

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Wissenschaftlicher Film B 1106/1976

**Formbildung des Chloroplasten von
Micrasterias denticulata (Desmidiaceae)**

Mit 1 Abbildung

Begleitveröffentlichung von

Prof. Dr. O. KIERMAYER, Salzburg

GÖTTINGEN 1976

Formbildung des Chloroplasten von *Micrasterias denticulata* (Desmidiaceae)

O. KIERMAYER, Salzburg

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Die Chloroplasten vieler Algen sind durch einen morphologisch überaus komplizierten Bau ausgezeichnet. Insbesondere die Chloroplasten der Desmidiaceen bilden zusammen mit dem Vakuolensystem und besonders strukturierten Pyrenoiden komplizierte Gebilde, die auch für systematische Zwecke als charakteristische, morphologische Merkmale zur Bestimmung einzelner Arten herangezogen werden können (z.B. CARTER [2], [3]). Über den Formbildungsprozeß des Chloroplasten während der Zellentwicklung ist noch nichts Näheres bekannt. Schon frühere Untersuchungen an verschiedenen Desmidiaceen ergaben, daß der Chloroplast offenbar mit feinen Plasmafäden in corticalen Protoplasma verankert ist (z.B. KOPETZKY-RECHTERBERG [15]) und durch diese spezielle Verankerung seine typische Gestalt erhält („Hängemuster“). Zentrifugierungsversuche besonders bei großzelligen Desmidiaceen-Arten (z.B. EIBL [4], [5], ANDREWS [1], KALLIO [6]) ergaben, daß sich der Chloroplast zentrifugal verlagert, mit feinen Plasmafäden, die Plasmaströmung zeigen, aber mit dem corticalen Protoplasma in Verbindung bleibt. Zentrifugal verlagerte Chloroplasten verlagern sich nach einiger Zeit zurück und nehmen wieder ihre normale Lage ein, wobei es scheint, daß hier Plasmafäden von funktioneller Bedeutung für den Rückverlagerungsprozeß sein dürften. Der Chloroplast selbst dürfte sich dabei vollkommen passiv verhalten (EIBL [4], [5]).

Bei ausgedehnten kinematographischen, sowie licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen an wachsenden, sich differenzierenden Zellen von *Micrasterias denticulata* Bréb. konnten charakteristische

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

Formbildungsprozesse an Chloroplasten während des Wachstums der jungen Halbzellen nach der Kern- und Zellteilung beobachtet werden (KIERMAYER [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [17], [18], [19]). Besonders deutliche Bilder in dieser Hinsicht ergaben sich an wachsenden Zellen, die mit Chlor-isopropyl-N-phenylcarbamat vorbehandelt waren ([14], [19]). Auf Grund dieser Beobachtungen schien eine spezielle kinematographische Bearbeitung der Morphogenese des Chloroplasten von besonderem Interesse.

Zur Entstehung des Films

Zellen von *Micrasterias denticulata* Bréb.¹, wurden semisteril in WARIS-Nährlösung (WARIS [16]) gezüchtet und bei einem bestimmten Beleuchtungsrythmus gehalten (genaue Kulturmethode vgl. KIERMAYER [7]). Mittels Mikropipetten wurden frühe Entwicklungsstadien den Kulturgefäßen entnommen und entweder in Nährlösung oder in Lösungen von Chlor-isopropyl-N-phenylcarbamat (CIPC, Fa. Calbiochem) einer Konzentration von 5×10^{-5} mol eingelegt.

Die wachsenden Zellen wurden kinematographisch mit Hilfe einer Zeitraffereinrichtung aufgenommen. Für das normale Zellwachstum im abgeschlossenen mikroskopischen Präparat wurde den Zellen Moordetritus² beigegeben (KIERMAYER [8], [13]).

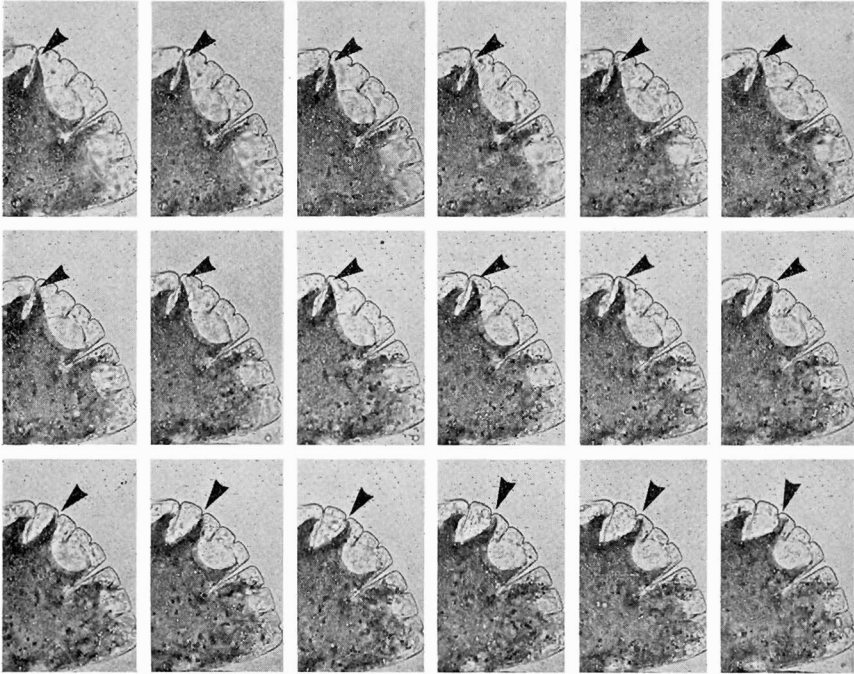
Die Filmaufnahmen wurden mit Zeiss Mikroskopen z.T. unter Verwendung der Zeiss-Interferenzkontrast-Einrichtung hergestellt. Die jeweilige Zeitraffung ist im Abschnitt „Erläuterungen zum Film“ angegeben.

Ergebnis und Diskussion

Zellen von *Micrasterias denticulata* Bréb. zeigen im Zustand des Wachstums deutliche Differenzierungsvorgänge des Chloroplasten. Es wurde versucht, diese in einem Zeitrafferfilm darzustellen. Es zeigte sich, daß noch während des Wachstums der Primärwand eine unförmige Chloroplastenmasse durch den Isthmus von der alten Halbzelle in die neue, wachsende einströmt. Als erster Schritt einer Formdifferenzierung des Chloroplasten erfährt die eingeströmte Chloroplastenmasse in den Lappen der Halbzelle eine Abplattung. Unmittelbar danach werden Chloroplastenzungen (Zipfel) sichtbar, die mit ihren feinen Enden im peripheren Protoplasma verankert erscheinen. Es scheint, daß nur die äußersten feinsten Spitzen der „Zungen“ im corticalen Protoplasma liegen bzw. dort angeheftet werden. Ob die feine Spitze letztlich in einen Plasmafaden übergeht, kann nicht entschieden werden. Ebenso kann über die Art der Anheftung der Chloroplastenspitzen und über die erfolgende „Kontaktfindung“ im corticalen Protoplasma nichts ausgesagt

¹ u. ² Herkunftsort sind Hochmoore in Sauerfeld bei Tamsweg, Salzburg, Österreich.

werden. Wie die Zeitrafferaufnahmen deutlich zeigen, bewegen sich die Chloroplastenzungen entlang der Zellwand im corticalen Protoplasma. Dieser Migrationsprozeß ist auf der Abbildung, die eine Serie von Bildern darstellt, welche in Abständen von je 1 Sekunde aufgenommen wurden, wiedergegeben: Eine Chloroplastenzunge, die mit ihrer Spitze im corti-



Micrasterias denticulata Bréb., Formbildung des Chloroplasten, Aufnahmen einer Zelle, die mit 5×10^{-5} mol Chlor-isopropyl-N-phenylcarbammat behandelt wurde. Aufnahmeintervalle 1 Sekunde. Der Pfeil zeigt jeweils auf die Spitze einer „Chloroplastenzungen“, die sich entlang der Zellwand nach rechts bewegt und bei einem kleinen Lappeneinschnitt verankert wird. Auf den Aufnahmen ist der dislozierte Kern deutlich sichtbar

calen Protoplasma verankert ist (Pfeil), bewegt sich wie ein Zeiger im Uhrzeigersinn und erfährt erst in unmittelbarer Nachbarschaft eines kleinen Lappeneinschnitts einen Stillstand (feste Verankerung). Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen an turgorverminderten Zellen, wo gezeigt wurde, „daß die Fixationszonen mit negativer Plasmolyse nicht nur Orte der prospektiven Lappeneinschnü-

rungen sind, sondern auch als primäre Organisationszentren (Anhaftungs-zonen) bei der Modellierung der Chloroplastenform während der Halb-zellenbildung fungieren“ (KIERMAYER [8]). Es ist anzunehmen, daß sich die Spitzen der Chloroplastenzungen nur an ganz bestimmten präfor-mierten Orten im corticalen Protoplasma fest verankern. Auf diese Weise können Chloroplasten in der Art eines „Hängemusters“ ganz charakter-istische Formen annehmen. Über den Bewegungsmechanismus der Chloro-plastenzunge kann noch nichts weiteres ausgesagt werden. Interessant ist die Tatsache, daß der Formbildungsprozeß des Chloroplasten unab-hängig von der ja gleichzeitig stattfindenden Ausbildung der Primär- und Sekundärwand erfolgt. Das corticale Protoplasma steuert während der Zellentwicklung somit nicht nur die Zellwandbildung (KIERMAYER [7], [8], [12]), sondern auch die Formbildung des Chloroplasten. Im Normalfall reicht der Chloroplast in alle Lappen hinein, fast bis hin zum Plasmalemma. Bei Zellen, die mit Chlor-isopropyl-N-phenylcarbamat (CIPC) behandelt wurden, tritt eine Störung der Chloroplastenverteilung ein, wodurch nur isthmusnahe Bereiche mit Chloroplastensubstanz er-füllt werden, während vor allem der Polarlappen frei bleibt. Die Ur-sachen dafür sind unbekannt. Hervorzuheben ist, daß „Zungenbildung“ Migration und Verankerung des Chloroplasten auch in Gegenwart von CIPC, das einen starken desorganisierenden Effekt auf Mikrotubuli aus-übt [14], vor sich geht, was darauf hindeutet, daß Mikrotubuli für diese Prozesse offenbar keine funktionelle Bedeutung zukommt.

Erläuterungen zum Film¹

Differenzierung im peripheren Protoplasma

2 bis 10 B/min

Kontaktfindung und „Zungenbildung“

Migration, Verankerung

Zellen in Nährlösung

1. Aufnahme eines früheren Teilungsstadiums im Interferenzkontrast. Während des Zellwachstums strömt der Chloroplast als unförmige Masse in die neu sich bildende Halbzelle ein und zeigt dort noch keine weitere Formdifferenzierung; Vakuolenbildung ist sichtbar.

Bildfeldbreite 125 μm ; Aufn.-Freq. 10 B/min; Interferenzkontrast

2. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Hellfeld. Der Chloroplast strömt in die junge Halbzelle als unförmige Masse ein; die Pyrenoide sind deutlich erkennbar. Während das Zellwachstum weitergeht, zeigt die unförmige Chloroplastenmasse in den Lappen allmählich eine Ab-

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

plattung. Unmittelbar danach werden Chloroplastenzipfel sichtbar (Zungenbildung), wobei die feinen Endigungen der Zipfel im peripheren Protoplasma offenbar einen Kontakt finden und dort verankert werden. Deutlich ist eine Wanderung der Chloroplastenzipfel hin zur Zellperipherie erkennbar. Die Zipfelendigungen bewegen sich entlang der Zellwand im corticalen Protoplasma und werden, sobald sie die Stelle eines Lappeneinschnittes erreichen, dort verankert. Langsam füllt sich die gesamte junge Halbzelle mit Chloroplastensubstanz, wobei immer wieder feine Zipfel sichtbar werden, mit denen der Chloroplast im peripheren Protoplasma verankert erscheint.

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

3. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Interferenzkontrast. Formdifferenzierung des Chloroplasten durch „Zungenbildung“ wie bei Aufnahme 2.

In der alten Zellhälfte ist im linken Zellabschnitt eine Hin- und Herbewegung des Chloroplasten zu erkennen.

Bildfeldbreite 100 μm ; Aufn.-Freq. 3 B/min

4. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Interferenzkontrast. Formdifferenzierung des Chloroplasten durch „Zungenbildung“ wie bei Aufnahme 2 und 3. Hervorzuheben ist, daß wie bei dieser Aufnahme ersichtlich, die Abplattung des Chloroplasten mit Kontaktfindung bereits im Zustand der Primärwandbildung erfolgt. Verankerung der Zipfelendigungen an Lappeneinschnitten deutlich erkennbar.

Bildfeldbreite 100 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/min

5. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Hellfeld. Die Abplattung der unförmigen Chloroplastenmasse und die anschließende „Zungenbildung“ ist sichtbar. Besonders deutlich ist bei dieser Aufnahme die Migration der Zipfelendigungen und deren Verankerung an den Stellen der Lappeneinschnürungen erkennbar. Im linken Abschnitt der alten Halbzelle ist ein Hin- und Herbewegen des Chloroplasten zu sehen.

Bildfeldbreite 190 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/min

Zellen in Chlor-isopropyl-N-phenylcarbamat-Lösung (5×10^{-5} mol)

6. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Interferenzkontrast. Der Zellkern liegt, durch den Einfluß des Wirkstoffs disloziert, im Polarlappen. Der Chloroplast zeigt eine deutliche Zungenbildung.

Bildfeldbreite 250 μm ; Aufn.-Freq. 3 B/min

7. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Interferenzkontrast. Kerndislokation und -rotation sind deutlich erkennbar. Der Chloroplast bildet Zungen aus, die im peripheren Protoplasma mit ihren feinen Endigungen verankert erscheinen (z. B. im rechten unteren Seitenlappen).

Der Chloroplast ist nicht in den Polarlappen eingewandert, sondern befindet sich nur in den unteren Seitenlappen der Halbzelle.

Bildfeldbreite 140 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/min

8. Aufnahme eines jüngeren Teilungsstadiums im Hellfeld. Die Halbzelle ist noch im Wachstum begriffen; der zuerst dislozierte und rotierende Zellkern bewegt sich rasch zum Isthmus hin. Der Chloroplast ist nur in den unteren Abschnitt der Halbzelle eingewandert und zeigt dort eine deutliche „Zungenbildung“.

Bildfeldbreite 125 μm ; Aufn.-Freq. 3 B/min

9. Aufnahme eines älteren Teilungsstadiums im Hellfeld. Die Kerndislokation sowie die Ausbildung der Chloroplasten-Zungen ist deutlich sichtbar. Wie bei allen mit CIPC behandelten Zellen erfüllt der Chloroplast nur den unteren Abschnitt der jungen Zellhälfte und wandert nicht in den Polarlappen ein.

Bildfeldbreite 150 μm ; Aufn.-Freq. 6 B/min

Literatur und Filmveröffentlichungen

- [1] ANDREWS, F. W.: Die Wirkung der Zentrifugalkraft auf Pflanzen. Jahrbuch f. wiss. Bot. **56** (1915), 221 u. 251.
- [2] CARTER, N.: Studies on the Chloroplasts of Desmids I—II. Ann. Bot. **XXXIII** (1919), 215 u. 467.
- [3] CARTER, N.: Studies on the Chloroplasts of Desmids III—IV. Ann. Bot. **XXXIV** (1920), 265 u. 303.
- [4] EIBL, K.: Kontraktion der Chromatophoren bei *Micrasterias rotata*. Protoplasma **33** (1939), 73 u. 102.
- [5] EIBL, K.: Die Restitution der Chromatophorenform bei *Micrasterias rotata* nach Schleuderung. Protoplasma **35** (1941), 595—617.
- [6] KALLIO, P.: The significance of nuclear quantity in the genus *Micrasterias*. Ann. Bot. Soc. Zool. Fenn. Vanamo **24** (1951), 1—122.
- [7] KIERMAYER, O.: Untersuchungen über die Morphogenese und Zellwandbildung bei *Micrasterias denticulata* Bréb. Protoplasma **59** (1964), 79—132.
- [8] KIERMAYER, O.: Das Septum – Initialmuster von *Micrasterias denticulata* und seine Bildung. Protoplasma **64** (1967), 481—484.
- [9] KIERMAYER, O.: The Distribution of Microtubules in Differentiating Cells of *Micrasterias denticulata* Bréb. Planta **83** (1968a), 223—236.
- [10] KIERMAYER, O.: Hemmung der Kern- und Chloroplastenmigration durch Colchizin, Naturwiss. **55** (1968b), 299—300.
- [11] KIERMAYER, O.: Microtubuli um den Posttelophase-Kern von *Micrasterias* und ihre mögliche Funktion. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **81** (1968c), 319.

- [12] KIERMAYER, O.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* Bréb. I. Allgemeiner Überblick. *Protoplasma* **69** (1970), 97—132.
- [13] KIERMAYER, O.: Beeinflussung der postmitotischen Kernmigration von *Micrasterias denticulata* Bréb. durch das Herbizid Trifluralin. *Protoplasma* **75** (1972), 421—426.
- [14] KIERMAYER, O. und P. K. HEPLER: Hemmung der Kernmigration bei Jochalgen (*Micrasterias*) durch Isopropyl-N-phenylcarbamate. *Naturwiss.*, **57** (1970), 252.
- [15] KOPETZKY-RECHTBERG, O.: Beobachtungen an Protoplasma und Chloroplasten der Alge *Netrium digitus* (Ehrenberg) bei Kultur und Lichtabschluß. *Protoplasma* **44** (1955), 322.
- [16] WARIS, H.: Cytophysiological studies on *Micrasterias*. I. Nuclear and cell division. *Physiol. Plantarum* **3** (1950), 1—16.
-
- [17] KIERMAYER, O.: *Micrasterias denticulata* (Desmidiaceae) --- Morphogenese. Film E 868 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1965.
- [18] KIERMAYER, O.: Differenzierung und Wachstum von *Micrasterias denticulata* (Conjugatae). Film C 924 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1966.
- [19] KIERMAYER, O.: Störung der Kernmigration von *Micrasterias denticulata* (Desmidiaceae) durch eine die Microtubuli beeinflussende Substanz Chlor-isopropyl-N-phenylcarbamate (CIPC). Film B 1070 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1973.
-

Angaben zum Film

Der Film wurde 1976 aus Forschungsaufnahmen zur Veröffentlichung der Ergebnisse zusammengestellt. Stummfilm, 16 mm, farbig, 64 m, 6 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1972. Veröffentlichung aus dem Institut für Entwicklungsphysiologie der Universität Köln und dem Botanischen Institut der Universität Salzburg, Prof. Dr. O. KIERMAYER, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. GALLE, Aufnahme und Schnitt: C. LUDWIG. Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Inhalt des Films

Der Film zeigt die während der Zellentwicklung von *Micrasterias denticulata* Bréb. vor sich gehende Formdifferenzierung des Chloroplasten. Es wird gezeigt, daß sich eine zuerst unförmige Chloroplastenmasse abplattet und aus ihr zungenförmige Fortsätze (Zipfel) bilden, die einen Kontakt im peripheren Protoplasma finden. Die Chloroplastenzipfel bewegen sich entlang der Zellwand im corticalen Protoplasma und werden schließlich im Bereich von Lappeneinschnürungen verankert. Durch solche Chloroplastenzungen

wird offenbar der Chloroplast an ganz bestimmten Stellen der Zellperipherie verankert und erhält dadurch seine charakteristische Gestalt. Über den Mechanismus der Bewegung und Verankerung der feinen Zipfelendigungen kann noch nichts weiter ausgesagt werden.

Summary of the Film

The film shows the form differentiation of the chloroplast which takes place during the cell development of *Microsterias denticulata* Bréb. It is shown that an initially vagiform chloroplast mass flattens off and from this linguiform projections (peaks) form which find a contact in the peripheral protoplasma. The chloroplast peaks move along the cell wall in the cortical protoplasma and are finally anchored within the area of lobe recesses. Apparently the chloroplast is anchored at specific points of the cell periphery by chloroplast linguae such as these, and receives thereby its characteristic shape. No further statement can be made as yet with regard to the mechanism of movement and anchoring of the fine peak ends.

Résumé du Film

Le film montre la différenciation de forme du chloroplaste qui se déroule lors du développement de la cellule de *Microsterias denticulata*. On voit une masse de chloroplaste, tout d'abord informe, s'aplatir et donner naissance à des prolongements en forme de languettes (lobes) qui trouvent un contact dans le protoplasme périphérique. Les languettes de chloroplaste se meuvent de long de la membrane cellulaire, dans le protoplasme cortical, pour se fixer ensuite dans la région des strictions lobulaires. C'est manifestement grâce à ces languettes que le chloroplaste s'ancre en des points précis de la périphérie de la cellule, ce qui lui confère sa forme caractéristique. On ne peut encore en dire davantage sur le mécanisme de mouvement et d'ancrage des fines extrémités des languettes.