

Protonema mit Riesenkern bei der siphonalen Grünalge *Bryopsis hypnoides* und weitere cytologische Befunde

K. NEUMANN

Botanisches Institut der Universität Marburg, Marburg/Lahn

ABSTRACT: Protonema with giant nucleus in the siphonaceous green alga *Bryopsis hypnoides* and additional cytological results. Zygotes of *Bryopsis hypnoides*, maintained in modified Schreiber-solution, germinate into a rhizoidal protonema with a single nucleus; the nucleus diameter increases up to eight times that of vegetative nuclei in the multinucleate thallus. The giant nucleus contains a long sinuous nucleolus similar to that of *Acetabularia*. The protonema becomes multinucleate prior to the formation of the plumose thalli. The division of the giant nucleus has been observed: Chromosomes in mitotic configuration, apparently diploid, become visible at the periphery of a large dumbbell-shaped spindle formed by the dividing nucleolus. Subsequently, the giant nucleus dissolves and dismisses two small nuclei, which propagate mitotically. Further observations deal with the persistence of the nucleolus during mitosis, chromosome number, gamete formation, and gamete copulation.

EINLEITUNG

Der vielkernige siphonale Thallus von *Bryopsis hypnoides* LAMX. besteht aus einem verzweigten Rhizoidensystem, aus dem sich meist dichte Büschel aufrechter, allseitig befiederter Triebe erheben, deren Fiedern wiederum zu sekundär gefiederten Seitenzweigen auswachsen können (Abb. 2 a). In der reproduktiven Phase erhalten die Fiedern die Funktion von Gametangien. Ihr Lumen wird dazu von dem siphonalen Thallus abgeschnürt. Im Gegensatz zu anderen *Bryopsis*-Arten ist *Bryopsis hypnoides* monözisch und sogar hermaphroditisch. Im einzelnen Gametangium entstehen nach einer Reihe von Mitosen unter Reduktionsteilung sowohl die kleineren männlichen als auch die größeren weiblichen Gameten, wie von FELDMANN (1957) und KYLIN (1949) beschrieben. Aus den Zygoten entsteht nach den bisherigen Vorstellungen unmittelbar wieder ein vielkerniger Thallus (vgl. SMITH 1955, FRITSCH 1945). Darüber fehlten bisher jedoch genauere, auf Kulturen gegründete Beobachtungen.

MATERIAL UND METHODE

Das Material wurde im April 1967 im Südhafen von Helgoland gesammelt, wo die Alge in kleinen Becken zwischen Betontrümmern, die bei Ebbe freiliegen und der

Sonne ausgesetzt sind, günstige Bedingungen findet. Ein bevorzugtes Substrat sind *Balanus*-Schalen, wie auch FUNK (1927) aus Neapel berichtet.

Von einigen isolierten Fiederästchen ausgehend, wurde die Alge in modifizierter Schreiber-Lösung kultiviert (auf ein Liter Nordseewasser: 42,5 mg NaNO_3 , 10,75 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 0,278 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,0198 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$). Die Fertilisierung tritt früher oder später ein, wenn die Temperatur über 6°C liegt. Bei schwacher Beleuchtung (1000 Lux) werden schon die wenig gefiederten Thalli fertil, bei verstärkter Beleuchtung (ca. 5000 Lux) scheint erst eine Erschöpfung des Mediums die Begrenzung des Wachstums und eine Überleitung zur reproduktiven Phase zu bedingen.

Für die cytologischen Untersuchungen wurde das Material in Methanol-Ameisensäure im Verhältnis 3 : 1 fixiert (v. STOSCH & DREBES 1964), nach Hydrolyse in $n \text{HCl}$ (10 min bei 60°C) mit Eisen-Karmin-Essigsäure gefärbt und über Phenol in Balsam eingeschlossen (v. STOSCH 1952).

ERGEBNISSE

Nach den vorliegenden Untersuchungen keimen die Zygoten ohne Ruheperiode. Die Keimlinge, deren Anzahl im Vergleich zur Masse der entlassenen Schwärmer gering ist¹, wachsen aber nicht gleich zu einem gefiederten Thallus heran, sondern bilden zunächst ein einkerniges Protonema (Abb. 1 a–f). Dieses besitzt ein bis mehrere pfriemförmige Äste von begrenztem Wachstum, die mehr oder weniger aufrecht einem kriechenden rhizoidalen Teil entspringen (Abb. 1 b–d). Die Ausbildung des rhizoidalen Teils hängt von der Lichtintensität ab: Während er bei schwächerer Beleuchtung umfangreicher ist und zahlreiche stumpfe Ausläufer bilden kann, tritt er bei stärkerem Licht zurück. Dies trifft ebenso für die Rhizoidbildung der Fiederthalli zu (vgl. WINKLER 1900, STEINECKE 1925). In der Kulturschale sitzen die Keimlinge meist nicht am Grunde fest, so daß eine Differenzierung in einen prostraten und erekten Teil kaum oder gar nicht zu erkennen ist (Abb. 1 e–f). Die rhizoidalen Ausläufer – sonst gewöhnlich etwas gewunden – sind dann schwer von den pfriemförmigen Ästen zu unterscheiden. Sie besitzen ein breiteres und stumpferes Ende (r in Abb. 1 f) und können sich auch nachträglich am Schalengrund anheften. Die indifferente Form der meisten nicht festsitzenden Vorkerne (z. B. Abb. 1 e) ist darauf zurückzuführen, daß diese wie die Fiederthalli gar keine fixierte Polarität besitzen, sondern in ihrer morphologischen Differenzierung vom Licht und – erst in zweiter Linie – von der Schwerkraft bestimmt werden (WINKLER 1900, STEINECKE 1925). Die Indifferenz dieser Formen ist also durch ihre wiederholte Lageveränderung bedingt, die sich infolge der Bewegung der Kulturschalen bei der Kontrolle und beim Auffrischen des Mediums nicht vermeiden läßt. Für die Beobachtung einer normalen, ungestörten Entwicklung des Protonemas empfiehlt es sich darum, angeätztes Glas als Substrat zu benutzen, wo sich die Keimlinge leichter anheften (so bei den in Abb. 1 a–d dargestellten Beispielen).

Bei Temperaturen unter 6°C entwickelt sich das Protonema nicht weiter. Bei höheren Temperaturen bildet es jedoch nach einem unbestimmten, vom Nährstoffangebot abhängigen Zeitraum von einigen Wochen ein bis mehrere breitere „Sprosse“

¹ Auf diese Tatsache wies mich auch Dr. P. KORNMANN hin.

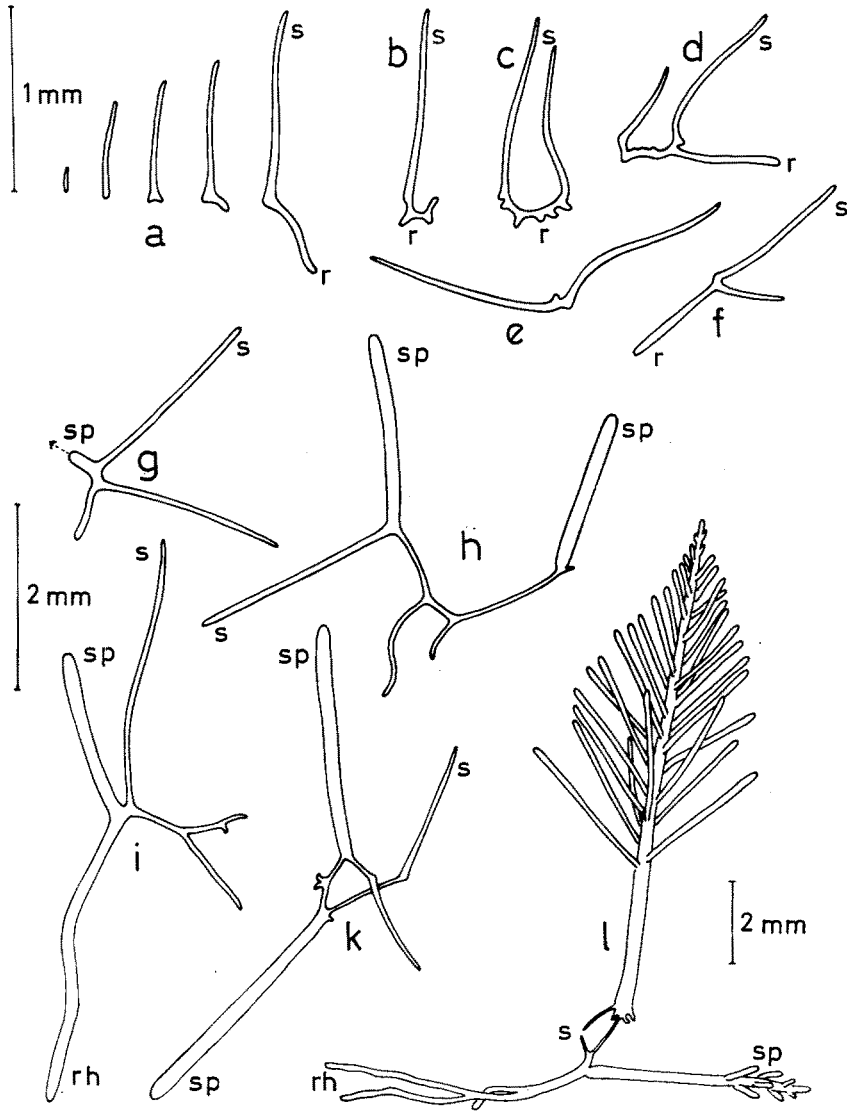


Abb. 1: Verschiedene Entwicklungsstadien von *Bryopsis hypnoides*. a-f einkernige Vorkeime (vgl. Abb. 3c-f). a Entwicklung aus der Zygote. b-d festsitzende, e-f freiwachsende Formen. g-k vielkernige Stadien mit „Sproß“- (sp) bzw. Rhizoidbildung (rh). l Fiederthallus mit Protonema-Rest (s). s = aufrechte pfriemförmige Triebe, r = rhizoideal Teil des Protonemas; sp = „Sproß“, rh = Rhizoid des vielkernigen Thallus

(sp in Abb. 1 g-k), die sich zu den bekannten Fiederthalli entwickeln (Abb. 1 l), und andere, die zunächst als Rhizoiden auf dem Substrat kriechen, sich verzweigen können und dann sekundär Fiedersprosse bilden (rh in Abb. 1 i, l). Diese „Sprosse“ entstehen adventiv, und zwar nach bisherigen Beobachtungen nur am rhizoideal Teil des Protonemas bzw. an der Basis der pfriemförmigen Äste. Letztere sind oft noch sehr lange als

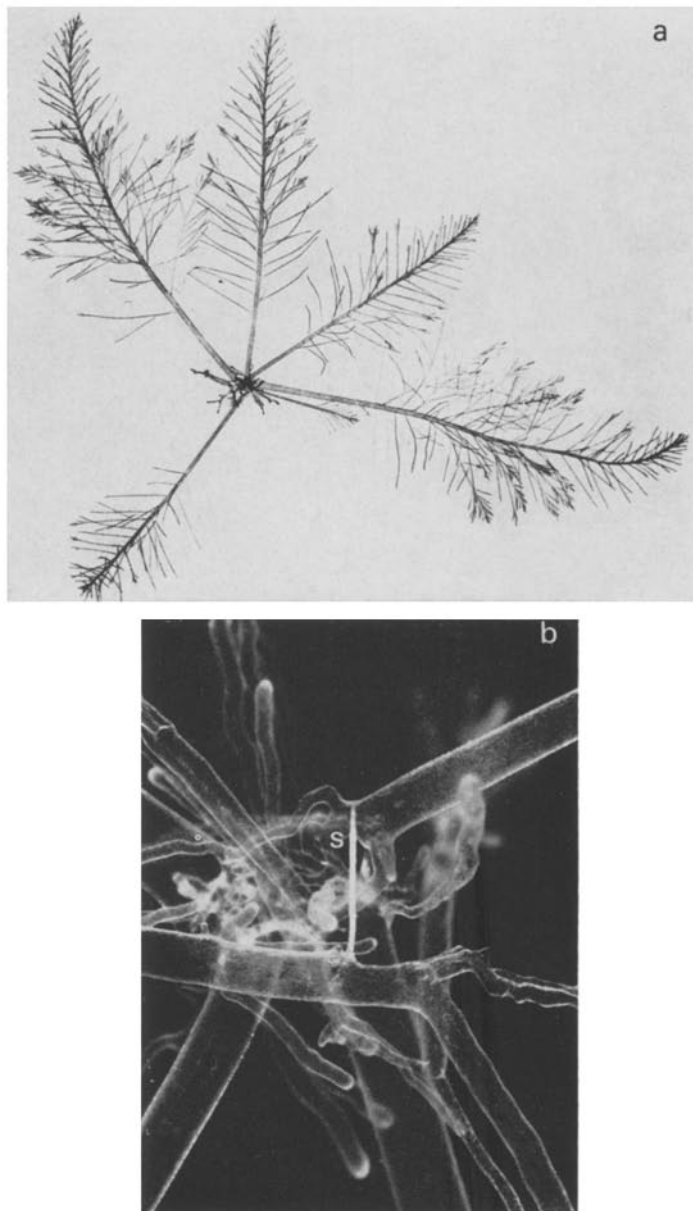


Abb. 2: a aus einem Protonema entstandener Fiederthallus (natürliche Größe). b Ausschnitt mit Protonema-Rest, einem pfriemförmigen Trieb (s) (8:1)

Anhängsel des Rhizoidensystems oder an der Basis eines Fiedersprosses zu erkennen (Abb. 2 b). Während der siphonale Thallus der Alge vielkernig ist, besitzt das Protonema nur einen großen Kern, der bis zum achtfachen Durchmesser der negativen Kerne

des vielkernigen Thallus heranwachsen kann (vgl. Abb. 3 f mit a und b). Dieser Riesenkern enthält ein langgestrecktes und teilweise septiertes Gebilde, das dem Nucleolus des Riesenkerns von *Acetabularia* ähnlich ist. Diese Ähnlichkeit erweist sich auch in

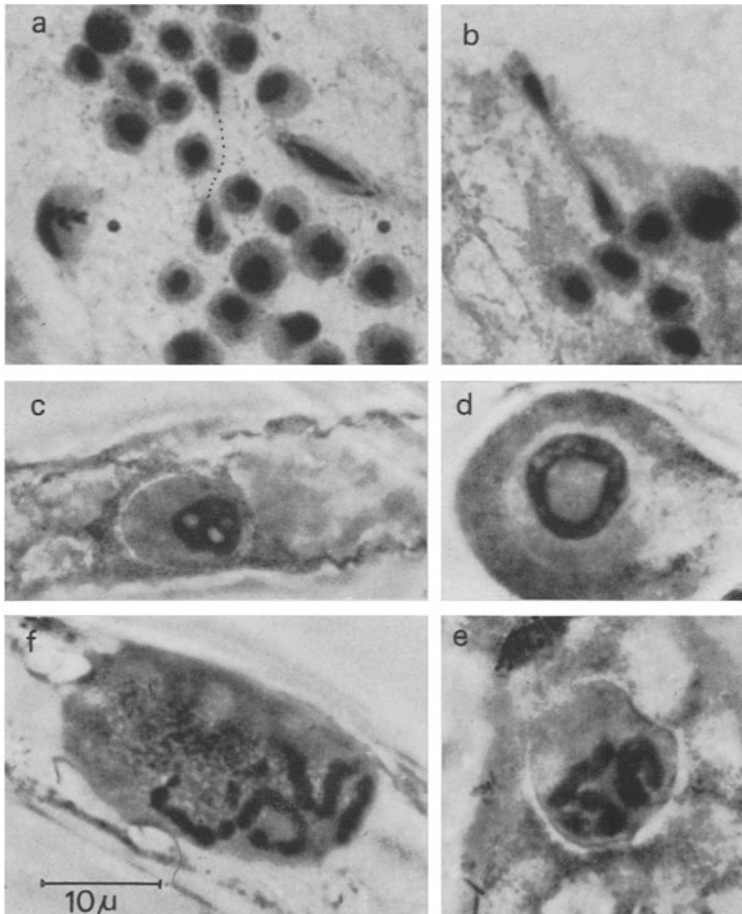


Abb. 3: Kernstadien während der Entwicklung von *Bryopsis hypnoides*. a–b vegetative Kerne des vielkernigen Thallus in Interphase und Mitose (vgl. Abb. 4). c–f Wachstumsstadien des Protonema-Kernes, c–d mit noch abgerundetem, stark vakuolisiertem Nucleolus, e fortgeschrittenes, f ausgewachsenes Stadium mit langgestreckt-gewundenem und teilweise septiertem Nucleolus. (1600:1, a–b Hellfeld, c–d Phasenkontrast, Eisen-Karmin-Essigsäure-Färbung nach Hydrolyse)

der Entwicklung, die HÄMMERLING (1931) bei *Acetabularia mediterranea* zuerst beschrieben hat. Mit der Volumenzunahme des Kernes in den jungen Zygotenkeimlingen von *Bryopsis hypnoides* schwillt zunächst auch der Nucleolus an und wird stark vakuolisiert (Abb. 3 c). In fortgeschrittenen Stadien findet man zuweilen eine große zentrale Vakuole von mehreren kleineren umgeben (Abb. 3 d). Ist der Kern auf 10 bis 20 μ Durchmesser gewachsen (der normale vegetative Interphasekern hat 4 bis 5 μ),

so treten zum Teil noch runde (Abb. 3 d), meist aber verformte bis deutlich gewundene Nucleolen auf (Abb. 3 e), die stets vakuolisiert sind. Kerne ausgewachsener Protonemen messen über 20μ und sind in der Längsrichtung des Zellschlauches meist etwas gestreckt. Sie enthalten regelmäßig das erwähnte wurstförmige, gewundene Gebilde, das im Vergleich zu den Nucleolen der jüngeren Stadien etwas kondensierter erscheint und eine Vakuolisierung kaum mehr erkennen läßt.

Diese weitgehende Ähnlichkeit mit dem Nucleolus von *Acetabularia* spricht bereits für die Nucleolennatur des entsprechenden Körpers im Riesenkern von *Bryopsis*. Dies wurde schließlich durch den Nachweis von RNS bestätigt, und zwar nach der von BRACHET (1940 und 1953) eingeführten Methode durch Methylgrün-Pyronin-Färbung in Verbindung mit Ribonuclease (RNase).

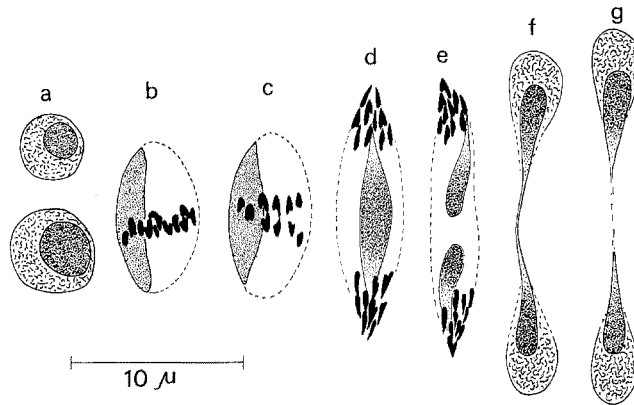


Abb. 4: Mitose mit Persistenz des Nucleolus. a Interphase nach (oben) und vor (unten) der Teilung. b Metaphase, c-e Anaphase, f-g Telophase. Nucleolus fein punktiert

Methylgrün ist danach spezifisch für DNS. Pyronin färbt an sich unspezifisch, da es nicht nur die RNS-haltigen, sondern alle basophilen Bestandteile der Zelle färbt. Solche Strukturen jedoch, die nach RNase-Behandlung ihre Färbbarkeit mit Pyronin verlieren, können mit Sicherheit als RNS-haltig bezeichnet werden (vgl. PEARSE 1960). Um sicher zu sein, daß das Methylgrün auch in die Zelle eindringt, wurden neben Totalpräparaten auch Gefrierschnitte gefärbt. Die Farblösung wurde zuvor an Pollenmutterzellen getestet.

RNase aus Rinderpankreas (Hersteller: Firma BOEHRINGER) wurde in Konzentrationen von 0,5 bis 1 mg/ml Acetatpuffer (0,1 m, pH 7,5) bei 60°C eine Stunde appliziert. Die Kontrollen wurden unter gleichen Bedingungen mit Pufferlösung behandelt (McDONALD 1955, PEARSE 1960). Das Ferment war vorher an reiner RNS spektralphotometrisch getestet worden (vgl. Biochemica Katalog von BOEHRINGER 1967). Alle Versuche wurden 2- bis 3mal wiederholt.

Der Nucleolus des Riesenkerns färbt sich mit Pyronin kräftig rot gegenüber einem blassen Rosa der Kerngrundsubstanz. Ein Hof aus körnigem Plasma um den Kern herum färbt sich ebenfalls intensiv mit Pyronin. Nach der Behandlung mit RNase – ebenso auch mit n HCl – färbt sich der ganze Kern einheitlich hellrot, und der Nucleolus ist nur noch schwach in seinen Umrissen zu erkennen. Auch die Färbung des

perinuclearen Plasmas ist verschwunden. Damit ist das Vorkommen von RNS im Nucleolus wie auch im kernnahen Plasma nachgewiesen.

Eine Anfärbung mit Methylgrün ist bei keinem Bestandteil des Riesenkerns beobachtet worden. Auch in den vielkernigen Thalli färben sich nur Mitosechromosomen mit Methylgrün, nicht die Interphasekerne. Die Feulgenreaktion fiel bei allen Kernen von *Bryopsis hypnoides* – auch den mitotischen – aus unbekanntem Gründen negativ aus.

Eigenartig erscheint die Tatsache, daß sich der Nucleolus nach verhältnismäßig langer Hydrolyse (10 min nach Methanol-Ameisensäure-Fixierung) immer noch mit Eisen-Karmin-Essigsäure färbt, während die auf RNS zurückzuführende Färbung des Cytoplasmas zunehmend ausbleibt. Bei dem Riesenkern von *Acetabularia mediterranea*² wurde das gleiche Ergebnis erzielt: Mit zunehmender Hydrolysezeit (bis 15 min) tritt die Eisen-Karmin-Essigsäure-Färbung der Kerngrundsubstanz und des Cytoplasmas völlig zurück, während der Nucleolus nur wenig blasser, in seiner Struktur aber fast noch deutlicher erscheint. (Auf eine bevorzugte Speicherung von Kernfarbstoffen durch den Nucleolus von *Acetabularia* wies SCHULZE 1939 hin.) Auch nach RNase-Behandlung färbt sich der Nucleolus des Riesenkerns von *Bryopsis* noch mit Eisen-Karmin-Essigsäure, wenn bereits keine Pyroninfärbung mehr eintritt. Nach zusätzlicher Behandlung mit einem eiweißverdauenden Ferment (Pronase von Kaken Chemical Company, Tokio, 1 mg/ml in Acetatpuffer pH 5, bei 37° C 1 bis 3 Std.) und Eisen-Karmin-Essigsäure-Färbung erscheint der Kern als eine homogene Masse, die nur in wenigen Fällen noch verschwommene, ungefärbte Strukturen des Nucleolus erkennen läßt. Nach reiner Pronasebehandlung – ohne vorherige RNase- oder Hydrolyse-Behandlung – ist der Nucleolus in seiner Struktur zwar auch verschwommen, aber noch gefärbt. Nach diesem Ergebnis kann man annehmen, daß die aus der Spaltung der RNS hervorgehenden Nucleotide wenigstens zum Teil noch an das Eiweißgrundgerüst des Nucleolus gebunden bleiben. Da das Karmin sich mit den Phosphorsäuregruppen der Nucleinsäuren verbindet (HARMS 1965), ist mit einer Eisen-Karmin-Essigsäure-Färbung des Nucleolus auch nach Hydrolyse- und RNase-Behandlung noch zu rechnen, solange dieser noch Nucleotide enthält. Daß die Proteine selbst den Karminfarbstoff binden, ist weniger wahrscheinlich. Denn der Nucleolus ist auch nach alleiniger Behandlung mit Pronase noch als diffuse Masse gefärbt, während seine Struktur nach längerer HCl-Hydrolyse (mehr als 12 min) ohne Pronasebehandlung noch erhalten, aber kaum mehr gefärbt ist.

Die Lage des Riesenkerns ist bei einem festsitzenden Protonema von *Bryopsis* auf den rhizoidalen Teil beschränkt. Auch darin zeigt sich eine auffallende Parallele zum *Acetabularia*-Kern.

Der Übergang vom einkernigen zum vielkernigen Stadium erfolgt in der Entwicklung von *Bryopsis hypnoides* vor Entstehung der breiteren Sprosse (vgl. p. 47). Der Teilungsmechanismus des Riesenkerns konnte bisher nur annähernd verfolgt werden. Die Teilung läßt sich durch Umsetzen vollentwickelter Vorkeime aus einer älteren Kultur in frisches Medium einleiten. Der Nucleolus erscheint nun etwas

² *Acetabularia mediterranea* stand mir aus der Kultursammlung von Herrn Prof. v. STOSCH zur Verfügung.

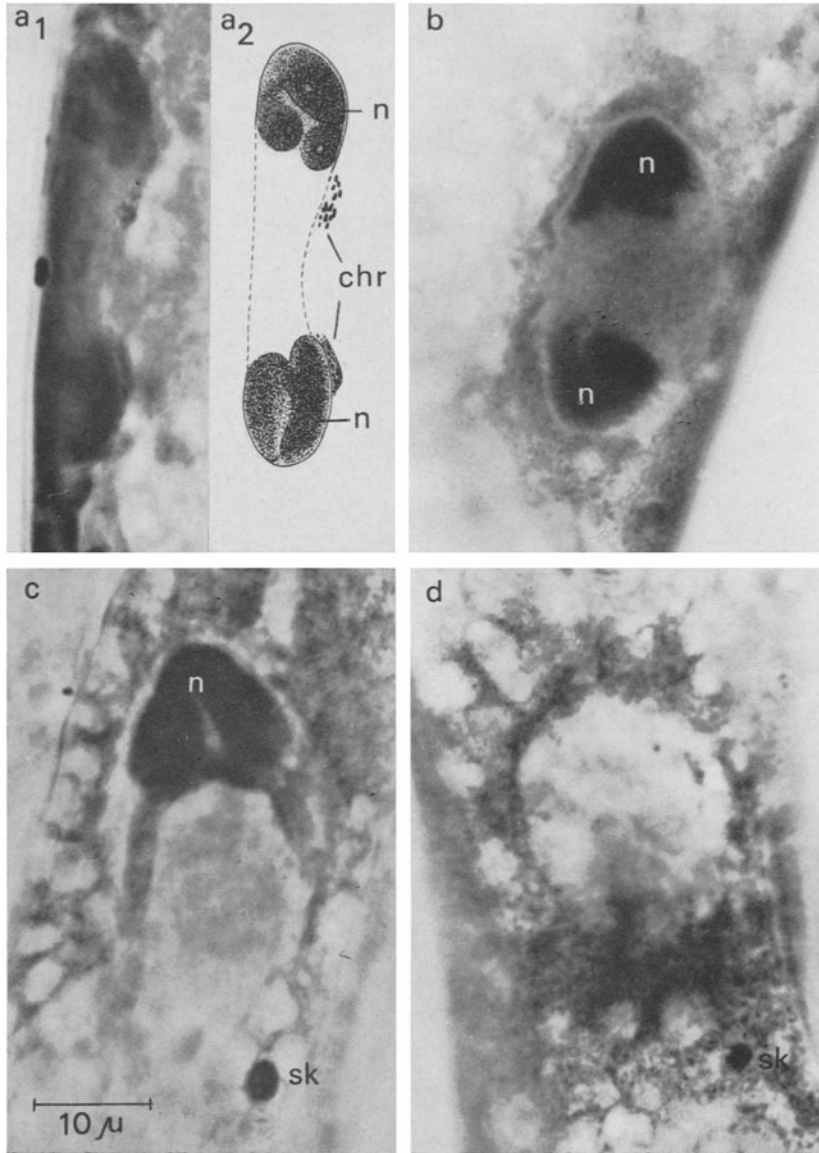


Abb. 5: Teilung und Auflösung des Riesenkernes. a Telophase; Nucleolus (n) in einer hantelförmigen Spindel geteilt, an deren Peripherie die Chromosomen (chr) am oberen Pol noch deutlich zu erkennen sind. (Der schwarze Fleck am linken Rand der Spindel ist ein Fremdkörper.) b Riesenkern mit zwei Tochter nucleolen (n). c in Auflösung begriffener Riesenkern und ein Sekundärkern (sk). d Umriß des aufgelösten Riesenkerns und zweiter Sekundärkern. Kernraum in c-d von stark vakuolisiertem, RNS-reichem Plasma umgeben. (1600:1; Phasenkontrast, Eisen-Karmin-Essigsäure-Färbung nach Hydrolyse)

kompakter, so daß seine gewundene Form kaum mehr zu erkennen ist. Darauf streckt sich der Kern zu einer Hantelform, in der eine Teilung des Nucleolus deutlich zu sehen ist (Abb. 5 a). Weitere Strukturen waren in den meisten Fällen nicht zu erkennen, doch konnte an der Peripherie einer solchen Hantel eine Mitosefigur entdeckt werden (Abb. 5 a₁, durch a₂ verdeutlicht). Die Chromosomen im Zustand der frühen Telophase sind nur am oberen Pol noch verhältnismäßig deutlich zu erkennen. Ihrer Zahl und Größe nach entsprechen sie etwa dem diploiden Satz (vgl. Abb. 5 a, 3). Der Nucleolus eilt in der Teilung voraus. In zwei weiteren Fällen war eine Metaphasegruppe zwischen den bereits getrennten Tochter-nucleolen zu sehen³. Aus dieser Teilung geht ein Riesenkern mit zwei Nucleolen hervor, die einander gegenüberliegen (Abb. 5 b). Die Teilung scheint also intranucleär zu verlaufen. Darauf folgt eine starke Vakuolisierung des perinucleären Plasmas und die Auflösung des Riesenkerns, wie Abbildung 5 c zeigt: Am Rande des in Auflösung begriffenen Primärkernes, in dem nur noch ein Nucleolus zu sehen ist, erscheint ein kleiner Sekundärkern und später noch ein weiterer. Der Umriss des aufgelösten Riesenkerns ist meist noch zu erkennen, wenn bereits die ersten Mitosen der freien Sekundärkerne erfolgt sind (Abb. 5 d).

Die ersten Sekundärkerne besitzen eine körnige bis retikuläre Struktur und lassen noch keinen Nucleolus erkennen. In den folgenden Mitosen erscheint jedoch bald das gewohnte Bild mit dem typischen Nucleolus. Die Kerne erfüllen sehr schnell den ganzen Thallus und hinterlassen bei ihrer Wanderung, während der sie sich teilen, auffällige parallele Spuren im Cytoplasma.

Die Mitosen in den vielkernigen Thalli zeigen eine Besonderheit, die schon von ZINNECKER (1935) bei *Bryopsis plumosa* beschrieben wurde. Ebenso wie dort verläuft bei *Bryopsis hypnoides* die Mitose intranucleär, d. h. die Kernmembran löst sich zu keinem Zeitpunkt der Kernteilung auf. Der verhältnismäßig große Nucleolus bleibt während der Kernteilung erhalten (Abb. 3 a, b, Abb. 4). Während der Metaphase nimmt er spindelförmige Gestalt an und wird in der Anaphase stark in die Länge gezogen. Dabei trennt er sich zuweilen schon in der späten Anaphase in zwei, den Tochterkernen tropfenförmig nachgezogene Hälften (Abb. 4 e); meist aber löst sich die Verbindung zwischen den Nucleolen der Tochterkerne erst in der Telophase (Abb. 3 a, b, 4 f, g). In der Metaphase und besonders in der frühen Anaphase erweckt der bereits in Spindelrichtung gestreckte Nucleolus den Eindruck, als ob er der Chromosomenteilung vorausseilt, wie das bei der Teilung des Riesenkerns geschieht. In der Telophase ist es allerdings umgekehrt. Auf Grund dieses Verhaltens scheint es fraglich, ob der Nucleolus während der Mitose noch mit einem Nucleolenchromosom bzw. seinem „organizer“ in Verbindung steht.

Die Persistenz des Nucleolus und seine Teilung in der Mitose sind – wenn auch in allgemeinen Lehrbüchern nicht erwähnt – keine Seltenheit (vgl. BĚLAŘ 1926, TISCHLER 1951, REESE 1956). So konstant scheint dieses Verhalten allerdings nur in wenigen Fällen aufzutreten, so z. B. bei Euglenen (LEEDAILE 1966) und verschiedenen Protozoen.

Die C h r o m o s o m e n z a h l konnte in vegetativen Thallusspitzen bestimmt werden, wo zuweilen Metaphaseplatten in Polansicht zu finden sind, während sich

³ Für eine ausführlichere Darstellung der Einzelheiten muß die Technik noch wesentlich verfeinert werden.

sonst die Teilungsspindeln nur in der Längsrichtung der Thalli orientieren. Die gleiche Chromosomenzahl von $2n = 16$ läßt sich auch in prämeiotischen Mitosen vor der Gametenbildung in den Fiedern feststellen. Nach der Meiose, die bei der großen Menge der Kernteilungen in den Gametangien schwer zu identifizieren ist, weil sie nicht synchron verläuft, folgen weitere Mitosen mit $n = 8$ Chromosomen. SCHUSSNIG (1932) und ZINNECKER (1935) zählten bei *Bryopsis plumosa* $2n = 8$ Chromosomen.

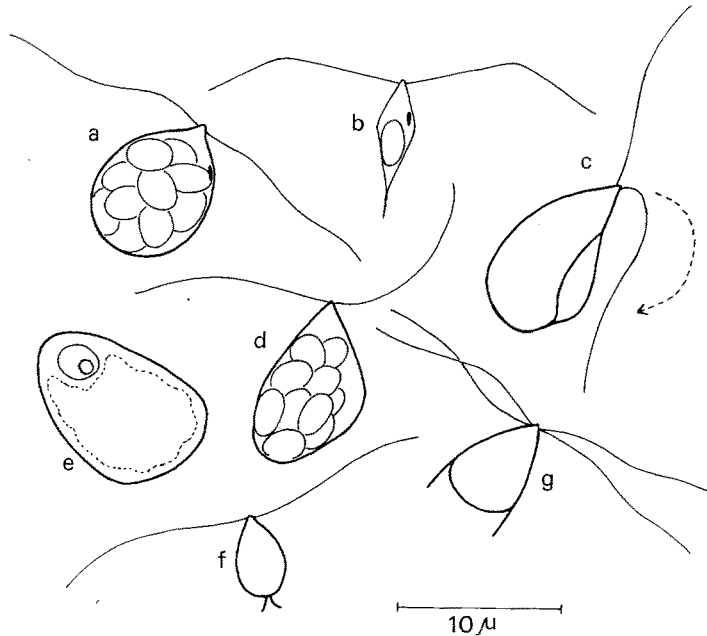


Abb. 6: a weiblicher, b männlicher Gamet; c Kopulation mit sehr schneller Rotationsbewegung in Pfeilrichtung; d Zygote, 15 min später als c (Jod-Fixierung); e ältere Zygote (Eisen-Karmin-Essigsäure-Färbung). f-g intermediäre Schwärmer aus der Zone zwischen weiblichen und männlichen Gameten, g viergeißelig (innerhalb des Gametangiums!)

Die Beobachtungen über die Gametenbildung, die im Rahmen dieser Untersuchungen nur beiläufig erfolgten, führten zu einer Bestätigung der schon in der Einleitung erwähnten Befunde FELDMANN'S (1957). In einer fertilen Fieder wurden stets im apikalen und distalen Teil getrennt beide Geschlechter der Gameten gefunden, und zwar in den gleichen Größenordnungen, wie sie FELDMANN angegeben hat (Abb. 6 a, b). In der Zone zwischen den beiden Geschlechtern gab es neben intermediären Schwärmern auch begeißelte und unbegeißelte Monstren, deren Ausschwärmen nicht beobachtet wurde. Außerdem traten hier (innerhalb der Fiedern!) vereinzelt viergeißelige Schwärmer auf, bei denen es sich kaum um Zygoten, sondern wahrscheinlich auch um Fehlentwicklungen handelt (Abb. 6 g).

Die männlichen Schwärmer laufen am Hinterende in einen dünnen Fortsatz aus, wie er bei Grünalgeschwärmern öfter aufzutreten scheint (z. B. KORNMANN 1961 bei *Urospora*, KORNMANN 1962 bei *Monostroma* sowie NEUMANN unveröffentlicht bei

Halicystis ovalis). Bei den männlichen Gameten von *Halicystis* ist dieser Fortsatz oft gabelförmig gespalten. Ähnliches wurde auch bei intermediären Schwärmern von *Bryopsis* (Abb. 6 f, g) beobachtet.

Das Ausschwärmen der Gameten wird durch den Beginn der Lichtperiode ausgelöst. Vorher können sich die Schwärmer in dem noch geschlossenen Gametangium lange Zeit heftig bewegen, bis ihnen der Austritt an der Spitze und häufig auch an der Basis gelingt. K o p u l a t i o n e n wurden bei *Bryopsis hypnoides* von FELDMANN (1957) und KORNMANN (persönliche Mitteilung) nicht gefunden. Ihre Seltenheit scheint bei dem Helgoländer Material für die verhältnismäßig geringe Zahl der Keimlinge verantwortlich zu sein. Auch bei dem vorliegenden Material wurden nur vereinzelte Kopulationen gesehen. Die schnelle Rotationsbewegung der Weibchen, die schon vor der Kopulation einsetzt, scheint – insbesondere unter dem Deckglas – den Kontakt des Männchens zu erschweren, indem dieses bei der Annäherung immer wieder zurückgeschleudert wird. Abbildung 6 c zeigt eine Kopulation, die kurz vor dem Auflegen des Deckglases erfolgt ist. Ca. 15 min später (Abb. 6 d, nach Jodfixierung) sind die Gameten bereits verschmolzen. Während FELDMANN nur viergeißelige Zygoten beobachtete, lassen die Zygoten bei meinem Material nur ein Geißelpaar erkennen. Das Kopulationsstadium in Abbildung 6 c erweckt den Eindruck, daß der männliche Gamet die Geißeln abgeworfen hat (vgl. *Codium*, SMITH 1955). Nach den Beobachtungen KÖHLERS (1956) und KORNMANN'S (persönliche Mitteilung) bei *Chaetomorpha* besteht aber auch die Möglichkeit, daß sich die Geißeln bei der Kopulation paarweise „aufspiralisieren“ bzw. umwinden, so daß sie nur noch als ein Geißelpaar in Erscheinung treten. Bei der geringen Zahl erfolgreicher Beobachtungen kann ich von meinem Material noch keine näheren Aussagen darüber machen. Die Zygoten sammeln sich überwiegend auf der dem Licht abgekehrten Seite der Kulturschale und keimen dort unmittelbar. Abbildung 6 e zeigt eine bereits einkernige Zygote.

Abschließend soll die Frage der Ploidie des Riesenkerns erörtert werden. Die Größe des Kernes läßt zunächst Polyploidie vermuten. Bisher wurde aber während der Volumenzunahme des Kernes noch kein Strukturwechsel festgestellt, der auf Endomitosen hinweisen könnte, wie ihn PUISEUX-DAO (1962, 1966) bei *Cymopolia* (vgl. auch WERZ 1953) und *Batophora* beschreibt. Auch bei *Acetabularia* gehen die Meinungen über den Ploidiegrad des Riesenkerns auseinander: Während HÄMMERLING und Mitarbeiter den Riesenkern für diploid halten (SCHULZE 1939, HÄMMERLING 1958 und 1963, dort weitere Literatur), schließt PUISEUX-DAO aus ihren Beobachtungen an verwandten Gattungen allgemein auf Polyploidie des Primärkerns bei den Dasycladaceae. Da in dem Riesenkern von *Acetabularia* wie auch in dem des *Bryopsis*-Protonemas keine DNS nachzuweisen ist, was durch eine diffuse Verteilung der DNS in dem großen Kernraum erklärt wird, kann es sich zumindest nicht um eine hohe Polyploidie handeln. Bei *Acetabularia* spricht außerdem die reversible Verkleinerung des Kernes bei andauernder Dunkelheit dagegen (HÄMMERLING & HÄMMERLING 1959, STICH 1951). Nach den vorliegenden Ergebnissen über die Teilung des Riesenkerns von *Bryopsis*, wo nur eine Mitose mit einem Chromosomensatz diploider Größenordnung gefunden wurde, dürfte dieser Kern nur diploid sein.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die in Kulturen erhaltenen Zygoten von *Bryopsis hypnoides* keimen ohne Ruheperiode aus zu einem Protonema mit ein oder mehreren pfriemförmigen Ästen von begrenztem Wachstum, die sich mehr oder weniger aufrecht auf einem prostraten rhizoidalen Teil erheben.
2. Im Gegensatz zu dem vielkernigen Thallus der gefiederten Alge besitzt das Protonema einen einzigen großen Kern, der den achtfachen Durchmesser der vegetativen Kerne des Fiederthallus erreichen kann. Dieser Riesenkern enthält einen langgewundenen Nucleolus, der in Gestalt und Entwicklung Ähnlichkeit mit dem Nucleolus des Riesenkerns von *Acetabularia* besitzt. Im Nucleolus wurde RNS nachgewiesen.
3. Das Protonema wird vielkernig vor der Entstehung ein bis mehrerer breiterer Triebe, die sich zu den bekannten Fiederthalli oder zu Rhizoiden ausbilden.
4. Das Teilungsbild des Riesenkerns wird von einer hantelförmigen Spindel des sich teilenden Nucleolus beherrscht, an deren Peripherie eine Mitose diploider Größenordnung zu erkennen ist. Der Riesenkern löst sich anschließend auf und entläßt nacheinander 2 Sekundärkerne, die sich mitotisch vermehren.
5. Der relativ große Nucleolus der Thalluskerns bleibt ebenso wie die Kernmembran während der Mitose erhalten. Er wird in der Anaphase stark gestreckt, und die Verbindung zwischen den Tochter-nucleolen löst sich oft erst in der Telophase.
6. Während der Gametenbildung in den Fiedern wird die Chromosomenzahl von $2n = 16$ auf $n = 8$ reduziert.
7. Anisogame Kopulation wurde beobachtet.

Danksagung. Herrn Professor v. STOSCH danke ich für seine Hilfsbereitschaft und für Diskussionen. Ebenso danke ich Herrn Dr. P. KORNMANN für wichtige Hinweise.

ZITIERTE LITERATUR

- BĚLAŘ, K., 1926. Der Formwechsel der Protistenkerne. Fischer, Jena, 108 pp.
- BRACHET, J., 1940. La détection histochimique des acides pentosenucléiques. *C. r. Séanc. Soc. Biol.* **133**, 88–90.
- 1953. The use of basic dyes and ribonuclease for the cytochemical detection of ribonucleic acid. *Q. Jl. microsc. Sci.* **94**, 1–10.
- FELDMANN, J., 1957. Sur l'hermaphroditisme du *Bryopsis hypnoides* LAMOUROUX. *Bull. Soc. phycol. Fr.* **3**, 7–8.
- FRITSCH, F. E., 1935/45. The structure and reproduction of the algae. (Repr. 1965.) Univ. Press, Cambridge, Vol. **1**, 375 pp.
- FUNK, G., 1927. Die Algenvegetation des Golfs von Neapel. *Pubbl. Staz. zool. Napoli* **7** (Suppl.), 1–507.
- HÄMMERLING, J., 1931. Entwicklung und Formbildungsvermögen von *Acetabularia mediterranea*. I. Die normale Entwicklung. *Biol. Zbl.* **51**, 633–647.
- 1958. Über die wechselseitige Abhängigkeit von Zelle und Kern. *Z. Naturf.* **13b**, 440–448.
- 1963. Nucleo-cytoplasmic interactions in *Acetabularia* and other cells. *A. Rev. Pl. Physiol.* **14**, 65–92.

- & HÄMMERLING, CH., 1959. Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. *Planta* **52**, 516–527.
- HARMS, H., 1965. Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie. Staufen-Verl. (Bercker), Kamp-Lintfort, Spez.T. 2, 1–412.
- KÖHLER, K., 1956. Entwicklungsgeschichte, Geschlechtsbestimmung und Befruchtung bei *Chaetomorpha*. *Arch. Protistenk.* **101**, 223–268.
- KORNMANN, P., 1961. Über *Codiolum* und *Urospora*. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **8**, 42–57.
- & SAHLING, P. H., 1962. Zur Taxonomie und Entwicklung der *Monostroma*-Arten von Helgoland. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **8**, 302–320.
- KYLIN, H., 1949. Die Chlorophyceen der schwedischen Westküste. *Lunds Univ. Årsskr. (N. F. Ård. 2)* **45** (4), 1–79.
- LEEDALE, G. F., 1966. The Euglenophyceae. In: The chromosomes of the algae. Ed. by M. B. E. Godward. Arnold, London, 78–95.
- MCDONALD, M. R., 1955. Ribonucleases. In: Methods in enzymology. Ed. by S. P. Colowick & N. O. Kaplan. Academic Press, New York, Vol. 2, 427–436.
- PEARSE, A. G. E., 1960. Histochemistry, theoretical and applied. 2nd ed. Churchill, London, 186 pp.
- PUISEUX-DAO, S., 1962. Recherches biologiques et physiologiques sur quelques Dasycladacées, en particulier, le *Batophora oerstedii* J. Ag. et l'*Acetabularia mediterranea* LAM. Thèse, Paris.
- 1966. Siphonales and Siphonocladales. In: The chromosomes of the algae. Ed. by M. B. E. Godward. Arnold, London, 52 pp.
- REESE, G., 1956. Der Zellkern. In: Küster, E.: Die Pflanzenzelle. 3. Aufl. Fischer, Jena, 176–333.
- SCHULZE, K. L., 1939. Cytologische Untersuchungen an *Acetabularia mediterranea* und *Acetabularia wetsteinii*. *Arch. Protistenk.* **92**, 179–225.
- SCHUSSNIG, B., 1932. Der Generations- und Phasenwechsel bei den Chlorophyceen. 3. *Oest. bot. Z.* **81**, 296–298.
- SMITH, G., 1955. Cryptogamic botany. Vol. 1. Algae and fungi. 2nd ed. McGraw Hill, New York, 102 pp.
- STEINECKE, F., 1925. Zur Polarität von *Bryopsis*. *Bot. Arch.* **12**, 97–118.
- STICH, H., 1951. Experimentelle karyologische und cytochemische Untersuchungen an *Acetabularia mediterranea*. Ein Beitrag zur Beziehung zwischen Kerngröße und Eiweißsynthese. *Z. Naturf.* **6b**, 319–326.
- STOSCH, H. A. VON, 1952. Die Verwendung von Chloralhydrat oder Phenol zur Aufhellung und von Phenolbalsam als Einschlussmittel für Essigkarminpräparate. *Züchter* **22**, 269–272.
- & DREBES, G., 1964. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. IV. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris* – ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **11**, 209–257.
- TISCHLER, G., 1951. Allgemeine Pflanzenkaryologie. 2. Aufl. 2. Hälfte: Kernteilung und Kernverschmelzung. In: Handbuch der Pflanzenanatomie. Hrsg. von K. Linsbauer, A. Pascher & G. Tischler. Borntraeger, Berlin, Bd 2, 1–200.
- WERZ, G., 1953. Über die Kernverhältnisse der Dasycladaceen, besonders von *Cymopolia barbata* (L.) HARV. *Arch. Protistenk.* **99**, 148–155.
- WINKLER, H., 1900. Über Polarität, Regeneration und Heteromorphose bei *Bryopsis*. *Jb. wiss. Bot.* **35**, 449–469.
- ZINNECKER, E., 1935. Reduktionsteilung, Kernphasenwechsel und Geschlechtsbestimmung bei *Bryopsis plumosa* (HUDS) AG. *Oest. bot. Z.* **84**, 53–72.

Anschrift des Autors: Dr. K. NEUMANN
Botanisches Institut
der Universität Marburg
355 Marburg (Lahn)
Pilgrimstein 4