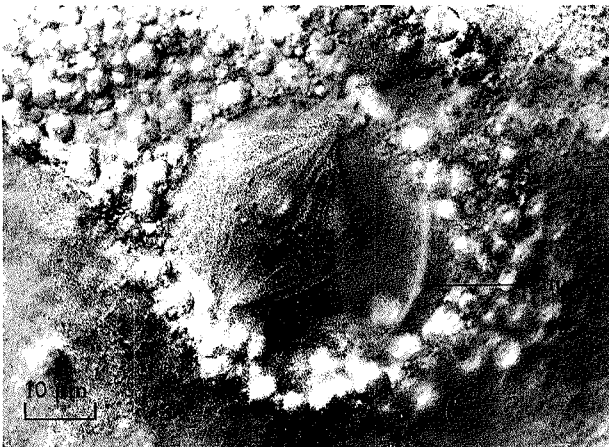
(6a): Voll entwickelter Primärkern mit vielen Nukleolen

a



(6b): Derselbe Primärkern wie in Abb. 6a kurz vor seiner Teilung. Die Nukleolen sind bis auf einige wenige eingeschmolzen

b



(6c): Teilungsspindel in einem Primärkern von *Acetabularia cliftonii*. In der Spindelmitte sind kondensierte Chromosomen erkennbar. Der persistierende Nukleolus (nu) ist der Kernhülle flach angelagert

c



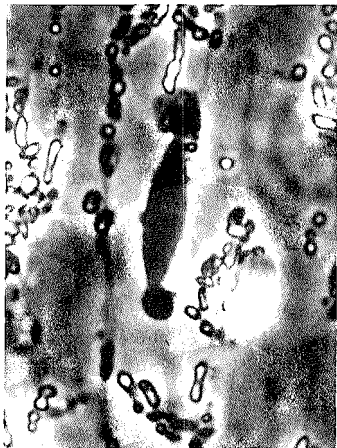
a



b



c



d

Abb. 7. Sekundärkernmitose im unteren Abschnitt des Stieles von *Acetabularia cliftonii*

(7a): Interphase-Kern

(7b): Kern mit zur Metaphase-Platte angeordneten Chromosomen

(7c): Die Chromosomen befinden sich in Anaphasebewegung

(7d): In der späten Telophase befinden sich die Tochterkerne an den Polen der verlängerten Teilungsspindel

HÄMMERLING [8]) entstehen aus dem Kopulationsprodukt zweier Isogameten (Abb. 2 a). Die Zygoten verlieren ihre Geißeln, runden sich ab (Abb. 2 b), setzen sich fest und keimen ohne Ruhepause aus (Abb. 2 c). Es entsteht eine zylindrische Zelle, welche an ihrem basalen Ende ein Rhizoid, an ihrem apikalen Ende eine Folge von Haarwirteln ausbildet (Abb. 3 a). Wenn die Zelle größer wird, werden an der Spitze neue Haarwirtel angelegt, während die älteren vergehen und abfallen.

Hat die Zelle ihre maximale Länge erreicht, so wird statt neuer Haarwirtel ein „Hut“ angelegt (Abb. 3 b). Der Hut (Abb. 3 c) ist stets gekammert. In den Kammern des Hutes werden Cysten gebildet (Abb. 4). Diese fungieren nach einer Reifungs- und Ruheperiode als Gametangien (Abb. 5).

Die während des Entwicklungsganges der Zelle zu beobachtenden karyologischen Veränderungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Der zunächst nur etwa 5 µm große Zygotenkern erreicht in der voll entwickelten vegetativen Zelle einen Durchmesser von mehr als 150 µm (Abb. 6 a). Die Aufnahme zeigt einen Primärkern von *Acetabularia cliftonii*, bei der der Nukleolus in einzelne Portionen aufgeteilt ist, während er bei *Acetabularia mediterranea* eine „wurstförmige“ Struktur aufweist.

Tabelle 1: Entwicklung von *Acetabularia*

Organismus	Zellkern
Zygotenbildung	Karyogamie
Keimling vegetative Zelle	a) Primärkernwachstum von 5 µm auf 150 µm Durchmesser b) Ausbildung eines Nukleolus, Anwachsen der Nukleolarmasse
Hutbildung	c) Lampenbürstenchromosomen
Zelle mit ausgewachsenem Hut	a) Reduktion der Größe des Primärkerns auf 40 µm Durchmesser b) Reduktion der Nukleolarmasse bis auf einen persistierenden Nukleolus c) Kondensation der Chromosomen d) Ausbildung einer intranukleären Spindel e) vermutlich meiotische Teilung des Primärkerns es entstehen zunächst 2 Sekundärkerne f) Sekundärkernmitosen im basalen Abschnitt der Zelle; es entstehen bis zu 15 000 Sekundärkerne g) Sekundärkern-Migration durch den Stiel in die Hutkammern
Cystenbildung	Anwachsen der 5 µm großen Sekundärkerne zum 25 µm großen „weiße Fleck“-Kern
Cystenreifung	Sekundärkernmitosen in den Cysten; es entstehen bis zu 400 Kerne pro Cyste
Cystenruhe	keine Mitosen
Gametenbildung	erneute Sekundärkernmitosen; es entstehen bis zu 2000 Kerne und Gameten pro Cyste

Wenn der Hut seine maximale Größe erreicht hat, wird die Teilung des Primärkernes vorbereitet. Die Nukleolarmasse verringert sich, und auch die Größe des Kernes wird geringer (Abb. 6 b). Schließlich liegt ein noch etwa 40 μm großer Kern mit noch einem Nukleolus vor. Im Inneren dieses Kernes wird eine Spindel gebildet (Abb. 6 c), welche nach ihrer Verlängerung in der Telophase eine Länge von über 120 μm erreicht und damit zu den größten Spindeln überhaupt gehört. Die Teilung des Primärkernes ist vermutlich meiotischer Natur. Hierfür spricht nicht nur die Anzahl der in der Anaphase dieser Teilung erkennbaren Chromosomen, sondern neben dem Vorkommen von Lampenbürstenchromosomen (SPRING et al. [23]) im Primärkern auch der haploide DNA-Gehalt aller Sekundärkerne (KOOP [10]) und eine Reihe von genetischen Befunden (KOOP [14]). An den Polen der verlängerten Teilungsspindel (vergl. Abb. 7 d) entstehen zwei Tochterkerne, die ersten „Sekundärkerne“.

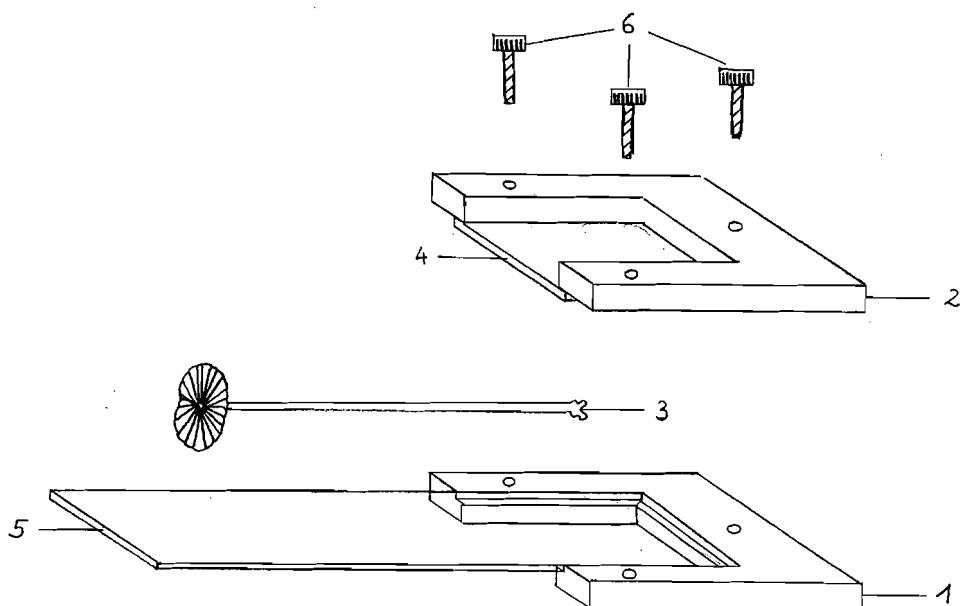


Abb. 8. „Quetschkammer“ zur Lebendbeobachtung des Primärkernes von Acetabularien. Die Kammer besteht aus 2 U-förmigen PVC-Stücken (1, 2) mit je drei Bohrungen. Der untere Kammerteil (1) nimmt in eine passende Einfräsung einen Objektträger (5) auf, der obere Kammerteil (2) trägt ein Deckglas (4). Die Zelle (3) wird mit Hilfe der beiden Kammerhälften zwischen Objektträger und Deckglas eingepreßt. Der erforderliche Druck entsteht durch Anziehen dreier Schrauben (6). Die Bohrungen im unteren Kammerteil (1) sind hierzu mit einem Gewinde versehen.

Eine Aufeinanderfolge vieler Mitosen dieser Sekundärkerne führt zu ca. 15 000 Sekundärkernen, welche durch den Stiel in die Hutkammern einwandern. Hier kommt es nach der Cystenbildung zu erneuten Mitosen. Die Cyste wird vielkernig. Nach einer Ruhepause – die Cyste ist zumindest bei *Acetabularia mediterranea* als

Überdauerungsform anzusehen – läßt sich die Gametenbildung induzieren (vergl. KOOP [11]). 2–3 weitere Mitosen pro Cystenkerneln führen dann schließlich zu einer Zahl von etwa 2000 Gameten pro Cyste. Mit der Entlassung der Gameten aus der Cyste schließt sich der Entwicklungsvorgang.

Zur Entstehung des Films

Das Objekt *Acetabularia* nimmt im Hochschulunterricht breiten Raum ein. Daher bestand beim IWF schon lange der Wunsch, einen Film über diese Alge herzustellen. Die Arbeit an diesem Film wurde wesentlich bereichert durch die Entwicklung eines Verfahrens, mit dem es erstmals möglich war, den Primärkern *in situ* über längere Zeit kontinuierlich zu beobachten. Dies wurde möglich mit Hilfe sog. „Quetschkammern“, Abb. 8, welche an anderer Stelle ausführlich beschrieben sind (KOOP et al. [18]). Mit Hilfe dieses Verfahrens wurde die Primärkernteilung im IWF erstmals beobachtet (KOOP et al. [17], [20]). Für die Filmaufnahmen verwendeten wir, da deren Rhizoid in der Regel weniger kompakt ist als das bei *Acetabularia mediterranea*, die Spezies *Acetabularia cliftonii*. Weitere neue Beobachtungen mit Hilfe der Kinematographie betreffen vor allem die Bereiche der circadianen Rhythmik (KOOP et al. [19] und der intrazellulären Bewegungen (HEUNERT [9], KOOP und KIERMAYER [15], [16]).

Stimuliert durch die Arbeit am vorliegenden Film wurden drei von der DFG unterstützte Forschungsfilme über *Acetabularia* projektiert, die bereits weitgehend fertiggestellt sind (KOOP und INST. WISS. FILM [27], KOOP und KIERMAYER und INST. WISS. FILM [28], [29]).

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars¹

Zeitraffung 1:2 bis 1:46000; normale Geschwindigkeit

Die Grünalge *Acetabularia* aus der Ordnung der Dasycladales wächst meist auf Steinen in flachen Küstengewässern tropischer und subtropischer Meere.

Die Verkalkung, die am natürlichen Standort auftritt, bleibt in Kultur aus – die Algen erscheinen rein grün. Acetabularien sind einzellige Organismen.

Mit einem Rhizoid heften sie sich am Substrat fest.

Objektfeldbreite 1,9 cm; Auflicht; Aufn.-Freq. 1 B/s

Der Hut dient der Fortpflanzung. – Bei *Acetabularia mediterranea* hat er die Form eines Schirmchens.

Die für die Filmaufnahme notwendige Halterung des Stieles bildet sich als dunkler Ring ab. In den Hutkammern entstehen mehrere tausend Cysten.

Objektfeldbreite 1,5 cm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 30 B/h

¹ Die *Kursiv*-Texte entsprechen den Zwischentiteln im Film. – Die eingerückten Abschnitte in Kleindruck geben zusätzliche Informationen.

Vor der Cystenbildung erkennt man bei stärkerer Vergrößerung, daß sich die Fortpflanzungskerne als weiße Flecke in regelmäßigen Abständen anordnen.

Objektfeldbreite 965 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 8 B/h

Der Inhalt der Hutkammern beginnt zu strömen. Die Strömung erfaßt zunächst die Zellorganelle und später auch die Kerne. – Bei starker Zeitraffung werden diese Bewegungen sichtbar.

Am Ende der Durchmischungsphase kommt es erneut zu einer regelmäßigen Anordnung der Kerne und schließlich zur Abgrenzung der einzelnen Cystenportionen.

Objektfeldbreite 1,3 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 30 B/h

Die Cysten umgeben sich mit einer festen Wand und werden frei, wenn der Hut zerfällt.

Hellfeld; Aufn.-Freq. 8 B/s

Sie verbleiben in einem längeren Ruhestadium und sind als Überdauerungsformen anzusehen. Da in ihnen später die Gameten gebildet werden, bezeichnet man sie als Gametangien. Eine reversible Kontraktion des Cysteninhalts ist deutliches Zeichen dafür, daß die Bildung der Gameten induziert ist.

Objektfeldbreite 315 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 B/h

Bei stärkerer Vergrößerung sieht man, wie sich Plasmaportionen voneinander abgrenzen. Aus ihnen bilden sich später die Gameten.

Objektfeldbreite 96 µm; Interferenz-Kontrast (Inko); Aufn.-Freq. 2 B/min

Schließlich werden die Gameten entlassen, nachdem sich ein Deckel an der Cyste geöffnet hat.

Objektfeldbreite 315 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 B/h

Die Öffnungsstelle ist bereits in der Wand der jungen Cyste angelegt.

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

Während der letzten Phase der Gametenbildung steigt der Innendruck der Cyste. Der Inhalt quillt nach Absprengen des Deckels heraus.

Objektfeldbreite 295 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 16 B/s

Die Gameten sind zunächst noch miteinander verbunden und unbeweglich. Dann werden sie frei und schwimmen einzeln davon.

Nach etwa 2 Minuten ist die Cyste entleert. Meist bleibt die zentrale Vakuole als Rest zurück.

Objektfeldbreite 295 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 16 B/s

Die Gameten sind Isogameten. Sie sind typische zweigeißlige Schwärmer mit einem rotbraunen Augenfleck.

Objektfeldbreite 51,5 µm; Inko; Aufn.-Freq. 24 B/s

Gameten beiderlei Geschlechts sammeln sich zu dichten Kopulationsknäueln. Sie lösen sich erst aus ihnen, wenn sie paarweise miteinander Kontakt aufgenommen haben.

Objektfeldbreite 750 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 24 B/s

Ein Kopulationspaar hat 4 Geißeln und 2 Augenflecke. Die Kerne liegen unterhalb des Geißelpols dicht nebeneinander. Später verschmelzen sie zum diploiden Zygotenkern.

Objektfeldbreite 49 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 1 B/s

Wenn sich die Zygoten festgesetzt haben, runden sie sich ab, verlieren ihre Geißeln und keimen schließlich aus.

Objektfeldbreite 63 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/h

Frühzeitig differenziert sich die Zelle in einen apikalen und einen basalen Teil.

Objektfeldbreite 245 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/h

An der Zellspitze entstehen feine Haare, an der Basis ein verzweigtes Rhizoid. Im Stiel ist Plasmaströmung zu erkennen.

Objektfeldbreite 1,2 mm; Polarisationslicht; Aufn.-Freq. 8 B/min

Das Plasma bildet einen dünnen, wandständigen Belag. Es strömt in definierten Bahnen gleichzeitig in gegenläufigen Richtungen.

Objektfeldbreite 80,5 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/s

In einem wachsenden Rhizoid ist bei starker Zeitraffung, zusätzlich zur normalen Plasmaströmung, ein Rhythmus zu beobachten, die auf einer vermutlich tagesperiodischen Umkehr der Hauptströmungsrichtung beruht.

Objektfeldbreite 800 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/h

Auch am entgegengesetzten Pol der Zelle verändert sich die Plasmaströmung rhythmisch. Die Zelle wächst apikal. An der Spitze entstehen in regelmäßigen Abständen neue Haarwirtel, während die älteren vergehen.

Das vegetative Wachstum erstreckt sich über mehrere Monate.

Hellfeld; Aufn.-Freq. 10 B/h

Die Zellen von *Acetabularia mediterranea* erreichen die für Einzelzellen ungewöhnliche Länge von etwa 6 cm. Sie sind siphonal organisiert, d. h. der gesamte Zellkörper ist schlauchförmig und nicht durch Zellwände unterteilt. Der zylindrische Stiel trägt bereits mehrere nacheinander entstandene Haarwirtel.

Am Ende des vegetativen Wachstums wird statt neuer Haarwirtel ein Hut angelegt.

Hellfeld; Aufn.-Freq. 12 B/h

Die Hutanlage erscheint als wulstförmige Verdickung der Stielspitze. Der Stiel wächst zunächst noch kurze Zeit weiter; später beschränkt sich das Wachstum nur noch auf den Hut.

Er ist das eigentliche Reproduktionsorgan der Alge. An seiner Gestalt lassen sich die einzelnen Arten unterscheiden.

Während der Hut größer wird, wachsen aus seinem Zentrum dichte Haarbüschel.

Hellfeld; Aufn.-Freq. 2 B/h

Die gesamte vegetative Entwicklung von der Zygote bis zur Alge mit vollausgebildetem Hut ist die Entwicklung einer einzigen Zelle. Noch erstaunlicher ist, daß die einzellige *Acetabularia* auch nur einen einzigen Kern besitzt.

Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/h

Primärkernentwicklung und Kernteilungen

Dieser als Primärkern bezeichnete Zellkern befindet sich immer im Rhizoid. Hier erkennt man ihn als hellen Fleck, der von der Plasmaströmung bewegt wird.

Objektfeldbreite 965 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 8 B/h

In einer Zelle von nur wenigen Millimeter Länge hat der Primärkern einen Durchmesser von 15 Mikrometer; er enthält einen Nukleolus, der im Phasenkontrast dunkel erscheint.

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

Der Nukleolus gliedert sich in mehrere Einheiten auf. – Diese erscheinen als äußerst dynamische Strukturen. In ihrem Inneren bilden sich viele Vakuolen, die sich in den Kernraum entleeren.

Kern und Nukleoli nehmen weiter an Größe zu und erreichen ihr Maximum, wenn die Zelle mit der Hutbildung begonnen hat. – Die 6 cm große Riesenzelle enthält dann einen ...

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

... Riesenkern, der bis 150 Mikrometer im Durchmesser erreicht.

Schließlich bereitet sich die Teilung des Kerns vor; die Zahl der Nukleoli ist kleiner geworden.

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

Im Interferenzkontrast sind diese Vorgänge besonders deutlich zu beobachten. Die Verringerung der Zahl der Nukleoli beginnt, wenn der Hut seine maximale Größe erreicht hat.

Dann wird auch der Kern kleiner. Die Reduktion seines Volumens erstreckt sich über mehrere Tage.

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

Die Zahl der Nukleoli nimmt weiter ab. Dabei entstehen extrem große Vakuolen.

Der Kern stößt beträchtliche Mengen an Substanzen aus und rundet sich ab. In der Regel bleibt ein einziger Nukleolus erhalten.

Nun bildet sich innerhalb der Kernmembran eine Teilungsspindel. Diese intranukleäre Spindel vergrößert sich dadurch, daß sich nacheinander Faserbündel anlagern.

In der beginnenden Telophase streckt sich der Kern in die Länge.

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

Am Ende dieser Aufnahme ist die Anordnung der kondensierten Chromosomen in der Metaphase und ihr Auseinanderweichen in der Anaphase zu erkennen.

Objektfeldbreite 120 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/min

Ein isolierter Kern im Telophasestadium zeigt die entstehenden Tochterkerne an den Spitzen der verlängerten Teilungsspindel.

Vermutlich steht die Teilung des Primärkerns in Zusammenhang mit der Meiose.

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

Die Sekundärkerne, die aus der Primärkernteilung hervorgegangen sind, teilen sich im unteren Abschnitt des Stiels unverzüglich weiter. Die Chromosomen haben sich in der Metaphaseplatte angeordnet und trennen sich jetzt voneinander.

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

Die Teilungsform entspricht der des Primärkerns. – Durch die Zeitraffung erscheint die Plasmaströmung extrem unruhig.

In der Telophase werden die Tochterkerne vom Spindelrest abgerissen.

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

Die Sekundärkerne wandern, nachdem sie sich vielfach geteilt haben, mit der Plasmaströmung im Stiel aufwärts.

Objektfeldbreite 160 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 24 B/s

Dabei fällt auf, daß sie die Chloroplasten überholen.

Objektfeldbreite 65 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 12 B/s

Durch diese gerichtete Bewegung gelangen etwa 15 000 Sekundärkerne in den Hut.

Objektfeldbreite 160 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 12 B/s

Vom Stielende her, rechts im Bild, passieren sie die Corona und verteilen sich gleichmäßig auf die Hutkammern.

In diesen bildet sich – wie bereits am Anfang gezeigt – um jeden Kern herum eine Cyste.

Objektfeldbreite 965 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min und 8 B/h

Die Sekundärkerne beginnen sich in den Cysten zu teilen.

Die Teilungen laufen – wie diese erste Teilung zeigt – nach dem bereits bekannten Muster ab: Es sind intranukleäre Teilungen, bei denen die Tochterkerne nur wenig Kernplasma vom Ausgangskern übernehmen. Auf diese Weise bilden sich mehrere hundert Kerne.

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

Nach einem Ruhestadium setzt während der Gametenbildung neue mitotische Aktivität ein. Die Zahl der Kerne vervielfacht sich; sie sind als helle Zonen zwischen den Chloroplasten sichtbar.

Objektfeldbreite 51,5 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 30 B/h

Wenn die Gametenbildung abgeschlossen ist, sind aus einem einzigen Primärkern über die 15 000 Sekundärkerne bei der Cystenbildung schließlich fast 30 Millionen Gametenkerne entstanden.

Objektfeldbreite 75 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 1 B/min

Mit der Entlassung der Gameten ist der Entwicklungskreislauf, der von der Zygote über die einkernige Riesenzelle und die Cysten zu den Gameten führt, geschlossen.

Objektfeldbreite 295 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 24 B/s

English Version of the Spoken Commentary¹

Zeitraffung 1:2 bis 1:46000; normale Geschwindigkeit

(Time lapse; normal speed)

Acetabularia, a green alga from the order Dasycladales is found growing on rocks in the shallow inshore waters of tropical or subtropical seas.

Calcification, found in the natural environment, does not occur under laboratory culture conditions – the algae appear bright green. *Acetabularia* is a unicellular organism.

The algae are fixed to their substrate by a rhizoid.

Reproduction of the cell is initiated by the development of a cap. In *Acetabularia mediterranea* it has the appearance of a small umbrella.

The cell shown in this shot is fixed by a holding device, which is seen as a dark circle. Several thousand cysts are formed in the chambers of the cap.

At higher magnification reproductive nuclei are visible as white spots, which are arranged regularly, before the cysts are formed.

The onset of cytoplasmic streaming, which after some time includes the nuclei, is demonstrated by time lapse cinematography.

At the end of this phase of mixing, the nuclei are arranged at equidistant positions again, and the portions of the cysts are separated from each other.

Finally, the cysts are surrounded by a wall and when the cap disintegrates, they are liberated.

After a prolonged period of dormancy, gametes are formed inside the cysts. They are therefore to be regarded as gametangia. A reversible contraction of the cysts contents indicates that gamete formation is in progress.

Portions of cytoplasm, representing the future gametes, are visible at higher magnification.

Gametes are released when a lid in the cyst opens.

The lid is already present in the walls of young cysts.

The pressure inside the cyst increases at the end of gamete formation. The contents are forced out, when the lid ruptures.

The gametes are still connected to each other and motionless. Then they separate and start to move actively.

About two minutes later, the cyst is emptied. Normally the central vacuole remains inside.

The isogametes are typical biflagellate swimmers with a red eyespot in one of the chloroplasts.

¹ The passages in *italics* correspond with the subtitles in the film.

The gametes gather in dense copulation aggregates. Here the opposite mating types contact each other and leave the aggregates in pairs.

An early stage of copulation shows 4 flagella and two eyespots. The nuclei near the flagellar pole are in close contact with each other. They will later fuse to form the diploid zygote nucleus.

The zygotes settle down, lose their flagella, form a cell wall, and finally germinate. Soon differentiation into an apical and a basal pole takes place. Tiny hairs grow at the apex, a rhizoid is formed at the base of the cell. Note the cytoplasmic streaming in the stalk.

The thin layer of cytoplasm at the cell wall streams in definite strains, moving in opposite directions simultaneously.

In a growing rhizoid, in addition to this "multistriate" streaming, time lapse cinematography shows a rhythm of streaming which is probably circadian.

Rhythmical changes of streaming are visible at the opposite pole of the cell as well. The growing cell produces new whirls of hairs at regular intervals, while the older ones degenerate.

Vegetative growth continues for several months. Cells of *Acetabularia mediterranea* reach a length of about 6 cm, which is a giant size for a single cell. The alga has a siphonaceous structure, i. e. it does not develop any transverse cell walls.

Several whirls of hairs, which have been formed successively, are already visible on the cylindrical stalk. At the end of vegetative growth, a cap is formed instead of new whirls of hairs.

In the beginning, the very young cap is visible as a small enlargement of the apex. Longitudinal growth of the stalk is maintained for some time; afterwards growth is restricted to the cap only. The cap is the reproductive structure of the cell. Its architecture is species specific. Dense bundles of hairs emerge from the central part of the growing cap.

The total vegetative development from the zygote to the alga with a fully grown cap is the development of a single cell. Even more striking is the fact, that *Acetabularia* is not only unicellular but also uninucleate.

Primärkernentwicklung und Kernteilungen

(Development of the nucleus and nuclear divisions)

The so-called "primary" nucleus is always found in the rhizoid. In this shot it is visible as a white spot, moved passively by cytoplasmic streaming.

In a cell of only a few millimeters length, the nucleus has a diameter of about 15 μm . It contains a nucleolus which appears as a dark structure in phase contrast.

The nucleolus divides into several units. They appear as a very active structure. Many vacuoles are formed inside and emptied into the nuclear lumen.

Nucleus and nucleoli continue to increase and reach their maximum size when the cell starts to form a cap.

The giant cell – about 6 cm in length – then contains a giant nucleus of about 150 μm diameter.

Finally the division of the primary nucleus is initiated. The number of nucleoli decreases.

Interference contrast optics are specially suitable for the following observations. The decrease in the number of nucleoli starts, when the cap has reached its maximum size.

The size of the nucleus then decreases as well. The reduction of the nuclear volume takes several days.

When the reduction of the nucleoli continues, extremely large vacuoles are formed inside.

Considerable quantities of substance are released from the nucleus, which finally takes on a spherical shape generally containing a single nucleolus.

Now a huge spindle is formed inside the nuclear membrane. This intranuclear spindle increases by the apposition of successively formed bundles of fibrils.

At early telophase the nucleus elongates.

This take will demonstrate the arrangement of condensed chromosomes at metaphase and their anaphase movement.

A manually isolated nucleus at telophase shows the daughter-nuclei at the poles of the elongated spindle. Presumably the division of the primary nucleus is connected with meiosis.

The secondary nuclei, produced at the division of the primary nucleus, soon undergo further nuclear divisions in the lower part of the stalk. Chromosomes are arranged on the metaphase plate and now separate.

The type of division is similar to that of the primary nucleus. Cytoplasmic streaming appears to be very vigorous because of the high time lapse frequency.

At telophase the daughter nuclei are torn off the spindle.

The secondary nuclei migrate, after many nuclear divisions, through the stalk in an apical direction.

Note how they overtake the chloroplasts.

By this orientated movement about 15 000 secondary nuclei are transported into the cap.

Coming from the end of the stalk visible at the right hand side the nuclei pass the corona and move into the chambers of the cap.

Here, as shown at the beginning of the film, cyst formation takes place.

The single nucleus of the cyst starts to divide at once, following the typical pattern of intranuclear divisions. Only small amounts of nucleoplasm are transferred to the daughter nuclei. Thus several hundred nuclei are formed in one cyst.

New mitotic activity is initiated after cyst dormancy, during gametogenesis. The number of nuclei, visible as lighter regions between the chloroplasts, increases.

At the end of gametogenesis, the single primary nucleus has given rise to 15 000 secondary nuclei at cyst formation and finally nearly 30 million gamete nuclei.

The release of gametes ends the life cycle of *Acetabularia*, which progresses from the zygote to the giant uninuclear cell, to the multinucleate cysts, and finally to the gametes.

Literatur

- [1] BONOTTO, S., R. CROUTIER, R. KIRCHMANN, and Y. R. MAISIN (eds): Biology and Radiobiology of Anucleate Systems II Plant Cells. New York, London 1972, pp 339-368.
- [2] BONOTTO, S., V. KEFELI, and S. PUISEUX-DAO (eds): Developmental Biology of Acetabularia; Developments in Cell Biology 3. Amsterdam, New York, Oxford 1979, 311 pages.
- [3] BRACHET, J., and S. BONOTTO (eds): Biology of Acetabularia. New York, London 1970, 300 pages.
- [4] DE BARY A., und E. STRASBURGER: *Acetabularia mediterranea*. Bot. Zeitung 35 (1877), 713-759.
- [5] GREEN, B. R.: Evidence for the occurrence of meiosis before cyst formation in *Acetabularia mediterranea*. Phycologia 12 (1973), 233-235.
- [6] HÄMMERLING, J.: Entwicklung und Formbildungsvermögen von *Acetabularia mediterranea*. Biol. Zentralbl. 51 (1931), 633-647.
- [7] HÄMMERLING, J.: Entwicklung und Formbilungsvermögen von *Acetabularia mediterranea* II. Das Formbildungsvermögen kernhaltiger und kernloser Teilstücke. Biol. Zentralbl. 52 (1932), 42-61.
- [8] HÄMMERLING, J.: Nucleo-cytoplasmic interactions in *Acetabularia* and other cells. Ann. Rev. Plant Physiol. 14 (1963), 65-92.
- [9] HEUNERT, H.-H.: Beobachtungen über die Plasmaströmung der Grünalge *Acetabularia*. Protoplasma 93 (1978), 477-479.
- [10] KOOP, H.-U.: Über den Ort der Meiose bei *Acetabularia mediterranea*. Protoplasma 85 (1975), 109-114.
- [11] KOOP, H.-U.: Germination of cysts in *Acetabularia mediterranea*. Protoplasma 84 (1975), 137-146.
- [12] KOOP, H.-U.: Kreuzungsexperimente bei *Acetabularia mediterranea*. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 89 (1976), 499-505.
- [13] 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.
- [14] KOOP, H.-U.: The Life Cycle of *Acetabularia* (Dasycladales, Chlorophyceae): A Compilation of Evidence for Meiosis in the Primary Nucleus. Protoplasma, in press.
- [15] KOOP, H.-U., and O. KIERMAYER: Protoplasmic streaming in the giant unicellular green alga *Acetabularia mediterranea*. I. Formation of intra cellular transport systems in the course of cell differentiation. Protoplasma, 102 (1980), 147-166.

- [16] KOOP, H.-U., and O. KIERMAYER: Protoplasmic Streaming in the Giant Unicellular Green Alga *Acetabularia mediterranea* II. Differential Sensitivity of Movement Systems to Substances Acting of Microfilaments and Microtubuli. *Protoplasma*, 102 (1980), 295–306.
- [17] KOOP, H.-U., H.-H. HEUNERT, and R. SCHMID: Division of the primary nucleus of *Acetabularia*. *Protoplasma* 93 (1977), 131–134.
- [18] 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.
- [19] KOOP, H.-U., R. SCHMID, H.-H. HEUNERT, and B. MILTHALER: Chloroplast Migration: A New Circadian Rhythm in *Acetabularia*. *Protoplasma* 97 (1978), 301–310.
- [20] KOOP, H.-U., R. SCHMID, H.-H. HEUNERT, H. SPRING: Spindle formation and division of the giant primary nucleus of *Acetabularia* (Chlorophyta, Dasycladales). *Differentiation* 14 (1979), 135.
- [21] SCHULZE, K. L.: Cytologische Untersuchungen an *Acetabularia mediterranea* und *Acetabularia wettsteinii*. *Arch. Protistenk.* 92 (1939), 179–225.
- [22] SCHWEIGER, H.-G.: Nucleocytoplasmic interaction in *Acetabularia*. In: *Handbook of genetics* 5 (1976), 451–475.
- [23] 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.
- [24] SPRING, H., D. GRIERSON, V. HEMLEBEN, M. STOHR, G. KROHNE, J. STADLER, and W. W. FRANKE: DNA contents and numbers of nucleoli pre-*r* RNA genes in nuclei of gametes and vegetative cells of *Acetabularia mediterranea*. *Exp. Cell Res* 114 (1978), 203–215.
- [25] WOODCOCK, C. L. F. (ed.): *Progress in Acetabularia research*. New York, S. Francisco, London 1977, 341 pages.
- [26] WORONINE, M.: *Recherches sur les algues marines Acetabularia Lamx. et Espera Dcue*. *Ann. Sci. natur. Ser. 4, Bot.* 16 (1862), 201–214

Filmveröffentlichungen

- [27] KOOP, H.-U., und INST. WISS. FILM: Strukturveränderungen des Primärkerns und Kernteilungen bei *Acetabularia cliftonii*. Film C 1392 des IWF, Göttingen 1980.
- [28] KOOP, H.-U., O. KIERMAYER und INST. WISS. FILM: Stadienspezifische Protoplasmaströmung im Stiel von *Acetabularia mediterranea*. Film C 1384 des IWF, Göttingen 1980.
- [29] KOOP, H.-U., O. KIERMAYER 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. 1–7: Einzelbilder aus dem Film; Abb. 8: H.-U. KOOP.