

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 631/1963

Dictyostelium discoideum (Acrasina)

Aggregation und Bildung des Sporophors

Mit 1 Abbildung

GÖTTINGEN 1964

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Der Film ist ein Forschungsdokument und wurde zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht
Länge der Kopie (16-mm-Stummfilm, schwarz-weiß): 141 m
Vorföhrdauer: 13 Min. — Vorföhrgeschwindigkeit: 24 B/s

Der Film zeigt, wie sich Einzelamöben von *Dictyostelium discoideum* zu einem Zellverband zusammenschließen und wie aus diesem unter Differenzierung der Zellen ein Sporenträger entsteht.

Die Aufnahme des Films erfolgte im Jahre 1963 mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durch das
Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen
(Direktor: Dr.-Ing. G. WOLF)
Sachbearbeitung: Dr. H. KUCZKA
Aufnahme: H. H. HEUNERT
Wissenschaftliche Leitung: Dr. G. GERISCH
Zoologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. B. HASSENSTEIN)

Dictyostelium discoideum (Acrasina)

Aggregation und Bildung des Sporophors

G. GERISCH, Freiburg i. Br.

Allgemeine Vorbemerkungen

Systematische Stellung und Vorkommen

Dictyostelium discoideum gehört zur Familie der *Dictyostelidae*, welche die Gattungen *Actyostelium*, *Dictyostelium* und *Polysphondylium* und damit die höchstorganisierten Vertreter der kollektiven Amöben (*Acrasina*) umfaßt ([2], [9]). Aus ursprünglich getrennten Amöben werden bei den drei genannten Gattungen vielzellige, in Stiel und Sporenköpfchen gegliederte Sporenträger aufgebaut. Während der Stiel bei *Actyostelium* zellfrei ist und die gesamte Zellmasse in der Bildung von Sporen aufgeht, ist für die beiden übrigen Gattungen eine Differenzierung der Zellen in Stielzellen und Sporen charakteristisch. Gegenüber *Polysphondylium*, bei dem die Sporenträger wirtelig gegliedert sind, zeichnet sich *Dictyostelium* durch den einfachen Bau seiner Sporenträger aus: Ein unverzweigter, aus vakuolisierten Zellen bestehender Stiel trägt an der Spitze ein Köpfchen, das die länglichen Sporen in Schleim eingebettet enthält.

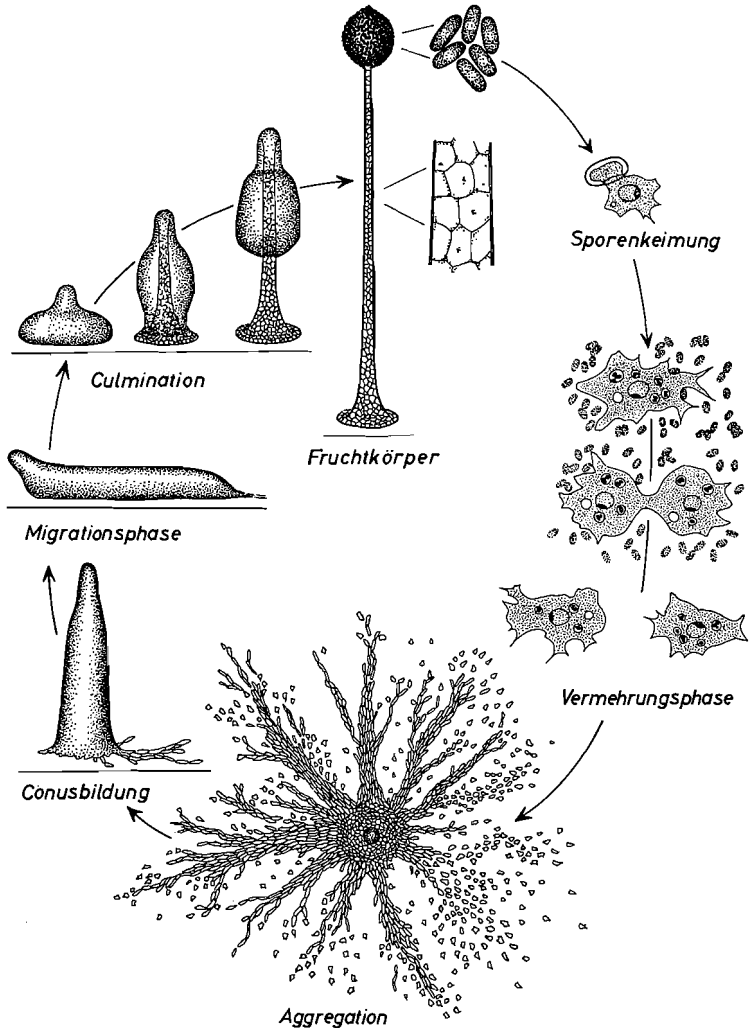
Namengebendes Artkennzeichen von *Dictyostelium discoideum* ist der Besitz einer Fußscheibe, die dem Sporenträger eine große Standfestigkeit auf dem Substrat sichert. Ungewöhnlich ist ferner das Fehlen eines Stieles während der Migration (s. unten) — eine Eigentümlichkeit, die sonst nur noch bei *Dictyostelium polycephalum* gefunden wird. *Dictyostelium discoideum*, das sich als Objekt für entwicklungsphysiologische Arbeiten hervorragend eignet [10], ist bisher nur in amerikanischen Laubwaldböden gefunden worden ([6], [8]).

Entwicklungsgang

Die Entwicklung von *Dictyostelium discoideum* (siehe Abb.) läßt sich in zwei Abschnitte gliedern, die Vermehrungs- und die morphogenetische Phase. Die Vermehrungsphase beginnt mit dem Keimen der Sporen, wobei aus einer Spore jeweils eine Amöbe frei wird. Die Amöben phagozytieren in erster Linie Bakterien und vermehren sich durch Zweiteilung¹⁾. Durch das Aufhören der Nahrungszufuhr wird eine Umstimmung der Zellen ausgelöst und damit die morphogenetische Phase eingeleitet. Die Amöben erhalten die Fähigkeit, sich miteinander zu ver-

¹⁾ Vgl.: *Dictyostelium purpureum* (Acrasina) — Vermehrungsphase. ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA, Film E 629.

binden und in strangförmigen Verbänden zu Sammelzentren zu wandern (Aggregation). Dort bildet sich unter dem Einfluß der Flüssigkeitsgrenzfläche [4] aus der Zellanhäufung ein heteropolar gebauter Körper, der Konus. Er kann sich direkt in einen Sporenträger umwandeln oder aber



Schema des Entwicklungszyklus von *Dictyostelium discoideum*.

Im rechten Bildteil ist die Vergrößerung wesentlich stärker gewählt als links und in der Mitte

zunächst dem Substrat auflegen und mit der Spitze voran wandern. Während dieser Migrationsphase reagiert er positiv phototaktisch. Entwicklungsphysiologische Arbeiten [7], [3] haben gezeigt, daß während der Migrationsphase die praesumptiven Stielzellen in der Spitzenregion des Konus, die praesumptiven Sporen im Basalabschnitt und die praesumptiven Fußscheibenzellen in der äußersten Basalregion bereits labil determiniert sind. Die Ausformung des Sporenträgers, als Kulmination bezeichnet, beginnt mit einer starken Verkürzung des Konus, der die Bildung des Stieles, eines zentralen, von der Spitze des Konus bis zum Substrat reichenden Stranges, folgt. Der Stiel wird nach außen von der aus Cellulose [5] bestehenden Stielscheide abgegrenzt. Während er an seiner Spitze durch den Einbau weiterer Zellen fortlaufend verlängert wird, hebt sich die äußere Zellmasse mit Ausnahme der Fußscheibe vom Substrat ab. Noch während der Verlängerung des Stieles differenzieren sich die Sporen aus. Sie bilden nach Abschluß der Stielverlängerung ein terminales Köpfchen. Im Prinzip vermag jede Spore einen neuen Entwicklungszyklus einzuleiten, die Stielzellen dagegen sind nicht mehr vermehrungsfähig [11].

Methoden

Objekt der Filmaufnahmen ist eine Linie des *Dictyostelium-discoideum*-Stammes v-12 aus der Sammlung RAPER (Madison, Wisconsin/USA). Der Stamm ist seit vier Jahren im Laboratorium mit *Escherichia coli* B/2 als Futterbakterium auf Glucose-Pepton-Agar (GP-Agar) kultiviert worden. Für die Filmaufnahmen wurden die Amöben zusammen mit diesem Bakterium ebenfalls auf GP-Agar bei 23 °C gezüchtet, wobei die Glucose- und Peptonkonzentration zwischen je 0,005 und 0,2% variierte und die Pufferung des Mediums durch m/60 SÖRENSEN-Phosphat-Puffer p_H 6,0 erfolgte.

Für Aufnahmen bei schwachen Vergrößerungen konnten die Kulturen unverändert verwendet werden. Die Amöben befanden sich dabei in der Flüssigkeitsschicht zwischen Agaroberfläche und Luftraum und wurden durch die Agarschicht hindurch aufgenommen. Schräglicht bringt in diesen Präparaten, die im folgenden als Agar-Oberflächen-Präparate bezeichnet werden, das Oberflächenrelief der Einzelamöben und Zellstränge zur Geltung; es wurde durch Dezentrierung des Kondensors erzeugt. Für Phasenkontrastaufnahmen bei stärkeren Vergrößerungen mußte über die Amöbensicht ein Deckglas gelegt werden. In diesen Präparaten — als Agar-Deckglas-Präparate bezeichnet — bilden sich ungestört Aggregations-Stränge aus, wenn der Agarblock so bemessen wird, daß durch seine Seitenflächen hindurch genügend Sauerstoff zu den Zellen diffundieren kann.

Die Aufnahmen wurden mit einer Askania-Z-Kamera durchgeführt. Die Belichtung erfolgte intermittierend mit Grünlicht. Die im folgenden angegebenen Vergrößerungen sind auf 16-mm-Schmalfilm umgerechnet.

Filminhalt

Bildung von Aggregaten aus Einzelzellen¹⁾

2 bis 30 B/Min.

1. Übergang von der Vermehrungsphase zur Aggregation
Im Bildfeld befinden sich Bakterienkolonien, in denen sich Amöben vermehren. Die Amöben verbleiben in der Regel in den Grenzen der von Bakterien bedeckten Areale oder kehren doch dahin zurück, wenn sie darüber hinaus geraten. Nach dem Verbrauch der Futterbakterien dagegen zerstreuen sich die Amöben, wie an einer kleinen Bakterienkolonie in der Bildmitte gut zu verfolgen ist, und ihre Bewegung wird lebhafter. Anschließend entstehen Amöbengruppen, deren Zellbestand durch Zu- und Abwanderung von Amöben ständig ausgetauscht wird (Mobilmachungsstadium nach ARNDT [1]). Diese Zellgruppen sind noch keine Aggregationszentren; sie lösen sich wieder auf, während über das Amöbenfeld Erregungswellen wandern, denen eine periodische Beschleunigung der Amöbenbewegung zugrunde liegt. Diese Wellen, die anscheinend von außerhalb des Bildfeldes liegenden Zentren ausgehen, breiten sich nicht gleichmäßig radial aus, sondern folgen den am dichtesten mit Amöben besetzten Arealen. Schließlich verbinden sich die Amöben zu Zellsträngen und wandern aus dem Bildfeld hinaus zu außerhalb gelegenen Aggregationszentren.

Vergrößerung: 5,7fach, Aufnahmefrequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 30 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat, Substrat GP-Agar 0,2%.

2. Aggregation

Die Aufnahme zeigt zunächst das Ende der Vermehrungsphase. Die Amöben bewegen sich relativ langsam. Dann wandert von rechts unten nach links oben eine Verdichtungszone über das Bildfeld, der eine Beschleunigung der Amöbenbewegung folgt. Der Bildung eines Aggregationszentrums in der Mitte des Bildfeldes gehen periodische Geschwindigkeitsänderungen der Amöbenbewegung voraus. In das pulsierende Zentrum wandern die Amöben zunächst einzeln ein, verbinden sich dann aber größtenteils zu Strängen, die in das Zentrum münden. Ebenso wie das Zentrum vermögen auch die Stränge freie Amöben auf sich hinzulenken. Besonders deutlich ist das an dem von links auf das Zentrum treffenden Strang zu erkennen. Im Zentrum gliedert sich nach dem Luftraum hin ein Capitulum ab, das zur Spitze des senkrecht auf dem Substrat stehenden Konus wird. Die Aufnahme endet mit dem Beginn der Kulmination, der in diesem Fall keine Migration vorausgeht.

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

Vergrößerung 5,7fach, Aufnahme­frequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 14 h, Schräglichtaufnahme, Substrat GP-Agar 0,02 %.

3. Einordnung von Amöben in einen Strangverband

Im Strangverband wandern gestreckte Amöben mit gleichmäßiger Geschwindigkeit nach rechts aus dem Bildfeld hinaus. Freie Amöben schließen sich an den Strang an oder verbinden sich getrennt von ihm zu Zellketten, wobei die fast stets ungestreckten Einzelamöben in gestreckte Formen übergehen.

Vergrößerung 30fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 22 Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

4. Einzelamöben und Amöben im Strangverband

Ein Amöbenstrang wandert mit gleichmäßiger Geschwindigkeit nach rechts oben. An diesen Strang schließt sich ein zweiter, zunächst selbständiger Strang an. Ein dritter Amöbenverband, von links kommend, rundet sich zunächst an der Spitze ab und rollt sich spiralgig ein, dann erhält auch er Anschluß an den Hauptstrang, so daß schließlich ein ununterbrochener Strang das Bildfeld durchzieht. Die Amöben sind hier teilweise schon vor ihrem Einbau in einen Strangverband ausgesprochen gestreckt. Am oberen Bildfeldrand können zwei Amöben verfolgt werden, die, von oben kommend, sich gegen die Richtung des Amöbenstranges bewegen und an den Strangamöben vorbeidrängen, ohne in den Verband aufgenommen zu werden.

Vergrößerung 33fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs etwa 40 Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

5. Übergang von der Aggregation zur Migration und Kulmination

Am Beginn der Aufnahme sind bereits Aggregationszentren und Stränge ausgebildet. Während die Amöben im Bildfeld noch aggregieren, wandern von außen migrierende Koni ein und treten in Wechselwirkung mit den Aggregaten. Im oberen Teil des Bildfeldes wandern zwei Koni durch ein dicht mit Amöben besetztes Feld und erhalten eine Amöbenschleppe. Einer von ihnen entzieht einem Zentrum, an dem er vorüberwandert, einen Teil seiner Amöben; seine Amöbenschleppe aber verliert der Konus an das Zentrum. Aus diesem entsteht selbst ein Konus, der, ohne zu migrieren, mit der Kulmination beginnt. Im unteren Teil des Bildfeldes wandeln sich drei Zentren, ebenfalls ohne daß eine Migration voranging, in Sporenträger um.

Vergrößerung 2,3fach, Aufnahme­frequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 13 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat, Substrat GP-Agar 0,2 %.

Migration
8 und 15 B/Min.

6. Zwei migrierende Koni

Zeitweise heben sich die migrierenden Koni soweit von der Unterlage ab, daß nur noch ihre Basis dem Substrat aufsitzt. Aus dem Verband des rechten Konus werden einige Amöben ausgeschieden.

Vergrößerung 8fach, Aufnahme­frequenz 15 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 1 h, 20 Min., Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

7. Ein migrierender Konus

Der Konus scheint am Aufnahme­beginn nur mit seiner Basis das Substrat zu berühren, wandert aber trotzdem. Dann legt er sich — von der Spitze abgesehen — mit seiner gesamten Länge dem Substrat auf und migriert weiter. Dabei tritt an der Basis eine größere Anzahl von Zellen aus dem Verband aus. Noch während der Abrundung des Konus am Schluß der Aufnahme wandern Einzelamöben gerichtet auf ihn zu.

Vergrößerung 8fach, Aufnahme­frequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs etwa 1 h, 20 Min., Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

4 B/s

8. Zellschicht aus einem Konus

Die Zellen wandern dicht verbunden zwischen Agar-Oberfläche und Deckglas nach links. Die Zell­grenzen sind ebenso wie die Zellkerne zu erkennen. Die Aufnahme zeigt, daß die Amöben im Konus nicht zu einem Plasmodium verschmelzen, sondern daß die Zellen individuell gegeneinander abgegrenzt bleiben.

Vergrößerung 70fach, Aufnahme­frequenz 4 B/s, wirkliche Dauer des Vorgangs 1 ½ Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

9. Einschichtiger Zellverband aus einem Konus

In dieser Aufnahme sind als feine dunkle Konturen die miteinander verbundenen Membranen benachbarter Zellen zu erkennen. Innerhalb der Zellen sind die Kerne, pulsierenden Vakuolen, die grau erscheinenden Mitochondrien und die tiefschwarz hervortretende Granula zu unterscheiden. Es sei betont, daß ebenso wie bei der vorigen Aufnahme der Zusammenhang der Zellen teilweise zerstört wurde, so daß ihr Aussehen nicht in allen Einzelheiten dem unbeeinflusster Konuszellen entsprechen muß.

Vergrößerung 220fach, Aufnahme­frequenz 4 B/s, wirkliche Dauer des Vorgangs 3 ½ Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat, in dem die Zellen des Konus durch Deckglasdruck ausgebreitet wurden, Substrat GP-Agar 0,02 %.

Seitenansicht, 4 und 8 B/Min.

10. Konusbildung

Die Konusbildung beginnt mit der Abgliederung eines Spitzchens, des Capitulum, in der Mitte des Zentrums. Während aus der Amöbenmasse des Zentrums der Konus aufgebaut wird, wandern — wie undeutlich zu erkennen ist — noch weitere aggregierende Amöben im Strangverband auf das Zentrum zu. Der Konus neigt sich zur Seite, senkt sich aber bis zum Ende der Aufnahme nicht bis auf das Substrat.

Vergrößerung 9fach, Aufnahmefrequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 3 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite.

11. Migration

Ein Konus hat sich auf das Substrat gesenkt und migriert unter Heben und Senken der Spitze.

Vergrößerung 5,7fach, Aufnahmefrequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 3 h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite, Substrat GP-Agar 0,2%.

12. Übergang von der Migration zur Kulmination

Am Ende der Migration verkürzt sich der Konus und seine Spitze stellt sich senkrecht zum Substrat.

Vergrößerung 10fach, Aufnahmefrequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 1½ h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite.

Kulmination

2 bis 30 B/Min.

13. Beginn der Kulmination

In der Längsachse des sich streckenden Körpers ist der Stiel mit seinen vakuolisierten Zellen zu erkennen. Im Laufe der weiteren Stielverlängerung trennt sich die praesumptive Sporenmasse von der Fußscheibe, so daß die Basis des Stieles frei wird.

Vergrößerung 14fach, Aufnahmefrequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 2 h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite, Substrat GP-Agar 0,02%.

14. Kulmination

Die Aufnahme zeigt die bei der vorigen bereits beschriebenen Einzelheiten und darüber hinaus die Abrundung der Sporenmasse.

Vergrößerung 14fach, nach Überblendung 8,5fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 3 h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite, Substrat GP-Agar 0,02%.

15. Spitzenregion eines späten Kulminationsstadiums

In der Spitzenregion befinden sich noch außerhalb der Stielscheide praesumptive Stielzellen. Ihre Invagination erfolgt durch die Öffnung am vorderen Ende der Scheide. Die Form der Stielscheide wird im optischen Schnitt durch zwei dunkle Konturen markiert.

Vergrößerung 21fach, Aufnahme­frequenz 15 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 50 Min., Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite, Substrat GP-Agar 0,02%.

16. Kulmination vom Ende der Migration an

Die Aufnahme beginnt mit der Abrundung eines migrierenden Konus. Während der Kulmination zeigt sie die gleichen Vorgänge wie Aufnahme 14.

Vergrößerung 14fach, nach Überblendung 8,5fach, Aufnahme­frequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 4 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite, Substrat GP-Agar 0,05%

17. Spitze eines Sporenträgers in der Endphase der Kulmination

Die letzten, über den Sporen befindlichen praesumptiven Stielzellen werden in den Stiel einbezogen, wodurch das Sporenköpfchen seine definitive Stellung an der Spitze des Stieles erhält.

Vergrößerung 65fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 15 Min., Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat von der Seite, Substrat GP-Agar 0,02%.

18. Sporen und Stielzellen eines Sporenträgers

Der an sich in den Luftraum ragende Sporenträger ist in Flüssigkeit gelegt worden, um Details sichtbar werden zu lassen. Im Bildfeld befindet sich der untere Teil des Sporenköpfchens mit dem angrenzenden Stielabschnitt. Die länglichen Sporen, in denen der Zellkern zu erkennen ist, enthalten als Überdauerungsformen kondensiertes Plasma. In den Stielzellen dagegen sind nur noch Plasmareste vorhanden. Den größten Teil des Zellumens nehmen Vakuolen in Anspruch, deren Einschlüsse BROWNsche Bewegung zeigen.

Vergrößerung 170fach, Aufnahme­frequenz 24 B/s, Phasenkontrast­aufnahme, Agar-Deckglas-Präparat, Substrat GP-Agar 0,005%.

Literatur

- [1] ARNDT, A., Rhizopodenstudien III. Untersuchungen über *Dictyostelium mucoroides* Brefeld. ROUX' Arch. Entw. mech. Org. **136** (1937), p. 681—747.
- [2] BONNER, J. T., *The Cellular Slime Molds*. Princeton, New Jersey. Princeton University Press 1959. (Monographie mit umfassender Literaturzusammenstellung.)
- [3] BONNER, J. T., A. D. CHIQUOINE a. M. A. KOLDERIE, A histochemical study of differentiation in the cellular slime molds. *J. Exp. Zool.* **130** (1955), p. 133—158.
- [4] GERISCH, G., Zellfunktionen und Zellfunktionswechsel in der Entwicklung von *Dictyostelium discoideum*. I. Zellagglutination und Induktion der Fruchtkörperpolarität. ROUX' Arch. Entw. mech. Org. **152** (1960), p. 632—654.
- [5] MÜHLETHALER, K., Electron microscopic study of the slime mold *Dictyostelium discoideum*. *Amer. J. Bot.* **43** (1956), p. 673—678.
- [6] RAPER, K. B., *Dictyostelium discoideum*, a new species of slime mold from decaying forest leaves. *J. Agric. Res.* **50** (1935), p. 135—147.
- [7] RAPER, K. B., Pseudoplasmodium formation and organization in *Dictyostelium discoideum*. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* **56** (1940), p. 241—282.
- [8] RAPER, K. B., Isolation, cultivation, and conservation of simple slime molds. *Quartl. Rev. Biol.* **26** (1951), p. 169—190.
- [9] RAPER, K. B., Levels of cellular interaction in amoeboid populations. *Proc. Amer. Phil. Soc.* **104** (1960), p. 579—604.
- [10] SHAFFER, B. M., *The Acrasina*. *Advances in Morphogenesis* **2** (1962), p. 109—182.
- [11] WHITTINGHAM, W. F. a. K. B. RAPER, Non-viability of stalk cells in *Dictyostelium*. *Proc. Nat. Ac. Sci.* **46** (1960), p. 642—649.