

ISSN 0073-8417

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION
BIOLOGIE

SERIE 11 · NUMMER 27 · 1978

FILM C 1220

**Vergleich der Plasmodien-Typen
und der Sporulation bei Myxomyceten**



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch od. engl.), 16 mm, schwarzweiß, 121 m, 11 min (24 B/s). Hergestellt 1969–1972, veröffentlicht 1976.

Der Film ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt. Veröffentlichung aus dem Department of Botany, University of Washington, Seattle, Dr. E. F. HASKINS, und dem College of Biological Sciences, University of Minnesota, Minneapolis, Dr. N. S. KERR, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE; Kamera: H. H. HEUNERT; Schnitt: H. H. HEUNERT und B. MILTHALER.

Mit Unterstützung durch grants der National Science Foundation Nr. GB-20517 und GB-31243 sowie des Macmillan Fund der University of Minnesota.

Zitierform:

HASKINS, E. F., N. S. KERR und INST. WISS. FILM: Vergleich der Plasmodien-Typen und der Sporulation bei Myxomyceten. Film C 1220 des IWF, Göttingen 1976. Publikation von E. F. HASKINS, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 11, Nr. 27/C 1220 (1978), 34 S.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Dr. E. F. HASKINS, Department of Botany, University of Washington, Seattle (Wash.).

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

Sektion MEDIZIN

NATURWISSENSCHAFTEN

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Herausgeber: H.-K. GALLE · Schriftleitung: E. BETZ, I. SIMON

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftlichen Ergänzungen zu den Filmen des Instituts für den Wissenschaftlichen Film und der Encyclopaedia Cinematographica. Sie enthalten jeweils eine Einführung in das im Film behandelte Thema und die Begleitumstände des Films sowie eine genaue Beschreibung des Filminhalts. Film und Publikation zusammen stellen die wissenschaftliche Veröffentlichung dar.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN werden in deutscher, englischer oder französischer Sprache herausgegeben. Sie erscheinen als Einzelhefte, die in den fachlichen Sektionen zu Serien von etwa 500 Seiten zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus 4 Lieferungen mit einer entsprechenden Zahl von Einzelheften; jährlich erscheinen 1–4 Lieferungen in jeder Sektion.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen
Tel. (05 51) 2 10 34

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

EDWARD F. HASKINS, Seattle (Wash.), NORMAN S. KERR, Minneapolis (Minn.),
und dem INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM, Göttingen:

Film C 1220

Vergleich der Plasmodien-Typen und der Sporulation bei Myxomyceten

Verfasser der Publikation¹: EDWARD F. HASKINS

Mit 8 Abbildungen

Inhalt des Films:

Vergleich der Plasmodien-Typen und der Sporulation bei Myxomyceten. Der Film zeigt plasmodiale Phasen im Entwicklungszyklus von *Echinostelium minutum*, *Didymium nigripes* und *Stemonitis flavogenita*. Mitose in ein-, zwei-, vier- und mehrkernigen Plasmodien wird anschaulich dargestellt. Wachstum, Protoplasmaströmung und Plasmodienfusionen werden einschließlich der Morphogenese von Plasmodien bis zur Sporangienbildung erläutert.

Summary of the Film:

Comparative Plasmodial Types and Sporulation in the Myxomycetes. The film shows the plasmodial stages in the life cycle of *Echinostelium minutum*, *Didymium nigripes*, and *Stemonitis flavogenita*. Mitosis in uninucleate, binucleate, four-nucleate, and multinucleate plasmodia is illustrated. The growth, streaming patterns, and coalescence of plasmodia are presented. The morphogenesis of plasmodia to sporangia is included.

Résumé du Film:

Etude comparative des types de plasmodiums et de la sporulation chez les myxomycètes. Le film montre les phases plasmodiales au cours du cycle évolutif de l'*Echinostelium minutum*, du *Didymium nigripes* et du *Stemonitis flavogenita*. La mitose de plasmodiums à un, deux, quatre noyaux et à noyaux multiples, est très clairement présentée. Le développement, les courants protoplasmiques et les fusions de plasmodiums sont commentés, ainsi que la morphogénèse des plasmodiums jusqu'à la formation des sporanges.

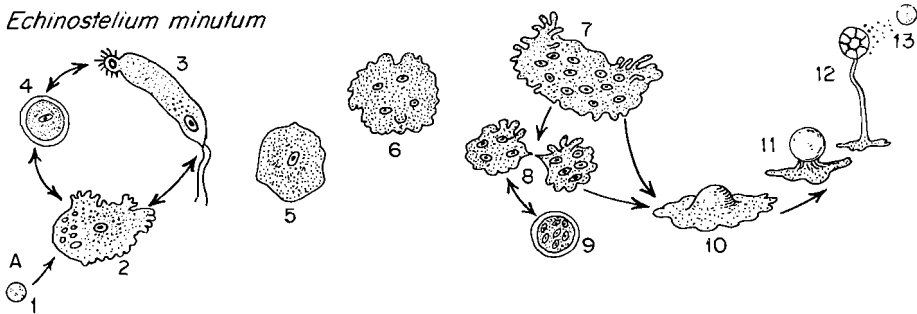
Allgemeine Vorbemerkungen

Systematische Stellung

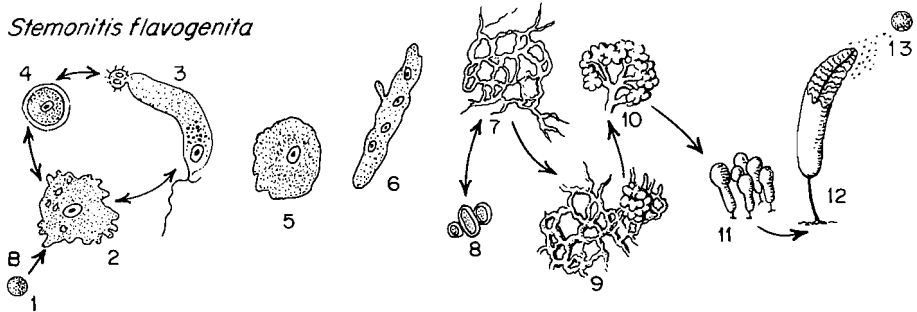
Da die Myxomyceten oder echten Schleimpilze (Klasse: Myxomycetes, Abteilung: Myxomycota) Merkmale sowohl von Pflanzen als auch von Tieren aufweisen,

¹ Englische Originalpublikation s. S. 23. – Deutsche Fassung (mit Ausnahme des Tonkommentars): Prof. Dr. ALOYS HÜTTERMANN, Göttingen.

Echinostelium minutum



Stemonitis flavogenita



Didymium nigripes

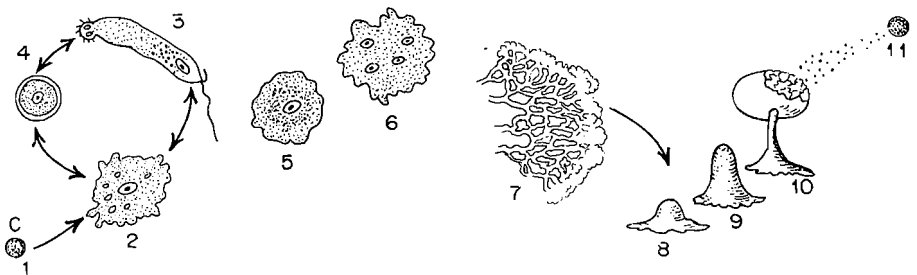


Abb.1. Ein Vergleich der Generationswechsel von *E.minutum*, (A1–13), *s.flavogenita* (B1–13) und *D.nigripes* (C1–11). Die natürlichen Größenverhältnisse sind nicht immer dargestellt, ebenso fehlen in einigen Stadien die Zellkerne

E.minutum. A-1: Spore; A-2: Myxamöbe; A-3: Schwarmzelle; A-4: Cyste (aus Myxamöben entstanden); A-5: einkerniges Plasmodium; A-6: vierkerniges Plasmodium; A-7: reifes vielkerniges Plasmodium; A-8: Tochterplasmodium, durch Teilung entstanden (Plasmotomie); A-9: protoplasmodiale Cyste; A-10: Protoplasmodium mit zentraler Sporangienanlage; A-11: späteres Stadium der Sporulation; A-12: reifes Sporangium mit apikalem Sporenkopf; A-13: Sporenwolke in der Luft, eine davon vergrößert

S.flavogenita. B-1: Spore; B-2: Myxamöbe; B-3: Schwarmzelle; B-4: Cyste (aus Amöbe entstanden); B-5: einkerniges Plasmodium; B-6: vierkerniges Plasmodium mit linearer Anordnung der Kerne; B-7: vielkerniges, durchsichtiges Aphanoplasmodium; B-8: aphanoplasmodiale Cyste; B-9: undurchsichtig granuläre aphanoplasmodiale Phase während der Bildung des koralloiden Stadiums; B-10: koralloides Stadium; B-11: unreifer Sporenhaufen, der aus dem koralloiden Stadium entsteht; B-12: einzelnes Sporophor, bei dem Einzelheiten des Kapillithium-Netztes sichtbar sind; B-13: Sporenwolke in der Luft, eine davon vergrößert

D.nigripes. C-1: Spore; C-2: Myxamöbe; C-3: Schwarmzelle; C-4: Cyste (aus Amöbe entstanden); C-5: einkerniges Plasmodium; C-6: vierkerniges Plasmodium; C-7: vielkerniges Phaneroplasmodium; C-8: junge Sporangienanlage, hier ist eine einzelne Anlage aus der Vielzahl von Initialen eines ganzen Plasmodiums herausgezeichnet worden; C-9: ein späteres Stadium der Differenzierung; C-10: reifes Sporangium mit Einzelheiten des Kapillithium-Netztes; C-11: Sporenwolke in der Luft, eine davon vergrößert

haben sie die Aufmerksamkeit der Biologen erregt. Von besonderem Interesse ist bei ihnen die vielkernige, amöboide Phase, das Plasmodium (Abb. 1). Ein Plasmodium kann sich zu einem oder mehreren pflanzenähnlichen differenzierten Fruchtkörpern entwickeln, welche einkernige Sporen enthalten, oder es kann mehrkernige Cysten (Sklerotien, Spherulen) ausbilden. Obwohl allgemein angenommen wird, daß das Plasmodium als Produkt einer Syngamie entsteht, somit also diploid sein sollte, ist es doch theoretisch möglich, daß es sich direkt aus einer einkernigen Amöbe entwickelt und somit also kein Wechsel in der Ploidie während des Generationswechsels auftritt.

Derzeit werden, aufgrund der Arbeiten von mehreren Wissenschaftlern, drei Typen von Plasmodien unterschieden: das Protoplasmodium, das Aphanoplasmodium und das Phaneroplasmodium (GRAY und ALEXOPOULOS [12]). Die drei Zelltypen haben, in unterschiedlichem Ausmaß, die Fähigkeit zur Aufnahme von Partikeln, zur raschen Wanderung über die Oberfläche eines Substrats, die von einer lebhaften rhythmisch pulsierenden Protoplasmaströmung begleitet ist, zur Verschmelzung von zwei Plasmodien (somatische Fusion) und zur Bildung von dickwandigen Cysten oder Sporen. Dieser Film zeigt die plasmodialen Phasen und die Differenzierungen zu Sporangien jeweils eines Vertreters der drei Typen: *Echinostelium minutum* (protoplasmodial), *Stemonitis flavogenita* Jahn (aphanoplasmodial) und *Didymium nigripes* (Link) Fries (phaneroplasmodial).

Plasmodien-Typen

Bis vor kurzem wurde den Unterschieden in der Morphologie der Plasmodien wenig Bedeutung zugemessen. Die Abgrenzung zwischen Protoplasmodium, Aphanoplasmodium und Phaneroplasmodium anerkennt die charakteristischen Unterschiede zwischen den drei Zelltypen und unterstreicht die morphologische und taxonomische Bedeutung der Erscheinungsbilder der verschiedenen Plasmodien. Das Protoplasmodium, das von einigen Arten der Ordnung Liceales und anscheinend allen Arten der Ordnung Echinosteliales gebildet wird, ist granulär, besitzt kein Ader- oder Kanalsystem, zeigt normalerweise eine unregelmäßige Proto-

Fig. 1. Comparative life history diagrams of *E. minutum* (A 1–13), *S. flavogenita* (B 1–13), and *D. nigripes* (C 1–11). Natural proportions are not represented in all instances, and nuclei are not drawn in all cells

E. minutum. A-1: spore; A-2: myxamoeba; A-3: swarm cell; A-4: myxamoebal cyst; A-5: uninucleate plasmodium; A-6: 4-nucleate plasmodium; A-7: mature multinucleate protoplasmodium; A-8: daughter protoplasmodia formed by fission (plasmotomy); A-9: protoplasmodial cyst; A-10: protoplasmodium with central sporangial initial; A-11: later stage of sporulation; A-12: mature sporophore with apical cluster of spores; A-13: cloud of air-borne spores with one spore enlarged

S. flavogenita. B-1: spore; B-2: myxamoeba; B-3: swarm cell; B-4: myxamoebal cyst; B-5: uninucleate plasmodium; B-6: linear, 4-nucleate plasmodium; B-7: multinucleate, hyaline aphanoplasmodium; B-8: aphanoplasmodial cysts; B-9: opaque aphanoplasmodial phase forming the coralloid stage; B-10: coralloid stage; B-11: cluster of immature sporophores formed from the coralloid plasmodium; B-12: solitary sporophore showing details of the capillitial network; B-13: cloud of air-borne spores with one spore enlarged

D. nigripes. C-1: spore; C-2: myxamoeba; C-3: swarm cell; C-4: myxamoebal cyst; C-5: uninucleate plasmodium; C-6: 4-nucleate plasmodium; C-7: multinucleate phaneroplasmodium; C-8: young sporangial primordium; this represents a single initial from the cluster of initials which differentiate from a plasmodium; C-9: a later stage of differentiation; C-10: mature sporophore showing details of the capillitial network; C-11: cloud of air-borne spores with one spore enlarged

plasmaströmung und bleibt immer sehr klein (20–30 μm im Durchschnitt). Ein Aphanoplasmodium, das in seiner typischen Form von Arten der Ordnung Stemonitales gebildet wird, besteht aus einem System dünner (20–40 μm Durchmesser), abgeflachter Adern, die, ausgenommen während der Sporulation, kein gallertartiges Ektoplasma enthalten. Das Phaneroplasmodium, meist von Vertretern der Ordnung Physarales gebildet, hat ein granuläres Cytoplasma, einen fleischigen, fächerförmigen Randsaum und dicke, röhrenförmige Adern (bis zu 1 mm Durchmesser), die ein gallertartiges Ektoplasma und ein rhythmisch pulsierendes Endoplasma aufweisen. Ein möglicher vierter Typus von Plasmodien, der auch die Merkmale der drei vorhergehenden teilt, wurde bei Arten der Ordnung Trichiales von McMANUS [31], WOLLMAN [42] und KELLER [21] beschrieben. Bei ihm haben die Plasmodien fächerförmige Randsäume mit granulären Adern ohne gallertartiges Ektoplasma und zudem laterale Aderfortsätze mit irregulärer Protoplasmaströmung. Dieser Typus ist sehr wahrscheinlich eine Übergangsform zwischen dem Aphanoplasmodium und dem Phaneroplasmodium.

Das Protoplasmodium

Der protoplasmodiale Typus, zuerst bei *Licea parasitica* (Zukal) Martin von ZUKAL beschrieben, war bis zu den Arbeiten von ALEXOPOULOS [3] an *E.minutum* nicht sorgfältig dokumentiert und abgegrenzt worden. ALEXOPOULOS [3] wies

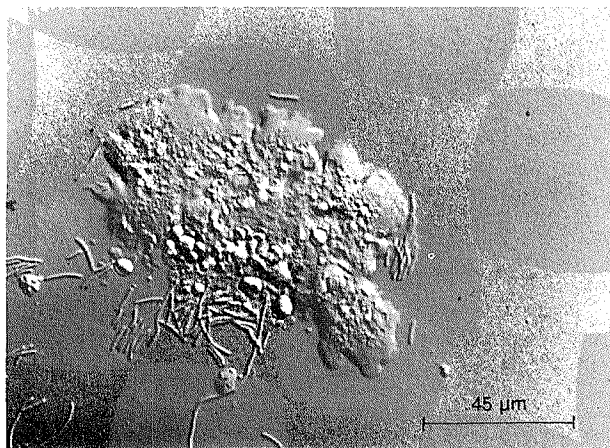


Abb.2. Wanderndes Protoplasmodium von *E.minutum*
(vgl. Einstellung 4)

Fig.2. Migrating protoplasmodium of *E.minutum*
(From Scene 4)

darauf hin, daß das voll entwickelte Protoplasmodium Ähnlichkeiten mit einem jungen Phaneroplasmodium der Physarales aufweist. Das ursprüngliche Konzept des Protoplasmodiums wurde durch die Untersuchungen von McMANUS [32] an

Licea biforis Morgan und *Cribrabaria violacea* Rex erweitert. Sie berichtete, daß bei *L.biforis* ein einzelnes Protoplasmodium jeweils ein Sporangium hervorbringt. Bei *C.violacea* ist ein Plasmodium, das gut ernährt ist, rund, während ein hungern-

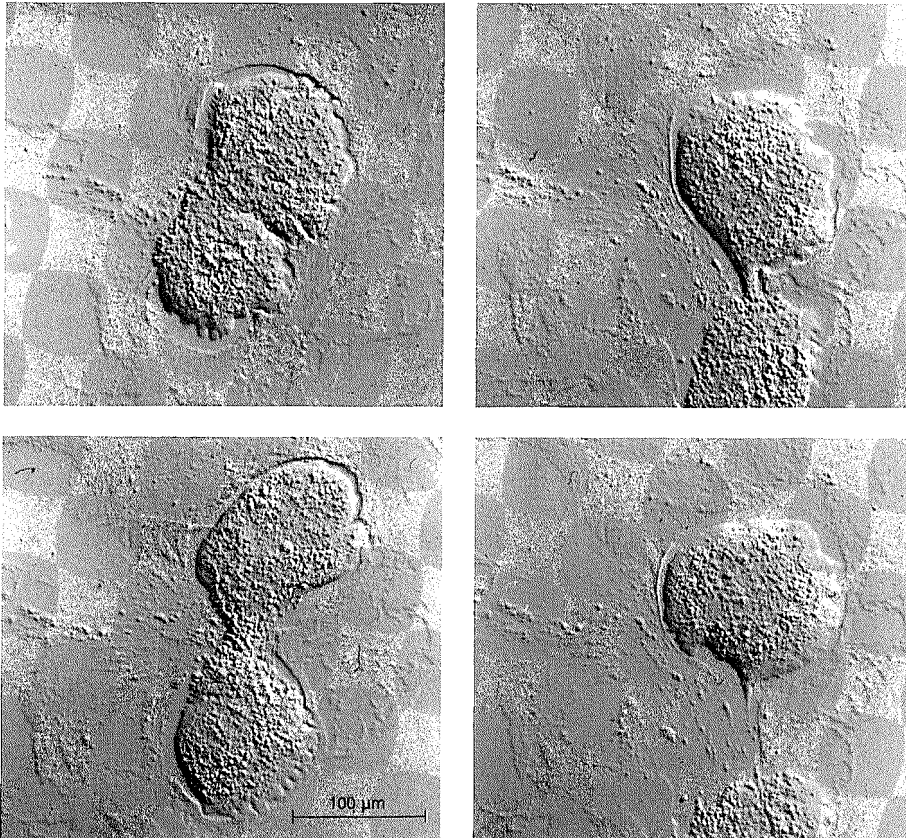


Abb. 3 a–d. Teilung eines Plasmodiums bei *E.minutum*

(vgl. Einstellung 10)

Fig. 3 a–d. Plasmotomy in *E.minutum*

(From Scene 10)

des Plasmodium in der Migrationsphase sich in ein Netzwerk dünner Adern verbreitert. Jedes einzelne Sporophor entsteht aus einem Protoplasmodium.

Das in diesem Film abgebildete Isolat entwickelt ein Protoplasmodium mit einem Durchmesser von 20–250 µm (HASKINS [13], [15]). Ein junges Protoplasmodium ist rund bis oval, während ein voll entwickeltes nierenförmig ist. Ein wanderndes Protoplasmodium in der Ernährungsphase weist gewöhnlich einen hyaloplasmati-

schen Randsaum auf, der im Gegensatz zum Hinterende tief gelappt sein kann (Abb. 2). Die protoplasmale Mitose ist intranucleär, ohne Centriolen, während die Mitose der Amöben extranucleär verläuft, in Anwesenheit von Centriolen (HASKINS und HINCHEE, unveröffentlichte Ergebnisse). Anschließend an die Mitose durchläuft das Protoplasmodium eine Plasmotomie (Abb. 3 a-d), wobei sich zwei Tochterplasmodien bilden, die sich meist in der Größe und der Kernzahl unterscheiden. Die während dieser Arbeit angestellten Beobachtungen deuten darauf hin, daß bei diesem Isolat von *E. minutum* keine Fusionen von Plasmodien vorkommen. Dies entspricht den Beobachtungen von ALEXOPOULOS [3] bei einem anderen Isolat der gleichen Art. Die Untersuchungen von MCMANUS [30], [32], die ebenfalls auf das Ausbleiben von protoplasmalen Fusionen bei *Clastoderma debaryanum* Blytt und *L. biforis* hindeuten und vermuten ließen, daß dies eine generelle Eigenschaft der Protoplasmodien ist, wurden von WOLLMANN und ALEXOPOULOS [43] in Zweifel gezogen, die eine eindeutige Fusion bei *L. biforis* zeigen konnten. Der Bericht der gleichen Autoren über das Auftreten einer pulsierenden Protoplasmaströmung während der Fusion bei *L. biforis* und die Beobachtungen eines ähnlichen Phänomens während der Plasmotomie bei *E. minutum* (HASKINS [46]), weisen darauf hin, daß in diesen Fällen eine Protoplasmaströmung auftritt, die der in einem Phanero-plasmodium oder Aphanoplasmodium gleicht.

Bei ungünstigen Bedingungen, z.B. wenn sich zuviele Stoffwechselschlacken anhäufen, rundet sich ein Protoplasmodium von *E. minutum* ab und umgibt sich mit einer refraktilen Membran.

Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß diese refraktile Schicht um die protoplasmale Cyste in der Tat eine echte Zellwand darstellt (HASKINS und HINCHEE, unveröffentlicht).

Das Aphanoplasmodium

Wahrscheinlich war DE BARY [6] die zarte Beschaffenheit der plasmodialen Stränge von *Stemonitis fusca* Roth bekannt, als er feststellte, daß deren Plasmodien sehr unauffällig und für das nackte Auge nicht sichtbar waren, bevor die Sporangien ausdifferenzierten. ČELAKOVSKÝ [9] beschrieb die Durchsichtigkeit der plasmodialen Adern von *Stemonitis dictyospora* Roth (*S. fusca*) und bemerkte, daß diese nicht in ekto- und endoplasmatische Zonen differenziert waren. MILLER [35] scheint der erste Wissenschaftler zu sein, der diese charakteristische plasmodiale Wachstumsform gezeichnet hat. Seine Zeichnung eines nicht bestimmten *Stemonitis* zeigt einige wenige Adern mit einem Durchmesser von mehr als 20 µm. Später beschrieben THOM und RAPER [41] das geschlossene Netzwerk der zarten Stränge des farblosen plasmodialen Protoplasmas von *Stemonitis*. Es war jedoch ALEXOPOULOS, der zuerst darauf hinwies, daß das Plasmodium von *Stemonitis* eine Anzahl von Eigenschaften besitzt, die es deutlich gegenüber den übrigen Plasmodien-Typen abgrenzen. In neuerer Zeit sind eine Anzahl von Untersuchungen über das Aphanoplasmodium durchgeführt worden, so von ALEXOPOULOS [4], BENEDICT [7], [8], INDIRA [18], [19], [20], MCMANUS [29], MCMANUS und RICHMOND [33], MCMANUS und TAYLOR [34], MIMS [36], [37] und ROSS [38], [39].

Es muß noch bewiesen werden, daß die im Film dargestellte plasmodiale Phase des Isolats von *S.flavogenita* tatsächlich das Ergebnis einer Syngamie ist. Junge Plasmodien, im vier- bis acht-Kernstadium, zeigen häufig eine lineare Anordnung. Andere junge Plasmodien sind irregulär gelappt und besitzen fingerähnliche Pseudopodien am äußeren Rand. Es ist nicht bekannt, ob die eine Form sich aus der anderen entwickelt oder ob es sich dabei um zwei verschiedene Wege der Differenzie-

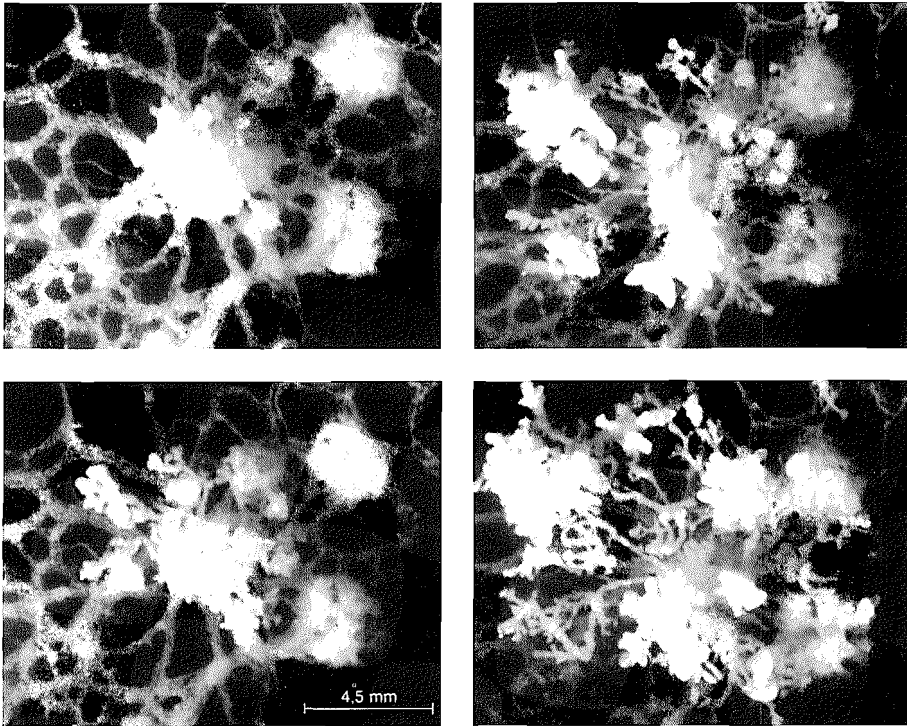


Abb. 4 a–d. Entwicklung des Aphanoplasmodiums bei *S.flavogenita*
(vgl. Einstellung 5)

Fig. 4 a–d. Aphanoplasmodial development in *S.flavogenita*
(From Scene 5)

rung handelt. Bei beiden Wachstumsformen breiten sich die Pseudopodien aus, verzweigen sich, fusionieren und bilden so zarte, durchsichtige aphanoplasmodiale Netze (Abb. 4a–d). Wenn benachbarte Aphanoplasmodien sich berühren, fusionieren sie miteinander. Dieser Vorgang führt meist zur Entwicklung eines großen, zusammenhängenden Aphanoplasmodiums auf einer Petrischale. Unter ungünstigen Bedingungen wie Futtermangel oder Akkumulation von Stoffwechselschlacken kann ein Aphanoplasmodium sich einzystieren, wobei sich seine Adern in eine oder mehrere Ketten refrakter Zysten umwandeln. Diese können bei günstigen Bedingungen wieder auskeimen.

Das Phaneroplasmodium

Das Phaneroplasmodium ist der am besten untersuchte Typus eines Plasmodiums (GRAY und ALEXOPOULOS [12]). Die plasmodialen Kanäle oder Adern bestehen aus einer äußeren ektoplasmatischen Gelschicht und einem flüssigen zentralen Endoplasma (Abb.5). Das Endoplasma befindet sich fortwährend in einer rhythmisch

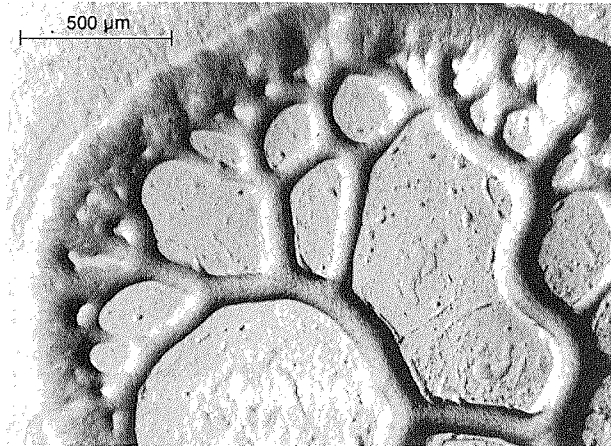


Abb.5. Phaneroplasmodium von *D.nigripes*; Wachstum auf einem Bakterienrasen
(vgl. Einstellung 9)

Fig. 5. Feeding phaneroplasmodium of *D.nigripes*
(From Scene 9)

pulsierenden Bewegung. Wird eine Ader angestochen, so wird an dieser Stelle der Inhalt herausgepreßt, was darauf hindeutet, daß in den Adern ein beträchtlicher Druck herrscht. Die zahllosen Arbeiten, die sich mit der Protoplasmaströmung beschäftigen, deuten alle darauf hin, daß dabei ein Druckstrom-Mechanismus beteiligt ist (ALLEN und KMIYA [5], KOMNICK, STOCKEM und WOHLFARTH-BOTTERMANN [27]).

Das im Film gezeigte Isolat von *D.nigripes* entsteht durch Apogamie, wofür es verschiedene Hinweise gibt. Die Untersuchungen von VON STOSCH [40] und S. KERR [26] an diesem Isolat ergeben beide übereinstimmend keinen Wechsel in der Ploidie beim Übergang vom Amöben- zum Plasmodium-Stadium. S. KERR [26] fand hingegen innerhalb der einzelnen Kerne aus ein und demselben Stadium eine beträchtliche Variation der Chromosomenzahl. Außerdem zeigte N. KERR [22] in Zeitrafferaufnahmen, daß die S-3-Mutante, die aus diesem Isolat entstanden ist, Plasmodien direkt aus Myxamöben bildet. Er fand keine Hinweise auf ein Verschmelzen von Myxamöben.

Bei *D.nigripes* bleibt die Kernmembran während der Mitose in der pl.-Phase intakt, wohingegen sie sich bei der Mitose in den Myxamöben auflöst (S. KERR [24]). Centriolen fehlen während der Kernteilung in den Plasmodien, sie sind vorhanden

bei der Mitose von Myxamöben. Abweichende Mitosen führen zu Kernen unterschiedlicher Größe. Sehr große Kerne werden gebildet, wenn die Tochterkerne sich nicht während der Telophase trennen (S. KERR [25]).

KERR und WAXLAX [23] züchteten Plasmodien von *D. nigripes* auf unterschiedlichen Medien mit einer Anzahl verschiedener Organismen als Nahrungsquellen. In allen Fällen fusionierten die Plasmodien, sobald sie sich berührten. COLLINS und HASKINS [10], [11] zeigten, daß die plasmodiale Fusion genetisch reguliert wird und dafür mehrere polyallele Loci verantwortlich sind. Eine Fusion zweier sich begegnender Plasmodien tritt nur dann ein, wenn die beiden geno- und phänotypisch in allen Fusions-Loci identisch sind.

Sporulation

Nach Entzug der Futterbakterien wandelt sich ein Protoplasmodium von *E. minutum* in ein einzelnes Sporophor um, welches aus einer kugelförmigen weißen Sporenmasse besteht und auf der Spitze eines sich nach oben verjüngenden, azellulären Stiels sitzt (HASKINS [14], Abb. 6 a-d). Diese Differenzierung zu einem voll entwickelten Sporophor dauert etwa 2-3 Stunden. Sie beginnt mit der Bildung eines halbkugelförmigen Knötchens im Zentrum des Protoplasmodiums. 15 Minuten danach bildet sich unterhalb dieser Fruchtkörperinitiale ein Stiel, der innerhalb der nächsten 2 Stunden kontinuierlich wächst. Nach Beendigung des Stielwachstums erfolgt eine synchrone Kernteilung im Sporangium, die von einer fortschreitenden zentripetalen Teilung begleitet ist, die das sporogene Protoplasma in einkernige, amöboide Protosporen zerlegt. Diese werden später von Sporenwänden umgeben. Da es möglich ist, die genaue Zahl der Kerne in einem unreifen Sporangium zu bestimmen, und weil die Zahl der Kerne im Protosporangium-Stadium genau doppelt so hoch ist wie die eines unreifen Sporangiums, kann somit gefolgert werden, daß nur eine einzige Kernteilungswelle vor der Ausbildung der Sporenwände vorhanden ist. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von HASKINS, HINCHEE und CLONEY [16] zeigen, daß zusätzliche Kernteilungen innerhalb einer fertigen Spore dieser Art erfolgen. Die Beobachtungen von normalen und anormalen synaptonemischen Komplexen während der Kernteilung deuten darauf hin, daß während der Sporulation eine Meiose stattfindet.

Der erste morphologische Hinweis auf den Beginn der Sporulation bei *S. flavogenita* ist die Bildung eines opaleszenten Plasmodiums. Die Adern des glasigen Aphanoplasmodiums verlieren dabei ihre Durchsichtigkeit, bedingt durch die Ablagerung eines grauweißen granulären Materials. Danach ziehen sich die undurchsichtigen Adern noch weiter zusammen und bilden die koralloide Phase, die aus gelblichweißen dentritischen Elementen besteht, die mehr oder weniger aufrecht stehen. Während dieser Phase wandert das Plasmodium einen oder mehrere Tage über das Substrat, bevor die Sporophore gebildet werden. Aus diesem koralloiden Plasmodium bilden sich viele Sporangium-Initialen in der Form von dicht gepackten Tröpfchen, die gelblich-weiß aussehen. Danach verlängern sie sich und werden zylindrisch, wobei dann die Bildung der inneren Stiele beobachtet werden kann. Die Stiele werden länger und heben die Sporangien vom Substrat ab. Nach und

nach verfärben sich die ausdifferenzierenden Sporangien dann gelblich weiß, blaß-rosa und braun, sobald die Bildung der Kolumella, des Kapillitiums und der Sporen erfolgt (Abb. 7 a–d).

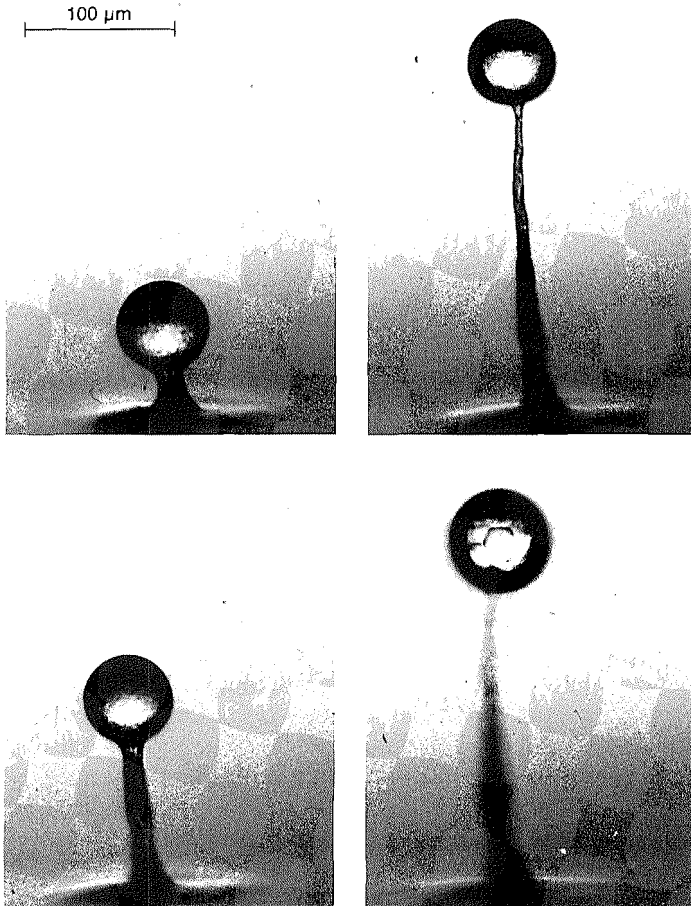


Abb. 6 a–d. Sporangienbildung bei *E. minutum*; Seitenansicht eines Fruchtkörpers (vgl. Einstellung 14)

Fig. 6 a–d. Sporangial formation in *E. minutum*; lateral view of one fruiting body (From Scene 14)

Ein Plasmodium von *D. nigripes* bildet ziemlich rasch eine Vielzahl von Sporangien, sobald keine Futterbakterien mehr vorhanden sind (Abb. 8 a–c). Nach wiederholtem Absuchen des nunmehr nährstoff-freien Agar stellt das Plasmodium die Wanderung ein. Es zieht sich allmählich zu hügel-förmigen Plasmaklumpen zusammen. Diese

heben sich in Form von pulsierenden pflockähnlichen Strukturen vom Substrat ab (LUCAS, BAZIN und KERR [28]). Die reifenden Sporangien verfärben sich dann von weiß über rosa zu braun und schließlich zu schwarz, der Farbe der ausdifferenzierten Sporophore. Es wird angenommen, daß die schwarze Farbe der reifen Frucht-

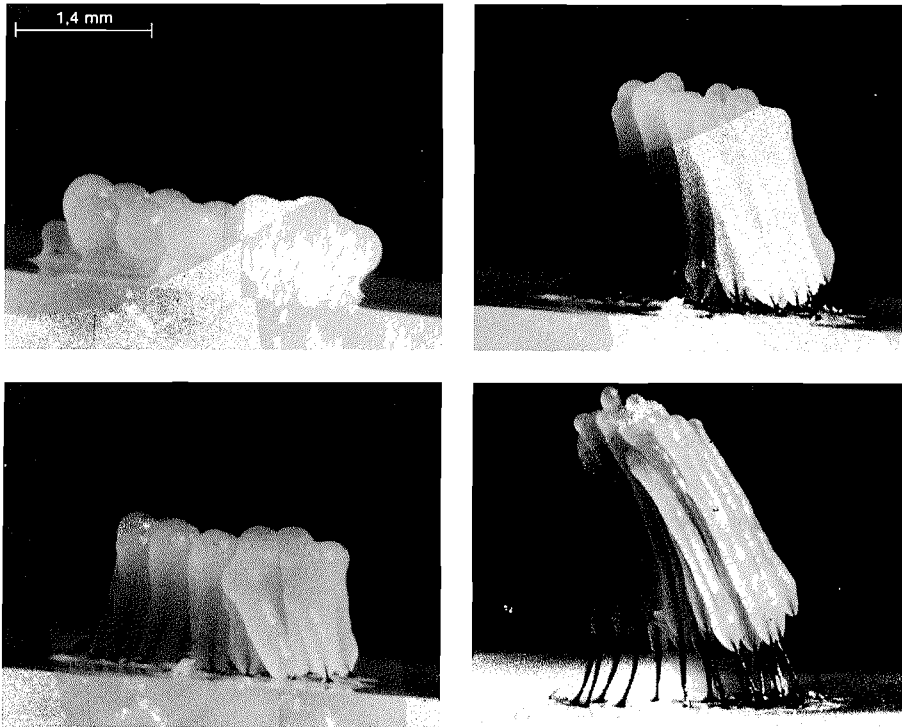


Abb. 7 a–d. Stadien in der Entwicklung von Sporangien bei *S. flavogenita*
(vgl. Einstellung 17)

Fig. 7 a–d. Stages in the development of *S. flavogenita* sporophores
(From Scene 17)

körper auf das Vorhandensein von Melanin in den Sporenkapseln zurückgeht (HASKINS, unveröffentlicht).

Bei *D. nigripes* werden die Fruchtkörper völlig anders gebildet als bei *E. minutum* und *S. flavogenita*. Bei *Didymium* bilden sich pflockähnliche Hügel aus, deren Ränder sich während der Sporangienbildung verengen und dadurch das Protoplasma auspressen, das dann den Kopf des Sporophors bildet. Im Gegensatz dazu erhebt sich bei *Echinostelium* die fast kugelförmige sporogene Masse vom Substrat, indem ein basaler Stiel abgesondert wird. Als Folge davon wird hier die sich nach oben bewegende Kugel immer kleiner, da ja fortwährend Stielmaterial nach unten abgegeben wird.

Oberflächlich betrachtet, verhält sich *Stemonitis* mehr wie *Echinostelium* als wie *Didymium*. Bei der Bildung der Fruchtkörper sondern die sich vom Substrat abhebenden sporogenen Plasmaklumpen das dunkelpigmentierte Stielmaterial ab. Hierbei ist jedoch der Stiel aus einer intrazellulären, intra-cytoplasmatischen Sekretion heraus entstanden (Ross [39]), im Gegensatz zu den Differenzierungen bei *Echinostelium* und *Didymium*, wo der Stiel extern gebildet wird.

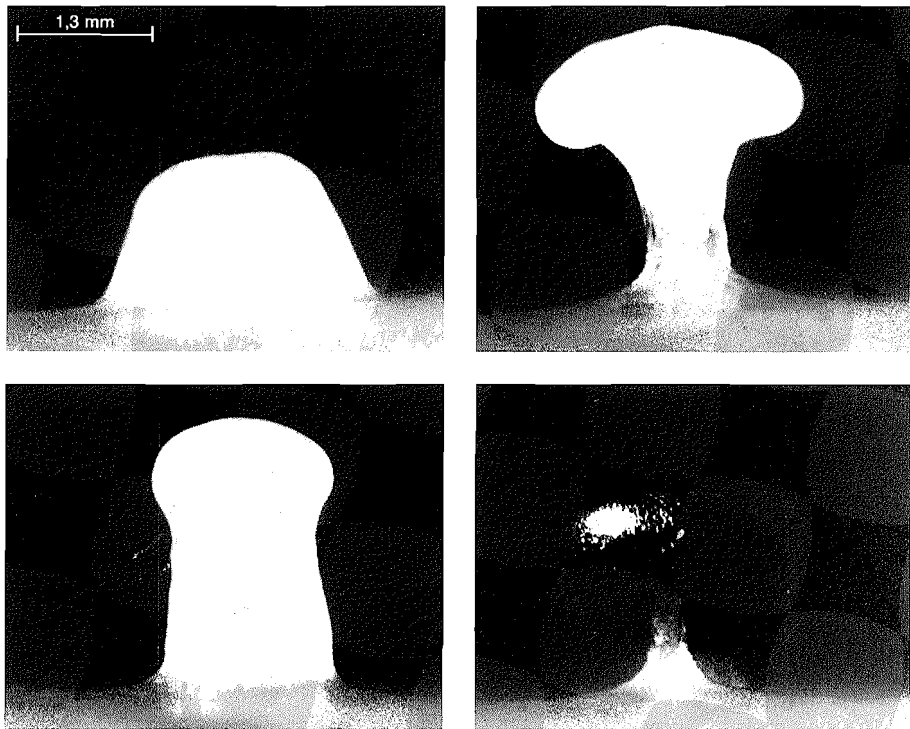


Abb. 8 a–c. Bildung der Fruchtkörper bei *D. nigripes*
(vgl. Einstellung 19)

Fig. 8 a–c. Formation of *D. nigripes* fruiting bodies
(From Scene 19)

Methoden

Protoplasmodien von *E. minutum* (ATCC American Type Culture Collection Nr. 22345, Rockville, Md, USA) wurden auf GPY/10-Agar¹ zusammen mit einem Bakterienrasen von *Enterobacter aerogenes* (Chester) Hormaeche und Edwards

¹ GPY = 0,1% Difco Yeast-Extract, 0,1% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1% Difco-Peptone, 1% Glucose, mit M/100 Phosphatpuffer pH 6,5. GPY/10 ist die zehnfache, GPY/5 die fünffache Verdünnung von GPY. Die festen Nährböden wurden jeweils mit 1,5% Difco-Bacto-Agar hergestellt, ebenso der halbverdünnte Difco-Maismehl-Agar.

gezüchtet, Phaneroplasmodien von *D.nigripes* (ATCC Nr.28363) auf GPY/5-Agar¹ zusammen mit *E.aerogenes*.

Aphanoplasmodien von *S.flavogenita* (ATCC Nr.24714) wurden auf halbverdünntem Maismehlagar gezüchtet, der mit sterilen pulverisierten Haferflocken versetzt war. Danach wurde die Oberfläche des so hergestellten Agars mit einer in dest. H₂O verdünnten Suspension von *E.aerogenes* überschwemmt. Bei der Kultur wurde sorgfältig darauf geachtet, daß die Agaroberfläche während der gesamten aphanoplasmodialen Stadien jeweils von einem dünnen Wasserfilm bedeckt war. Es war notwendig, die Aphanoplasmodien einem täglichen Hell-Dunkel-Wechsel auszusetzen, um eine reproduzierbare Induktion der präsporulativen koralloiden Phase zu gewährleisten. Die Sporulation erfolgte entweder in situ oder nach dem Übersetzen von *E.minutum*, *D.nigripes* oder der koralloiden Phase von *S.flavogenita* auf Petrischalen, die entweder gepufferten (M/100 Phosphat, pH 6,5) oder ungepufferten 1,5% Ionagar Nr.2 (Oxoid) enthielten.

Die Plasmodien wurden auf einer dünnen Agarschicht fotografiert, die gegen einen Objektträger gepreßt wurde (HEUNERT [17]) oder an der Agar-Luft Grenzschicht in einer Mikrokammer aus Glas. Die Aufnahmen wurden auf einem 35-mm-Film (Eastman Double X, London und Ektachrome Negativfilm) mit einer Askania Z-Kamera gemacht. Zeiss Hellfeld, Zernike Phasenkontrast, Nomarski Interferenzkontrast und Tessovar Optik wurden dabei benutzt. Einige der Makrophotographien wurden von Herrn K. PHILLIP vom IWF hergestellt. Wir danken Frl. BRIGITTE MILTHALER, IWF, für ihre technische Assistenz.

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars¹

Entwicklung der Plasmodien

Zeitraffung 1:12 bis 1:720

(Aufnahmefrequenz 2 B/s bis 2 B/min)

1. Mitose in einem einkernigen Plasmodium von *Echinostelium minutum*.

Diese Zelle unterscheidet sich von einer Myxamöbe durch die folgenden Eigenschaften: Schleimschicht, volle Ausstattung mit kontraktile Vakuolen, eine Vielzahl dunkel gefärbter Granula und kurz gezackter Pseudopodien. Außerdem weist die plasmoidiale Phase eine internukleare Mitose auf, die nicht von einer Cytokinese gefolgt wird.

Bildfeldbreite 98 µm; Phasenkontrast (Phako); Aufn.-Frequ. 4 B/min;

Aufnahmezeit 3 Stunden 48 Minuten.

Echinostelium minutum bildet ein Protoplasmodium, einen der drei charakteristischen Plasmodientypen.

Das einkernige Plasmodium in Bildmitte weist kontraktile Vakuolen, dunkle Granula und kurze Pseudopodien auf. Es ist von einer Schleimschicht umgeben. Die

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

Bewegung der cytoplasmatischen Einschlüsse verlangsamt sich während der Meta-, Ana- und Telophase. – Am Ende der Kernteilung setzt bei dem zweikernigen Plasmodium Fortbewegung und Phagozytose wieder ein.

2. Mitose in einem zweikernigen Plasmodium von *E. minutum*.

Hier wird dasselbe Plasmodium wie in Einstellung 1 gezeigt.

Bildfeldbreite 155 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 30 B/min;

Aufnahmezeit 35 Minuten.

Im Anschluß an eine Synthesephase läuft die Mitose im zweikernigen Plasmodium synchron ab.

Nach der Kernteilung beginnen im vierkernigen Plasmodium die Bewegungen der cytoplasmatischen Einschlüsse und die Phagozytose. Gleichzeitig nimmt die Tätigkeit der kontraktilen Vakuolen wieder zu.

3. Mitose in einem vierkernigen Plasmodium von *Echinostelium minutum*.

In dieser Eigenschaft wird wieder dasselbe Plasmodium wie in den Einstellungen 1 u. 2 dargestellt.

Bildfeldbreite 155 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 1 B/s;

Aufnahmezeit 11 Minuten.

Die nächste Teilung erfolgt wiederum synchron und führt zum 8kernigen Plasmodium.

Auch hier erhöht sich die Geschwindigkeit der Cytoplasmabewegungen im Anschluß an die Kernteilung wieder.

4. Wanderung eines Protoplasmodiums von *E. minutum*.

Ein lebhaft wanderndes Protoplasmodium zeigt eine nierenförmige Struktur (Abb. 2).

Bildfeldbreite 195 μm ; Interferenzkontrast (Inko); Aufn.-Freq. 1 B/s;

Aufnahmezeit 8,21 Minuten.

Das kleine Plasmodium von *Echinostelium* wird Protoplasmodium genannt. Es führt gerichtete Bewegungen auf dem Substrat aus und kann seine Form verändern. Die Plasmodienfront ist gelappt, und am Hinterende wird eine Ansammlung von Bakterien in einer Schleimschicht mitgeführt.

5. Übersicht über die aphanoplasmodiale Entwicklung bei *Stemonitis flavogenita*. Sechs unregelmäßig gelappte Plasmodien verschmelzen und bilden ein hyalines aphanoplasmodiales Netzwerk, das aus zarten abgeflachten Adern besteht. Charakteristisch für diese Art ist die vorrückende Plasmodienfront, die aus fingerförmigen Pseudopodien besteht. Nur selten wird ein Randsaum aus Protoplasma an der Peripherie des Plasmodiums beobachtet (Abb. 4a–d).

Bildfeldbreite 1,6 mm; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/min;

Aufnahmezeit 8,36 Stunden.

Stemonitis flavogenita bildet ein Aphanoplasmodium. Diese sechs jungen Stadien strecken sternförmige Pseudopodien aus, die sich verzweigen, fusionieren und ein plasmodiales Netzwerk bilden. Zahlreiche Myxamoeben wandern während der Morphogenese des Plasmodiums über das Substrat.

Die Plasmastränge vereinigen sich netzartig und bilden ein hyalines Aphanoplasmodium.

Die rhythmische Pulsation in den Adern dieses Plasmodiums wird durch die häufige Umkehr der Strömungsrichtung im Plasma hervorgerufen.

6. Bildung eines aphanoplasmodialen Netzes in *S.flavogenita*.

Bildfeldbreite 195 µm; Phako; Aufn.-Freq. 1 B/s;

Aufnahmezeit 9 Minuten.

Hier werden neue Netzschlingen gebildet, indem sich ein Strang aufgabelt und dann mit zwei benachbarten Strängen fusioniert.

7. Übersicht über die phaneroplasmodialen Bewegungen bei *D.nigripes*.

Das reife Phaneroplasmodium besteht aus einem kompakten Randsaum und einem nachfolgenden Geflecht von plasmodialen Strängen. Die Größe dieser beiden Bereiche wird anscheinend vom Ernährungszustand bestimmt.

Bildfeldbreite 12,4 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 2 B/min;

Aufnahmezeit 2,38 Stunden.

Didymium nigripes bildet ein Phaneroplasmodium. Von einem Impfpunkt beginnend, breitet es sich fächerförmig über ein sehr großes Areal auf dem Substrat aus.

8. Eine sich ausbreitende Vorderfront von *D.nigripes*.

Bildfeldbreite 7,5 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min;

Aufnahmezeit 1,26 Stunden.

Das Phaneroplasmodium setzt sich zusammen aus einer kompakten Vorderfront und einem nachfolgenden Geflecht von plasmodialen Strängen. Das in dieser Aufnahme zu beobachtende „Flackern“ ist auf den Wechsel der Strömungsrichtung zurückzuführen.

9. Rhythmisch pulsierende Plasmaströmung in einem Plasmodium von *D.nigripes*.

Bildfeldbreite 2,3 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 2 B/s;

Aufnahmezeit 7,15 Minuten.

Das Plasmodium ernährt sich von einer auf dem Substrat befindlichen Bakterien-schicht.

Die rhythmische Umkehr der Plasmaströmung ist bei höherer Vergrößerung aus An- und Abswellen des vorderen Plasmodiumwulstes besonders gut zu erkennen.

Teilung und Fusion von Plasmodien

Zeitraffung 1:24 bis 1:360

(Aufnahmefrequenz 1 B/s bis 4 B/min)

10. Plasmotomose bei *Echinostelium minutum*.

Eine Spaltung, die sich auf der einen Seite des Protoplasmas bildet, führt zur Entwicklung zweier Lämpchen, die sich schließlich trennen, sobald die Zelle die Zweiteilung durchführt.

Bildfeldbreite 400 µm; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/min;

Aufnahmezeit 1,29 Stunden.

Hat das Protoplasmodium von *Echinostelium* eine bestimmte Größe erreicht, führt es eine Zweiteilung durch. Auch die Bildung von Tochterplasmodien wird von rhythmischen Plasmaströmungen begleitet.

11. Aphanoplasmodiale Verschmelzung in *S.flavogenita*.

Diese Einstellung zeigt die Unterschiede im Fusionsverhalten von Plasmodien und Myxamöben: Zwei Aphanoplasmodien fusionieren bereitwilligst, während eine in der Nähe befindliche Myxamöbe keine Verschmelzung eingeht.

Bei *Stemonitis* fusionieren die Pseudopodien des Aphanoplasmodiums unmittelbar nach Berührung.

12. Aphanoplasmodiale Verschmelzung bei *S. flavogenita*.

Bildfeldbreite 195 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 1 B/s;

Aufnahmezeit 4 Minuten.

Das Verschmelzen eines Pseudopodiums mit einer Plasmodienfront ist durch den Übertritt der Kerne gut zu verfolgen.

13. Verschmelzung eines gefärbten und eines ungefärbten Phaneroplasmodiums bei *D. nigripes*.

Das Plasmodium im oberen Bereich des Bildes ist gefärbt, da es sich von Bäckerhefe ernährt hat, die in Kongorot-Lösung gekocht wurde. Das ungefärbte Plasmodium im unteren Bereich des Bildes verfärbt sich sehr schnell nach der Fusion, was bedeutet, daß der Inhalt beider Plasmodien sich vermischt. Die Verfärbung tritt zuerst in der Hauptader auf und verteilt sich dann in das angrenzende Adergeflecht.

Bildfeldbreite 6,2 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min;

Aufnahmezeit 1,27 Stunden.

Bei der Fusion eines gefärbten und eines ungefärbten Phaneroplasmodiums wird der Farbstoff rasch von dem farblosen Teil aufgenommen und in dem Netzwerk verteilt.

Entwicklung der Fruchtkörper

Zeitraffung 1: 96 bis 1: 1400

(Aufnahmefrequenz 15 B/min bis 1 B/min)

14. Sporangienbildung bei *E. minutum*; Seitenansicht eines Fruchtkörpers (Abb. 6 a-d).

Vor dem Beginn der Sporulation beendet das Protoplasmodium seine Wanderung über das Substrat. Die erste Phase der Sporulation ist das Erscheinen einer hügelartigen Initialanlage in der Mitte des stationären Plasmodiums. Die fast kugelig aussehende sporogene Anlage hebt sich dann vom Substrat ab, indem sie nach unten einen Stiel absondert.

Bildfeldbreite 40 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 8 B/min;

Aufnahmezeit 2,28 Stunden.

Die Sporangienbildung bei *Echinostelium* beginnt mit einer kugeligen Anlage, die sich auf einem schlanken Stiel vom Substrat abhebt. Aus jedem Protoplasmodium geht nur ein Fruchtkörper hervor.

Kurz nachdem der Stiel seine maximale Höhe erreicht hat, differenzieren sich im Inneren der Sporangienanlage nur wenige Sporen aus.

15. Bildung der koralloiden Phase bei *S. flavogenita*.

Die Bildung der koralloiden Phase kennzeichnet das Ende der Wachstumsphase und gleichzeitig den Beginn der Sporulation.

Bildfeldbreite 19,3 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min;

Aufnahmezeit 4,53 Minuten.

Bei *Stemonitis* entwickeln sich zahlreiche Fruchtkörper aus dem weißen Netzwerk des opaken Aphanoplasmodiums. Zunächst bilden sich zentrale Verdichtungen, die sich als unregelmäßig verästelte Ansammlungen vom Substrat erheben. Aufgrund der aufgelockerten Form bezeichnet man sie als Koralloid-Stadium.

16. Bildung der Sporangienanlagen in *S. flavogenita*.

Bildfeldbreite 7,8 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 B/min;

Aufnahmezeit 24 Minuten.

In der Seitenansicht ist zu beobachten, daß diese Aggregate zusammensinken und sich zu gedrungenen Sporangienanlagen umformen.

17. Sporangienentwicklung in *S.flavogenita*; Seitenansicht.

Eine Gruppe von gelbweißen (im Film: weiß) kissenförmigen Sporangienanlagen streckt sich allmählich in die Höhe und erhält eine zylindrische Form. Diese zylindrischen protoplasmischen Klumpen sondern nach unten dunkel-pigmentierte Stiele aus und heben sich so vom Substrat ab. Gleichzeitig mit dem Längenwachstum der Stiele findet in den Sporangien ein Farbwechsel von gelbweiß über blaßrosa zu dunkelbraun statt (im Film: weiß, grau und schwarz), woran die Differenzierung in Kolumella, Kapillitium und Sporen zu erkennen ist (Abb. 7 a-d).

Bildfeldbreite 6,1 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 und 2 B/min;

Aufnahmezeit 7,34 Stunden.

Nach kurzer Zeit strecken sich die dicht aneinanderstehenden Sporangienanlagen in die Höhe und bilden in ihrem Inneren Stiele aus. Das Längenwachstum dieser Stiele hebt die Sporangien vom Substrat ab.

In dieser letzten Phase der Entwicklung werden die Sporangien dunkelbraun. Damit wird die Differenzierung in Columella, fädiges Kapillitium und Sporen eingeleitet.

18. Sporangienbildung bei *D.nigripes* von oben; die Sequenz wird in zwei Bildern dargestellt:

(1) Die Sequenz beginnt mit dem „Hügel“-Stadium, bei dem das ganze Protoplasma von den Adern in die getrennten Hügel fließt, die während der Aufrichtungsphase vom Substrat aus in die Höhe gestoßen werden.

Im Gegensatz zur Sporenbildung in *E.minutum* und *S.flavogenita* ist die Bildung des Sporangiums bei *D.nigripes* von rhythmischen Pulsationen begleitet.

(2) Das Stadium des unpigmentierten Fruchtkörpers ist beendet, wenn die Pigment-Synthese in den Sporangien beginnt. Da einige der Fruchtkörper umkippen, werden die weißlichen Stiele unter den schwärzlichen Sporangien sichtbar.

(1) Bildfeldbreite 11 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq 4 B/min;

Aufnahmezeit 4,36 Stunden.

(2) Bildfeldbreite 11 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/min;

Aufnahmezeit 6,31 Stunden.

Wenn Nahrungsmangel eintritt, gliedert sich bei *Didymium* das Material des Plasmodiums in einzelne Aggregate auf, die sich vom Substrat erheben und sich in gestielte Sporangien umwandeln.

Diese Morphogenese wird von rhythmischen Pulsationen des Protoplasmas begleitet.

19. Sporulation bei *D.nigripes*; Seitenansicht. Dieser Teil besteht aus zwei Einstellungen.

(1) Die Einstellung beginnt in der fortgeschrittenen „Hügel-Phase“, wenn mehrere Sporangienanlagen sich in gestielte Fruchtkörper umwandeln (das Stadium weißer Fruchtkörper).

(2) Während der nachfolgenden Pigmentsynthese-Phase bilden sich Sporen, die ein melaninähnliches Pigment in ihren Wänden enthalten. Während der Aufrichtungsphase pressen sich die seitlichen Ränder der nun länglichen Hügel zusammen und pressen dadurch das sporogene Protoplasma den Stiel hinauf in die sich ausdehnende Spitze. Die Morphologie der reifen Sporophoren wird sehr stark von Umweltbedingungen, z. B. relativer Feuchtigkeit, beeinflusst (Abb. 8 a-c).

(1) Bildfeldbreite 5,5 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min;
Aufnahmezeit 2,52 Stunden.

(2) Bildfeldbreite 5,5 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq 1 B/min;
Aufnahmezeit 5,04 Stunden.

Die kompakten Sporangienanlagen – hier in Seitenansicht – strecken sich im Laufe der Entwicklung unter ständigen Pulsationen des Cytoplasmas in der Längsachse. Schließlich bilden sich am oberen Ende der Anlagen Verdickungen aus, die sich zu pilzhutähnlichen Sporangien umformen. Gleichzeitig verjüngen sich die Stiele und werden hyalin.

Mit Ausbildung der Sporen werden die Sporangien durch Pigmenteinlagerung dunkler.

Sporendifferenzierung

Zeitraffung 1:96 bis 1:720

(Aufnahmefrequenz 15 B/min bis 2 B/min)

20. Kernteilung und Einschnürung der Sporen verlaufen bei *E.minutum* gleichzeitig. In den 8 Kernen dieses leicht gepreßten Sporangiums tritt synchrone Kernteilung auf. Zwei kleinere degenerierte Kerne teilen sich nicht. Nach der Teilung entstehen zunächst 16 Protosporen. Zwei Paare der Protosporen fusionieren und werden zweikernig. Zwei andere Protosporen sind bereits zweikernig aufgrund der Vereinigung degenerierter Kerne. Am Schluß der Szene sieht man besonders deutlich, daß in den 14 Protosporen eine Kern-Rotation stattfindet.

Bildfeldbreite 120 µm; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/min;
Aufnahmezeit 1,03 Stunden.

Dieses Sporangium von *Echinostelium*, das unter einem Deckglas leicht gepreßt wurde, zeigt synchrone Kernteilungen, die in diesem Fall zur Ausbildung von 16 einkernigen Protosporen führen. In diesem Versuch fusionieren durch den Druck des Deckglases zwei Protosporen, so daß zwei Sporen mit je zwei Kernen entstanden sind.

21. Bildung des Kapillitiums bei *S.flavogenita*.

Das ausgedehnte Netzwerk des Kapillitiums, das in dem reifen Sporangium von *Stemonitis* vorhanden ist, fördert vermutlich die Ausbreitung der Sporen. Das dunkelbraune Aussehen des Netzwerkes (im Film grau oder schwarz) ist wahrscheinlich dem Vorhandensein eines melaninähnlichen Pigments zuzuschreiben.

Bildfeldbreite 490 µm; Durchlicht; Aufn.-Freq. 1 B/min;
Aufnahmezeit 3,52 Stunden.

Im Sporangium von *Stemonitis* befindet sich außer der sporogenen Masse ein Kapillitium, dessen Netzwerk sich im Laufe der Entwicklung verdichtet und dunkler färbt.

22. Sporenbildung bei *S.flavogenita*.

Bildfeldbreite 195 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq 4 B/min;
Aufnahmezeit 3,11 Stunden.

In diesem äußeren Teil eines leicht gepreßten Sporangiums kann die Aufgliederung in Sporen sowie die Verzweigung des Kapillitiums und seine Verfärbung deutlich beobachtet werden.

An Ende der Entwicklung bilden die Sporen feste Wände aus, die bräunliche Pigmente enthalten.

23. Sporenbildung bei *S. flavogenita*.
Bildfeldbreite 64 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min;
Aufnahmezeit 3,48 Stunden.

Zwei aufeinanderfolgende Teilungsschritte führen zur Ausbildung der Protosporen.

Die reifen Sporen haben feste, pigmentierte und mit feinen Körnchen besetzte Wände.

Literatur

- [1] ALEXOPOULOS, C. J.: The laboratory cultivation of *Stemonitis*. *Amer. J. Bot.* **46** (1959), 140-142.
- [2] ALEXOPOULOS, C. J.: Gross morphology of the plasmodium and its possible significance in the relationships among the Myxomycetes. *Mycologia* **52** (1960), 1-20.
- [3] ALEXOPOULOS, C. J.: Morphology and laboratory cultivation of *Echinostelium minutum*. *Amer. J. Bot.* **47** (1960), 37-43.
- [4] ALEXOPOULOS, C. J.: The experimental approach to the taxonomy of the Myxomycetes. *Mycologia* **61** (1969), 219-239.
- [5] ALLEN, R. D., and N. KAMIYA (Ed.): *Primitive motile systems in cell biology*. Academic Press, Inc., New York 1964.
- [6] BARY, A. de: *Comparative morphology and biology of the fungi, Mycetozoa and bacteria* (Eng. trans.) Clarendon Press, London 1887.
- [7] BENEDICT, W. G.: Diplophase activity of *Stemonitis fusca* Roth. *Can. J. Bot.* **41** (1963), 1639-1643.
- [8] BENEDICT, W. G.: Plasmodial activity in *Stemonitis fusca* Roth. *Can. J. Bot.* **43** (1965), 355-359.
- [9] ČELAKOVSKÝ, L.: Ueber die Aufnahme lebender und toter verdaulicher Körper in die Plasmodien der Myxomyceten. *Flora* **76** (1892), 182-244.
- [10] COLLINS, O. R., and E. F. HASKINS: Evidence for polygenic control of plasmodial fusion in *Physarum polycephalum*. *Nature (Lond.)* **226** (1970), 279-280.
- [11] COLLINS, O. R., and E. F. HASKINS: Genetics of somatic fusion in *Physarum polycephalum*: the Pp II strain. *Genetics* **71** (1972), 63-71.
- [12] GRAY, W. D., and C. J. ALEXOPOULOS: *Biology of the Myxomycetes*. Ronald Press, New York 1968.
- [13] HASKINS, E. F.: Developmental studies on the true slime mold *Echinostelium minutum*. *Can. J. Microbiol.* **14** (1968), 1309-1315.
- [14] HASKINS, E. F.: Sporophore formation in the myxomycete *Echinostelium minutum* de Bary. *Arch. Protistenk.* **113** (1971), 123-130.
- [15] HASKINS, E. F., and A. A. HINCHEE: Light- and ultra-microscopical observations on the surface structure of the protoplasmodium, aphanoplasmodium, and phaneroplasmodium (Myxomycetes). *Can. J. Bot.* **52** (1974), 1835-1839.
- [16] HASKINS, E. F., A. A. HINCHEE and R. A. CLONEY: The occurrence of synaptonemal complexes in the slime mold *Echinostelium minutum* de Bary. *J. Cell Biol.* **51** (1971), 898-903.
- [17] HEUNERT, H. H.: Präparationsmethoden für Vitalbeobachtungen an Mikroorganismen. *Zeiss Informationen* **20**, 81 (1972/73), 40-49.
- [18] INDIRA, P. U.: On the plasmodium of Myxomycetes. *Univ. Iowa Stud. Nat. Hist.* **21**, 3 (1969), 1-35.

- [19] INDIRA, P.U.: The life-cycle of *Stemonitis herbatica*. Trans. Brit. Mycol. Soc. **53** (1969), 25-38.
- [20] INDIRA, P.U.: The life-cycle of *Stemonitis herbatica*. II. Trans. Brit. Mycol. Soc. **56** (1971), 251-259.
- [21] KELLER, H.W.: The genus *Perichaena* (Myxomycetes): a taxonomic and cultural study. Ph.D. dissertation, Univ. of Iowa, Iowa City (1971).
- [22] KERR, N.S.: Plasmodium formation by a minute mutant of the true slime mold, *Didymium nigripes*. Exp. Cell Research **45** (1967), 646-655.
- [23] KERR, N.S., and J.N. WAXLAX: The fusion of plasmodia of a true slime mold grown on various nutrients and the mixing of fused plasmodia. Trans. Amer. Microsc. Soc. **87** (1968), 197-200.
- [24] KERR, S.J.: A comparative study of mitosis in amoebae and plasmodia of the true slime mold *Didymium nigripes*. J. Protozool. **14** (1967), 439-445.
- [25] KERR, S.J.: Cytological observations on plasmodial differentiation in the true slime mold, *Didymium nigripes*. Ph.D. dissertation. Univ. of Minnesota, Minneapolis (1968).
- [26] KERR, S.J.: Ploidy level in the true slime mould *Didymium nigripes*. J. gen. Microbiol. **53** (1968), 9-15.
- [27] KOMNICK, H., W. STOCKEM, and K.E. WOHLFARTH-BOTTERMANN: Cell motility: mechanisms in protoplasmic streaming and ameoboid movement. Intern. Rev. Cytol. **34** (1973), 169-249.
- [28] LUCAS, S., M. BAZIN, and N.S. KERR: Observation on the differentiation of plasmodia into fruiting bodies by the true slime mould *Didymium nigripes*. J. gen. Microbiol. **53** (1968), 17-21.
- [29] MCMANUS, Sister M.A.: Culture of *Stemonitis fusca* on glass. Amer. J. Bot. **48** (1961), 582-588.
- [30] MCMANUS, Sister M.A.: Laboratory cultivation of *Clastoderma debaryanum*. Amer. J. Bot. **48** (1961), 884-888.
- [31] MCMANUS, Sister M.A.: Some observations on plasmodia on the Trichiales Mycologia **54** (1962), 78-90.
- [32] MCMANUS, Sister M.A.: Cultivation on agar and study of the plasmodia of *Licea biforis*, *Licea variabilis*, and *Cribraria violaceae*. Mycologia **58** (1966), 479-483.
- [33] MCMANUS, Sister M.A., and Sister M.V. RICHMOND: Spore to spore culture on agar of *Stemonitis fusca*. Amer. Midl. Nat. **65** (1961), 246.
- [34] MCMANUS, Sister M.A., and M.K. TAYLOR: Some observations on the plasmodia of Myxomycetes. Iowa Acad. Sci. **68** (1961), 72-78.
- [35] MILLER, C.O.: The aseptic cultivation of Mycetozoa. Quart. Jour. Micro. Sci. **41** (1898), 43-71.
- [36] MIMS, C.W.: A light and electron microscope study of sporulation in the myxomycete *Stemonitis virginiensis*. Protoplasma **77** (1973), 35-54.
- [37] MIMS, C.W.: An ultrastructural study of spore germination in the myxomycete *Stemonitis virginiensis*. Protoplasma **78** (1973), 243-254.
- [38] ROSS, I.K.: Capillitial formation in the Stemonitaceae. Mycologia **49** (1957), 809-819.
- [39] ROSS, I.K.: The Stemonitomycedidae, a new subclass of Myxomycetes. Mycologia **65** (1973), 477-485.
- [40] STOSCH, H.A. von: Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Myxomyceten. Handbuch der Pflanzenphysiologie **15** (1965), 641-679.
- [41] THOM, C., and K.B. RAPER: Myxamoebae in soil and decomposing crop residues. J. Wash. Acad. Sci. **20** (1930), 362-370.

- [42] WOLLMANN, C.: Cultural studies of selected species of Myxomycetes. Ph.D. dissertation. Univ. of Texas, Austin (1966).
- [43] WOLLMANN, C., and C. J. ALEXOPOULOS: The plasmodium of the myxomycete *Licea biforis* in agar culture. *Mycologia* 59 (1967), 423–430.
- [44] ZUKAL, H.: Über zwei neue Myxomyceten. *Oesterr. Bot. Z.* 43 (1893), 73–77, 133–137.

Filmveröffentlichungen

- [45] HASKINS, E.F.: *Echinostelium minutum* (Myxomycetes) – Amoebal Phase. Film E 1816 des IWF, Göttingen 1973. Publikation von E.F. HASKINS, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol.*, Bd. 9, H. 3 (1976), 235–245.
- [46] HASKINS, E.F.: *Echinostelium minutum* (Myxomycetes) – Plasmodial Phase (Protoplasmodium). Film E 1817 des IWF, Göttingen 1973. Publikation von E.F. HASKINS, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol.*, Bd. 7, H. 1 (1974), 55–66.
- [47] HASKINS, E.F.: *Stemonitis flavogenita* (Myxomycetes) – Plasmodial Phase (Aphanoplasmodium). Film E 2000 des IWF, Göttingen 1974. Publikation von E.F. HASKINS, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol.*, Bd. 8, H. 1 (1975), 1–14.
- [48] KERR, N.S.: *Didymium nigripes* (Myxomycetes) – Plasmodium Phase (Phaneroplasmodium). Film E 1569 des IWF, Göttingen 1969. Publikation von N.S. KERR, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol.*, Bd. 4, H. 2 (1971), 110–122.
- [49] KERR, N.S., und INST. WISS. FILM: Entwicklung von *Didymium* (Myxomycetes) – Plasmodium-Phase. Film C 1045 des IWF, Göttingen 1970. Publikation von N.S. KERR, Göttingen 1973, 18 S.

Abbildungsnachweis

Abb. 1: E.F. HASKINS; Abb. 2–8: Einzelbilder aus dem Film.

Comparative Plasmodial Types and Sporulation in the Myxomycetes

General Preliminary Remarks

Systematic Position

Because the myxomycetes or true plasmodial slime molds (Class Myxomycetes, Division Myxomycota) possess characteristics of both plants and animals, they have attracted the attention of biologists. Of particular interest is the multinucleate, amoeboid assimilative phase termed the plasmodium (Fig. 1). A plasmodium can differentiate into one or more organized plant-like fruiting bodies containing uninucleate spores or it can form polynucleate cysts (spherules). Although it is generally assumed that the plasmodium is the product of syngamy, and hence a diploid cell, it is theoretically possible that it can develop directly from a uninucleate amoeba and hence there might be no alternation of ploidy during the life cycle.

Currently, through the studies of various workers, three general types of plasmodia are recognized: the protoplasmodium, the aphanoplasmodium, and the phaneroplasmodium (GRAY and ALEXOPOULOS [12]). In varying degrees, these three cell types have the capacity for engulfment of particulate matter, for rapid migration over the substratum while undergoing oscillatory cyclosis (shuttle streaming), for plasmodial coalescence (somatic fusion), and for formation of thick-walled cysts

or spores. This film documents the plasmodial and sporangial phases of a representative protoplasmodial (*Echinostelium minutum* de Bary), aphanoplasmodial (*Stemonitis flavogenita* Jahn), and phaneroplasmodial (*Didymium nigripes* [Link] Fries) slime mold.

Plasmodial types

Until recently little importance was ascribed to plasmodial differences. The designation of the protoplasmodium, aphanoplasmodium, and phaneroplasmodium recognizes the distinctive nature of these cell types and emphasizes the morphological and taxonomical significance of the plasmodial habit. The protoplasmodium, formed by some species of the Order Liceales and apparently all species of the Order Echinosteliales, is granular, lacks a system of veins or channels, usually displays irregular protoplasmic streaming, and always remains diminutive (20–300 μm in diameter). An aphanoplasmodium, typically developed by members of the Order Stemonitales, consists of a system of slender (20–40 μm in diameter), flattened veins, which with the exception of the presporulation phase, lack a gelled ectoplasm. The aphanoplasmodial veins display a rhythmic reversible flow which may vary from rapid to slow or even imperceptible. The phaneroplasmodium, characteristically produced by members of the Order Physarales, has granular cytoplasm, displays a fleshy fan at its advancing front and has thick, tubular veins (up to 1mm in diameter) which possess a gellified ectoplasm and a rhythmic reversible streaming endoplasm. A potential fourth type of plasmodia, which shares attributes of the foregoing, has been observed in species of the Order Trichiales by MCMANUS [31], WOLLMAN [42] and KELLER [21]. Here the plasmodia have advancing fans with granular veins which typically lack a gelled ectoplasm, and have lateral vein extensions which display irregular streaming. This type of plasmodium probably represents an intermediate form between the aphanoplasmodium and phaneroplasmodium.

The Protoplasmodium

The protoplasmodial type, studied first in *Licea parasitica* (Zukal) Martin by ZUKAL [44], was not documented carefully and designated as such until the study by ALEXOPOULOS [3] on *E. minutum*. ALEXOPOULOS [2] pointed out that a mature protoplasmodium resembles the young phaneroplasmodium of the Physarales. The initial conception of the protoplasmodium has been expanded by the study of MCMANUS [32] on *Licea biforis* Morgan and *Cribraria violacea* Rex. She reports that in *L. biforis* the individual protoplasmodium gives rise to one sporangium. In *C. violacea* the feeding plasmodium is round in appearance whereas the migrating form stretches out into a network of small veins. Here each protoplasmodium gives rise to a single sporophore.

The isolate of *E. minutum* used in this film develops a protoplasmodium 20–250 μm in diameter (HASKINS [13], [15]). The young form is round to oval while the mature form is reniform. A migrating, feeding protoplasmodium usually displays a hyaloplasmic anterior margin which may be deeply lobed in contrast to the posterior

(Fig. 2). Protoplasmodial mitosis is intranuclear and centrioles are lacking whereas myxamoebal mitosis is extranuclear and centrioles are present (HASKINS and HINCHEE, unpublished). Subsequent to mitosis a protoplasmodium undergoes plasmotomy (Fig. 3 a-d). This results in the formation of two daughter plasmodia which often differ in size and nuclear number. The observations of the current study indicate that protoplasmodial coalescence does not occur in this isolate. This is in agreement with the study by ALEXOPOULOS [3] made on another isolate of *E. minutum*. The observations by MCMANUS [30], [32], concerning the absence of protoplasmodial coalescence in *Clastoderma debaryanum* Blytt and *L. biforis*, which suggested that this might be a general attribute of the protoplasmodium is thrown into doubt by the report by WOLLMAN and ALEXOPOULOS [43] which confirmed plasmodial coalescence in *L. biforis*. Their report on the occurrence of reversible streaming during coalescence in *L. biforis* and the observation of a similar phenomenon accompanying plasmotomy in *E. minutum* (HASKINS [46]) suggest that in these instances protoplasmodial streaming can resemble that seen in a phanero-plasmodium or aphanoplasmodium.

Under unfavorable conditions such as accumulation of metabolic wastes, a protoplasmodium of *E. minutum* rounds up and a refractile membrane develops around the cell. That this refractile boundary actually represents a wall, is indicated by an electron microscopical investigation made on protoplasmodial cysts (HASKINS and HINCHEE unpublished).

The Aphanoplasmodium

Apparently de BARY [6] was aware of the delicate nature of the plasmodial strands of *Stemonitis fusca* Roth when he noted that its plasmodium was inconspicuous and not visible to the naked eye until it formed sporangia. ČELAKOVSKÝ [9] described the transparency of the plasmodial veins of *Stemonitis dictyospora* Rost (*S. fusca*) and stated that the veins were not differentiated into ecto- and endoplasmic zones. MILLER [35] appears to have been the first worker to illustrate this distinctive plasmodial habit. The drawing of an unidentified species of *Stemonitis* which he presents shows few plasmodial veins which exceed 20 μm in diameter. More recently THOM and RAPER [41] described the closed networks of delicate strands of colourless plasmodial protoplasm of *Stemonitis*. However, it was ALEXOPOULOS [1], [2], who first pointed out that the plasmodium of *Stemonitis* possesses a number of distinctive characteristics which separate it readily from other plasmodial types. This led him to propose the term aphanoplasmodium for this plasmodial form. A number of studies have been made recently on the stemonitoid plasmodium by ALEXOPOULOS [4], BENEDICT [7], [8], INDIRA [18], [19], [20], MCMANUS [29], MCMANUS and RICHMOND [33], MCMANUS and TAYLOR [34], MIMS [36], [37], and ROSS [38], [39].

It remains to be proved that the plasmodial phase of the isolate of *S. flavogenita* used in this film develops as a consequence of syngamy. Young plasmodia, four- to eight-nucleate, often have a linear orientation. Other young plasmodia, irregularly lobed, possess peripheral finger-like pseudopodia. It is unclear whether the

former stage gives rise to the latter or if they represent two different developmental pathways. In both growth forms the peripheral pseudopodia spread out, branch, coalesce and thus give rise to the delicate, transparent aphanoplasmodial reticulum (Fig. 4a-d). When adjacent aphanoplasmodia contact one another they coalesce. This process usually leads to the production of a single extensive aphanoplasmodium in a culture dish. Under unfavorable conditions such as lack of food or accumulation of metabolic wastes an aphanoplasmodium may encyst by transforming its veins into one or more chains of refractile cysts. These are capable of germination under favorable conditions.

The Phaneroplasmodium

The phaneroplasmodium is the most extensively studied plasmodial type (GRAY and ALEXOPOULOS [12]). The plasmodial channels or veins consist of an outer ectoplasmic gel layer and central endoplasm in a sol state (Fig. 5). The endoplasm continuously streams back and forth in a rhythmic manner. When a vein is punctured its contents extrude suggesting that the protoplasm is under pressure. The numerous studies that have been made on the phenomenon of streaming suggest the involvement of a pressure flow mechanism (ALLEN and KAMIYA [5], KOMNICK, STOCKEM, and WOHLFARTH-BOTTERMANN [27]).

That the isolate of *D. nigripes* used for this film develops by apogamy is indicated by the following lines of evidence. The reports of von STOSCH [40] and S. KERR [26] on this isolate state there is no ploidal difference between the amoebal and plasmodial phase. S. KERR [26] did find however, that nuclei within a phase possess differing chromosomal numbers. Furthermore, N. KERR [22] demonstrated with time-lapse cinphotomicroscopy that the S-3 mutant of this isolate produces plasmodia directly from myxamoebae. He found no evidence of myxamoebal fusion.

In *D. nigripes* the nuclear envelope persists during plasmodial nuclear division whereas it breaks down during myxamoebal mitosis (S. KERR [24]). Centrioles are absent during division in the plasmodium and are present during mitosis in the myxamoeba. Aberrant nuclear division leads to the production of nuclei of differing sizes. Large nuclei are formed when daughter nuclei fail to pinch apart during telophase (S. KERR [25]).

KERR and WAXLAX [23] grew plasmodia of *D. nigripes* on a variety of different media in association with a number of different food organisms. In all circumstances the plasmodia coalesced upon contact. COLLINS and HASKINS [10], [11] have proposed that plasmodial coalescence occurs in *Physarum polycephalum* Schw. when the colliding plasmodia are phenotypically or genotypically identical at all the plasmodial coalescence loci.

Sporulation

Upon deprivation of a bacterial food supply, a protoplasmodium of *E. minutum* differentiates into a single sporophore consisting of a globose, white spore-mass mounted atop a tapering, acellular stalk (HASKINS [14], Fig. 6a-d). This conversion, which typically produces a mature sporophore within 2 to 3 hours, begins with the

appearance of a hemispherical nodule in the center of the protoplasmodium. Fifteen minutes after fruiting body inception, a stalk, which continues to elongate for approximately the next 2 hours, develops beneath the initial. At the cessation of stalk elongation synchronous nuclear division occurs in the sporangium. This is concomitant with the progressive, centripetal cleavage which divides the sporogenous protoplasm into uninucleate, amoeboid protospores. These are subsequently invested with spore walls. Because it is possible to monitor accurately the number of nuclei present in the immature sporangium, and because the number of nuclei present in the protospore stage is twice that found in the immature sporangium, it can be concluded that there is evidence for only one wave of nuclear division before spore wall formation. The light and electron microscopical study by HASKINS, HINCHEE and CLONEY [16] indicates that additional nuclear division occurs within the spore case of this species. That meiosis takes place during sporulation is suggested by the observation of normal and anomalous synaptonemal complexes during division.

The first morphological indication of the onset of sporulation in *S.flavogenita* is the development of an opaque aphanoplasmodial phase. The veins of the hyaline aphanoplasmodium progressively lose their transparency due to the accumulation of palewhite granular material. Subsequently, the opaque veins condense further to form the coralloid-phase which consists of yellowish-white dendritic elements more or less erect in habit. This phase migrates actively over the substratum for one to several days before sporophores are formed. Multiple sporangial initials develop from a coralloid plasmodium in the form of close packed pulvinate masses yellowish-white in color. As the initials elongate they become more cylindrical and the development of the internal stalks can be observed. The stalks grow in length and elevate the sporangia from the substratum. Progressively the maturing sporangia become yellowish-white, pale pinkish, and brown as columellar, capillitial, and spore formation occurs (Fig. 7 a-d).

A plasmodium of *D.nigripes* differentiates readily into multiple fruiting bodies when deprived of its bacterial food supply (Fig. 8 a-c). After repeated sweeps over the non-nutrient agar the plasmodium ceases its migration. The plasmodium gradually forms small mounds or heaps of protoplasm. Subsequently, these mounds rise off the substratum in the form of pulsating peg-like structures (LUCAS, BAZIN and KERR [28]). The maturing plasmodia undergo color changes from white, to pink, to brown, and finally black, the color of the mature sporophore. The blackish appearance of the mature fruiting body is presumed to be due to the presence of melanin in the spore cases (HASKINS, unpublished).

Fruiting bodies are formed quite differently in *D.nigripes* than in *E.minutum* or *S.flavogenita*. In *Didymium*, peg-like mounds form. The margins of these mounds then move together, squeezing out above them the protoplasm which will form the head of the sporophore. In contrast, in *Echinostelium* the nearly spherical sporogenous mass rises off the substrate due to the secretion of a basal stalk. As a consequence, the size of the rising sphere of protoplasm diminishes somewhat as additional stalk is secreted. Superficially *Stemonitis* behaves more like *Echinostelium* than *Didymium*. As fruiting bodies form, the sporogenous rising masses secrete

darkly-pigmented stalks. However, here the stalk represents an internal, or intracytoplasmic secretion (Ross [39]), in contrast to the developmental pattern found in *Echinostelium* and *Didymium* where the stalk forms externally.

Methods

Protoplasmodia of *E. minutum* (ATCC no. 22345, American Type Culture Collection, Rockville, Md. U.S.A.) were grown on GPY/10 agar¹ spread with a film of bacterial food source, *Enterobacter aerogenes* (Chester) Hormaeche and Edwards. Phaneroplasmodia of *D. nigripes* (ATCC no. 28363) were grown on GPY/5 agar¹ in association with *E. aerogenes*. Aphanoplasmodia of *S. flavogenita* (ATCC no. 24714) were grown on one-half strength Difco corn meal agar supplemented nutritionally by the addition of sterile, pulverized oat flakes. Subsequently, the surface of this culture medium was flooded with a dilute suspension of *E. aerogenes* in distilled water and care was taken to maintain a film of water on the agar surface during all stages of aphanoplasmodial development. It was necessary to expose the aphanoplasmodia to a daily light-dark cycle in order to insure the consistent induction of the presporulation coralloid phase. Sporulation occurred either in situ or following transfer of *E. minutum*, *D. nigripes*, or the coralloid phase of *S. flavogenita* to plates of buffered (M/100 phosphate, pH 6.5) or unbuffered 1.5% (w/v) Ionagar no. 2 (Oxoid). Plasmodia were photographed on a thin layer of agar pressed against a coverslip (HEUNERT [17]), or at an agar/air interface in a glass microchamber. Photographs were taken on 35 mm film (Eastman Double X, London and Ektachrome negative film) using an Askania-Z-camera. Zeiss bright-field, Zernike phase-contrast, Nomarski-interference contrast, and Tessover optics were used. Some of the macrophotographs were taken by Mr. K. PHILIPP of the IWF. The technical assistance of Miss BRIGITTE MILTHALER IWF, is gratefully acknowledged.

Interpretation of Film

English Version of the Spoken Commentary²

Entwicklung der Plasmodien

Zeitraffung 1: 12 bis 1: 720

(Aufnahmefrequenz 2 B/s bis 2 B/min)

(Development of Plasmodia; Timelapse)

1. Mitosis in a uninucleate plasmodium of *E. minutum*.

This cell is distinguished from a myxamoeba by the possession of the following features: a slime sheath; a complement of distinctive contractile vacuoles; numerous

¹ GPY = 0.1% Difco yeast extract, 0.1% MgSO₄ · 7H₂O, 1% Difco peptone, 1% glucose, buffered with M/100 phosphate, pH 6.5. GPY/10 is a 1:10 dilution of GPY; GPY/5 is a 1:5 dilution of GPY. GPY/10, GPY/5, and half strength Difco corn meal agar were solidified with 1.5% (w/v) Difco Bacto agar.

² The passages in *italics* correspond with the subtitles in the film. - The indented passages in small type provide additional informations.

phase-dark granules; and flame-shaped pseudopodia. Furthermore, the plasmodial phase displays intranuclear mitosis which is not followed by cytokinesis whereas the amoebal phase undergoes extranuclear division and subsequent cytokinesis.

Frame width 98 μm ; phase-contrast; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 3 h. 48 min.

Echinostelium minutum develops one of three characteristic plasmodial types. The uninucleate plasmodium in the center of the picture shows contractile vacuoles, dark granules and short pseudopodia, surrounded by a slime sheath. The movement of cytoplasmic inclusions slows down during the metaphase, anaphase and telophase. At the end of nuclear division the binucleate plasmodium resumes cyclosis and phagocytosis.

2. Mitosis in a binucleate plasmodium of *E. minutum*.

This plasmodium is the same one recorded in scene 1, above.

Frame width 155 μm ; phase-contrast; exposure frequency 30 f/min;
elapsed time 35 min.

Following the synthesis period the mitosis proceeds synchronically in the binucleate plasmodium.

After the nucleate division movements of cytoplasmic inclusions and phagocytosis start in the 4-nucleate plasmodium. Simultaneously the activity of the contractile vacuoles increases.

3. Mitosis in a 4-nucleate plasmodium of *E. minutum*.

This is the same plasmodium recorded in scene 1 and 2, above.

Frame width 155 μm ; phase-contrast; exposure frequency 1 f/s;
elapsed time 11 min.

The next division occurs also synchronously and leads towards the 8-nucleate plasmodium. Again, after the nucleate division the tempo of cytoplasmic movement increases.

4. Migrating protoplasmodium of *E. minutum*.

An actively migrating protoplasmodium is reniform in shape (Fig. 2).

Frame width 195 μm ; interference-contrast; exposure frequency 1 f/s;
elapsed time 8 min. 21 sec.

The small plasmodium of *Echinostelium* is called protoplasmodium. It migrates over the substratum and is able to alter its form.

The protruded plasmodia front carries on its posterior end a cluster of bacteria in a slime sheath.

5. Overview of aphanoplasmodial development in *S. flavogenita*.

Six, irregularly lobed plasmodia fuse to form a hyaline, aphanoplasmodial network composed of delicate, flattened veins. Typically, the advancing front of this plasmodial type consists of finger-like pseudopodia and only rarely are continuous sheets of protoplasm observed at the periphery of the plasmodium (Fig. 4 a-d).

Frame width 1.6 mm; interference-contrast; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 8h. 36 min.

Stemonitis flavogenita forms an aphanoplasmodium. These six young stages spread about star-like pseudopodia, which branch, fuse, coalesce and form a plasmodial

network. Numerous myxamoebae migrate over the substratum during plasmodial morphogenesis.

The cytoplasmic veins fuse into some kind of mesh and form a single hyaline aphanoplasmodium.

The rhythmic pulsation in the veins of this plasmodium is due to reverse streaming in the protoplasm.

6. Formation of aphanoplasmodial meshes in *S.flavogenita*.

Frame width 195 μm ; phase-contrast; exposure frequency 1 f/s;
elapsed time 9 min.

Here new meshes are formed as a strain bifurcates and then fuses with two adjacent veins.

7. Overview of phaneroplasmodial movement in *D.nigripes*.

The mature phaneroplasmodium consists of an anterior fleshy fan and a posterior reticular network of thick, tubular veins. Apparently, the nutritional state of the plasmodium determines the relative size of these two regions.

Frame width 12,4 mm; bright-field; exposure frequency 2 f/min;
elapsed time 2 h. 38 min.

Didymium nigripes forms a phaneroplasmodium.

Starting from a point of inoculation it spreads out in a fan-like manner over a large area of the substratum.

8. An advancing phaneroplasmodial front of *D.nigripes*.

Frame width 7.5 mm; bright-field; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 1 h. 26 min.

The phaneroplasmodium consists of a compact front and a posterior network of plasmodial veins. The flickering observed is due to an alternation of the plasmodial streaming.

9. Rhythmic streaming in a feeding plasmodium of *D.nigripes* (Fig. 5).

Frame width 2.3 mm; bright-field; exposure frequency 2 f/s;
elapsed time 7 min. 15 sec.

The plasmodium is feeding from a layer of bacteria, living on the substratum.

The rhythmic reversal of the plasmodial streaming is best observed under higher magnification because of the rising and shrinking of the advanced front.

Teilung und Fusion von Plasmodien

Zeitraffung 1:24 bis 1:360

(Aufnahmefrequenz 1 B/s bis 4 B/min)

(Cleavage and Fusion; Timelapse)

10. Plasmotomy in *E.minutum*.

A cleft which forms on one side of the protoplasmodium leads to the development of two lobes which ultimately separate as the cell divides in two (Fig. 3 a–d).

Frame width 400 μm ; interference-contrast; exposure frequency 8 f/min;
elapsed time 1 h. 29 min.

Reaching a certain size, the protoplasmodium of *Echinostelium* undergoes a binary fission. The forming of daughter plasmodia is also accompanied by rhythmic cytoplasmic streaming.

11. Aphanoplasmodial coalescence in *S.flavogenita*.

In this sequence, although coalescence occurs readily between two adjacent aphanoplasmodia, a nearby myxamoeba does not coalesce with the resultant plasmodium. Frame width 120 μm ; phase-contrast; exposure frequency 1 f/s; elapsed time 4 min.

As to *Stemonitis*, the pseudopodia of aphanoplasmodium coalesce directly after contact.

12. Aphanoplasmodial coalescence in *S.flavogenita*.

Frame width 195 μm ; phase-contrast; exposure frequency 1 f/s; elapsed time 4 min.

The fusion of a pseudopodium with a plasmodial front is especially good to observe when the nuclei pass over.

13. Coalescence between a stained and unstained phaneroplasmodium of *D.nigripes*.

The plasmodium in the upper portion of the field is stained because it has fed on baker's yeast which has been boiled in a solution of Congo Red. The unstained plasmodium in the lower portion of the field becomes coloured quickly after coalescence, indicating that the contents of the two plasmodia are mixing. Staining occurs first in the major vein and subsequently spreads through the adjacent plasmodial network. Frame width 6.2 mm; bright-field; exposure frequency 4 f/min; elapsed time 1 h. 27 min.

When coalescence occurs between a stained and unstained phaneroplasmodium the colour is rapidly taken up by the unstained part and distributed among the network.

Entwicklung der Fruchtkörper

Zeitraffung 1:96 bis 1:1400

(Aufnahmefrequenz 15 B/min bis 1 B/min)

(Development of Fruiting-Body; Timelapse)

14. Sporangial formation in *E.minutum*; lateral view of one fruiting body (Fig. 6 a-d).

Prior to the beginning of sporulation, the protoplasmodium ceases its migration over the substratum. The first stage of sporulation is the appearance of a mound-shaped initial in the center of the stationary plasmodium. As the nearly spherical sporogenous mass rises off the substrate it secretes a basal stalk.

Frame width 400 μm ; bright-field; exposure frequency 8 f/min; elapsed time 2 h. 28 min.

The formation of fruiting bodies in *Echinostelium* starts with a spherical initial, which is elevated progressively atop a tapering acellular stalk. Each protoplasmodium forms only one sporangium.

Shortly after the stalk has reached its maximal height the center of the sporangium develops some spores.

15. Formation of the coralloid stage in *S.flavogenita*.

The formation of the coralloid phase marks the end of the assimilation period and the beginning of sporulation.

Frame width 19.3 mm; bright-field; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 4 h. 53 min.

In *Stemonitis* numerous fruiting bodies develop out of the white, opaque network of aphanoplasmodium. First of all central portions, which extrude as irregular accumulations on the substratum, are formed. Due to the yellowish colour and the disaggregated form, this stage is called the coralloid phase.

16. Formation of sporangial initials in *S.flavogenita*.

Frame width 7,8 mm; bright-field; exposure frequency 15 f/min;
elapsed time 24 min.

Looking from a side view it can be observed that these aggregates collapse and transform into peg-shaped sporangia.

17. Sporangial development in *S.flavogenita*; lateral view.

A cluster of yellowish-white (seen in the film as white), pulvinate sporangial initials elongate progressively and become cylindrical in shape. The cylindrical protoplasmic masses secrete darkly-pigmented stalks as they rise off the substrate. Concomitant with the growth in length of the stalks is a colour change in the sporangia from yellowish-white, to pale-pinkish, to dark brown (seen in film as white, shades of gray, and black) which signals columellar, capillitial and spore formation (Fig. 7 a-d).

Frame width 6.1 mm; bright-field; exposure frequency 4 and 2 f/min;
elapsed time 7 h. 34 min.

After a little while a cluster of sporangial initials elongates and forms internal stalks. The growth in length of these stalks elevates the sporangia from the substratum. Simultaneously they transform into capillitial form and their colour becomes dark brown.

In this last stage of development columella, capillitium and spores start to differentiate.

18. Sporangial formation in *D.nigripes* from above.

The sequence is presented in 2 scenes: (1) The scene begins in the Mounding Stage as all the protoplasm flows from the veins into discrete mounds which are pushed upward in the Rising Stage. In contrast to sporangial formation in *E.minutum* and *S.flavogenita*, the developing sporangia of *D.nigripes* pulsate in a rhythmic manner. (2) The White Fruit Stage concludes when pigment synthesis begins in the sporangia. As some of the fruiting bodies fall over, their whitish stalks can be seen beneath the blackish sporangia.

(1) Frame width 11 mm; bright-field; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 4 h. 36 min.

(2) Frame width 11 mm; bright-field; exposure frequency 1 f/min;
elapsed time 6 h. 31 min.

When starved the plasmodium of *Didymium* breaks up into single aggregates, which extrude from the substratum into stalked sporangia.

This morphogenesis is accompanied by rhythmic protoplasmic pulsations.

19. Sporulation in *D.nigripes*; lateral view.

The sequence consists of 2 scenes.

(1) The scene begins in the late Mounding Stage as several sporangial initials differentiate into stalked fruiting bodies (White Fruit Stage).

(2) The Pigment Synthesis Stage which follows is correlated with the formation of spores which contain a melanin-like pigment in their walls. During the Rising Stage the lateral margins of the mounds squeeze together, forcing the sporogenous protoplasm up through the stalk into the expanding apex. The morphology of the mature sporophores is profoundly influenced by environmental conditions such as relative humidity (Fig. 8 a–c).

(1) Frame width 5.5 mm; bright-field; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 2 h. 52 min.

(2) Frame width 5.5 mm; bright-field; exposure frequency 1 f/min;
elapsed time 5 h. 4 min.

The compact sporangial initials, here in side view, extend in length during the development under continuous cytoplasmic pulsations. Finally the initials form at the top end advancements which transform into cap-like sporangia. Simultaneously the stalks reduce and become hyaline.

The sporangia darken as spores form.

Sporendifferenzierung

Zeitraffung 1:96 bis 1:720

(Aufnahmefrequenz 15 B/min bis 2 B/min)

(Differentiation of Spores; Timelapse)

20. Nuclear division concurrent with sporangial cleavage in *E.minutum*.

Synchronous nuclear division occurs in 8 nuclei of this slightly compressed sporangium. Two smaller degenerating nuclei do not divide. Although cleavage results initially in the formation of 16 protospores, two pairs of protospores fuse and become binucleate. Two other protospores are binucleate because of incorporation of degenerating nuclei. As the scene concludes, nuclear rotation is especially prominent within the 14 protospores.

Frame width 120 μm ; phase-contrast; exposure frequency 15 f/min;
elapsed time 1 h. 3 min.

This sporangium of *Echinostelium*, slightly pressed under a cover slip, shows synchronous nucleate division which leads towards the formation of 16 protospores. In this shot, the subdivisions of two nucleate pairs of the cytoplasm do not occur due to the cover slip pressure, so that two protospores with two nuclei are formed.

21. Capillitial formation in *S.flavogenita*.

The extensive capillitial network which is present in the mature sporangium of *Stemonitis* is presumed to assist in the dispersion of spores. The dark brown appearance of this network (seen in the film as shades of gray or black) is due apparently to the presence of a melanin-like pigment.

Frame width 490 μm ; oblique bright-field; exposure frequency 2 f/min;
elapsed time 3 h. 52 min.

Besides the sporangial mass a capillitium is found in the sporangium in the *Stemonitis*, whose network darkens progressively during its development.

22. Spore formation in *S.flavogenita*.

Frame width 195 μm ; bright-field; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 3 h. 11 min.

In the peripheral portion of a slightly pressed sporangium cleavage as well as branching of the capillitium and its change in colour can clearly be observed. At the end of the development the spores form a firm wall, in which brownish pigments are placed.

23. Spore formation in *S. flavogenita*.

Frame width 64 μm ; bright-field; exposure frequency 4 f/min;
elapsed time 3 h. 48 min.

Two nucleate divisions lead towards the formation of the protospores. The mature spores have a firm, pigmented wall, decorated with faint granulations.