

| | | | | |
|------------------|---------|---------|---------|-------------|
| Phyton (Austria) | Vol. 22 | Fasc. 2 | 213—231 | 30. 9. 1982 |
|------------------|---------|---------|---------|-------------|

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

II. Die Chloroplastenmigration und ihre Veränderung durch verschiedene Stoffe

Von

Ursula MEINDL und Oswald KIEMAYER *)

Mit 5 Abbildungen

Eingelangt am 28. April 1981

Key words: Chloroplast migration, antimicrotubule-substances, antibiotics,
Micrasterias

Summary

MEINDL U. & KIEMAYER O. 1982. Nuclear and chloroplast migration in *Micrasterias denticulata* BRÉB. II. Chloroplast migration and its alterations by various substances. — *Phyton (Austria)* 22 (2): 213—231, with 5 figures (plates). — German with English summary.

1. Under the influence of the microtubule inhibitors APM, CIPC and colchicine a reversible disturbance of chloroplast immigration in *Micrasterias denticulata* appears; the duration of chloroplast immigration is normal.

2. Combinations of these microtubule inhibitors with D₂O do not effect the abnormal chloroplast immigration.

3. Penicillin G causes a prolonged chloroplast immigration together with the formation of a chloroplast lump in the young and of "holes" in the chloroplast of the old half cell.

4. Transfer of penicillin G treated cells into aqua bidest leads to a partial reversion of the chloroplast disturbance.

5. Cells which have already finished its development, show a subsequent formation of "holes" in the chloroplast and a retraction of chloroplast substance from the cell periphery, when treated with penicillin G.

6. Application of combinations of APM, CIPC, colchicine and D₂O with penicillin G at various concentrations results in an inhibition of the penicillin induced disturbance of chloroplast immigration.

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

7. An inhibition of chloroplast spreading can be observed under the influence of APM, CIPC, colchicine, penicillin G and kasugamycin.

8. After treatment with APM, CIPC, colchicine and penicillin G, apart from elongation of the protoplasmic strands, anchoring of the chloroplast occurs to be normal. Under the influence of Kasugamycin a plasmatic anchoring of the chloroplast can only be observed in a few cases.

9. Chloroplast separation after treatment with various substances only takes place if the nucleus is located in the isthmus. By application of phenyl- α -naphthylamin and valinomycin chloroplast separation is inhibited.

Zusammenfassung

MEINDL U. & KIEMAYER O. 1982. Über die Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. II. Die Chloroplastenmigration und ihre Veränderung durch verschiedene Stoffe. — *Phyton* (Austria) 22 (2): 213–231. — Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

1. Unter Einfluß der Microtubuli-Inhibitoren APM, CIPC oder Colchicin kommt es zu einer reversiblen Störung der Chloroplasteneinwanderung bei *Micrasterias denticulata*; die Dauer der Chloroplasteneinwanderung ist normal.

2. Mischungen der Microtubuli-Hemmstoffe mit D₂O bewirken keine Veränderung der anomalen Chloroplasteneinwanderung.

3. Penicillin G bewirkt eine zeitlich verlängerte Chloroplasteneinwanderung verbunden mit der Bildung von Chloroplastenklumpen in der jungen und der Entstehung von Löchern im Chloroplasten der alten Halbzelle.

4. Die Übertragung der Penicillin G-behandelten Zellen in Aqua bidest führt zu einer teilweisen Reversibilität der Chloroplastenstörung.

5. Zellen, die ihre Entwicklung bereits abgeschlossen haben zeigen unter Einwirkung von Penicillin G eine nachträgliche Ausbildung von Löchern im Chloroplasten und das Zurückziehen der Chloroplastenmasse aus der Zellperipherie.

6. Die Applikation von Mischungen von APM, CIPC, Colchicin und D₂O mit Penicillin G in verschiedenen Konzentrationen hat eine Hemmung der Penicillin-induzierten Störung der Chloroplasteneinwanderung zur Folge.

7. Eine Hemmung der Chloroplastenspreitung kann unter Einwirkung von APM, CIPC, Colchicin, Penicillin G und Kasugamycin beobachtet werden.

8. Nach Behandlung mit APM, CIPC, Colchicin und Penicillin G erfolgt die Chloroplastenverankerung, abgesehen von einer Verlängerung der Plasmafäden, normal. Unter Kasugamycin-Einwirkung kann eine plasmatische Verankerung des Chloroplasten nur in wenigen Fällen beobachtet werden.

9. Die Separation des Chloroplasten im Isthmus erfolgt nach Behandlung mit verschiedenen Substanzen nur dann, wenn sich der Zellkern im Isthmus befindet. Durch Applikation von Phenyl- α -naphthylamin and Valinomycin kann die Chloroplastenseparation gehemmt werden.

1. Einleitung

Die postmitotische Entwicklung von *Micrasterias denticulata* ist gekennzeichnet durch die Ausbildung einer neuen Halbzelle (Primärwandwachstum), sowie durch die Migrationsprozesse des Zellkernes und des

Chloroplasten. Obwohl der zeitliche und räumliche Verlauf der Kern- und Chloroplastenmigration z. T. kinematographisch ausführlich untersucht wurde (KIERMAYER 1966a, b, 1976a), sind die physiologischen Grundlagen dieser Prozesse noch weitgehend unbekannt. Erste Einblicke in den möglichen Mechanismus der Kern- und Chloroplastenmigration brachten Untersuchungen mit Antimikrotubuli-Stoffen, die eine Störung der Kern- und Chloroplastenmigration bewirken (KIERMAYER 1968b, 1981, KIERMAYER & HEPLER 1970, MEINDL 1980, MEINDL & KIERMAYER 1981).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen sich differenzierender *Micrasterias*-Zellen zeigten das Vorkommen cytoplasmatischer Microtubuli (MT) im Bereich des migrierenden postmitotischen Zellkernes und des Chloroplasten (KIERMAYER 1968a). Eine Beteiligung von Microtubuli an diesen Migrationsprozessen kann daher als sehr wahrscheinlich angesehen werden (z. B. MEINDL & KIERMAYER 1982).

Über weitere Untersuchungen der Kernmigration und ihrer experimentellen Beeinflussung wurde im I. Teil dieser Arbeit berichtet (MEINDL & KIERMAYER 1982).

In diesem zweiten Teil soll speziell auf die Vorgänge bei der Chloroplastenmigration sowie deren experimentelle Beeinflussung vor allem durch Antimikrotubuli-Stoffe, Antibiotika und andere Substanzen eingegangen werden.

2. Material und Methode

Als Untersuchungsobjekt vorliegender Arbeit wurden sich differenzierende Zellen der Grünalge *Micrasterias denticulata* BRÉB. verwendet.

Die Zellen wurden nach der von KIERMAYER (1964, 1970a) angegebenen Kulturmethode bei konstanter Temperatur und konstanter Beleuchtung gehalten und zur Behandlung in Blockschälchen übertragen.

Nach Absaugen der Nährlösung wurden die jungen Entwicklungsstadien mit den verschiedenen Substanzen behandelt und anschließend im Lichtmikroskop (Leitz Ortholux) untersucht. Zur genaueren Analyse der Entwicklungs- und Bewegungsprozesse wurden einerseits Serienaufnahmen hergestellt, wobei die Fotoeinrichtung durch einen elektronischen Taktgeber gesteuert wurde. Andererseits wurden auch kinematografische Untersuchungen dieser Vorgänge angestellt. Die kinematografischen Aufnahmen wurden mit dem Univar der Fa. Reichert mit angeschlossener Filmkamera (Bolex) und computergesteuerter Zeitraffereinrichtung durchgeführt.

Junge Entwicklungsstadien wurden vor Beginn der Einwanderung des Chloroplasten in die junge Halbzelle mit folgenden Stoffen behandelt: Amiprophos-methyl (APM, Fa. Bayer), Chlorisopropyl-N-phenylcarbammat (CIPC, Fa. Calbiochem), Colchicin (Fa. Serva), Deuteriumoxid (D₂O, Fa. Baker), Penicillin G (Fa. Serva), Kasugamycin (Fa. Serva), Valinomycin (Fa. Serva), Phenyl- α -naphthylamin (Fa. Lundbeck) und Glucose. Die Stoffe

Colchicin, Deuteriumoxid, Penicillin G, Kasugamycin und Glucose wurden in Aqua bidest gelöst. Die Herstellung der Lösungen von APM und CIPC erfolgte unter Zugabe von absolutem Äthanol. Valinomycin wurde in Dimethylsulfoxid (DMSO), Phenyl- α -naphthylamin in Aceton vorgelöst.

Die Lösungen wurden jeweils kurz vor Versuchsbeginn angesetzt.

3. Ergebnisse

3.1. Beeinflussung der Chloroplasteneinwanderung

3.1.1. Wirkung von MT-beeinflussenden Stoffen auf die Chloroplasteneinwanderung

Wie bereits von KIERMAYER (1968b, 1970b, 1972, 1973, 1976a) festgestellt wurde, beeinflußt die Zugabe verschiedener MT-desorganisierender Stoffe während der Cytomorphogenese von *Micrasterias* neben der Kernmigration auch die postmitotische Chloroplastenmigration (Tabelle 1).

Unter Einwirkung von APM, CIPC oder Colchicin ist der Chloroplast nach Beendigung seiner Einwanderung nicht wie bei der Normogenese gleichmäßig auf die junge Halbzelle verteilt, sondern befindet sich meist in der Nähe des Isthmus. Die genannten Stoffe bewirken somit eine Hemmung

Tabelle 1

Überblick über die Wirkung verschiedener Stoffe auf die Chloroplastenmigration von *Micrasterias*. N = normal, + = gestört

| Substanz im wirksamen Konzen- trationsbereich | Chloroplasten- einwanderung | | | | |
|---|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| | Dauer | Verteilung | Verankerung | Spreitung | Separation |
| APM | N | + | N | + | + * |
| CIPC | N | + | N | + | + * |
| Colchicin | N | + | N | + | + * |
| D ₂ O | N | N | N | N | N |
| Penicillin G | + | + | N | + | N * |
| APM+Penicillin G | N | + | N | + | + * |
| CIPC+Penicillin G | N | + | N | + | + * |
| Colchicin+Penicillin | N | + | N | + | + * |
| D ₂ O+Penicillin G | N | + | N | + | N * |
| Kasugamycin | N | nachträglich | nachträglich | nachträglich | N |
| | | + | + | + | |
| Phenyl- α -naphthylamin | N | N | N | N | + |
| Valinomycin | N | N | N | N | + |

* Die Chloroplastenseparation findet nur dann statt, wenn sich der Kern im Isthmus befindet.

der Chloroplasteneinwanderung. Wie bei der Störung der Kernmigration ist auch bezüglich ihrer Wirkung auf die Chloroplastenmigration zwischen den Stoffen APM, CIPC und Colchicin lichtmikroskopisch kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen.

Eine Abhängigkeit der Hemmung der Chloroplastenverteilung vom Stadium der Zellentwicklung zu Behandlungsbeginn erscheint nach vorliegenden Untersuchungen wahrscheinlich, ebenso besteht ein Zusammenhang zwischen der Konzentration des Behandlungsmediums und der Stärke der Störung der Chloroplastenverteilung.

Die für APM, CIPC und Colchicin beschriebene Hemmung der Chloroplastenverteilung gilt in gleicher Weise auch für Zellen, die mit einer Mischung der MT-desorganisierenden Stoffe mit D_2O in verschiedenen Konzentrationsbereichen behandelt wurden. Läßt man D_2O in verschiedenen Verdünnungsstufen auf sich teilende *Micrasterias*-Zellen einwirken (vgl. MEINDL & KIERMAYER 1982, Abb. 1), so kann nach Abschluß deren Cytomorphogenese keine Veränderung der Form und Lage des Chloroplasten in der jungen Halbzelle gegenüber einer unbehandelten Zelle festgestellt werden.

Die beobachtete Hemmung der Chloroplastenverteilung unter Einfluß MT-desorganisierender Stoffe läßt die Vermutung zu, daß die Einwanderung des Chloroplasten derartig behandelter Zellen früher zum Stillstand kommt, als dies während der Normogenese der Fall ist. Zur Untersuchung dieser Frage wurden kinematografische Untersuchungen an mit APM oder CIPC behandelten Zellen durchgeführt und die Dauer der Chloroplasteneinwanderung bei behandelten und unbehandelten Zellen bestimmt. Die erhaltenen Werte zeigen, daß bezüglich der Dauer der Chloroplasteneinwanderung bei behandelten und unbehandelten Zellen kein Unterschied besteht. Für die Zeit der Chloroplasteneinwanderung wurde ein Durchschnittswert von zweieinhalb Stunden gefunden.

Betrachtet man sich differenzierende Zellen unter Einfluß von MT-desorganisierenden Stoffen (vgl. MEINDL & KIERMAYER 1982, Abb. 2), so ist bereits in einem frühen Entwicklungsstadium zu bemerken, daß der Chloroplast nicht als einheitliche unförmige Masse und im Bezug zur Mittellinie der Zelle symmetrisch einwandert, sondern bereits eine leichte Differenzierung erfährt. Dies führt nach Abschluß der Cytomorphogenese zu der charakteristischen Störung der Chloroplastenverteilung.

Eine vollständige Reversibilität der Hemmung der Chloroplasteneinwanderung im Behandlungsmedium erfolgt nur in seltenen Fällen. Die Kombination von APM oder CIPC mit D_2O scheint eine nachträgliche gleichmäßige Verteilung des Chloroplasten in der jungen Halbzelle zu begünstigen. Mit ziemlich hoher Regelmäßigkeit zeigt sich eine Reversibilität der Hemmung der Chloroplastenverteilung, wenn die Zellen aus dem Behandlungsmedium in Aqua bidest übertragen werden. Eine gleichmäßige Aufteilung der Chloroplastenmasse erfolgt in diesem Fall meist nach einigen

Tagen. Häufig bleiben in der Zellperipherie kleine Löcher im Chloroplasten zurück, die auch nach längerem „recovery“ in Aqua bidest nicht verschwinden. Der Polarlappen und Teile der inneren Seitenlappen bleiben oft auch nach langem Belassen der Zellen in Aqua bidest chloroplastenfrei.

Eine Begünstigung der Reversibilität der Hemmung der Chloroplastenverteilung nach Übertragung der Zellen in D₂O, Nährlösung oder Glucoselösung kann nicht festgestellt werden. Bei orientierenden Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Reversibilität der Störung der Chloroplastenverteilung konnten zwischen den Temperaturen 10°, 20° und 30° C kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Analog zur Reversibilität der Kernrückverlagerungshemmung MEINDL & KIERMAYER 1982 scheint jedoch eine Temperatur von 30° C einer nachträglichen gleichmäßigen Verteilung der Chloroplastenmasse auf die junge Halbzelle eher entgegenzuwirken.

3.1.2. Wirkung von Penicillin G auf die Chloroplasteneinwanderung

Auf Grund der Untersuchungen von KUNZMANN und KIERMAYER (1978) die einen Einfluß von Antibiotica auf die Formbildung des Chloroplasten von *Micrasterias denticulata* fanden, wurde die Wirkung von Penicillin G auf sich teilende *Micrasterias*-Zellen genauer getestet. Junge Entwicklungsstadien wurden zu diesem Zweck mit Penicillin-Lösungen in einem Konzentrationsbereich zwischen $5 \times 10^{-10}\%$ und $10^{-40}\%$ behandelt.

Bei einer Konzentration von $5 \times 10^{-10}\%$ Penicillin G zeigen die Zellen eine starke Hemmung ihrer Zellformbildung, sowie eine starke Vakuolisierung des Protoplasmas und des Chloroplasten, was bereits kurze Zeit nach Behandlungsbeginn zum Zelltod führt; bei Behandlung mit $10^{-40}\%$ Penicillin können kaum noch Anomalien an den Zellen bemerkt werden.

Zellen, die in einem für *Micrasterias denticulata* wirksamen Konzentrationsbereich zwischen $10^{-10}\%$ und $5 \times 10^{-40}\%$ mit Penicillin 24 Stunden lang behandelt wurden, sind in Abb. 1 fotografisch festgehalten. Es geht daraus hervor, daß sowohl Wachstum als auch Cytomorphogenese im allgemeinen normal verlaufen. Geringfügige Hemmungen des Wachstums der jungen Halbzelle (Abb. 1 A, B, C) sowie ein Fehlen der Einschnitte höchster Ordnung treten gelegentlich auf.

Auffällig ist, daß sowohl der Chloroplast der jungen als auch der der alten Halbzelle eine starke Störung seiner Verteilung aufweist. Während sich der Chloroplast der jungen Halbzelle als unförmige dunkle Masse im Zentrum der Halbzelle befindet, ist das Zentrum der alten Halbzelle vor allem bei höheren Penicillin-Konzentrationen (Abb. 1 D: $10^{-20}\%$, E: $5 \times 10^{-20}\%$, F: $10^{-10}\%$) chloroplastenfrei. Hellgrüne Chloroplastenteile sind bei diesen Zellen „kranzförmig“ auf die Zellperipherie verteilt (Abb. 1 D, F). Als Verbindung zum Chloroplasten der jungen Halbzelle bzw. dem Isthmusbereich fungieren häufig schmale Chloroplastenbrücken (Abb. 1 E, Pfeil). Vor allem bei schwächeren Penicillin-Konzentrationen kommt es oft nicht zu der

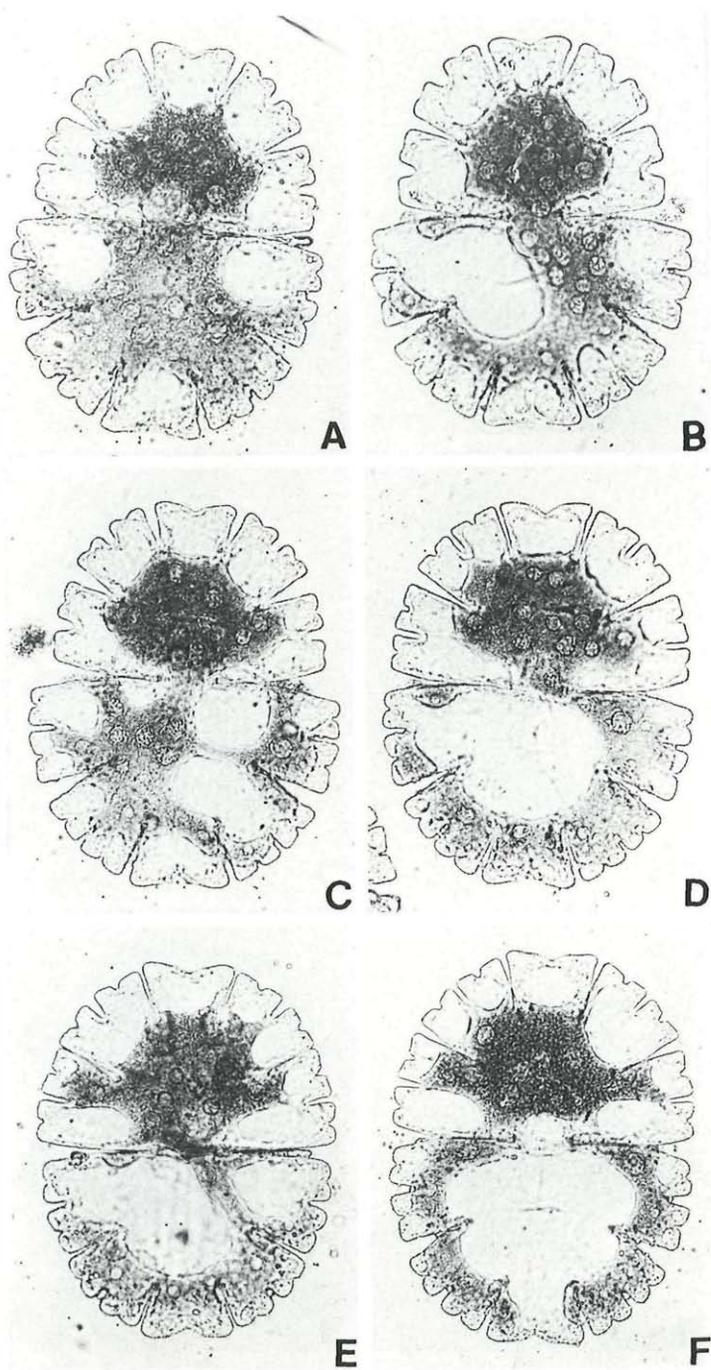


Abb. 1. *Micrasterias denticulata* nach 24-stündiger Behandlung mit Penicillin G.
A: $5 \times 10^{-4}\%$, B: $10^{-3}\%$, C: $5 \times 10^{-3}\%$, D: $10^{-2}\%$, E: $5 \times 10^{-2}\%$, F: $10^{-1}\%$

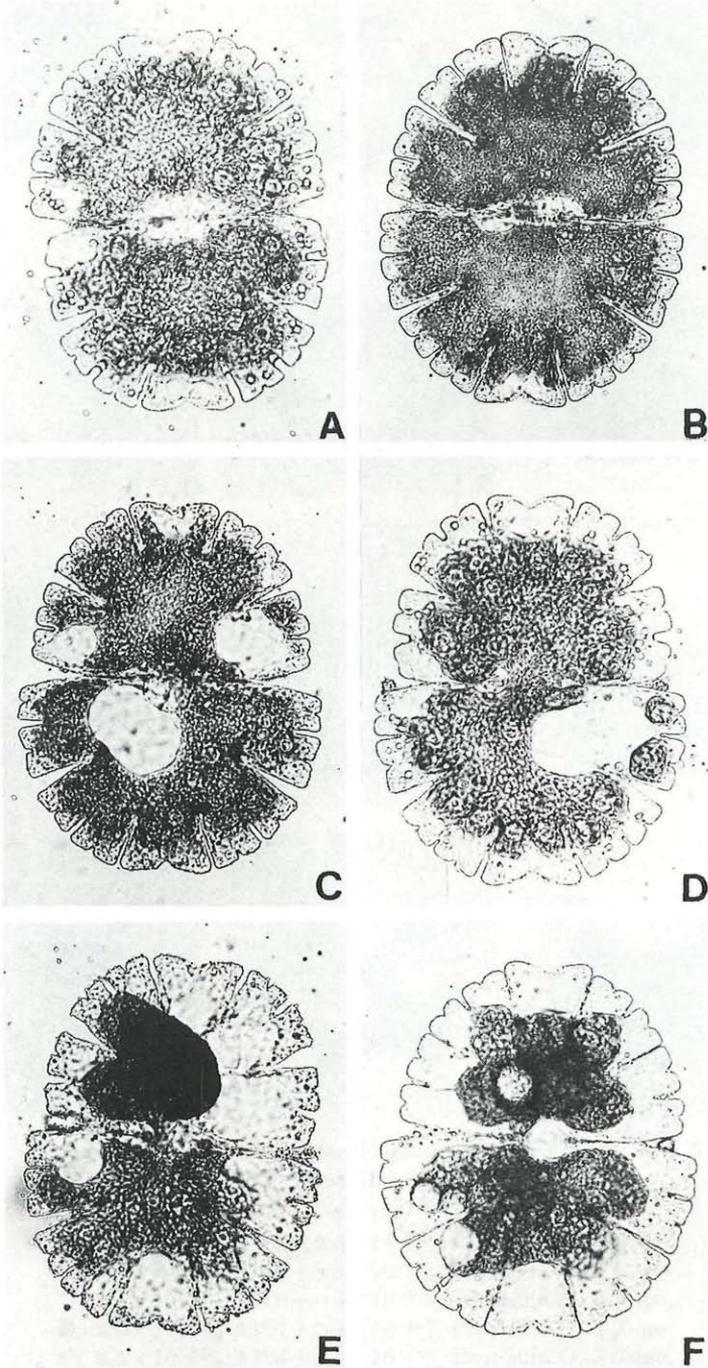


Abb. 2. *Micrasterias*-Zellen, die kurz nach Abschluß ihrer Cytomorphogenese mit Penicillin G behandelt wurden. A: $10^{-3}\%$, 7 Tage. B: $10^{-2}\%$, 17 h. C: $10^{-2}\%$, 48 h. D: $10^{-2}\%$, 7 Tage. E: $10^{-1}\%$, 7 Tage. F: $10^{-1}\%$, 11 Tage

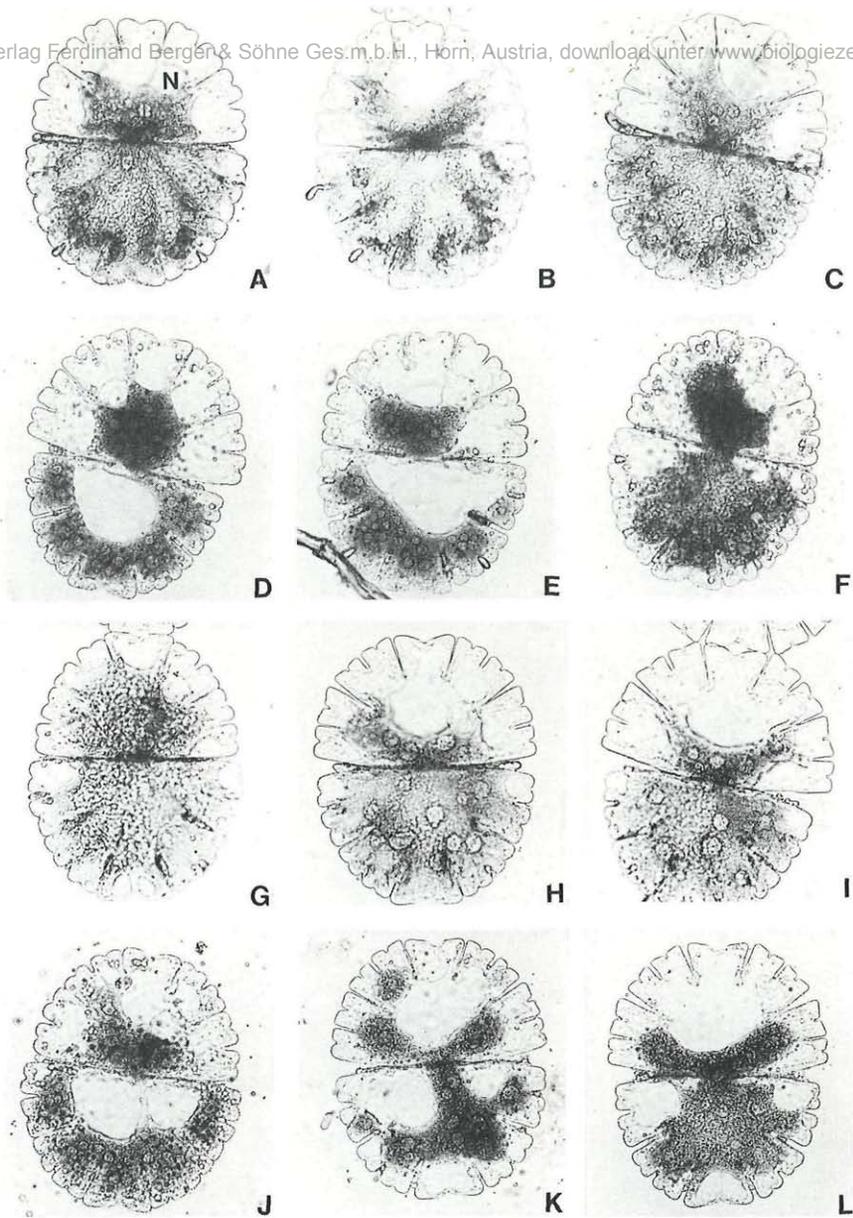


Abb. 3. *Micrasterias denticulata* unter Einfluß von Mischungen aus APM und Penicillin G.

- A: $2,5 \times 10^{-6}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 8 h.
- B: $2,5 \times 10^{-6}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 8 h.
- C: $2,5 \times 10^{-6}\%$ AMP + $5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 8 h.
- D: $2,5 \times 10^{-6}\%$ AMP + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- E: $2,5 \times 10^{-6}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- F: $2,5 \times 10^{-6}\%$ APM + $5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- G: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 8 h.
- H: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 8 h.
- I: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 8 h.
- J: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- K: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- L: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 3 Tage.

Die Zeitangaben entsprechen der Behandlungsdauer

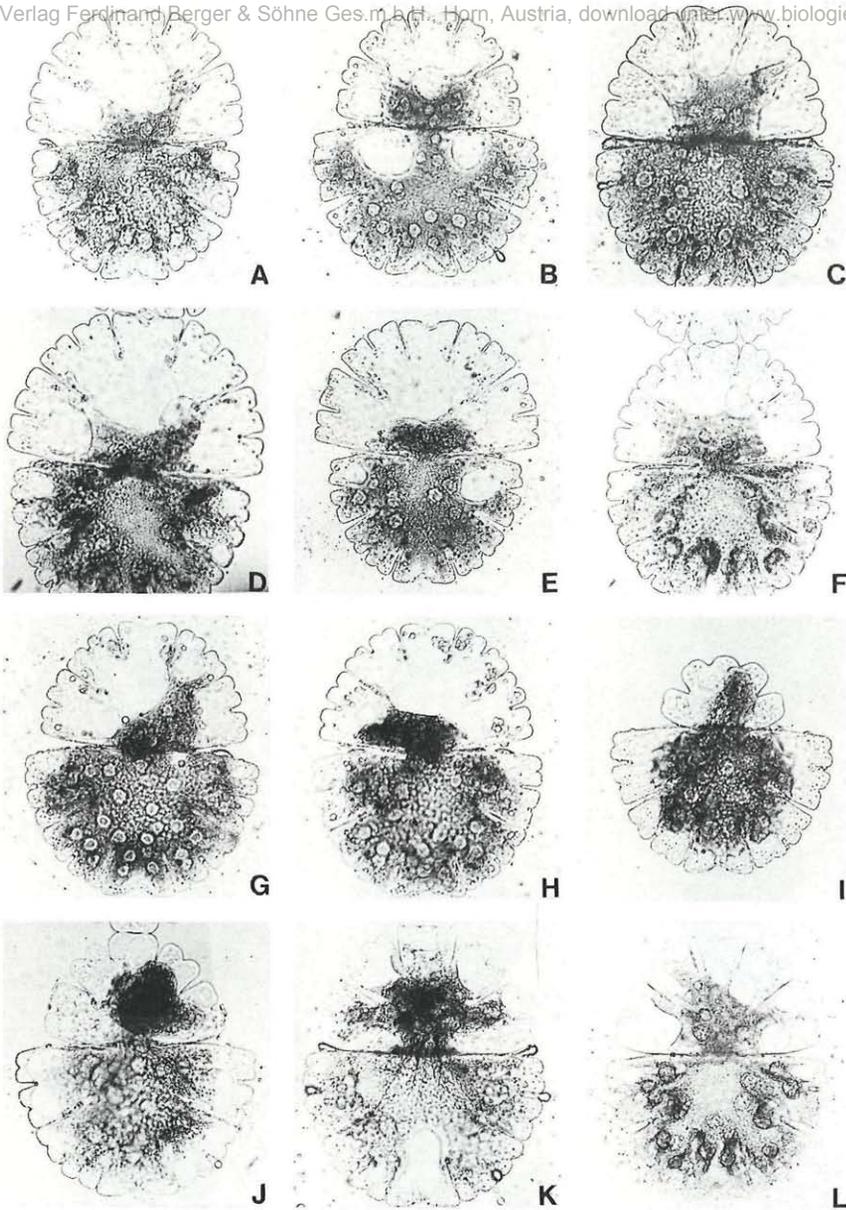


Abb. 4. *Micrasterias denticulata* unter Einwirkung von Mischungen aus APM und Penicillin G.

- A: $2,5 \times 10^{-5}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 7 h.
- B: $2,5 \times 10^{-5}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- C: $2,5 \times 10^{-5}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 7 h.
- D: $2,5 \times 10^{-5}\%$ APM + $5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 7 h.
- E: $2,5 \times 10^{-5}\%$ APM + $5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- F: $5 \times 10^{-5}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 7 h.
- G: $5 \times 10^{-5}\%$ APM + $5 \times 10^{-3}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- H: $5 \times 10^{-5}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-2}\%$ Penicillin G, 3 Tage.
- I: $5 \times 10^{-5}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-1}\%$ Penicillin G, 7 h.
- J: $2,5 \times 10^{-5}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-1}\%$ Penicillin G, 7 h.
- K: $5 \times 10^{-6}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-1}\%$ Penicillin G, 7 h.
- L: $2,5 \times 10^{-6}\%$ APM + $2,5 \times 10^{-1}\%$ Penicillin G, 7 h.

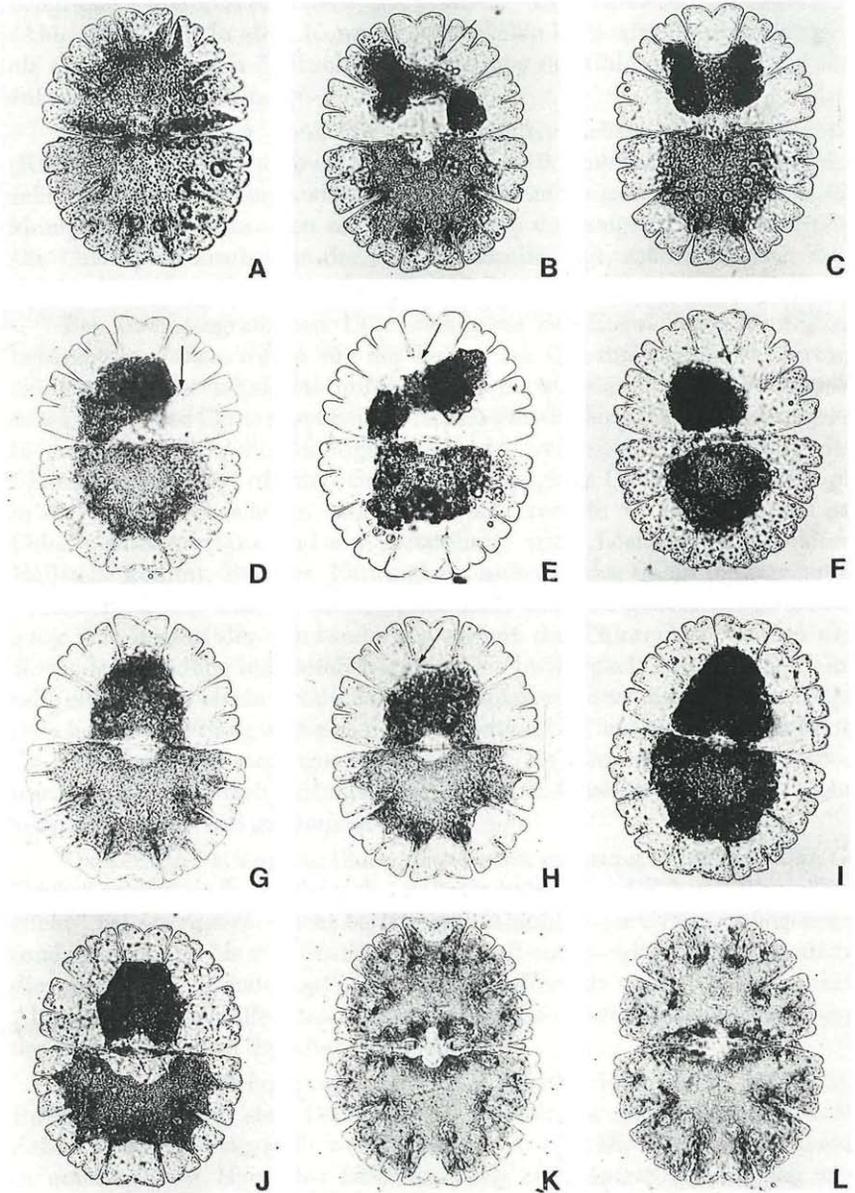


Abb. 5. *Micrasterias denticulata* nach Behandlung mit Kasugamycin in verschiedenen Konzentrationen und Behandlungszeiten. Die Pfeile weisen auf plasmatische Verbindungen zwischen Chloroplast und Lappeneinschnitte

beschriebenen „Kranzbildung“ in der Peripherie der alten Halbzelle, die hellgrüne Chloroplastenmasse ist vielmehr von Löchern durchbrochen (Abb. 1A, B, C). In allen Konzentrationsstufen fehlt sowohl in der jungen, als auch in der alten Halbzelle die Verteilung des Chloroplasten bis in die äußeren Lappenenden.

Bei Betrachtung Penicillin G behandelter Zellen in Lateralansicht (KIERMAYER 1970 a) ist zu erkennen, daß der Chloroplast der jungen Halbzelle nicht wie bei unbehandelten Zellen plattenförmig vorliegt, sondern als klumpenförmige Masse den zentralen Bereich der jungen Zellhälfte erfüllt. Die Chloroplastensubstanz der alten Halbzelle liegt, sofern sie noch vorhanden ist, axial, plattenförmig in der Halbzelle.

Bei kinematografischen Untersuchungen der Entwicklung Penicillin-behandelter Zellen wurde für die Dauer der Chloroplasteneinwanderung eine Zeit von viereinhalb bis fünf Stunden ermittelt, das ist ungefähr doppelt so lange, wie der Chloroplast bei der Normalentwicklung für sein Einströmen in die junge Halbzelle benötigt. Durch das verlängerte Einwandern des Chloroplasten dringt offenbar eine größere Menge an Chloroplastensubstanz in die junge Halbzelle ein, wodurch es andererseits zu einem Mangel an Chloroplastensubstanz und zur Entstehung von „Löchern“ in der alten Halbzelle kommt. Bei dem Einwanderungsprozeß des Chloroplasten unter Penicillin-Einfluß handelt es sich keinesfalls um eine gleichförmige Bewegung. Zu Beginn der Einwanderung strömt der Chloroplast wie bei der Normalentwicklung mit ziemlich großer Geschwindigkeit in die junge Halbzelle ein. Wenn sich ein Großteil der Chloroplastenmasse in der jungen Halbzelle befindet, verlangsamt sich die Geschwindigkeit und nimmt gegen Ende des Einwanderungsvorganges noch weiter ab. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch nach 5 Stunden die Chloroplasteneinströmung noch nicht völlig zum Stillstand gekommen ist.

Die zeitlich verlängerte Chloroplasteneinwanderung unter Penicillin G-Einfluß erklärt auch die Tatsache, daß der bereits beschriebene „Penicillineffekt“ bei *Micrasterias* nicht bereits nach Abschluß der Cytomorphogenese, sondern erst drei bis vier Stunden später voll zutage tritt. Teilungsstadien, die nur 4 bis 5 Stunden mit Penicillin G behandelt wurden, weisen nach Abschluß ihrer Zelldifferenzierung meist noch eine relativ normale Verteilung des Chloroplasten in der alten Halbzelle auf.

Neben der Wirkung auf den Chloroplasten kann nach Penicillin-Behandlung häufig eine Dislokation der Zellkerne nach abgeschlossener Zellentwicklung festgestellt werden (Abb. 1A—E). Die Kerne liegen meist in unmittelbarer Nähe des Isthmus; nach mehrtägiger Behandlung mit Penicillin G, nehmen sie ihre zentrale Position wieder ein.

Eine Reversibilität der Störung der Chloroplastenverteilung im Behandlungsmedium kann auch nach mehrwöchigem Einwirken von Penicillin G nicht beobachtet werden. Nach Übertragung Penicillin-behandelter

Zellen in Aqua bidest ist hingegen ein Bestreben zur nachträglichen gleichmäßigen Verteilung des Chloroplasten auf die ganze Zelle zu beobachten.

Werden bereits fertig entwickelte Zellen mit Penicillin G in einem wirksamen Konzentrationsbereich behandelt, so ist nach längerer Einwirkungszeit ebenfalls eine Veränderung der Chloroplastenverteilung zu beobachten. Aus Abb. 2 ist die Penicillinwirkung auf fertig entwickelte Zellen in verschiedenen Konzentrationsstufen und Behandlungszeiten ersichtlich. Alle Zellen wurden kurz nach Abschluß ihrer Entwicklung mit dem Antibiotikum behandelt.

3.1.3. Wirkung von Mischungen von Penicillin G und MT-Blocker auf die Chloroplasteneinwanderung

Da MT-desorganisierende Stoffe wie APM, CIPC und Colchicin eine Hemmung der Chloroplasteneinwanderung bewirken, die Applikation von Penicillin hingegen ein verlängertes Einströmen des Chloroplasten zur Folge hat, wurde die Wirkung von Mischungen aus Antimikrotubuli-Stoffen und Penicillin auf sich teilende Zellen untersucht.

Tabelle 2

Wirkung von Mischungen aus APM und Penicillin G auf die Chloroplastenverteilung von *Micrasterias* nach 7 Stunden und 3 Tagen. aHZ alte Halbzelle, jHZ junge Halbzelle, N = normal, + = typische APM-Wirkung, O = typische Penicillin-Wirkung, ⊕ sowohl APM- als auch Penicillin-Wirkung, - = nicht zu bestimmen (Zellen tot). Die Anzahl der Symbole entspricht der Intensität der Wirkung

| Mischung: | | 7 Std. | | 3 Tage | |
|------------------------|------------------------|--------|-----|--------|-----|
| AMP | Penicillin G | aHZ | jHZ | aHZ | jHZ |
| $5 \times 10^{-6}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | ++ | OOO | ++ |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | OO | +++ |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | O | +++ |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | ⊕ | ⊕⊕ | - | - |
| $2,5 \times 10^{-5}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | +++ | O | +++ |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | - | - |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | O | +++ |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | ⊕⊕ | ⊕ | - | - |
| $5 \times 10^{-5}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | +++ | N | +++ |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | N | +++ |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | - | - |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | O | +++ | - | - |
| $2,5 \times 10^{-4}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | ++ | OOO | ++ |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | ++ | OOO | ++ |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | ++ | O | ++ |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | N | ++ | - | - |

Die Tabellen 2 und 3 fassen die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammen. Die Abb. 3 und 4 veranschaulichen das Erscheinungsbild der mit Mischungen aus APM und Penicillin in verschiedenen Konzentrationsstufen behandelten Zellen. Obwohl gelegentlich geringfügige Unterschiede auftreten, haben die Stoffe APM, CIPC und Colchicin bei ihrer Mischung mit Penicillin auf die Einwanderung und Verteilung des Chloroplasten von *Micrasterias* die gleiche Wirkung. Nach 8-stündiger Behandlungszeit ist keine Penicillinwirkung bemerkbar. Es kommt weder zu Lochbildungen in der alten Halbzelle, noch zur Entstehung von Chloroplastenklumpen in der jungen Halbzelle. Das Erscheinungsbild der Zellen gleicht dem mit MT-Blockern behandelte Zellen. Alle Zellkerne sind verlagert, Wachstum und Cytomorphogenese verlaufen normal. Untersucht man die Chloroplasteneinwanderung derartig behandelte Zellen kinematografisch, so zeigt sich, daß das Einstürmen des Chloroplasten in die junge Halbzelle wie bei der Normogenese nach ca. zweieinhalb Stunden abgeschlossen ist. Zusammenfassend kann daher von einer antagonistischen Wirkung zwischen MT-desorganisierenden Stoffen und Penicillin auf die Chloroplasteneinwanderung von *Micrasterias* gesprochen werden.

Wie aus den Abb. 3 und 4 hervorgeht, tritt bei einer Behandlungszeit von drei Tagen mit den gleichen Mischungen aus MT-Blockern und Penicillin der „Penicillineffekt“ auf den Chloroplasten nachträglich zutage. Bei allen

Tabelle 3

Wirkung von Mischungen aus CIPC und Penicillin G auf die Chloroplastenverteilung von *Micrasterias* nach 7 Stunden und 3 Tagen. Symbole vgl. Tabelle 2

| Mischung: | | 7 Std. | | 3 Tage | |
|----------------------|------------------------|--------|-----|--------|-----|
| CIPC | Penicillin G | aHZ | jHZ | aHZ | jHZ |
| $5 \times 10^{-5}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | ++ | OOO | ++ |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | N | +++ |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | N | +++ |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | N | +++ | — | — |
| $10^{-4}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | +++ | N | O |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | N | O |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | O | O |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | O | ⊕⊕ | — | — |
| $5 \times 10^{-4}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | ++ | N | O |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | ++ | N | O |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | ++ | O | O |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | O | ⊕ | — | — |
| $10^{-4}\%$ | $5 \times 10^{-3}\%$ | N | +++ | N | O |
| | $2,5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | O | OO |
| | $5 \times 10^{-2}\%$ | N | +++ | O | OO |
| | $2,5 \times 10^{-1}\%$ | O | ⊕⊕ | — | — |

Zellen liegt der Zellkern jedoch unverändert an verschiedenen Orten innerhalb der jungen Halbzelle. Häufig ist bei den drei Tage lang behandelten Zellen das Auftreten von zahlreichen Öltropfen in der Zellperipherie zu bemerken, was auf Degenerationserscheinungen hindeutet. Die Wirkung der Mischung der einzelnen MT-Blocker mit Penicillin auf die übrigen Abschnitte der Chloroplastenmigration sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Überraschender Weise zeigte das als MT-stabilisierender Stoff bekannte D_2O bei Mischung mit Penicillin die gleiche Wirkung auf die Chloroplastenverteilung, wie die MT-desorganisierenden Substanzen, allerdings in etwas abgeschwächter Form. Die Zellen zeigen nach eintägiger Behandlung zwar ein Zusammenziehen des Chloroplasten der jungen Halbzelle, was auf eine Penicillinwirkung schließen läßt, eine Lochbildung in der alten Halbzelle tritt jedoch nicht auf. Ein leichtes Zurückziehen des Chloroplasten aus dem Isthmusbereich der alten Halbzelle ist häufig. Werden die Zellen über einen längeren Zeitraum (20 Tage) im Behandlungsmedium belassen, so wird die Penicillinwirkung offensichtlich rückgängig gemacht, der Chloroplast verteilt sich wieder gleichmäßig auf die Zelle. Der Zellkern von mit D_2O + Penicillin G behandelten Zellen befindet sich nach abgeschlossener Cytomorphogenese meist in Isthmusnähe. Mehrere Tage nach Teilungsbeginn verankert er sich im Isthmus und wird dort durch die anschließend stattfindende Chloroplastenseparation sichtbar (vgl. Tabelle 1).

3.2. Beeinflussung der Verankerung und Spreitung der Chloroplasten

Aus Untersuchungen von EIBL (1939, 1941) sowie von KIERMAYER (1964, 1966 a, 1973, 1976 a) geht hervor, daß der Chloroplast der unbehandelten *Micrasterias*-Zellen nach seiner Kontaktfindung in der Zellperipherie durch feine Plasmastränge an den Fixationszonen (= Lappeneinschnitten) verankert ist. Nachfolgend beschriebene Untersuchungen sollen klären, wieweit sich die bei den vorangegangenen Versuchen verwendeten Substanzen auf die Verankerung des Chloroplasten sowohl in der alten, als auch in der jungen Halbzelle auswirken und wieweit sie seine Ausbreitung bis in die Zellperipherie (= Spreitung) beeinflussen. Außerdem soll die Wirkung des Antibiotikums Kasugamycin (KM) auf den Chloroplasten beschrieben werden. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Wirkung der verwendeten Stoffe auf den Chloroplasten von *Micrasterias denticulata*.

Bei Betrachtung der mit APM, CIPC oder Colchicin sowie deren Mischung mit D_2O behandelten Zellen ist zu erkennen, daß trotz der Hemmung der Chloroplastenverteilung die Verbindung des Chloroplasten zu den Lappeneinschnitten keineswegs unterbrochen ist. Einerseits steht der Chloroplast direkt mit den Lappeneinschnitten in Kontakt, andererseits befinden sich zwischen Chloroplast und Lappeneinschnitten häufig Plasmafäden. Dasselbe gilt für mit Penicillin oder dessen Mischung mit APM, CIPC, Colchicin oder D_2O behandelte Zellen.

Durch Färbung mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN (RUTHMANN 1966) treten die Plasmafäden noch deutlicher zutage. Es ist zu erkennen, daß die plasmatischen Verbindungen nicht nur direkt an den Lappeneinschnitten, sondern auch an den dazwischen liegenden Bereichen der Zellperipherie ansetzen können. Dadurch ist eine Unterscheidung in zwei Gruppen von Plasmafäden möglich: die erste Gruppe reicht vom Chloroplasten zu den Lappeneinschnitten und dient wahrscheinlich der groben Verankerung des Chloroplasten nach seiner Einwanderung in die junge Halbzelle. Die zweite Gruppe besteht aus Plasmafäden, die zwischen den oben beschriebenen liegen und für die Befestigung des zwischen den eigentlichen „Aufhängungen“ liegenden Chloroplastenmaterials und damit für die Spreitung des Chloroplasten verantwortlich sein könnten.

Da die erste Gruppe der Plasmafäden unter Einwirkung von MT-desorganisierenden Stoffen und Penicillin G sowie aller getesteten Mischungen ihre Funktion offenbar erfüllen, verläuft die Chloroplastenverankerung nach Behandlung mit oben genannten Stoffen normal.

Im Gegensatz dazu scheinen die für die Chloroplastenspreitung verantwortlichen plasmatischen Verbindungen unter Einfluß der genannten Stoffe ihre Kontraktionsfähigkeit offensichtlich verloren zu haben, sodaß von einer Hemmung der Chloroplastenspreitung gesprochen werden kann.

Ein von diesen Ergebnissen abweichendes Resultat erhält man nach der Behandlung von sich teilenden *Micrasterias*-Zellen mit dem Antibiotikum Kasugamycin (KM) in einem Konzentrationsbereich zwischen 10^{-3} und $10^{-10}\%$ (Abb. 5). Wachstum und Formbildung der in frühen Teilungsstadien mit diesem Stoff behandelten Zellen verlaufen, bis auf geringfügige Formstörungen der äußeren Seitenlappen normal (Abb. 5). Auch die Kern- und Chloroplastenmigration scheint zunächst ungestört abzulaufen. Aus kinematografischen Untersuchungen ergeben sich für die Dauer der Chloroplasteneinwanderung Werte von ca. zweieinhalb Stunden, was der bei der Normalentwicklung für das Einströmen des Chloroplasten benötigten Zeit entspricht. Selbst nach 6-stündiger Behandlungsdauer mit $10^{-10}\%$ Kasugamycin weist der Chloroplast noch eine relativ normale Verteilung innerhalb der jungen Halbzelle auf. Danach zieht sich der Chloroplast jedoch langsam aus der Zellperipherie zurück. Nach 3-tägiger Behandlungszeit ist meist der größte Teil der jungen Halbzelle chloroplastenfrei, die Chloroplastenmasse erscheint zu einem Klumpen kontrahiert (Abb. 5).

Im Unterschied zu den mit Penicillin G behandelten Zellen, handelt es sich hier nicht um einen einheitlich dunkel gefärbten Chloroplastenklumpen. Es ist vielmehr eine Differenzierung in dunkel und weniger dunkel gefärbte Bereiche zu erkennen, was auf eine Faltung des ursprünglich plattenförmig vorliegenden Chloroplasten schließen läßt. Die Chloroplastenränder scheinen dabei nach innen umgeklappt zu sein, was zur Entstehung von stark veränderten Chloroplastenformen führt (Abb. 5).

Verbleiben die Zellen noch länger in der Kasugamycinlösung (13 Tage; Abb. 5E, F) so kommt es auch in der alten Halbzelle zu Faltungen oder zur Kontraktion des Chloroplasten. Das Protoplasma von langzeitig mit KM behandelten Zellen scheint häufig eine „schaumige“ Struktur zu besitzen (Abb. 5J). Eine Vakuolenkontraktion kann bei allen mit $10^{-1}\%$ und $10-2\%$ KM behandelten Zellen beobachtet werden (Abb. 5B—J).

Besondere Beachtung muß der Tatsache geschenkt werden, daß bei allen *Micrasterias*-Zellen, die mehrere Tage mit KM (im Konzentrationsbereich zwischen 10^{-2} und $10^{-1}\%$) behandelt werden, zwischen den Chloroplasten und der Zellperipherie keine Plasmafäden sichtbar sind (Abb. 5B—J). Eine Verbindung des Chloroplasten besteht, sofern überhaupt vorhanden, nur mit den Einschnitten 1., 2. und 3. Ordnung.

Die beschriebenen Ergebnisse führen zu dem Schluß, daß die Behandlung von *Micrasterias*-Zellen mit KM in einem Konzentrationsbereich zwischen 10^{-2} und $10^{-1}\%$ nachträglich zu einer Beeinträchtigung der Chloroplastenverankerung und -spreitung führt. Während die Chloroplastenspreitung offensichtlich durch Verlust der dazu nötigen Plasmafäden nachträglich verloren geht, ist eine grobe Verankerung der Chloroplastenmasse an den Lappeneinschnitten auch nach mehrtägiger Behandlung vorhanden. Da die Verbindung zu den Einschnitten höherer Ordnung fehlen, muß trotzdem von einer Störung der Chloroplastenverankerung unter KM-Einfluß gesprochen werden.

3.3. Ablauf der Chloroplastenseparation während der Normogenese und dessen Beeinflussung durch verschiedene Stoffe

Ungefähr 8 bis 9 Stunden nach abgeschlossener Cytomorphogenese beginnt die Trennung der Chloroplasten der beiden Halbzellen im Isthmus. Kinematografische Untersuchungen (MEINDL 1981) zeigten, daß die Chloroplastenseparation von beiden Isthmuseinschnitten her in Richtung Isthmusmitte erfolgt. Dabei kommt es anfänglich zu Lochbildungen in der Chloroplastenmasse an beiden Einschnitten. Während der darauffolgenden Stunden werden die Löcher vergrößert und sind gegen Ende der Separation nur noch durch eine schmale Chloroplastenbrücke voneinander getrennt. Schließlich erfolgt durch Durchreißen der Chloroplastenbrücke die vollständige Trennung der Chloroplasten der beiden Halbzellen, der Zellkern wird in diesem Augenblick im Isthmus deutlich sichtbar. Der gesamte Prozeß der Chloroplastenseparation während der Normogenese dauert ungefähr 10 bis 12 Stunden und ist begleitet von einer starken bei Zeitraffung erkennbaren Bewegung der Chloroplastenmasse im Isthmusbereich. Über Ursache und Mechanismus der Chloroplastenseparation bei *Micrasterias* liegen noch keine Ergebnisse vor.

Bei Betrachtung der Entwicklung von *Micrasterias*-Zellen unter dem Einfluß verschiedener Stoffe (z. B. MT-Blocker) kann festgestellt werden, daß bei allen Zellen deren Kern sich nicht im Isthmus befindet ausnahmslos

keine Chloroplastenseparation stattfindet. Sobald der Kern jedoch im Isthmus liegt, verläuft die Chloroplastenseparation normal. Die Chloroplastenseparation scheint somit an die Gegenwart des Zellkernes im Isthmus gebunden zu sein.

Zu einer deutlichen Hemmung der Chloroplastenseparation im Isthmus kommt es unter Einwirkung von Phenyl- α -naphthylamin, einem Bestandteil des Psychopharmakons Vinydan.

Bei allen Konzentrationsstufen dieses Stoffes zwischen 10^{-2} und $10^{-3}\%$ findet nach eintägiger Behandlungsdauer keine Trennung des Chloroplasten statt, obwohl bei allen Zellen der Kern im Isthmus liegt. Nach längerer Behandlung mit Phenyl- α -naphthylamin treten bei schwächeren Konzentrationen teilweise mehr oder weniger vollkommene Chloroplastenseparationen auf, oft ist jedoch auch nach mehreren Tagen keine Trennung der Chloroplasten der beiden Halbzellen zu verzeichnen.

Eine ähnliche Wirkung auf die Chloroplastenseparation wie Phenyl- α -naphthylamin hat das Antibiotikum Valinomycin in einem Konzentrationsbereich zwischen 10^{-3} und $10^{-5}\%$. Allerdings hat es neben der Hemmung der Chloroplastentrennung auch Störungen des Wachstums und der Zellform zur Folge.

4. Diskussion

Aufgrund der Beobachtung der Chloroplastenmigration unbehandelter Zellen von *Micrasterias denticulata* erscheint es sinnvoll diesen Entwicklungsprozeß in vier Abschnitte zu unterteilen.

Zu Beginn der Entwicklung der Zelle und während ihrer Differenzierung erfolgt 1. die Einwanderung des Chloroplasten in die junge Halbzelle, die bereits von KIERMAYER & JAROSCH (1962) für *Micrasterias rotata* und von KIERMAYER (1976a, b) aufgrund kinematografischer Untersuchungen für *Micrasterias denticulata* beschrieben wurde. Ist ein Teil der Chloroplastenmasse in die junge Halbzelle eingedrungen, so erfolgt nach Ausbildung sog. „Chloroplastenzungen“ 2. die Verankerung des Chloroplasten an den Lappeneinschnitten der Zelle (KIERMAYER 1976a). Die Beteiligung von feinen Plasmafäden an diesem Verankerungsvorgang wurde bereits von EIBL (1939, 1941), KOPETZKY-RECHTERG (1955), sowie von KIERMAYER (1964) beobachtet. Als 3. Abschnitt der Chloroplastendifferenzierung wurde in vorliegender Arbeit die Chloroplastenspreitung bezeichnet. Darunter ist derjenige Vorgang zu verstehen, der durch ein Ausbreiten der zwischen den „Aufhängungen“ liegenden Chloroplastensubstanz eine gleichmäßige Verteilung des Chloroplasten bis in die äußersten Bereiche der Zellperipherie bewirkt. Die lichtmikroskopische Untersuchung dieses Prozesses führte zu der Kenntnis, daß die Spreitung des Chloroplasten wie dessen Verankerung mit Hilfe feiner Plasmafäden erfolgt, die aber im Gegensatz zur Chloroplastenverankerung nicht an den Lappeneinschnitten, sondern an den dazwischenliegenden Bereichen der Zellperipherie ansetzen. Den 4. und

letzten Abschnitt der Chloroplastendifferenzierung stellt die Separation des Chloroplasten im Isthmus ca. 8 bis 9 Stunden nach abgeschlossener Cytomorphogenese dar. Aus kinematografischen Untersuchungen geht hervor, daß die Trennung des Chloroplasten von den beiden Isthmuseinschnitten her in Richtung Isthmusmitte verläuft.

Die bisher über die Bewegung des Chloroplasten bei verschiedenen Objekten durchgeführten Untersuchungen (SCHÖNBOHM 1973, HAUPT 1977) erstrecken sich hauptsächlich auf lichtinduzierte Drehungen von bereits fertig entwickelten Plastiden, die einerseits durch Cytochalasin B (SCHÖNBOHM 1973) und andererseits durch Colchicin (BRITZ 1975) gehemmt werden können.

In engem Zusammenhang mit der Plasmaströmung steht die Chloroplastenbewegung von *Acetabularia* (KOOP et al. 1978, BRODA et al. 1979). KOOP & KIERMAYER (1980 a, b) stellten in ihren Untersuchungen zur Plasmaströmung verschiedener Entwicklungsstadien von *Acetabularia mediterranea* fest, daß die Chloroplastenmigration gegenüber einer Behandlung mit Colchicin, CIPC und APM unempfindlich.

Unter Einwirkung von APM, CIPC und Colchicin zeigt sich in deren wirksamen Konzentrationsbereich bei *Micrasterias* eine charakteristische Störung der Einwanderung und damit der Verteilung des Chloroplasten der jungen Halbzelle, die von KIERMAYER (1968 b, 1973, 1976 a) und KIERMAYER & FEDTKE (1977) für die oben genannten Stoffe sowie auch für Vinblastin (KIERMAYER 1968 b), IPC (KIERMAYER & HEPLER 1970) und Trifluralin (KIERMAYER 1972) beschrieben wurde.

Durch die Wirkung der MT-Blocker (APM, CIPC, Colchicin) wird, wie in vorliegender Arbeit gezeigt werden konnte, außerdem vielfach die Einwanderung des Chloroplasten stark gehemmt. Es scheint daher wahrscheinlich, daß die Chloroplasteneinwanderung einen MT-abhängigen Prozeß darstellt. Da nach Applikation von APM, CIPC und Colchicin eine Zerklüftung des Protoplasmas beobachtet wurde, die möglicherweise auf eine Desorganisation der MT zurückzuführen ist (KIERMAYER 1973), scheint es wahrscheinlich, daß diese Veränderung der plasmatischen Gesamtstruktur zusätzlich zu einer Störung der Verteilung des Chloroplasten führt.

Es muß jedoch für sehr wahrscheinlich gehalten werden, daß auch Mikrofilamente an diesem Bewegungsprozeß beteiligt sind.

Unter Einfluß von Penicillin G wurde bei lichtmikroskopischen Untersuchungen an *Micrasterias denticulata* eine starke Chloroplastenkontraktion (Bildung eines dunklen Chloroplastenklumpen) in der jungen und die Entstehung von einem oder mehreren Löchern im zentralen Chloroplastenbereich der alten Halbzelle beobachtet. Von ähnlichen Kontraktionen bzw. Fragmentierungen des Chloroplasten berichten DRAWERT & MIX (1961) in ihrer Arbeit über den Einfluß von Antibiotika auf die Chloroplastenstruktur von *Micrasterias rotata*.

Während nach KUNZMANN & KIERMAYER (1978) diese Störung der Chloroplastenverteilung auf eine „Hemmung der Chloroplastenmigration“ zurückgeführt wurde, muß aufgrund der kinematografischen Untersuchung vorliegender Arbeit die Entstehung dieser anomalen Chloroplastenverteilung durch ein zeitlich verlängertes Einwandern des Chloroplasten in die junge Halbzelle erklärt werden.

Aufgrund der geschilderten Ergebnisse muß angenommen werden, daß die intakte unbehandelte *Micrasterias*-Zelle einen Mechanismus besitzt, der die Einwanderung des Chloroplasten in die junge Zellhälfte zu einem bestimmten Zeitpunkt zum Stillstand bringt. Dieser Mechanismus dürfte durch die Einwirkung von Penicillin gestört werden. Ob es sich bei dem „regulierenden Faktor“ um ein bestimmtes Protein oder eine Gruppe von Proteinen handelt, die durch Penicillin angegriffen werden, oder ob das wahrscheinlich für die Chloroplasteneinwanderung verantwortliche MT-System dabei eine Rolle spielt kann derzeit noch nicht gesagt werden.

Neben seiner Beeinflussung der Chloroplasteneinwanderung übt Penicillin G auch eine Wirkung auf die Position des Zellkernes nach dessen postmitotischer Migration (vgl. MEINDL & KIERMAYER 1981, 1982) aus. Nach abgeschlossener Cytomorphogenese liegt der Zellkern häufig neben dem Isthmus, er nimmt meist erst nach mehreren Tagen seine zentrale Position wieder ein. Diese Art der Kernverlagerung kann einerseits durch eine schwache Beeinflussung des für die Kernmigration verantwortlich MT-Systems, oder andererseits durch ein zeitlich verlängertes Einstromen des Chloroplasten erklärt werden. Aus letzterem wird auch die Bedeutung deutlich, die der Kernmigration im allgemeinen offenbar zukommt. Sie liegt darin, daß der Zellkern durch sein Einwandern in die junge Halbzelle und Entfernung aus dem Isthmus das Eindringen der Plasma- und Chloroplastenmasse durch den schmalen Isthmusbereich ermöglicht.

Sowohl APM, CIPC und Colchicin als auch D_2O üben bei gleichzeitiger Applikation mit Penicillin einen antagonistischen Effekt auf die Penicillin-induzierte zeitliche Verlängerung der Chloroplasteneinwanderung aus (MEINDL & KIERMAYER 1979). Es kann angenommen werden, daß es sich dabei nur um eine Verzögerung des „Penicillineffektes“ auf den Chloroplasten handelt. Worauf diese Verzögerung beruht, kann aufgrund vorliegender Untersuchungen nicht gesagt werden. Es darf jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß Penicillin G auf irgendeine Weise das wahrscheinlich für die Chloroplasteneinwanderung verantwortliche MT-System beeinflusst (MEINDL & KIERMAYER 1979).

Sowohl nach Behandlung von sich teilenden *Micrasterias*-Zellen mit APM, CIPC und Colchicin, als auch nach Applikation von Penicillin G in verschiedenen Konzentrationsbereichen, konnte eine Verankerung der Chloroplastenmasse an den von KIERMAYER (1964) definierten Fixationszonen (Lappeneinschnitten) durch feine Plasmafäden beobachtet werden. Die genannten MT-Hemmstoffe bewirken dabei offensichtlich eine Hem-

mung der Kontraktionsfähigkeit der bei unbehandelten Zellen nicht sichtbaren (kontrahierten) Plasmafäden. Bei Penicillin-Behandlung scheinen häufig sowohl die „Aufhängungen“ des kontrahierten Chloroplasten der jungen, als auch die der alten Halbzelle gedehnt zu sein. Dabei muß betont werden, daß hauptsächlich die Verbindung zwischen Chloroplasten und den Einschnitten höherer Ordnung gedehnt sind, während die Chloroplastenmasse mit den Einschnitten erster und zweiter Ordnung meist in engem Kontakt steht.

Die Tatsache, daß bei „recovery“ der Zellen in Aqua bidest eine Restituierung der normalen Chloroplastenform und damit eine Verkürzung der Plasmafäden bis zu ihrem völligen Verschwinden erfolgt, macht deutlich, daß es sich bei den plasmatischen „Aufhängungen“ des Chloroplasten um äußerst elastische Strukturen handelt. Aus diesem Grund und bei Vergleich mit den bereits zitierten Untersuchungen über verschiedene Chloroplastenbewegungen (SCHÖNBOHM 1973, HAUPT 1977) scheint es wahrscheinlich, daß die Plasmafäden möglicherweise Mikrofilamente enthalten, die für Bewegungs- und Verankerungsvorgänge des Chloroplasten verantwortlich sein dürften.

Obwohl das Antibiotikum Kasugamycin als Proteinsynthesehemmer bekannt ist (TANAKA *et al.* 1966), führt eine Behandlung von wachsenden *Micrasterias*-Zellen nicht zu der charakteristischen Formstörung, wie sie für andere Inhibitoren der Proteinsynthese beschrieben werden (TIPPIT und PICKETT-HEAPS 1974, HACKSTEIN-ANDERS 1975, NOGUCHI und UEDA 1979, KIERMAYER und MEINDL 1980 a, b, MEINDL 1981). Hinsichtlich seiner Wirkung auf die Verankerung und Spreitung des Chloroplasten von *Micrasterias* unterscheidet sich das Antibiotikum von den übrigen verwendeten Stoffen dadurch, daß Plasmafäden nur vereinzelt zwischen dem Chloroplasten und den Einschnitten erster, zweiter und dritter Ordnung vorhanden sind. Die plasmatischen Verbindungen zu den Fixationszonen höherer Ordnung, sowie die für die Spreitung verantwortlichen Plasmafäden fehlen völlig. Das Protoplasma der Zellen weist nach längerer Behandlungsdauer häufig „schaumige“ Struktur auf, was nach Angaben von EIBL (1941) auf das Abreißen von Plasmafäden zurückzuführen ist. Kasugamycin bewirkt daher offensichtlich eine Störung der Chloroplastenverankerung, sowie eine durch Zerstörung der dafür nötigen Plasmafäden, irreversible Hemmung der Chloroplastenspreitung. Die Folge dieser Veränderung ist eine dreidimensionale Verformung des Chloroplasten der alten und der jungen Halbzelle, die wahrscheinlich durch Faltung des ursprünglich plattenförmigen Chloroplasten zustande kommt. Ob Kasugamycin einen Effekt auf Mikrofilamente bewirkt muß weiter untersucht werden.

Aufgrund kinematografischer Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß die Separation des Chloroplasten im Isthmus von einer starken bei Zeitraffung erkennbaren, pulsierenden Bewegung der Chloroplastenmasse des umliegenden Bereiches begleitet ist. Es liegt daher die Ver-

mutung nahe, daß die von KIERMAYER (1976b) in der alten Halbzelle festgestellte rhythmische „Pumpbewegung“ des Chloroplasten während der Zellentwicklung im Zusammenhang mit der Separation steht.

Unter Einfluß von Phenyl- α -naphthylamin und Valinomycin kommt es zu einer Hemmung der Chloroplastenseparation bzw. zu einer Verzögerung dieses Vorganges bei schwacher Konzentration der Stoffe, obwohl sich der Zellkern nach Beendigung seiner Migration im Isthmus befindet. Daraus kann geschlossen werden, daß neben der Anwesenheit des Kernes im Isthmus und eines vermutlich intakten MT-Systemes noch ein weiterer durch diese Stoffe beeinflussbarer Faktor die Voraussetzung für eine normale Chloroplastenseparation darstellt. Dieser Faktor könnte mit den beobachteten rhythmischen Chloroplastenkontraktionen in Zusammenhang stehen.

Die Arbeit wurde vom Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung (Projekt 3660 und 4243) unterstützt.

Literaturverzeichnis

- BRITZ S. J. 1975. Inhibitor studies on the mechanism of chloroplast movement in *Ulva*. — Carnegie Institution of Washington, Yearbook 74: 803–805.
- BRODA H., SCHWEIGER G., KOOP H.-U., SCHMID R. & SCHWEIGER, H.-G. 1979. Chloroplast migration: a method for continuously monitoring a circadian rhythm in a single cell of *Acetabularia*. In: Developmental Biology of *Acetabularia*. BONOTTO S., KEFELI V. & PUISEUX-DAO S. (eds.). — Elsevier/North-Holland and Biomedical Press.
- DRAWERT H. & MIX M. 1961. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. Der Einfluß von Antibiotika auf die Chloroplastenstruktur bei *Micrasterias rotata*. — *Planta* 57: 51–70.
- EIBL K. 1938. Kontraktion der Chromatophoren bei *Micrasterias rotata*. *Protoplasma* 32: 251–264.
- 1941. Die Restitution der Chromatophorenform bei *Micrasterias rotata* nach Schleuderung. — *Protoplasma* 35: 595–617.
- HACKSTEIN-ANDERS Ch. 1975. Untersuchungen zur Cytomorphogenese von *Micrasterias thomasi* und *Micrasterias denticulata* BRÉB. unter Einfluß von Actinomycin D und Ethidiumbromid. — *Protoplasma* 86: 83–105.
- HAUPT W. 1977. Bewegungsphysiologie der Pflanzen. — Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- KIERMAYER O. 1964. Untersuchungen über die Morphogenese und Zellwandbildung bei *Micrasterias denticulata* BRÉB. — *Protoplasma* 59: 97–132.
- 1966a. *Micrasterias denticulata* (*Desmidiaceae*) — Morphogenese, Film E 868. — Inst. Wiss. Film, Göttingen.
- 1966b. Differenzierung und Wachstum von *Micrasterias denticulata* (*Conjugatae*) Film C 924. — Inst. Wiss. Film, Göttingen.
- 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 (6): 299–300.

- KIERMAYER O. 1970 a. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* BRÉB. I. Allgemeiner Überblick. — *Protoplasma* 69: 97—132.
- 1970 b. Causal aspects of cytomorphogenesis in *Micrasterias*. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 175: 686—701.
- 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*.
- 1976 a. Formbildung des Chloroplasten von *Micrasterias denticulata* (*Desmidiaceae*). Film B 1106. — *Inst. Wiss. Film, Göttingen*.
- 1976 b. Rhythmische Kontraktionen des Chloroplasten von *Micrasterias denticulata* BRÉB., dargestellt durch kinematografische Zeitraffung. — *Mikroskopie* 32: 301—304.
- 1981. Cytoplasmic basis of morphogenesis in *Micrasterias*. In: *Cytomorphogenesis in Plants* (KIERMAYER O. ed.). — Springer Verlag, Wien—New York.
- & 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* 57: 252.
- & JAROSCH R. 1962. Die Formbildung von *Micrasterias rotata* RALFS. und ihre experimentelle Beeinflussung. — *Protoplasma* 54: 382—420.
- & MEINDL U. 1980 a. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* BRÉB. III. Einfluß von Cycloheximid auf die Bildung und die Ultrastruktur der Primärwand. — *Protoplasma* 103: 169—177.
- — 1980 b. Cytomorphogenetic and antimicrotubule action of the antibiotic gougerotin in *Micrasterias denticulata* BRÉB. — *Protoplasma* 104: 175—179.
- KOOP H.-U. & KIERMAYER O. 1980 a. 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.
- — 1980 b. 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: 295—306.
- SCHMID R., HEUNERT H. H. & MILLTHALER B. 1978. Chloroplast migration: a new circadian rhythm in *Acetabularia*. — *Protoplasma* 97: 301—310.
- KOPETZKY-RECHTERPERG O. 1955. Beobachtungen an Protoplasma und Chloroplast der Alge *Netrium digitus* (EHRENBERG) bei Kultur unter Lichtabschluß. — *Protoplasma* 54, 322—331.

- KUNZMANN R. & KIERMAYER O. 1978. Über die Wirkung verschiedener Antibiotika auf sich differenzierende Zellen von *Micrasterias denticulata*. — Österr. Akad. Wiss., math. naturwiss. Kl. Abt. I., 187, 6.—10. Heft, 233—255.
- MEINDL, U. 1980. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. — Dissertation Salzburg.
- 1981. Störung der Cytomorphogenese durch Hemmung der Proteinsynthese bei *Micrasterias denticulata* (*Desmidiaceae*). — Inst. Wiss. Film D 1425 Göttingen.
- & KIERMAYER O. 1979. Antagonistic effect of antimicrotubule substances on penicillin G induced changes of chloroplast migration in *Micrasterias*. — Europ. J. Cell Biology 20: 131.
- 1981. Biologischer Test zur Bestimmung der Antimikrotubuli-Wirkung verschiedener Stoffe mit Hilfe der Grünalge *Micrasterias denticulata*. — Mikroskopie (Wien) 38, 325—336.
- — 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: 115—135.
- NOGUCHI T. & UEDA K. 1979. Effects of cycloheximid on the ultrastructure of cytoplasm in cells of the green alga *Micrasterias crux militensis*. — Biol. Cellulaire 35: 103—110.
- RUTHMANN A. 1966. Methoden der Zellforschung. — Kosmos, Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart.
- SCHÖNBOHM E. 1973. Kontraktile Fibrillen als aktive Elemente bei der Mechanik der Chloroplastenbewegung. — Ber. Deutsch. Bot. Ges. 86: 407—422.
- TANAKA N., YAMAGUCHI H. & UMEZAWA H. 1966. Mechanism of Kasugamycin action on polypeptide synthesis. — Biochemistry 60 (4): 429—433.
- TIPPIT D. H. & PICKETT-HEAPS J. D. 1974. Experimental investigations into morphogenesis in *Micrasterias*. — Protoplasma 81: 271—296.

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_2](#)

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

Artikel/Article: [Über die Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* BRÉB. II. 213-231](#)