

Phyton (Austria)	Vol. 22	Fasc. 1	115—135	15. 2. 1982
------------------	---------	---------	---------	-------------

Über die Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* Bréb.

I. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Kernmigration nach Behandlung mit Antimikrotubuli-Substanzen

Von

Ursula MEINDL und Oswald KIERMAYER*)

Mit 11 Abbildungen

Eingelangt am 20. März 1981

Key words: Nuclear migration, microtubules, antimicrotubules substances, *Micrasterias*

Summary

MEINDL U. & KIERMAYER O. 1982. Nuclear and chloroplast migration in *Micrasterias denticulata* BRÉB. I. Light and electron microscopic studies on nuclear migration after treatment with antimicrotubules substances. — *Phyton* (Austria) 22 (1): 115—135, with 11 figures (8 plates). — German with English summary.

1. The postmitotic nuclear migration in *Micrasterias denticulata* BRÉB. was disturbed by APM, CIPC or colchicine in the same way.

2. Nuclear migration was not influenced by D₂O; malformations of the cells were observed at concentrations above 30% D₂O.

3. Cells which had been treated with solutions of APM, CIPC or colchicine in the presence of D₂O showed the same effects on nuclear migration as cells treated with APM, CIPC or colchicine in H₂O.

4. Remigration of the nuclei took place only at low concentrations of APM or CIPC; at higher concentrations of these substances no remigration occurred.

5. Transfer of cells pretreated with APM or CIPC into aqua bidest (recovery), D₂O solutions, nutrient-solution or glucose-solutions resulted in an increase of the rate of remigrated nuclei.

6. No temporal or spatial regularity of remigration of the nucleus into the isthmus could be observed; because of the distance-time relations two

*) Anschrift der Verfasser: Dr. U. MEINDL und Prof. Dr. O. KIERMAYER, Botanisches Institut der Universität Salzburg, Lasserstraße 39, A-5020 Salzburg (Austria).

distinct phases of the remigration-process of the nucleus could be distinguished e. g. 1.) an initial "inactive phase" and 2.) a later "active phase".

7. During the remigration process the nucleus moves beneath or above the chloroplast or it forces its way directly through the chloroplast by dissecting the chloroplast substance.

8. Electron microscopic studies of untreated cells showed microtubules within the cortical protoplasm in close proximity to F-vesicles.

9. After treatment of cells with APM beside a few still existing remnants of microtubules, electron microscopically none of the 4 microtubules-systems so far known in *Micrasterias* could be found.

10. The role of the postmitotic microtubules-microfilament-complex for the remigration of the nucleus after treatment with antimicrotubules substances is discussed.

Zusammenfassung

MEINDL U. & KIERMAYER O. 1982. Über die Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. I. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Kernmigration nach Behandlung mit Antimikrotubuli-Substanzen. — Phytion (Austria) 22 (1): 115—135, mit 11 Abbildungen (8 Tafeln). — Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

1. Störungen der postmitotischen Kernmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. traten nach Behandlung junger Teilungsstadien mit APM, CIPC oder Colchicin in gleicher Weise auf.

2. Unter Einwirkung von D₂O verlief die Kernmigration normal; Formstörungen traten nur bei Konzentrationen über 30% auf.

3. Zellen die mit Lösungen von APM, CIPC oder Colchicin in D₂O behandelt wurden, zeigten das gleiche Erscheinungsbild wie nach Behandlung mit APM, CIPC oder Colchicin in H₂O.

4. Kernrückverlagerungen im Behandlungsmedium erfolgten nur bei schwach konzentrierten Lösungen von APM oder CIPC, bei stärkeren Konzentrationen fanden keine Rückverlagerungen statt.

5. Durch Übertragung der mit APM, CIPC oder Colchicin vorbehandelten Zellen in Aqua bidest (recovery), D₂O-Lösungen, Nährlösung oder Glucose-Lösungen, konnte eine Erhöhung der Rate an Kernrückverlagerungen beobachtet werden.

6. Eine Regelmäßigkeit hinsichtlich des zeitlichen oder räumlichen Verlaufes der Kernrückverlagerung in den Isthmus war nicht feststellbar, es ist jedoch eine Unterscheidung in eine 1.) anfängliche „inaktive“ und eine 2.) spätere „aktive Phase“ der Rückbewegung des Kernes aufgrund der Weg-Zeit-Relation möglich.

7. Der Kern kann sich bei seiner Rückverlagerung in den Isthmus einerseits ober- oder unterhalb des Chloroplasten vorbeibewegen, andererseits besitzt er die Möglichkeit eine „Bahn“ durch den Chloroplasten zu „schneiden“.

8. Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen unbehandelter Zellen wurden MT im corticalen Protoplasma in unmittelbarer Umgebung der F-Vesikel gefunden.

9. Nach Behandlung mit APM konnte elektronenmikroskopisch, abge-

sehen von einzelnen noch vorhandenen MT, keines der vier bei *Micrasterias* bekannten MT-Systeme festgestellt werden.

10. Die Rolle des postmitotischen Mikrotubuli-Mikrofilamenten-Komplexes bei der Remigration des Zellkerns nach Behandlung mit Antimikrotubuli-Stoffen wird diskutiert.

1. Einleitung

Cytoskelettfunktionen stehen heute im Mittelpunkt zellbiologischer Forschung. Zur Untersuchung der Beteiligung cytoplasmatischer Mikrotubuli bei der postmitotischen Kern- und Chloroplastenmigration hat sich die Grünalge *Micrasterias* besonders bewährt (KIERMAYER 1970b).

Während der Normalentwicklung von *Micrasterias denticulata* wandert der Zellkern in einem frühen Entwicklungsstadium in die junge Halbzelle ein und bewegt sich gegen Ende der Cytomorphogenese wieder in seine Ausgangsposition, den Isthmus zurück, wo er bis zur nächsten Kernteilung verankert bleibt.

Untersuchungen von KIERMAYER (1968b, 1972, 1973), KIERMAYER & HEPLER (1970), KIERMAYER & FEDTKE (1977), KIERMAYER & MEINDL (1979), MEINDL 1980 sowie MEINDL & KIERMAYER (1981) zeigten, daß unter dem Einfluß von Antimikrotubuli-Stoffen wie Colchicin, Vinblastin, Trifluralin, Chlorisopropyl-N-phenylcarbammat, Isopropyl-N-phenylcarbammat, Amiprophosmethyl, Griseofulvin, Podophyllotoxin, Dacthal, Nocodazol, Colcemid und einigen anderen Substanzen eine Störung der postmitotischen Kernmigration auftritt. Diese und andere Befunde unterstützen die Annahme, daß zumindest zwei der vier von KIERMAYER (1968a) bei *Micrasterias* beschriebenen Mikrotubuli-Systeme an der Bewegung des Posttelophasekernes beteiligt sind. Sowohl für die Einwanderung des Kernes in die junge Halbzelle, als auch für seine Rückbewegung in den Isthmus ist wahrscheinlich ein ihn spindelförmig umgebendes Mikrotubuli-System verantwortlich, das von „intertubulären Strukturen“, bei denen es sich möglicherweise um Mikrofilamente handelt, durchzogen ist (KIERMAYER 1968a). Die Verankerung des Kernes wird vermutlich durch ein ringförmiges Band von Mikrotubuli (MT) im corticalen Protoplasma des Isthmusbereiches bewirkt, das den Kern nach Abschluß seiner Rückwanderung bis zur nächsten Mitose umgibt (KIERMAYER 1970b).

Ziel vorliegender Arbeit ist es, durch Beeinflussung der einzelnen Abschnitte der Kernmigration vor allem durch Antimikrotubuli-Stoffe genauere Einblicke über die Bedeutung von Mikrotubuli bei diesen Bewegungsprozessen zu gewinnen, wobei dem Verhalten im recovery-Versuch besondere Beachtung geschenkt wird (vgl. auch MEINDL 1980).

In orientierenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen werden die behandelten Zellen vor allem auf das Vorhandensein von MT und eventuelle ultrastrukturelle Veränderungen hin untersucht.

2. Material und Methode

Als Untersuchungsobjekt dienten sich differenzierende Zellen der Desmidiaceae *Micrasterias denticulata* BRÉB. Die Algen wurden nach der von KIERMAYER (1964, 1970a) beschriebenen Methode kultiviert und in Schränken bei konstanter Temperatur ($\pm 20^\circ\text{C}$) und konstanter Beleuchtung in einem bestimmten Licht-Dunkel-Rhythmus gehalten (vgl. KIERMAYER 1980).

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung der Zellen wurden jeweils 20 Teilungsstadien (A—E Stadien, vgl. KIERMAYER 1964) in die Vertiefung eines Blockschälchens übertragen und nach Absaugen der Nährlösung mit der gewünschten Substanz behandelt. Nach Abschluß ihrer Entwicklung wurden die Zellen entweder im Lichtmikroskop genauer untersucht, oder wieder in Nährlösung überführt, wo sie unter der Stereolupe täglich auf Veränderungen überprüft wurden.

Bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen zur Kernmigration kamen folgende Stoffe zur Anwendung: Colchicin (Serva), Amiprophosphomethyl (APM; Fa. Bayer), Chlor-isopropyl-N-phenylcarbammat (CIPC; Fa. Calbiochem), Deuteriumoxid (D_2O ; Fa. J. T. Baker) und Glucose, sowie verschiedene Mischungen der angegebenen Substanzen. Dabei wurde Colchicin, D_2O und Glucose in Aqua bidest gelöst; bei APM und CIPC erfolgte die Herstellung der Lösung unter Zugabe von absolutem Äthanol.

Die fotografische Auswertung der Untersuchungen erfolgte mit dem Leitz Lichtmikroskop Ortholux. Für Serienaufnahmen wurde Kamera und Mikroskopbeleuchtung durch einen elektronischen Taktgeber gesteuert. Die Aufnahmen im Interferenzkontrast wurden mit dem Univar der Fa. Reichert durchgeführt.

Die kinematografische Untersuchung behandelter und unbehandelter *Micrasterias*-Zellen erfolgte im „hängenden Tropfen“. Die kinematografischen Aufnahmen wurden mit dem Univar mit angeschlossener Filmkamera (Bolex) und computergesteuerter Zeitraffereinrichtung durchgeführt (vgl. auch MEINDL 1981).

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden junge Teilungsstadien von *Micrasterias denticulata* während ihrer Entwicklung mit verschiedenen Substanzen behandelt und anschließend fixiert und eingebettet. Die Fixierung der Zellen erfolgte nach der von KIERMAYER (1968a) vorgeschlagenen „Kurzzeitfixierung“ 15 Minuten lang mit 1%iger Glutaraldehydlösung. Anschließend wurde mit 2%igem Osmiumtetroxid nachfixiert. Die Entwässerung erfolgte über Äthanol in 10 Stufen, wobei als letzte Stufe eine gesättigte Lösung von Bleiacetat in absolutem Äthanol zur Erhöhung des Kontrastes verwendet wurde. Danach wurden die Zellen drei mal fünf Minuten lang mit 100%igem Propylenoxid behandelt. Sowohl Fixierung als auch Entwässerung der Zellen erfolgte unter Verwendung eines Mikrofiltergerätes (Fixomat der Fa. Balzers; TREIBLMAYER & POHLHAMMER

1974). Das Einbettungsgemisch bestand aus Epon 812 und MNA (Nadic-Methyl-Anhydrid) im Verhältnis 1 : 1 und enthielt DMP (Dimethylphtalat). Die Herstellung der Ultradünnschnitte erfolgte auf dem Ultramikrotom Ultracut der Fa. Reichert mit einem Diamantmesser. Nach der Nachkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat wurden die Schnitte mit dem Elektronenmikroskop AEI-Corinth 500 bei 60 kV untersucht und fotografiert.

3. Ergebnisse

3.1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

3.1.1. Beeinflussung der Kernmigration

3.1.1.1. Vergleichende Untersuchungen der Wirkung von APM, CIPC und Colchicin auf die Kerneinwanderung

Wie aus früheren Untersuchungen bekannt, bewirken die Antimikrotubuli-Stoffe APM, CIPC und Colchicin einen starken Effekt auf die postmitotische Kernmigration von *Micrasterias denticulata*.

Bei der vergleichenden Untersuchung der Wirkung der Stoffe APM ($10^{-3}\%$ — $10^{-6}\%$), CIPC ($2 \times 10^{-3}\%$ — $2 \times 10^{-6}\%$) und Colchicin (0,5%—1%) auf die postmitotische Kernmigration konnte hinsichtlich des vom Kern zurückgelegten Weges, sowie der nach Beendigung der Migration eingenommenen Kernposition kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Sowohl die Behandlung mit unterschiedlicher Konzentration einer Substanz, als auch die Applikation von verschiedenen Substanzen in ihrem wirksamen Konzentrationsbereich können zur gleichen Position des Zellkernes führen, während in einem bestimmten Konzentrationsbereich einer Substanz unterschiedliche Kernpositionen beobachtet werden können. Am häufigsten ist der Zellkern nach Behandlung mit MT-Blockern in einem der beiden inneren oder der äußeren Seitenlappen, etwas seltener im Polarlappen zu finden. In beinahe allen Fällen scheint der Kern in seiner anomalen Position mit dem corticalen Protoplasma eines oder mehrerer Lappeneinschnitte in Verbindung zu stehen.

Neben der Störung der Kernmigration treten bei den drei untersuchten Stoffen auch Veränderungen der Plasmastruktur durch Zerklüftung und Vakuolisierung in allen Konzentrationsbereichen ein.

Hinsichtlich ihrer Wirkung auf Wachstum und Zellformbildung treten bei APM, CIPC und Colchicin Unterschiede auf. Während APM auch in starker Konzentration keine Hemmung des Wachstums bewirkt, kommt es bei Applikation von CIPC ab einer Konzentration von $2 \times 10^{-3}\%$ zu Störungen des Wachstums und der Zellform. Die Anwendung von Colchicin hat sich bei *Micrasterias* als nicht sehr günstig erwiesen, da zur Erreichung einer Wirkung hohe Konzentrationen verwendet werden müssen und dies innerhalb von 24 Stunden zum Zelltod führt.

3.1.1.2. Wirkung von D_2O sowie D_2O in Kombination mit MT-Blocker auf die Kerneinwanderung.

Da Deuteriumoxid als MT-aufbauender bzw. stabilisierender Stoff beschrieben wird (DUSTIN 1978), schien es interessant zu untersuchen, ob sich durch eine Kombination dieser Substanz mit APM, CIPC oder Colchicin die durch die MT-Inhibitoren hervorgerufene Hemmung der Kernmigration unterbinden läßt. Aus diesem Grund wurden zunächst Teilungsstadien von *Micrasterias* einer Behandlung mit D_2O in verschiedenen Konzentrationsstufen ausgesetzt. Wie aus Abb. 1 hervorgeht, führt die D_2O -Behandlung bei Konzentrationen über 30% (Abb. 1 A—D) zu starken Form- und Wachstumsstörungen. Bei Applikation von 30%igem D_2O treten Formstörungen nur noch gelegentlich auf, bei Behandlung mit schwächeren Konzentrationen verlaufen Wachstum und Cytomorphogenese normal (Abb. 1 E, F).

D_2O wurde nun in dem für *Micrasterias* nicht schädigendem Konzentrationsbereich zwischen 5 und 30% mit APM, CIPC oder Colchicin gemischt angewandt. Die MT-Inhibitoren wurden dabei in verschiedenen Konzentrationen innerhalb ihres wirksamen Konzentrationsbereiches verwendet. Das Ergebnis zeigte, daß die derartig behandelten Zellen bezüglich ihrer Hemmung der Kernmigration dasselbe Erscheinungsbild aufwiesen wie Zellen die mit APM, CIPC oder Colchicin ohne D_2O behandelt wurden. Abb. 2 veranschaulicht die Entwicklung einer *Micrasterias*-Zelle unter Einfluß einer Mischung aus $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC und 30%igem D_2O . Bereits in einem frühen Entwicklungsstadium (Abb. 2 C) ist die Abweichung von der normalen Kernmigration in beiden Halbzellen deutlich sichtbar. Nach Abschluß der Cytomorphogenese nach ca. 4 Std. (Abb. 2 L) ist der Kern der unteren Halbzelle dem Chloroplasten angelagert, der der oberen Halbzelle liegt im rechten inneren Seitenlappen und scheint mit dessen Einschnitt in Verbindung zu stehen. Auch nach 15 Stunden (Abb. 2 M) hat sich das Bild nicht wesentlich geändert, die Kerne haben ihre Position in der jungen Halbzelle beibehalten.

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich bei der Mischung der MT-Blocker mit D_2O in allen anderen verwendeten Konzentrationen. Die Zellkerne waren in der Zellperipherie lokalisiert, eine antagonistische Wirkung von D_2O auf die durch MT-Blocker bedingte Störung der postmitotischen Kernmigration konnte nicht festgestellt werden.

3.1.1.3. Reversibilität der Rückwanderungshemmung

Setzt man *Micrasterias*-Zellen einer längeren Einwirkung von APM oder CIPC aus, so tritt vereinzelt eine Rückverlagerung (Remigration) des Zellkernes in den Isthmus auf.

Untersuchungen zur Reversibilität der Rückwanderungshemmung konnten nur nach Behandlung mit APM oder CIPC durchgeführt werden, da Colchicin behandelte Zellen innerhalb von 24 Stunden absterben.

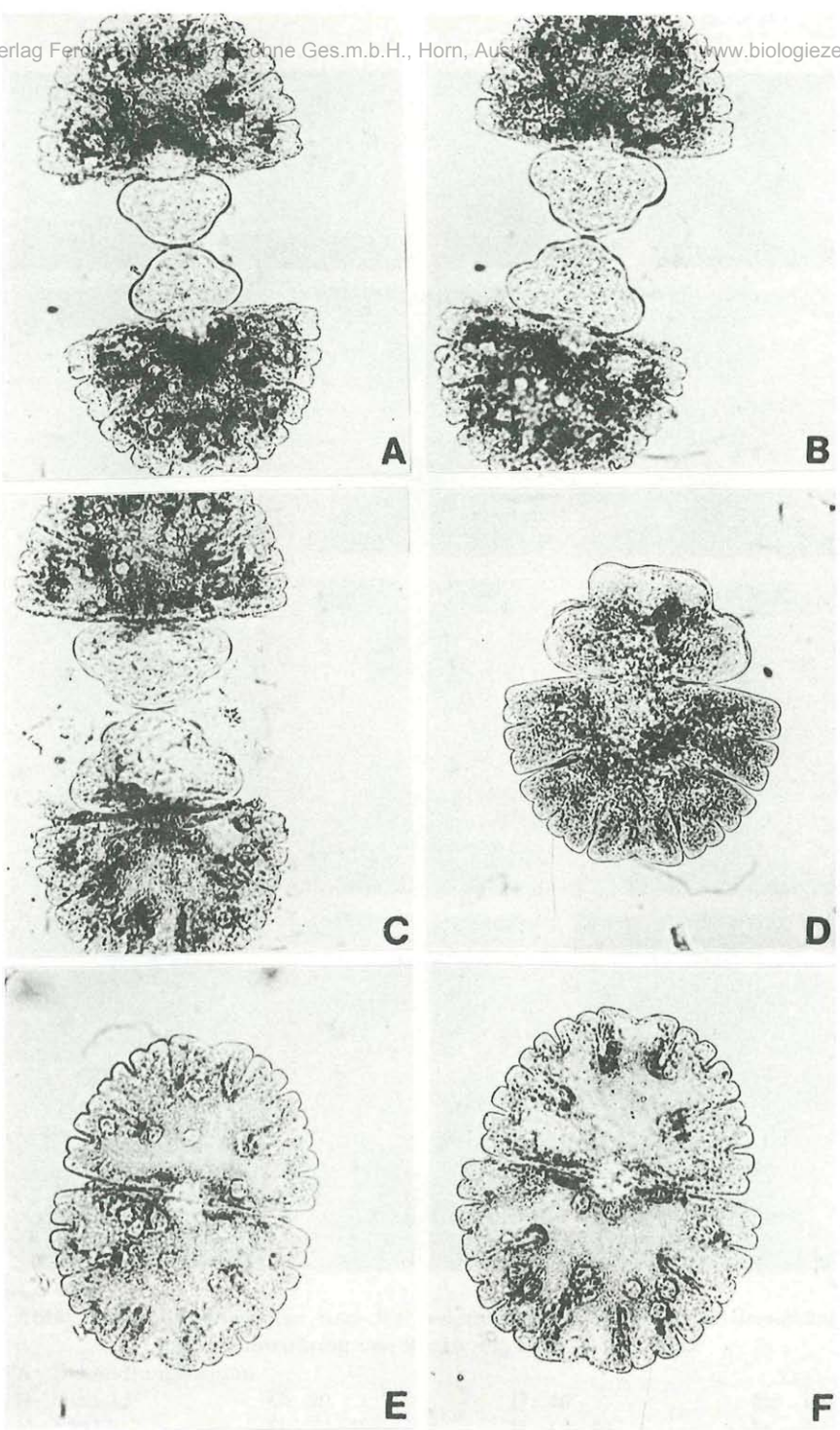


Abb. 1. Wirkung verschiedener Konzentrationen von D₂O auf die Entwicklung von *Micrasterias denticulata*

A: 100% (99,75%), B: 60%, C: 50%, D: 30%, E: 20%, F: 5%

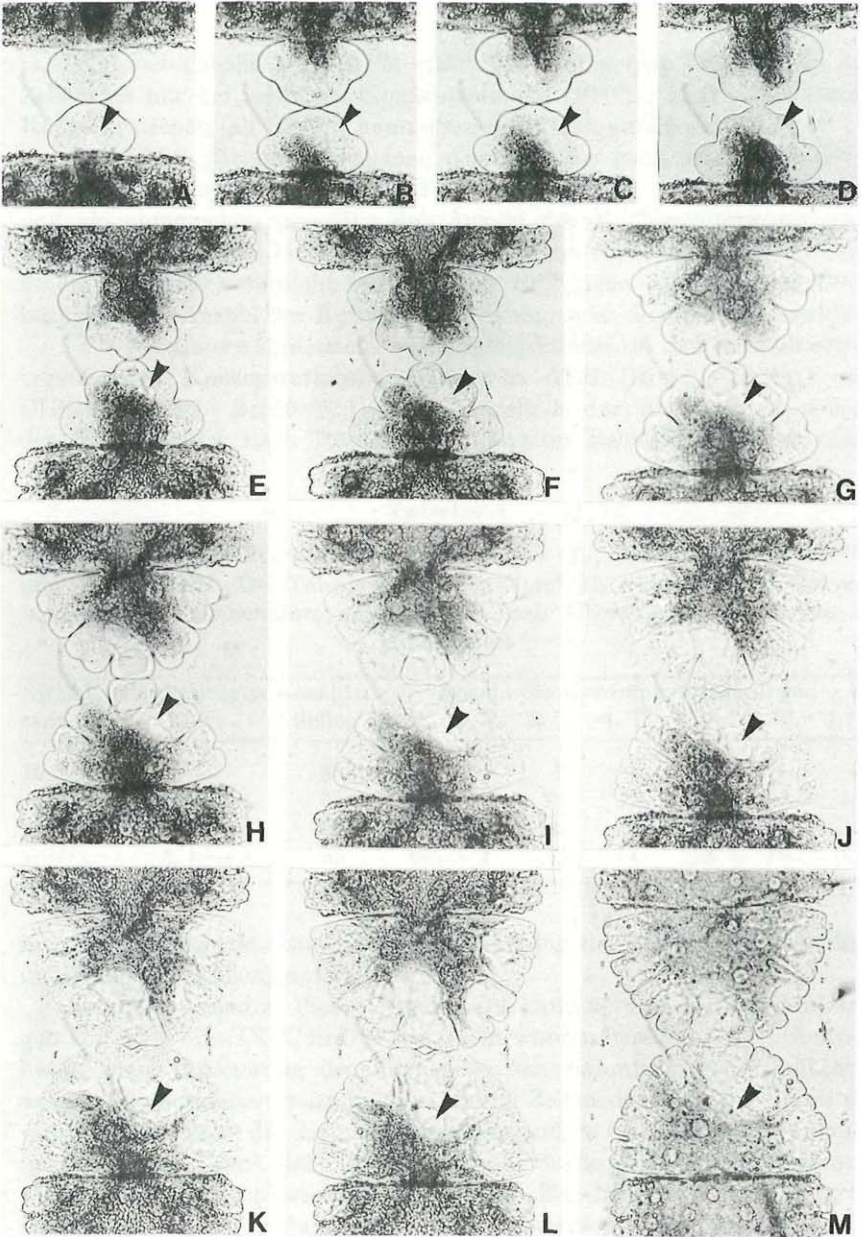


Abb. 2. Cytomorphogenese und Kernmigration von *Micrasterias denticulata* unter Einwirkung von $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC + 30% D₂O

A: Behandlungsbeginn

B: nach 15'

C: 30'

D: 45'

E: 1 h

F: 1 h 15'

G: 1 h 30'

H: 1 h 45'

I: 2 h

J: 2 h 30'

K: 3 h 30'

L: 4 h

M: 15 h

Die Pfeilspitzen weisen auf den Zellkern

Wie aus Tabelle 1 für APM ersichtlich, findet eine Remigration des Zellkernes nur bei niedrigen Konzentrationen ($10^{-6}\%$) statt, bei höheren Konzentrationen (ab $10^{-5}\%$) kann diese nicht festgestellt werden.

Für CIPC gilt im allgemeinen dasselbe: Bei ganz schwachen CIPC Konzentrationen ($2 \times 10^{-6}\%$) sind Rückverlagerungen des Kernes häufiger und sie entsprechen ungefähr der Anzahl der Rückwanderungen nach „recovery“ in Aqua bidest (siehe unten). Erst eine Konzentration von $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC entspricht ungefähr der $10^{-5}\%$ igen APM-Konzentration bezüglich der Anzahl der Kernrückverlagerungen im Behandlungsmedium.

Wie bereits erwähnt, stellen Kernremigrationen in den normalerweise verwendeten Konzentrationsbereichen von APM ($10^{-6}\% - 10^{-3}\%$) und CIPC $2 \times 10^{-5}\% - 2 \times 10^{-3}\%$) jedoch Einzelfälle dar, im allgemeinen liegt der Zellkern auch nach 7tägiger oder längerer Behandlung unverändert

Tabelle 1

Anzahl der Kernrückverlagerungen nach Tagen (T); Behandlung mit $10^{-6}\%$ und $10^{-5}\%$ APM. Die Tabelle gibt einen Vergleich zwischen Kernrückverlagerungen im Behandlungsmedium und nach Übertragung der Zellen in Aqua bidest

APM-Kon- zentration	übertragen in:	Anzahl d. Zellen	Anzahl der Kernrückverlagerungen						
			1. T.	2. T.	3. T.	4. T.	5. T.	6. T.	7. T.
$10^{-6}\%$	—	60	0	0	1	1	3	3	3
$10^{-6}\%$	A. bidest.	60	6	26	33	37	37	40	41
$10^{-5}\%$	—	60	0	0	0	0	0	0	0
$10^{-5}\%$	A. bidest.	60	1	1	6	14	15	18	22

in der Zellperipherie. Eine längere Einwirkung der MT-Inhibitoren führt in den meisten Fällen zum Zelltod.

Im Unterschied zu diesen Ergebnissen kann bei Zellen die mit Lösungen von APM oder CIPC in D_2O behandelt wurden bereits nach 24 Stunden häufig eine Annäherung des Kernes an den Isthmusbereich beobachtet werden. Bemerkenswert ist, daß bei diesen Zellen der Kern oft bis in die unmittelbare Nähe des Isthmus zurückgewandert ist, in diesen aber auch nach mehreren Tagen nicht eindringt. Die Kerne liegen neben dem Isthmus, sie sind von Chloroplastenmasse umgeben. Ein Eindringen von derartig lokalisierten Kernen konnte auch nach längerer Behandlungszeit nicht festgestellt werden.

Das beschriebene Erscheinungsbild der „teilweisen Kernrückverlagerung“ kommt bei CIPC+ D_2O behandelten Zellen zwar häufig vor, es finden jedoch auch normale Rückverlagerungen bis direkt in den Isthmus statt. Auf Abb. 3 ist der Verlauf einer Kernrückverlagerung in einer Lösung von $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC+30% D_2O dargestellt. Wie aus der dazugehörigen

graphischen Darstellung (Abb. 4) ersichtlich, legt der Kern während der ersten 48 Stunden seiner Remigration ca. 10 μm zurück. Für den übrigen ca. 70 μm langen Weg in den Isthmus benötigt er ungefähr die gleiche Zeit. Daraus wird der, bei allen bisher untersuchten Kernrückverlagerungen auftretende, stufenförmige Ablauf dieses Bewegungsprozesses deutlich. Während der ersten „inaktiven“ Phase (1) des Rückverlagerungsprozesses wird nur eine geringe Weglänge in Richtung Isthmus zurückgelegt. Die eigentliche Kernrückverlagerung erfolgt in der zweiten „aktiven“ Phase (2) des Kernes, die in ihrer Dauer ungefähr der ersten entspricht (Abb. 4, 6, 8).

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Anzahl der Kernremigrationen innerhalb von 8 Tagen bei konstanter CIPC Konzentration und verschiedener Konzentrationen von Deuteriumoxid. Die angegebenen Werte beziehen

Tabelle 2

Anzahl der Kernrückverlagerungen nach Tagen bei Behandlung mit Mischungen von CIPC und D_2O in verschiedenen Konzentrationsstufen. Es wurden nur diejenigen Zellen berücksichtigt, deren Kern sich zum Zeitpunkt der Untersuchung vollständig im Isthmus befand

Konzentration		Anzahl d. Zellen	Anzahl der Kernrückverlagerungen							
CIPC	D_2O		1. T.	2. T.	3. T.	4. T.	5. T.	6. T.	7. T.	8. T.
$2 \times 10^{-4}\%$	5%	40	0	0	0	3	4	5	7	7
$2 \times 10^{-4}\%$	10%	40	0	0	2	5	6	10	12	12
$2 \times 10^{-4}\%$	15%	40	0	2	3	6	6	7	10	11
$2 \times 10^{-4}\%$	20%	40	0	1	4	4	4	4	8	9
$2 \times 10^{-4}\%$	30%	40	5	7	9	9	10	10	10	13

sich nur auf Kerne, die sich zur Untersuchungszeit vollständig im Isthmus befanden. Betrachtet man die Anzahl der Kernrückverlagerungen nach 8 Tagen, so kann keine signifikante Abhängigkeit von der D_2O Konzentration registriert werden.

Ein Unterschied, der möglicherweise auf eine konzentrationsabhängige Wirkung von D_2O hinweist, ist, daß die ersten Kernrückverlagerungen bei höherer D_2O Konzentration früher auftreten als bei schwacher. So finden sich die ersten Rückverlagerungen bei $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC+30% D_2O bereits nach 24 Stunden, während bei $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC+5% D_2O erst am vierten Tag nach Behandlungsbeginn rückverlagerte Kerne beobachtet werden können.

Die beschriebenen Ergebnisse machen deutlich, daß die Lösungen von CIPC oder APM in D_2O gegenüber den reinen CIPC oder APM-Lösungen günstiger auf eine Rückverlagerung des Zellkernes in den Isthmus wirken. Die Rückwanderung des Kernes erfolgt, wie aus Tabelle 2 ersichtlich jedoch immer nur bei einem relativ geringen Prozentsatz der behandelten Zellen,

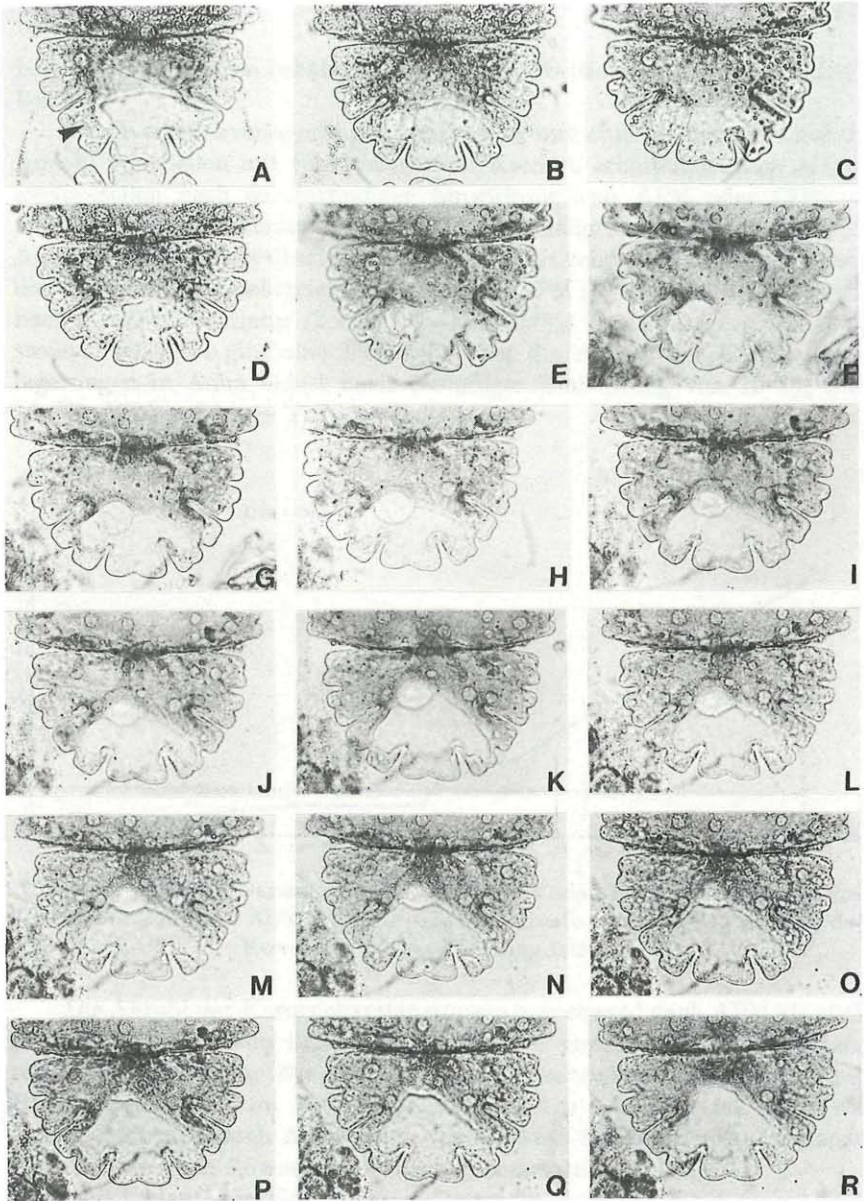


Abb. 3. Kernrückverlagerung in $2 \times 10^{-4}\%$ CIPC+30% D₂O. Die Zeitangaben beziehen sich auf die Dauer der Behandlung nach abgeschlossener Cytomorphogenese

A: 0 h	B: 32 h	C: 38 h	D: 48 h
E: 50 h	F: 52 h	G: 57 h	H: 59 h
I: 68 h	J: 69 h	K: 69 h 15'	L: 70 h
M: 72 h	N: 73 h	O: 74 h	P: 76 h
Q: 76 h 30'	R: 95 h		

bei den übrigen Zellen behalten die Kerne ihre Position im peripheren Plasma bei.

Um Kernrückverlagerungen genauer zu untersuchen und eine höhere Anzahl von Zellen mit rückverlagertem Kern zu erhalten, wurden *Micrasterias*-Zellen nach ca. 6stündiger Einwirkung von APM oder CIPC in verschiedenen Konzentrationen nach mehrmaligem Durchwaschen mit Aqua bidest in dieses übertragen. Das Ergebnis zeigt, daß in allen verwendeten Konzentrationsbereichen sowohl nach APM ($10^{-6}\%$ – $10^{-4}\%$) als auch nach CIPC-Behandlung ($2 \times 10^{-6}\%$ – $2 \times 10^{-4}\%$) Rückverlagerungen auftreten. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Anzahl der Kernrückverlagerungen in Aqua bidest nach 6stündiger Einwirkung von $10^{-6}\%$ und $10^{-5}\%$ APM auf junge Teilungsstadien.

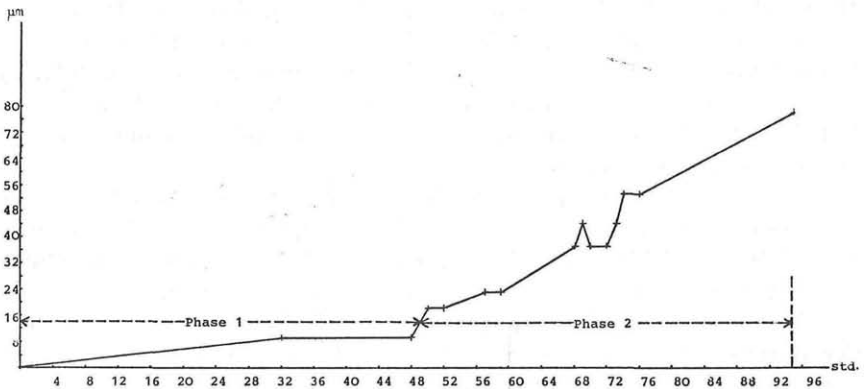


Abb. 4. Graphische Darstellung des zeitlichen Verlaufes der Remigration des Kernes der Zelle von Abb. 3 (CIPC+D₂O). Ordinate: Zurückgelegter Weg des Kernes (in µm) in Richtung Isthmus

Die Anzahl der Kernrückverlagerungen war sowohl nach APM als auch nach CIPC-Behandlung in Aqua bidest bei den einzelnen Versuchsansätzen recht unterschiedlich. Wie aus den bereits beschriebenen Versuchen über Rückverlagerungen im Behandlungsmedium zu erwarten ist, liegt die Remigrationsrate nach Applikation von schwach konzentrierten Lösungen höher als die nach Anwendung von stark konzentrierten (Tab. 1).

Der Verlauf der Kernrückverlagerung in Aqua bidest („recovery“), sowie die Dauer der Remigrationsprozesse erwiesen sich als unabhängig von der Konzentration des Behandlungsmediums vor Beginn des „recovery“. So ist sowohl bei der auf Abb. 5 ($10^{-4}\%$ APM) dargestellten Kernrückverlagerung, als auch bei der Remigration des Kernes der Abb. 7 ($10^{-5}\%$ APM) eine Unterteilung in eine Phase 1, in der der Kern in relativ langer Zeit einen relativ kurzen Weg zurücklegt, und eine Phase 2 in der in relativ kurzer Zeit die eigentliche Remigration stattfindet, möglich.

Die Weg-Zeit-Diagramme (Abb. 6 und 8) verdeutlichen die einzelnen Stufen der Rückverlagerungen.

Sehr unterschiedlich zeigte sich die Dauer der einzelnen Kernrückverlagerungen. Während der Kern der auf Abb. 5 dargestellten Zelle 114 Stunden benötigt, um in den Isthmus zurückzukehren, befindet sich bei der Rückverlagerung des Kernes der Abb. 7 dieser bereits nach 24 Stunden im Isthmus. Eine Gesetzmäßigkeit im Zeitablauf der Rückverlagerungen konnte nicht beobachtet werden.

Der verlagerte Zellkern ist häufig teilweise oder ganz vom Chloroplasten umgeben. In diesem Fall bahnt sich der Kern einen Weg durch den Chloroplasten, wobei er diesen „zerschneidet“ und nach vollzogener Rückverlagerung eine helle Bahn hinterläßt. Eine Rückverlagerung dieser Art ist auf Abb. 9 ($5 \times 10^{-6}\%$ APM) dargestellt. Der Kern liegt zu Beginn der Rückverlagerung frei im Polarlappen, lagert sich im Laufe der Rückverlagerung dem Chloroplasten an (Abb. 9 D) und „zerschneidet“ diesen gegen Ende der Rückverlagerung um in den Isthmus einzudringen (Abb. 9 K, L)

Derartige Kernrückverlagerungen treten häufig dann auf, wenn der Chloroplast während des „recovery“ schon weitgehend gleichmäßig auf die junge Halbzelle verteilt ist.

Wie aus den durchgeführten kinematografischen Untersuchungen in Übereinstimmung mit KIERMAYER (1973) hervorgeht, führen die Zellkerne von APM oder CIPC behandelten Zellen in der Zellperipherie häufig Rotationsbewegungen durch. Allerdings wurden auch Kerne beobachtet, die sich in ihrer Position völlig ruhig verhielten. Ein Zusammenhang zwischen der Rotation des Zellkernes und seiner Rückverlagerung in den Isthmus kann nicht ausgeschlossen werden.

Hervorgerufen durch die Plasmaströmung wird häufig ein „Kernpendeln“ (KIERMAYER 1973) in der Zellperipherie beobachtet. Der Kern hängt dabei meist im corticalen Protoplasma an einem Einschnitt der Zelle und wird vom Protoplasma hin- und herbewegt, wobei er häufig seine Position mehrmals ändert, ohne sich dem Isthmus weiter anzunähern.

Um eine mögliche Beschleunigung der Kernrückverlagerung oder eine höhere Rückverlagerungsrate zu erhalten, wurden *Micrasterias*-Zellen nach abgeschlossener Behandlung mit APM, CIPC oder Colchicin in verschieden konzentriertes Deuteriumoxid (5%–30%) übertragen. Die Untersuchungen zeigten jedoch kein positives Ergebnis. Die Kerne verhielten sich nach Einlegen in D₂O ähnlich wie nach Übertragung in Aqua bidest. Die Bewegung des Kernes in den Isthmus erfolgt stufenweise und erstreckt sich über mehrere Tage. Die Anzahl der Rückverlagerungen war unabhängig von der D₂O Konzentration, nahm aber bei zunehmender Konzentration der MT-Hemmstoffe ab. Ähnliches konnte auch bei der Übertragung der Zellen in Nährlösung beobachtet werden.

Da sich eine Zugabe von Glucose für das Auftreten von MT als günstig erwies (NEUHAUS-URL 1980), wurden APM behandelte Zellen in 0,10 molare

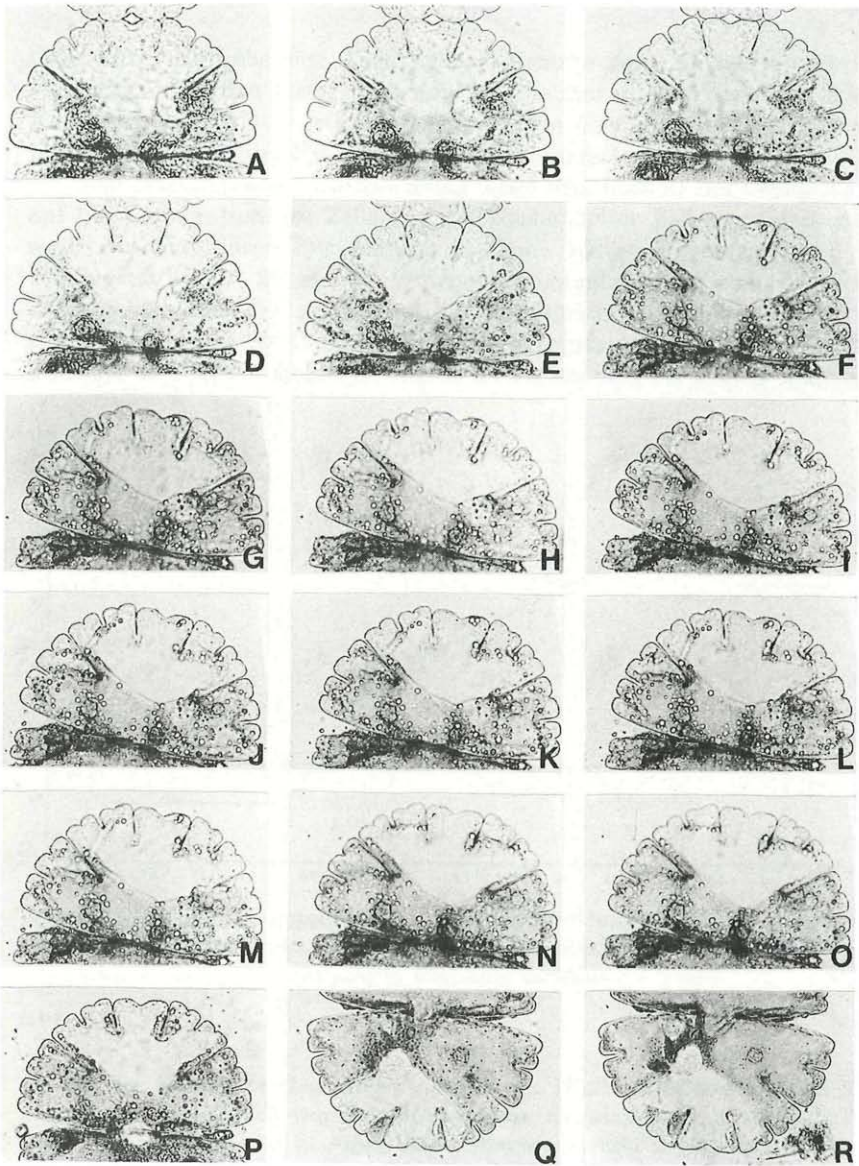


Abb. 5. Kernrückverlagerung in *Aqua bidest* nach 5ständiger Behandlung von *Micrasterias denticulata* mit $10^{-4}\%$ APM. Die Zeitangaben beziehen sich auf die Dauer des „recovery“ in *Aqua bidest*

A: Beginn des „recovery“

B: 3 h

C: 6 h

D: 9 h

E: 12 h

F: 20 h

G: 23 h

H: 25 h

I: 27 h

J: 29 h

K: 31 h

L: 33 h

M: 35 h

N: 37 h

O: 49 h

P: 120 h

Q: 2. Zelle des Zellpaares nach 120 h „recovery“

R: 2. Zelle nach 240 h

Glucose-Lösung gebracht. Auch dadurch konnte keine Begünstigung der Kernrückwanderung festgestellt werden. Die Anzahl der rückverlagerten Kerne erwies sich bei „recovery“ in Glucose eher geringer als in Aqua bidest. Der Ablauf der Rückverlagerung war unverändert.

Zur orientierenden Untersuchung über den Einfluß der Temperatur auf die Remigration des Zellkerns APM-behandelter Zellen wurden diese nach Abschluß ihrer Entwicklung in Aqua bidest übertragen und im Thermostat bei 10°, 20° und 30° C mehrere Tage gehalten. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, fand die größte Anzahl an Rückverlagerungen bei 10° C statt, während bei 30° C die Rückverlagerungsrate um mehr als die Hälfte niedriger lag. Wiederholungen dieses Versuches zeigten keinen nennens-

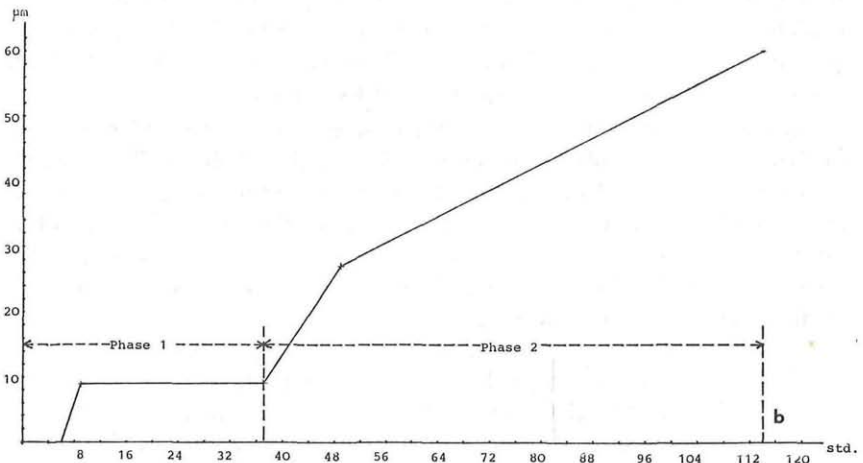


Abb. 6. Graphische Darstellung des zeitlichen Verlaufes der Rückverlagerung des Kernes der Zelle von Abb. 5. Ordinate: Zurückgelegter Weg des Kernes (in μm) in Richtung Isthmus

Tabelle 3

Anzahl der Kernrückverlagerungen nach Tagen (T), in Abhängigkeit von der Temperatur. Die Zellen wurden während ihrer Entwicklung mit 10⁻⁶% APM behandelt, anschließend in Aqua bidest übertragen und bei der angegebenen Temperatur gehalten

APM-Konzentration	übertragen in:	Temperatur	Anzahl d. Zellen	Anzahl der Kernrückverlagerungen						
				1. T.	2. T.	3. T.	4. T.	5. T.	6. T.	7. T.
10 ⁻⁶ %	A. bidest	10° C	110	0	18	28	39	48	60	72
10 ⁻⁶ %	A. bidest	20° C	110	8	18	31	38	48	50	52
10 ⁻⁶ %	A. bidest	30° C	110	14	17	19	23	27	30	31

werten Unterschied in der Anzahl der Rückverlagerungen bei 10° und 20° C, der Prozentsatz an rückverlagerten Kernen war bei 30° C jedoch wieder deutlich geringer.

3.2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Da bei *Micrasterias*-Zellen nach Behandlung mit APM aufgrund der Störung der Kernmigration eine Desorganisation des MT-Systems angenommen wird (KIERMAYER & FEDTKE 1977), wurden derartig behandelte Zellen elektronenmikroskopisch vor allem auf die Anwesenheit von MT überprüft.

Die zum Vergleich untersuchten Kontrollzellen wurden zur Stabilisierung der MT (vgl. NEUHAUS-URL 1980) mit 0,10 mol Glucose vorbehandelt und zeigten die von KIERMAYER (1968a) beschriebenen vier MT-Systeme. Auf Abb. 10 A und B ist das MT-Isthmusband einer Kontrollzelle entlang des Plasmalemmas im Querschnitt zu erkennen.

Abb. 10 C und D zeigt denselben Bereich einer mit APM (10⁻⁵%) und Glucose (0,10 mol) behandelten Zelle, in dem keine MT beobachtet werden können. Nach Durchsicht mehrerer Zellen konnte festgestellt werden, daß abgesehen von vereinzelt MT des Isthmusbandes nach Behandlung mit APM (10⁻⁵%, 10⁻⁶%) keines der vier in *Micrasterias* bekannten MT-Systeme vorhanden ist. Eine Behandlung mit dem Herbizid führt demnach zu einer weitgehenden Zerstörung der MT.

Abgesehen vom Fehlen der MT weisen APM behandelte Zellen hinsichtlich ihrer Ultrastruktur gegenüber den Kontrollzellen keine erkennbare Unterschiede auf. Alle bisher im Protoplasma von *Micrasterias* beschriebenen Vesikeltypen (vgl. KIERMAYER 1971, 1981) sind bei derartig behandelten Zellen unverändert vorhanden. Besonders bemerkenswert ist, daß auch F-Vesikel, die bei unbehandelten Zellen in unmittelbarer Nähe von MT getroffen wurden (Abb. 11 A, B) in APM behandelten Zellen in gleicher Weise anwesend sind (Abb. 11 C, D). Es scheint jedoch nicht ausgeschlossen, daß diese für die Sekundärwandbildung verantwortlichen Vesikel (KIERMAYER & DOBBERSTEIN 1973, KIERMAYER 1977) durch das Fehlen der MT eine Desorientierung aufweisen.

Bei allen übrigen Zellorganellen wie Mitochondrien, Ribosomen, Dictyosomen, Endoplasmatisches Reticulum und Microbodies sind nach APM-Einwirkung weder in der Form noch in der Verteilung innerhalb der Zelle Abweichungen von den Kontrollzellen zu bemerken.

4. Diskussion

Wie in vorliegenden Untersuchungen gezeigt wurde, verlagert sich der Zellkern von *Micrasterias denticulata* nach Einwirkung vom APM, CIPC oder Colchicin und abgeschlossener Cytomorphogenese an verschiedene Orte der Zellperipherie. Es ist weder eine Gesetzmäßigkeit im Ablauf der

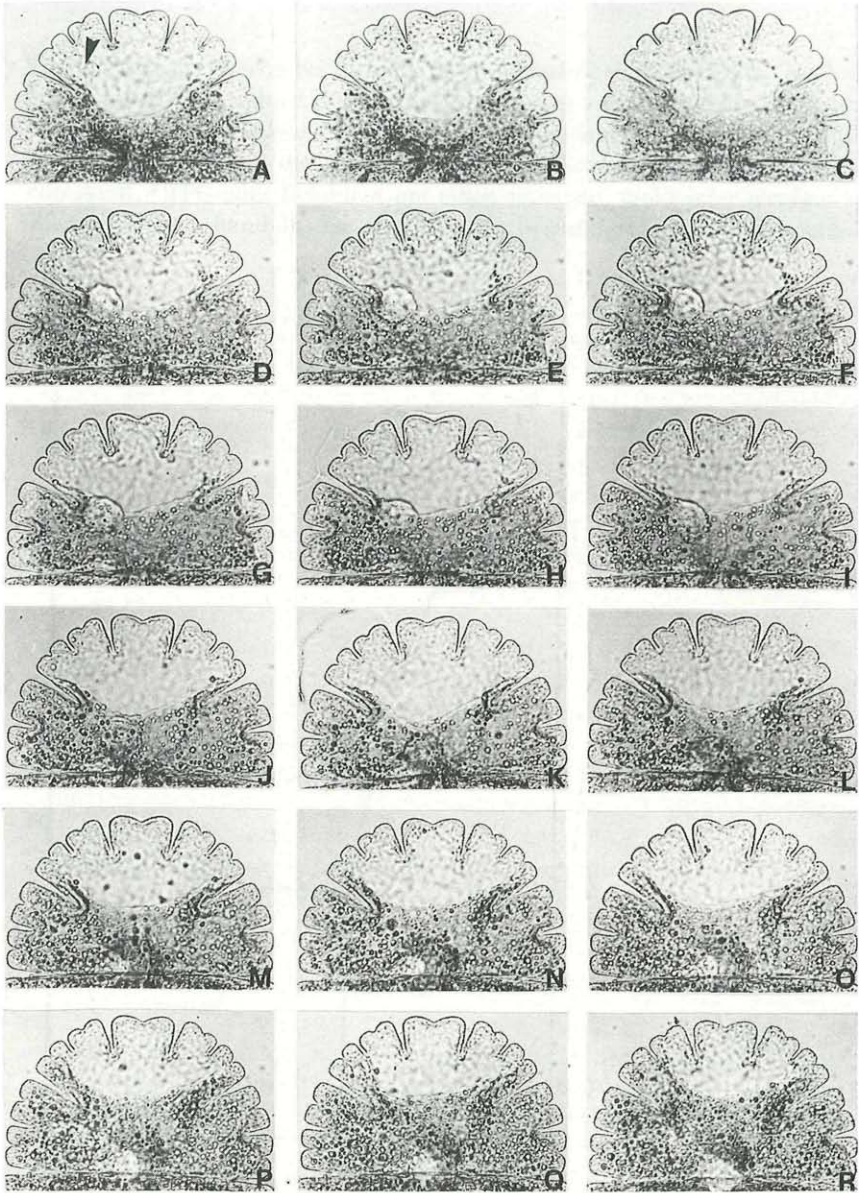


Abb. 7. Kernrückverlagerung in Aqua bidest. nach 6stündiger Behandlung mit 10⁻⁵% APM. Die Zeitangaben beziehen sich auf die Dauer des „recovery“ in Aqua bidest

A: Beginn des „recovery“

B: 45'

C: 2 h

D: 4 h

E: 6 h

F: 8 h

G: 10 h

H: 12 h

I: 14 h

J: 16 h

K: 18 h

L: 20 h

M: 22 h

N: 24 h

O: 26 h

P: 28 h

Q: 30 h

R: 34 h

Verlagerung der Kerne bei gleicher Konzentration einer Substanz, noch ein signifikanter Unterschied in der Kernposition bei verschiedenen konzentrierter Lösung oder verschiedenen Substanzen zu verzeichnen. Dies legt den Schluß nahe, daß es sich bei der unorientierten Kerneinwanderung unter Einfluß von APM, CIPC oder Colchicin um einen passiven, mehr oder weniger zufälligen Prozeß handelt. Da das für die Kernmigration verantwortliche

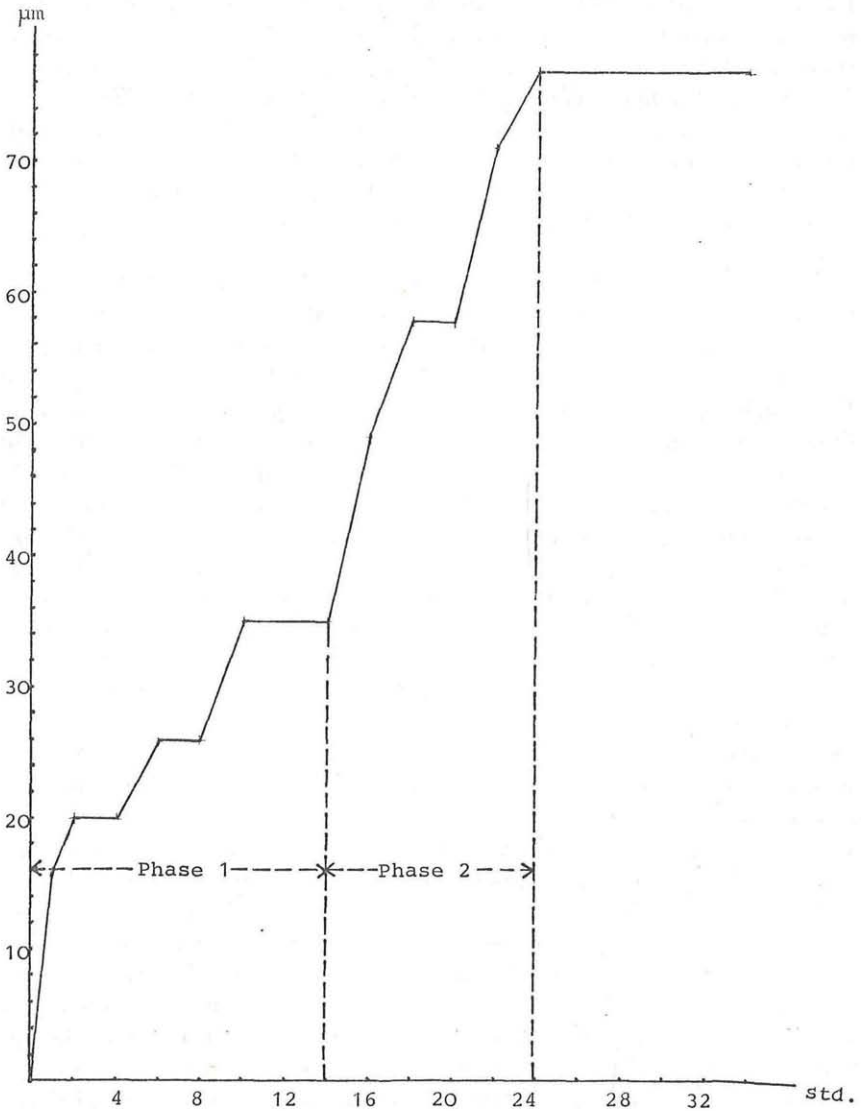


Abb. 8. Weg-Zeit-Diagramm der Kernrückverlagerung von Abb. 7

MT-System (vgl. KIERMAYER 1968a) offenbar zerstört ist, wird der Kern nur durch den Druck des einströmenden Chloroplasten und der Plasmaströmung in die junge Halbzelle bewegt und nimmt hier eine zufällige Position in der Zellperipherie ein.

Obwohl nach biochemischen und physiologischen Untersuchungen Verschiedenheiten zwischen den einzelnen Substanzen hinsichtlich des Angriffspunktes am MT-System der Zelle auftreten, zeigt das Erscheinungsbild der mit APM, CIPC oder Colchicin behandelten Zellen keinen Unterschied. Während bei den Stoffen APM und CIPC die MT-Organisationszentren (MTOC) als Angriffspunkt angegeben werden (COSS & PICKETT-HEAPS 1974, COLLIS & WEEKS 1977, KIERMAYER & FEDTKE 1977, ROBINSON & HERZOG 1977, QUADER *et al.* 1978, DUSTIN 1978, MARCHANT 1979), greift Colchicin durch eine non-kovalente, stark temperaturabhängige Verbindung mit den Tubulin-Dimer direkt in den Auf- und Abbau des MT-Systems ein (TAYLOR 1973, BARDELE 1973, BRYAN 1975, DUSTIN 1978).

Daß Zellen sowohl nach Behandlung mit APM und CIPC als auch mit Colchicin mit einer Hemmung der Kernmigration reagieren, beruht vermutlich darauf, daß in diesen Fällen keine cytoplasmatischen MT mehr vorhanden sind. Ein Fehlen der MT konnte in elektronenmikroskopischen Untersuchungen nach APM-Einwirkung eindeutig nachgewiesen werden. Den Untersuchungen von PICKETT-HEAPS & NORTHCOTE (1966a, b) entsprechend, die nach Applikation von Colchicin das Fehlen des MT-Präprophasebandes von *Triticum vulgare* beschreiben, wird auch bei *Micrasterias* nach Behandlung mit APM das von KIERMAYER (1968a) beschriebene MT-Isthmusband offensichtlich desorganisiert. Ebenso kann nach APM-Zugabe keines der übrigen in unbehandelten *Micrasterias*-Zellen vorhandenen MT-Systeme (KIERMAYER 1968a) vorgefunden werden. Die während der Sekundärwandbildung von *Micrasterias* auftretenden F-Vesikel („flat vesicles“), deren globuläre Untereinheiten wahrscheinlich als Matritze für die Mikrofibrillenorientierung fungieren (KIERMAYER & DOBBERSTEIN 1973, KIERMAYER 1977, KIERMAYER & SLEYTR 1979, SLEYTR & KIERMAYER 1979, GIDDINGS *et al.* 1980) können, wie die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, auch nach Einwirkung von APM nachgewiesen werden. Während bei den mit Glucose behandelten Kontrollzellen in unmittelbarer Nähe der F-Vesikel entlang der Plasmamembran zahlreiche MT vorzufinden sind, ist dies nach Behandlung mit APM nicht der Fall.

Die Behandlung junger Teilungsstadien von *Micrasterias* mit Lösungen von APM, CIPC oder Colchicin in Deuteriumoxid in verschiedenen Konzentrationsbereichen hat, wie die Einwirkung von Lösungen dieser MT-Blocker in H₂O, eine abnorme Verlagerung des Posttelophasekernes zur Folge. Das in der Literatur als MT-stabilisierender Stoff beschriebene D₂O (DUSTIN 1978) zeigt somit bei *Micrasterias* keine antagonistische Wirkung zu den MT-zerstörenden Stoffen APM, CIPC und Colchicin.

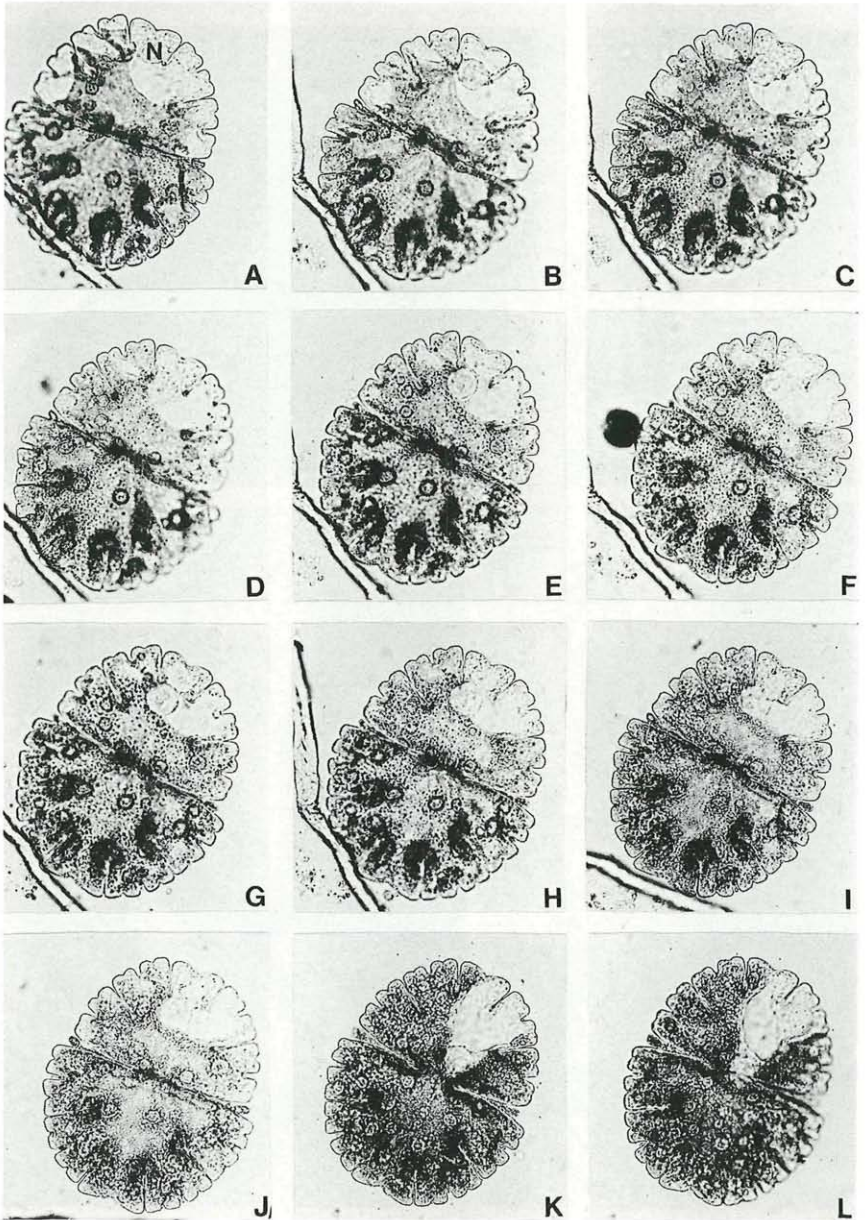


Abb. 9. Kernrückverlagerung in Aqua bidest nach 8stündiger Behandlung mit $5 \times 10^{-6}\%$ APM. Die Zeitangaben beziehen sich auf die Dauer des „recovery“ in Aqua bidest. N = Zellkern

A: 0	B: 1 h	C: 2 h 30'	D: 4 h
E: 5 h 30'	F: 7 h	G: 8 h 30'	H: 10 h
I: 13 h	J: 20 h	K: 38 h	L: 44 h

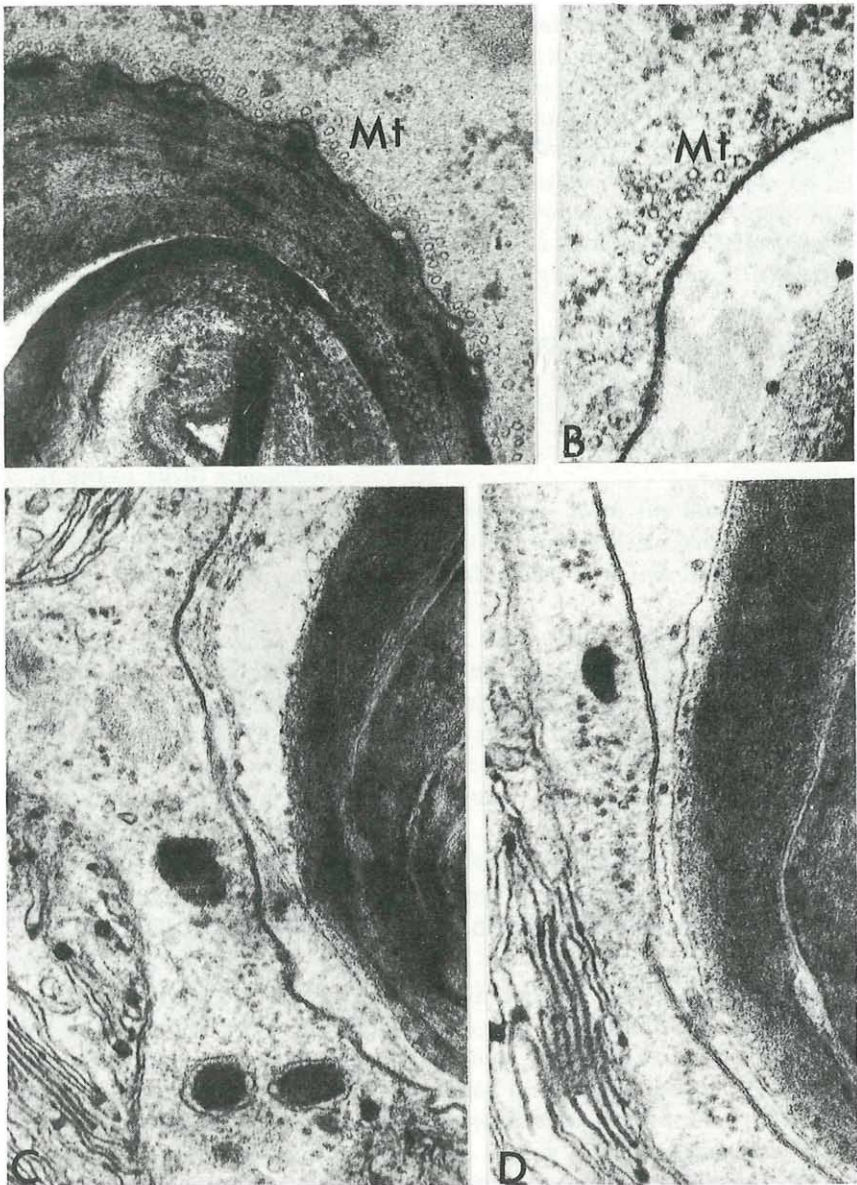


Abb. 10. Medianschnitt durch den Plasmabereich um einen Isthmuseinschnitt von *Micrasterias denticulata*

A: 48.000 \times , B: 96.000 \times , Mt — Mikrotubuli

A: 48.000 \times , B: 96.000 \times , MT — Mikrotubuli

C und D: nach Behandlung mit $10^{-5}\%$ APM, 6 Stunden

C: 54.000 \times , D: 64.000 \times , Mikrotubuli fehlen

Ähnliche Ergebnisse erzielten BURGESS & NORTHCOTE (1969) bei der Untersuchung der kombinierten Wirkung von Colchicin und D_2O auf die Mitose von Weizenwurzeln. An tierischen Zellen konnten MARSLAND & HECHT (1968) eine antagonistische Wirkung von D_2O auf die Colchicin induzierte Hemmung der Zellteilung nur bei niedriger D_2O Konzentration (25–35%) feststellen, bei höherer Konzentration von D_2O (55–65%) wurde eine Verstärkung des Colchicineffektes beobachtet. Eine Applikation von stark konzentriertem reinen D_2O zeigt bei pflanzlichen Zellen häufig toxische Wirkung (WABER und SAKAI 1975), wie dies auch für *Micrasterias* bestätigt werden kann.

Als ultrastrukturelle Veränderungen unter Einwirkung von D_2O werden die Desorientierung der MT, sowie die Störung ihrer Verteilung (BURGESS & NORTHCOTE 1969, HARDHAM & GUNNING 1979) und die Bildung von zahlreichen kurzen MT nach kurzzeitiger D_2O Behandlung (HARDHAM & GUNNING 1979) angegeben.

Verbleiben Zellen mit abnorm verlagertem Kern für längere Zeit in der Wirkstofflösung, so kann bei schwach konzentrierten Lösungen vereinzelt eine Kernrückverlagerung (Remigration) in den Isthmus festgestellt werden.

Durch Übertragung der während ihrer Differenzierung mit MT-Blockern behandelten Zellen in Aqua bidest, Nährlösung, D_2O oder Glucose-Lösung („recovery“) wird die Rückverlagerung des Zellkernes in den Isthmus begünstigt. Obwohl die Remigration des Kernes nicht bei allen Zellen erfolgt, kann von einer Reversibilität der durch MT-Inhibitoren hervorgerufenen Rückwanderungshemmung gesprochen werden (KIERMAYER 1973, MEINDL 1980).

Anhand von lichtmikroskopischen Serienaufnahmen mehrerer Kernrückverlagerungen nach vorangegangener Behandlung mit APM oder CIPC konnten einige Charakteristika dieser Kernbewegung aufgezeigt werden:

Vor Antritt seiner Rückwanderung in den Isthmus führt der Zellkern häufig Rotations- und Pendelbewegungen durch (KIERMAYER 1973). Diese sind gemeinsam mit einer langsamen Loslösung von der Zellperipherie zu der, durch Weg-Zeit-Diagramme ermittelten ersten „inaktiven“ Phase des Rückverlagerungsprozesses zu zählen. In einer zweiten „aktiven“ Phase, die zeitmäßig der ersten gleicht, in der aber ca. zwei Drittel bis drei Viertel des gesamten Weges zurückgelegt werden, wandert der Kern in den Isthmus zurück und erfährt dort eine Verankerung. Häufig zerschneidet der Kern dabei den ihn umgebenden Chloroplasten, was darauf schließen läßt, daß der Rückwanderungsprozeß unter großem Kraftaufwand erfolgt. Aufgrund der Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen ist folgende Hypothese für die Kernrückverlagerung bei *Micrasterias* nach vorangegangener Behandlung mit MT-Blockern und „recovery“ denkbar:

Während der ersten relativ „inaktiven“ Phase der Remigration wird der Kern durch die Plasmaströmung ungerichtet bewegt. Er führt dabei Rotations- und Pendelbewegungen durch, wodurch manchmal eine zufällige geringfügige Annäherung an den Isthmusbereich erfolgt. Erreicht der Kern während dieser ersten Phase eine geeignete Position und wird in der Zwischenzeit das MT-System restituiert, so wird er von diesem während der zweiten „aktiven“ Phase der Rückverlagerung in den Isthmus gezogen. Findet dieser Prozess nicht statt, so erfolgt keine Kernrückverlagerung, der Zellkern liegt auch nach mehreren Tagen oder Wochen in der Zellperipherie. Bezüglich der Dauer der gesamten Remigration, sowie ihrer beiden Phasen kann keine Gesetzmäßigkeit erkannt werden. Fest steht lediglich, daß die Zeitabschnitte die der Kern bei seiner Rückbewegung in den Isthmus für die erste und die zweite Phase benötigt in den meisten Fällen ungefähr gleich sind. Bei einigen Rückverlagerungen folgte auf eine sehr lange „inaktive“ Phase eine im Verhältnis dazu sehr kurze „aktive“ Phase der Bewegung.

Wie die Untersuchungen zeigen, kann der Kern jedoch offenbar die Remigration wieder an irgendeiner Stelle unterbrechen. Ähnliches wurde von KOOP und KIERMAYER (1980 a, b) bei der durch Einwirkung von APM, CIPC und Colchicin hemmbaren Migration der sekundären Kerne von *Acetabularia* beobachtet. Während ihrer Teilung verlieren diese Kerne offensichtlich die Verbindung zu den sie bewegenden „cytoplasmatischen Bändern“ und verharren bis nach Ende der Mitose in Ruhe. Nach Abschluß der Telophase nehmen die Tochterkerne die Migration wieder auf (KOOP & KIERMAYER 1980 a).

Hinsichtlich des Bewegungsmechanismus der Rückverlagerung bestehen aufgrund zahlreicher Untersuchungen an Migrationsvorgängen (BUCKLEY & PORTER 1967, HEPLER & PALEVITZ 1974, DUSTIN 1978) zwei Möglichkeiten. Der Kern kann einerseits direkt mit dem MT-System der Zelle in Verbindung treten und durch dieses in den Isthmus gezogen werden, wobei nach der sog. „Sliding-Filament Theorie“ (BARDELE 1973, DUSTIN 1978, FILNER & YADAV 1979) die Beteiligung von Mikrofilamenten (MF) an dieser Bewegung für sehr wahrscheinlich gehalten werden muß. MT stellen demnach wahrscheinlich die starren Bahnen, die MF das aktive kontraktile Element des Bewegungsprozesses dar. „Intertubuläre Verbindungen“, Brücken oder Arme können dabei das zu bewegende Zellorganell am Bewegungssystem (MT-MF-System) fixieren (HEPLER & PALEVITZ 1974).

KIERMAYER (1968 a, c) konnte in elektronenmikroskopischen Untersuchungen an *Micrasterias* die Existenz von im Querschnitt punktförmigen „intertubulären Strukturen“ um den Posttelophasekern nachweisen, bei denen es sich wahrscheinlich um parallel zu den Tubuli verlaufende Mikrofilamente (KIERMAYER 1968 c, 1981) handelt. Einen ähnlichen MT-MF-Komplex stellen HEATH & HEATH (1978) in unmittelbarer Umgebung der migrierenden Zellkerne des Rostpilzes *Uromyces phaseoli* fest. Es wird

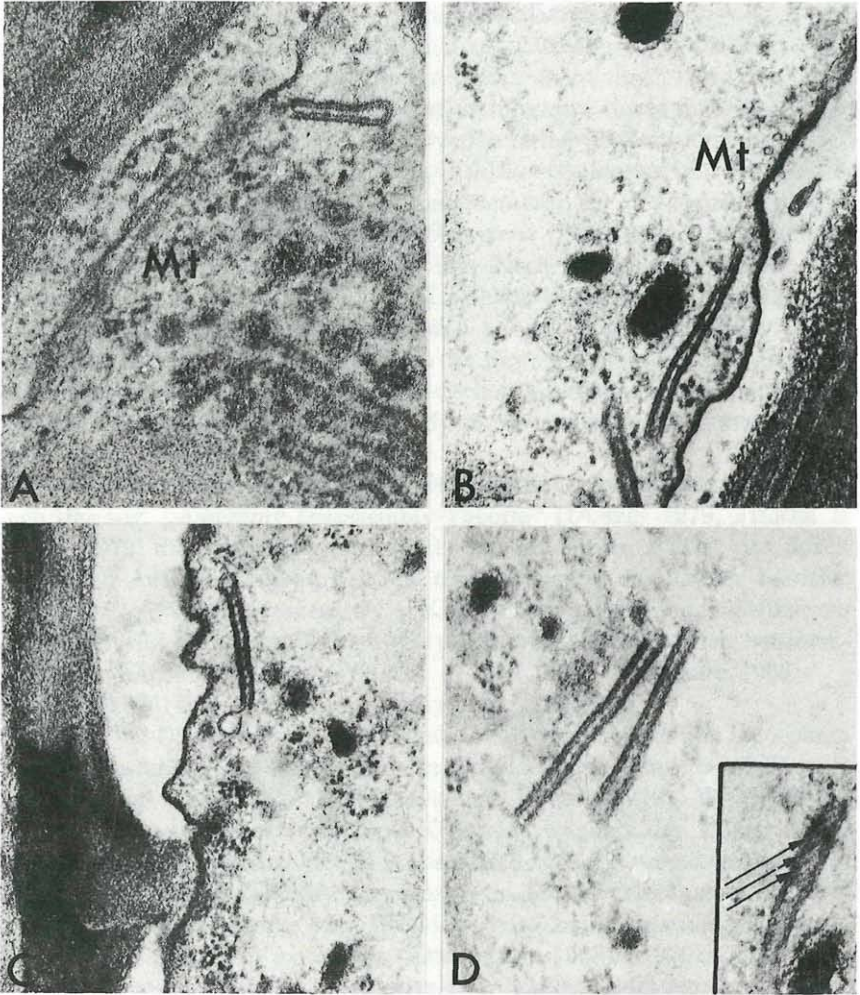


Abb. 11: F-Vesikel während der Sekundärwandbildung von *Micrasterias denticulata*

A und B: Kontrollzellen

A: 60.000 ×, B: 50.000 ×, Mt = Mikrotubuli

C und D: nach Behandlung mit 10⁻⁶% (C) und 10⁻⁵% (D) APM, 6 Stunden

C: 38.000 ×, D: 54.000 ×

Ausschnitt: F-Vesikel mit deutlicher Streifung (Pfeile) 56.000 ×

angenommen (HEATH & HEATH 1978), daß MT die an Membranen befestigt sind gemeinsam mit einer fibrillären Matrix die bewegende Kraft für den Zellkern darstellen. Auch die interzelluläre Migration des Zellkernes einer Mutante von *Schizophyllum commune* steht nach Angaben von RAUDASKOSKI & KOLTIN (1973) in Verbindung mit einem mehrere Zellen durchziehenden MT-MF-System. MT wurden ferner im Zusammenhang mit der Migration des Pronucleus in *Fucus distichus* (BRAWLEY und QUATRANO 1979), sowie in Verbindung mit der Kernmembran in *Acetabularia* (WOODCOCK 1971) und in Wurzelzellen von *Dryopteris* (BURGESS 1970) gefunden. FRANKE (1971) nimmt an, daß das den Kern umgebende System von cytoplasmatischen MF und MT in HeLa-Zellen in engem Kontakt mit der Kernmembran steht, die möglicherweise an der Bildung dieser Proteinstrukturen beteiligt ist. Ebenso scheint die Bewegung von Pigment-Granula in Chromatophoren verschiedener tierischer Epithelien in Abhängigkeit von der Kooperation eines MT-MF-Systemes zu stehen (MURPHY 1975, MALAWISTA 1975).

Die zweite Möglichkeit für den Mechanismus der Kernbewegung ist nach der sog. „Assembly-Disassembly-Theorie“ (DUSTIN 1978, FILNER & YADAV 1979) die Verbindung des Zellkernes mit einem MTOC, das durch regulierten Auf- und Abbau der MT eine Bewegung des Kernes bewirkt.

Derartige Nucleationszentren in Kontakt mit migrierenden Zellkernen wurden sowohl bei interzellulären (RAUDASKOSKI 1972) als auch bei intrazellulären Kernbewegungen (WILSON & AIST 1967, GIBBARDT 1968, BERKSON 1970) in verschiedenen Pilzhyphen beobachtet.

Auch bei *Closterium littorale* konnte die Existenz eines aus amorphem Material bestehenden MT-Zentrums in unmittelbarer Nähe des Zellkernes nachgewiesen werden (PICKETT-HEAPS und FOWKE 1970). Während der Cytomorphogenese dieser einzelligen Grünalge wandert das MTOC in die neue Halbzelle ein und bildet MT aus, die den Kern umgeben, wodurch dieser in die junge Zellhälfte gezogen wird (PICKETT-HEAPS & FOWKE 1970). Unter Einwirkung von Colchicin tritt bei *Closterium* (PICKETT-HEAPS 1972) wie bei *Micrasterias* (KIERMAYER 1968b, 1970b) eine Hemmung der postmitotischen Kernmigration auf. Bei *Cosmarium botrytis* konnte kein MT-Zentrum in der Nähe des migrierenden Posttelophasekernes festgestellt werden (PICKETT-HEAPS 1972). Außerdem wurden im Zusammenhang mit der Rückwanderung des Kernes in dessen Umgebung keine MT gefunden, was zu dem Schluß führte, daß dieser Abschnitt der Kernmigration bei *Cosmarium* von MT unabhängig ist (PICKETT-HEAPS 1972).

Bei *Micrasterias denticulata* wurde bisher weder eine direkte Verbindung zwischen MT und der Membran des Posttelophasekernes, noch die Existenz eines MTOC nachgewiesen. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß derartige Strukturen trotzdem vorhanden sind, jedoch bisher elektronenmikroskopisch noch nicht identifiziert werden konnten.

Die Arbeit wurde vom Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung (Projekt 3660) unterstützt.

Literaturverzeichnis

- BARDELE Ch. F. 1973. Struktur, Biochemie und Funktion der Mikrotubuli. — *Cytobiologie* 7 (4): 442—488.
- BERKSON B. M. 1970. Centriole: Its role in fungal nuclear motility. — *Cytologia* 35: 471—472.
- BRAWLEY S. & QUATRANO R. S. 1979. Effects of microtubule inhibitors on pronuclear migration and embryogenesis in *Fucus distichus* (*Phaeophyta*). — *J. Phycol.* 15: 266—272.
- BRYAN J. 1975. Preliminary studies on affinity labeling of the tubulin — colchicin binding site. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 253: 247—259.
- BUCKLEY I. K. & PORTER K. R. 1967. Cytoplasmic fibrils in the living cultured cells. — *Protoplasma* 64: 349—380.
- BURGESS J. 1970. Interaction between microtubules and nuclear envelope during mitosis in a fern. — *Protoplasma* 71: 77—89.
- BURGESS J. & NORTHCOLE D. H. 1969. Action of colchicine and heavy water on the polymerisation of microtubules in wheat root meristems. — *J. Cell Sci.* 5: 433—451.
- COLLIS P. S. & WEEKS D. P. 1977. Selective inhibition of tubulin synthesis by APM. — *J. Cell Biology* 75: 275a.
- COSS R. A. & PICKETT-HEAPS J. D. 1974. The effect of isopropyl-N-phenyl-carbamate on the green alga *Oedogonium cardiacum*. — *J. Cell Biology* 63: 84—98.
- DUSTIN P. 1978. *Microtubules*. — Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York.
- FILNER Ph. & YADAV N. S. 1979. Role of microtubules in intracellular movement. In: HAUPT W. & FEINLEIB M. E. (eds.): *Physiology of Movements*. — Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York.
- FRANKE W. W. 1971. Relationship of nuclear membranes with filaments and microtubules. — *Protoplasma* 73: 263—285.
- GIDDINGS T. H., BROWER D. L. & STAEHELIN L. A. 1980. Visualization of particle complexes in the plasma membrane of *Micrasterias denticulata* associated with the formation of cellulose fibrils in primary and secondary cell walls. — *J. Cell Biology* 84: 327—339.
- GIRBARDT M. 1968. Ultrastructure and dynamics of the moving nucleus. In: MILLER P. L. (ed.): *Aspects of Cell Motility*. 22nd Symp. Soc. Exp. Biol., 249—259. — Cambridge University Press.
- HARDHAM A. R. & GUNNING B. E. S. 1979. Interpolation of microtubules into cortical arrays during cell elongation and differentiation in roots of *Azolla pinnata*. — *J. Cell Sci.* 37: 411—442.
- HEATH I. B. & HEATH M. C. 1978. Microtubules and organelle movements in the rust fungus *Uromyces phaseoli* var. *vignae*. — *Europ. J. Cell Biology* 16: 193—411.
- HEPLER P. K. & PALEVITZ B. A. 1974. Microtubules and microfilaments. — *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 25: 309—362.

- KIERMAYER O. 1964. Untersuchungen über die Morphogenese und Zellwandbildung bei *Micrasterias denticulata* BRÉB. — *Protoplasma* 59: 97—132.
- 1968a. The distribution of microtubules in differentiating cells of *Micrasterias denticulata* BRÉB. — *Planta* 83: 223—236.
 - 1968b. Hemmung der Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias* durch Colchicin. — *Naturwissenschaften* 55: 299—300.
 - 1968c. Microtubuli um den Posttelophase-Nucleus von *Micrasterias* und ihre mögliche Funktion. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 81: 319.
 - 1970a. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* BRÉB. I. Allgemeiner Überblick. — *Protoplasma* 69: 97—132.
 - 1970b. Causal aspects of cytomorphogenesis in *Micrasterias*. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 175: 686—701.
 - 1971. Elektronenmikroskopischer Nachweis spezieller cytoplasmatischer Vesikel bei *Micrasterias denticulata* BRÉB. — *Planta* 96: 74—80.
 - 1972. Beeinflussung der postmitotischen Kernmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. durch das Herbizid Trifluralin. — *Protoplasma* 75, 421—426.
 - 1973. Störung der Kernmigration von *Micrasterias denticulata* (*Desmidiaceae*) durch eine die Mikrotubuli beeinflussende Substanz Chlorisopropyl-N-phenylcarbammat (CIPC). — *Film B 1070*, Inst. Wiss. Film, Göttingen.
 - 1977. Biomembranen als Träger morphogenetischer Information. Untersuchungen bei der Grünalge *Micrasterias denticulata*. — *Naturwiss. Rundschau* 30: 161—165.
 - 1980. Control of morphogenesis in *Micrasterias*. In: GANTT B.: (ed.), *Handbook of phycological methods, cytological and developmental methods*. — Cambridge University Press, London—New York.
 - 1881. Cytoplasmic basis of morphogenesis in *Micrasterias*. In: KIERMAYER O. (ed.): *Cytomorphogenesis in plants*, Springer-Press Vienna-New York.
 - & DOBBERSTEIN B. 1973. Membrankomplexe dictyosomaler Herkunft als „Matritzen“ für die extraplasmatische Synthese und Orientierung von Mikrofilamenten. — *Protoplasma* 77: 437—451.
 - & FEDTKE C., 1977: Strong anti-microtubule action of amiprophosphomethyl (APM) in *Micrasterias*. — *Protoplasma* 92. 163—166.
 - & HEPLER P. K. 1970. Hemmung der Kernmigration von Jochalgen (*Micrasterias*) durch Isopropyl-N-phenylcarbammat. — *Naturwissenschaften* 5: 252.
 - & MEINDL U. 1979. Anti-microtubule action of various substances in *Micrasterias denticulata*. — *Europ. J. Cell Biology* 20: 130.
 - & SLEYTR U. 1979. Hexagonally ordered “rosettes” of particles in the plasma membrane of *Micrasterias denticulata* BRÉB. and their significance for microfibril formation and orientation. — *Protoplasma* 101: 133—138.
- KOOP H.-U. & KIERMAYER O. 1980a. Protoplasmic streaming in the giant unicellular green alga *Acetabularia mediterranea*. I. Formation of the intracellular transport system in the course of cell differentiation. — *Protoplasma* 102: 147—166.

- KOOP H.-U. & KIERMAYER O. 1980b. Protoplasmic streaming in the giant unicellular green alga *Acetabularia mediterranea*. II. Differential sensitivity of movement systems to substances acting on microfilaments and microtubules. — *Protoplasma* 102: 291—306.
- MALAWISTA S. E. 1975. Microtubules and movement of melanin granules in frog dermal melanocytes. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 253: 702—710.
- MARCHANT H. J. 1979. Microtubular determination of cell shape during colony formation by the alga *Pediastrum*. — *Protoplasma* 98.: 1—14.
- MARSLAND D. & HECHT R. 1968. Cell division: combined antimitotic effects of colchicine and heavy water on first cleavage in the eggs of *Arbacia punctulata*. — *Exp. Cell Res.* 51: 602—608.
- MEINDL U. 1980. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. — Dissertation, Salzburg.
- 1981. Störung der Cytomorphogenese bei *Micrasterias denticulata* durch Hemmung der Proteinsynthese. — Film D 1425. Inst. Wiss. Film Göttingen.
- & KIERMAYER O. 1981. Biologischer Test zur Bestimmung der Antimikrotubuli-Wirkung verschiedener Stoffe mit Hilfe der Grünalge *Micrasterias denticulata*. — *Mikroskopie (Wien)* im Druck.
- MURPHY D. B. 1975. The mechanism of microtubule-dependent movement of pigment granules in teleost chromophores. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 253: 692—701.
- NEUHAUS-URL G. 1980: Über die Wirkung von Turgoränderungen auf die Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* BRÉB. — Dissertation, Salzburg.
- PICKETT-HEAPS J. D. 1972. Cell division in *Cosmarium botrytis*. — *J. Phycol.* 8: 343—360.
- & FOWKE L. C. 1970. Mitosis, Cytokinesis and cell elongation in the desmid *Closterium littorale*. — *J. Phycol.* 6: 189—215.
- & NORTHCOTE D. H. 1966a. Organisation of microtubules and endoplasmic reticulum during mitosis in wheat meristems. — *J. Cell Sci.* 1, 109—120.
- & NORTHCOTE D. H. 1966b. Cell division in the formation of the stomatal complex of the young leaves of wheat. — *J. Cell Sci.* 1: 121—128.
- QUADER H., WAGENBRETH J. & ROBINSON D. G. 1978. Structure, synthesis and orientation of microfibrils. V. On the recovery of *Oocystis solitaria* from microtubule inhibitor treatment. — *Cytobiologie* 18: 39—51.
- RAUDASKOSKI M. 1972. Occurrence of microtubules in the hyphae of *Schizophyllum commune* during intercellular nuclear migration. — *Arch. Microbiol.* 86: 91—100.
- & KOLTIN Y. 1973. Ultrastructural aspects of a mutant of *Schizophyllum commune* with continuous nuclear migration. — *J. Bacteriology* 116: 981—988.
- ROBINSON D. & HERZOG W. 1977. Structure, synthesis and orientation of microfibrils. III. A survey of the action of microtubule inhibitors on microtubule and microfibril orientation in *Oocystis solitaria*. — *Cytobiologie* 15: 463—474.

- SLEYTR U. & KIERMAYER O. 1979. Hexagonal lattice of "rosettes" in the plasma membrane of *Micrasterias* and its relation to microfibril formation. — *Europ. J. Cell Biology* 20: 126.
- TAYLOR E. W. 1973. Macromolecular assembly inhibitors and their action on the cell cycle. In: ZIMMERMANN, PATILLA & CAMERON (eds.): *Drugs and the Cell Cycle*. — Academic Press, New York—London.
- TREIBLMAYER K. & POHLHAMMER K. 1974. Die Verwendung eines Mikrofiltergerätes bei der Fixierung und Entwässerung kleiner biologischer Objekte der Elektronenmikroskopie. — *Mikroskopie (Wien)* 30: 229—233.
- WABER J. & SAKAI W. S. 1975. Further studies on the ultrastructure of D₂O grown winter rye. — *Protoplasma* 84: 273—281.
- WILSON Ch. & AIST J. R. 1967. Motility of fungal nuclei. — *Phytopathologie* 57.
- WOODCOCK C. L. F. 1971. The anchoring of nuclei by cytoplasmic microtubules in *Acetabularia*. — *J. Cell Sci.* 8: 611—621.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1982

Band/Volume: [22_1](#)

Autor(en)/Author(s): Meinel Ursula, Kiermayer Oswald

Artikel/Article: [Über die Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. I. 115-135](#)