

ISSN 0073-8417

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION
BIOLOGIE

SERIE 18 · NUMMER 15 · 1986

FILM C 1546

Entwicklung von *Basidiobolus ranarum*
(Entomophthoraceae)



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch od. engl.), 16 mm, farbig, 137 m, 12½ min (24 B/s). Hergestellt 1978 und 1982, veröffentlicht 1984.

Der Film ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt. Veröffentlichung aus dem Institut für Pflanzenphysiologie und Zellbiologie der Freien Universität Berlin, Prof. Dr. CH. THIELKE, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. T. HARD; Kamera: E. POLOCZEK, C. LUDWIG; Schnitt: E. POLOCZEK.

Zitierform:

THIELKE, CH., und INST. WISS. FILM: Entwicklung von Basidiobolus ranarum (Entomophthoraceae). Film C 1546 des IWF, Göttingen 1984. Publikation von CH. THIELKE, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 18, Nr. 15/C 1546 (1986), 16 S.

Anschrift des Verfassers der Publikation:

Prof. Dr. CH. THIELKE, Kantstr. 23, D-3406 Bovenden.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion MEDIZIN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

NATURWISSENSCHAFTEN

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

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftliche Ergänzung 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 zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus mehreren Lieferungen.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film

Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen

Tel. (05 51) 20 22 02

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

CHARLOTTE THIELKE, Berlin, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM, Göttingen:

Film C 1546

Entwicklung von *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae)

Verfasser der Publikation: CHARLOTTE THIELKE

Mit 3 Abbildungen

Inhalt des Films:

Entwicklung von *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae). *Basidiobolus ranarum* entwickelt das Mycel in einer besonderen Weise (= Schrittwachstum): Dabei strömt der Protoplast, der nur einen relativ großen Zellkern enthält, innerhalb der Zellwand vorwärts und hinterläßt eine Reihe von entleerten Zellen. Die Mitose vollzieht sich periodisch und kann mit Hilfe eines Phasenkontrastmikroskopes gut beobachtet werden. Meistens steht die Kernteilung in Zusammenhang mit der Bildung eines Seitenastes.

Unter Einfluß des Lichtes bildet das Mycel Konidiophoren, die durch eine Anschwellung unterhalb der Konidie gekennzeichnet sind. Mit zunehmendem Turgor platzt diese Blase an einer präformierten Stelle und ein raketentartiger Abschluß erfolgt. Dieser ballistische Vorgang wird mit Hilfe eines Trickfilms in zeitlicher Dehnung analysiert.

Sexuelle Vorgänge werden vermutlich durch Nährstoffmangel induziert. Dabei entstehen jeweils 2 Gametangien aus benachbarten somatischen Zellen. Sie bekommen schnabelartige Auswüchse, in die die Kerne einwandern. Durch ihre verschiedene Größe lassen sich das kleinere männliche Gametangium von dem größeren weiblichen unterscheiden. Nach der Plasmogamie findet noch eine synchrone Kernteilung statt und die Fusionszelle reift zur Zygospore, die eine dicke Zellwand bekommt.

Summary of the Film:

Development of *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae). *Basidiobolus ranarum* develops a mycelium which grows in a special manner (stepwise growth): The protoplast which contains one large nucleus streams forward leaving behind a row of empty cell chambers. Mitosis of the nucleus occurs periodically and can be observed by means of the phase contrast microscope. In most cases the nuclear division is correlated with the formation of a branch.

Influenced by light the mycelium produces conidiophores which are characterized by a subconidial swelling. By increasing turgor this vesicle bursts near a preformed line and a rocket-like action operates. This ballistic phenomenon is analyzed by a slow motion trick film.

The sexual reproduction seems to be induced by diminishing nutrients. Two gametangia arise from adjacent somatic cells. They develop beak-like protuberances that are entered by the nuclei. Their

different size allows to distinguish the smaller male gametangium from the larger female one. After the plasmogamy a preliminary nuclear division takes place synchronously, and the final zygospore is formed by laying down a thick cell wall.

Résumé du Film:

Le développement chez *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae). *Basidiobolus ranarum* développe le mycélium selon un mode spéciale (croissance par étapes): Tout le protoplaste, qui contient un grand noyau, migre à l'intérieur d'une membrane cellulaire. Il laisse une chaîne des cellules évacuées. La division mitotique du noyau se déroule périodiquement et on peut observer ce procès par le microscope de phase-contraste in vivo. La division du noyau est souvent coordonnée avec la formation d'une branche.

Par l'influence de la lumière le mycélium produit des conidiophores qui sont caractérisés par un gonflement au-dessous des conidies. Sous l'effet de la turgescence accrue, la vésicule creve le long d'une fusée préformée. Cet événement ballistique est analysé par un film truqué et ralenti.

La reproduction sexuelle se produit probablement par l'absence de la nourriture. Les gamètes se forment à partir de cellules somatiques voisines. Ils développent des protubérances en forme de bec dans lesquelles viennent se placer les noyaux. Par leurs volumes différentes on peut distinguer un petit gamète mâle et une plus grosse gamète femelle. Après la plasmogamie, survient une division synchrone des noyaux, la cellule fusionnée se transforme en la zygospore caractérisée par la membrane cellulaire épaisse.

Allgemeine Vorbemerkungen

Basidiobolus ranarum Eidam ist 1887 von EIDAM ([3]) entdeckt und in seinem gesamten Entwicklungszyklus ausführlich beschrieben worden. Der Pilz wird seitdem im Anschluß an die Zygomyceten in die Entomophthorales eingereiht, obwohl einige Merkmale darauf hindeuten, daß auch diese Ordnung polyphyletisch entstanden sein könnte (MARTIN [9], WATERHOUSE [14]). In die Gattung *Basidiobolus* werden heute etwa 5–6 verschiedene Arten gestellt. Einige von ihnen, die in wärmeren Zonen vorkommen, können auch humanpathogen sein und subkutane Entzündungen hervorrufen (EMMONS et al. [4], GREER u. FRIEDMANN [6]).

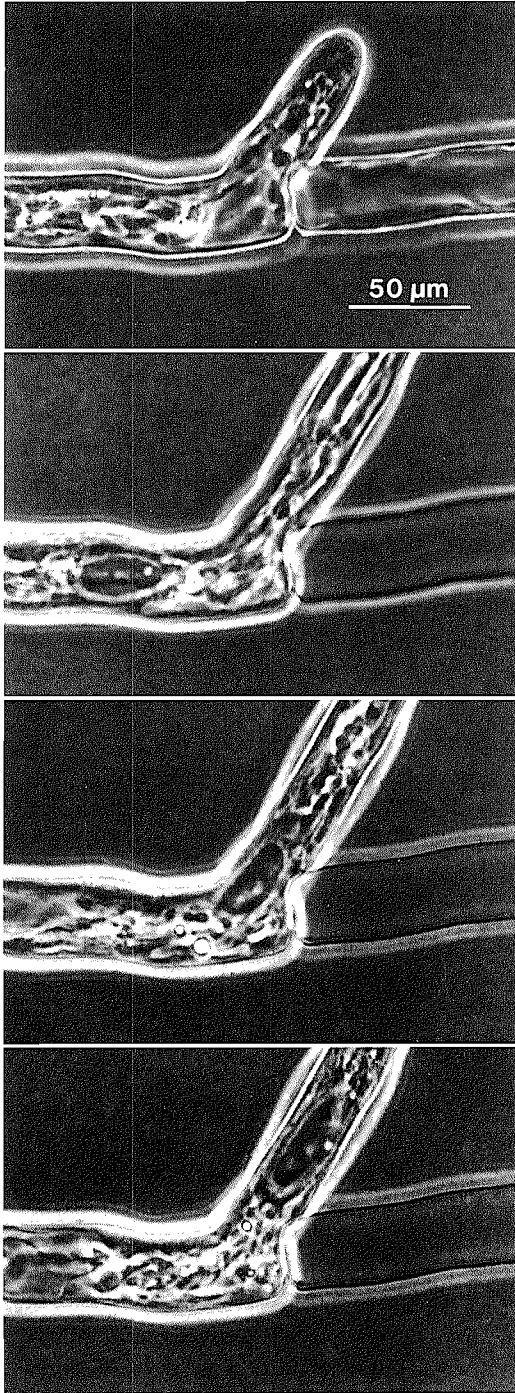
Basidiobolus ranarum entwickelt sich saprophytisch auf Exkrementen verschiedener Amphibien und Reptilien und läßt sich von dort leicht isolieren. Im natürlichen Milieu erfolgt die Verbreitung wahrscheinlich durch Insekten, die die Konidien von der Oberfläche der Exkremente aufnehmen. Die Laborkultur gelingt leicht auf Agar, der Pepton, Malz- oder Cornmealextrakt enthält. Das Mycel wächst rasch (etwa 0,3 mm/h) und ist mit seinen bis zu 25 µm breiten Hyphen einer cytologischen Untersuchung gut zugänglich. Da die einzelnen Hyphenabschnitte nur je einen Zellkern von ca. 10–20 µm Ø enthalten, lassen sich an diesem Objekt die Phasen der Kernteilung relativ gut untersuchen. Das Mycel wächst in einer besonderen Weise, die von RACIBORSKI ([11]) als „Schrittwachstum“ bezeichnet wurde. Dabei wandert der gesamte Protoplast stets mit der vorwärts wachsenden Hyphenspitze, während der rückwärtige Hyphenabschnitt vom Plasma entleert und durch ein zentripetal sich schließendes Septum abgegrenzt wird. Auf diese Weise bleibt ein System von leeren Kammern zurück. Es kommt nur dann zu einer Verzweigung, wenn zuvor in der terminalen Zelle eine Kernteilung erfolgt; dabei werden beide Tochterkerne durch ein Septum voneinander getrennt. Während der zur Hyphenspitze hin orientierte distale Kern mit der Hälfte des Cytoplasmas die ursprüngliche

Wachstumsrichtung beibehält, wächst die subterminale Zelle mit dem proximalen Tochterkern unmittelbar unterhalb des Septums zu einem Seitenast aus, der sich wieder nach dem Muster des Schrittwachstums verhält (Abb. 1). Da durch diesen Prozeß viele einzelne Protoplasten entstehen, wird die Gesamtheit des Mycels auch als eine Kolonie von „Hyphenkörpern“ aufgefaßt (THAXTER [13], ROBINOW [12]). Die Besonderheiten des vegetativen Wachstums sowie die Details der Mitose sind von FAIRCHILD ([5]), ROBINOW ([12]), CALLAGHAN ([1]) und GULL u. TRINCI ([7]) eingehend dargestellt worden.

Da die Zellkerne von – für Pilze – ungewöhnlicher Größe sind, lassen sie sich mit normalen lichtmikroskopischen Mitteln erkennen. Etwas besser treten jedoch ihre Einzelheiten mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens hervor. Der Interphasenkern kann einen Durchmesser von 10–20 μm annehmen. Sein relativ großer Nukleolus liegt stets zentral, ist von kugeligter Form und enthält manchmal eigene Vakuolen. Der Beginn der Prophase ist an der Auflösung des Nukleolus zu erkennen. Schließlich verschwindet auch die Kernmembran. Während der Metaphase wird eine fast geradlinige Anordnung der sehr vielen kleinen Chromosomen erkennbar, wobei die Metaphaseplatte meist schräg zur Hyphenachse orientiert ist. Eine distinkte Spindelachse ist nicht erkennbar. Im Bereich der Spindelpole kondensieren sich die sog. „Polkappen“, die vermutlich bereits das Material der späteren Tochterkernleolen enthalten. In der Anaphase trennen sich die beiden immer noch in je einer Ebene angeordneten Chromosomensätze sehr rasch voneinander. Wegen der hohen Dichte des Cytoplasmas sind Einzelheiten bei der Restitution der Kernmembran nicht erkennbar. Die beiden Tochterkerne haben anfangs ein sehr geringes Volumen, wachsen dann rasch heran und werden durch ein Septum voneinander getrennt. Der gesamte Kernteilungsprozeß vollzieht sich innerhalb von etwa 7–10 min.

Nach Fertigstellung des Septums kondensieren sich die Protoplasten in beiden Zellen im jeweiligen apikalen Bereich. In der Regel bildet die subterminale Zelle einen Seitenast, dessen Zellwand unterhalb des Septums auswächst. Das Cytoplasma und später der andere Tochterkern wandern ein; das weitere Wachstum erfolgt dann, wie bei der Haupthyphye, nach dem Muster des Schrittwachstums.

Basidiobolus ranarum bildet einzellige Konidien, die in einem bestimmten Reifestadium mit Hilfe eines Turgormechanismus abgeworfen werden. Die Genese der Konidienträger ist bereits von EIDAM ([3]) ausführlich beschrieben worden. Durch CALLAGHAN ([1]) wurde nachgewiesen, daß das Licht für die Induktion der Konidienbildung einen stimulierenden Effekt besitzt. Sie entstehen am Ende von Lufthyphen, die positiv phototropisch ausgerichtet sind. Diese Differenzierung erfolgt ebenfalls nach dem Muster des Schrittwachstums. Zunächst wird terminal eine keulenförmige Ausweitung gebildet, die das Plasma aufnimmt und sich damit zur „Basidie“, wie sie von EIDAM genannt wurde, entwickelt. Am oberen Ende differenziert sich dann die Konidie anfangs als kleine Knospe. Während ihres Heranwachsens wandert der gesamte einkernige Protoplast in diese hinein, und die „Basidie“ füllt sich von der Basis her mit Zellsaft. Der letzte Einstrom von Cytoplasma erfolgt durch einen Plasmastrang, der aus dem Stiel zentral durch die Blase in die Konidie hineinführt. Unmittelbar nachdem der Rest des Plasmas von der Konidie aufgenommen worden ist, bildet sich das Septum als Grenze zwischen der Konidie und der subkonidialen Blase. Diese Gesamtentwicklung dauert etwa 40 Minuten. Ist



a

b

c

d

Abb. 1. Vegetatives Mycel. Links von der Querwand wächst die subterminale Zelle zu einem Seitenast aus. In ihn wandert der große Zellkern hinein

die Querwand fertiggestellt, nimmt das Volumen der Basidie, die keinen plasmatischen Inhalt mehr erkennen läßt, vermutlich auf osmotischem Wege zu. Diese Zelle wird dadurch stark gespannt und ihre Zellwand partiell gedehnt. Wird zu diesem Zeitpunkt die Zelle wieder entspannt (Plasmolyse), dann ist an der unterschiedlichen Schrumpfung (Abb. 2 B, C) zu erkennen, in welchem Bereich die stärkste Dehnung erfolgt. An turgeszenten Zellen markiert sich diese Stelle durch eine besondere Wölbung im unteren Drittel der Blase. Hier kommt es später zur Abtrennung durch einen Ringriß. Der stärker elastische Bezirk liegt oberhalb dieser Trennlinie.

Die Konidie ist etwa 4–6 Minuten nach Aufhören des Plasmaeinstroms reif zum Abschluß. Während dieser Zeit wird die trennende Querwand fertiggestellt und der Turgor steigt in der Basidie an. Die Explosion erfolgt, wenn die Festigkeit der Zellwand dem steigenden Innendruck nicht mehr standhält. Beim Abschluß fliegt zunächst die Konidie mit einem Teil der Basidie sowie mit einem Zellsaftropfen fort. Als trägere Masse bleibt die Basidienhülle mit dem Zellsaft zurück, und Konidie fliegt allein weiter. Nach Angaben von INGOLD ([8]) können die Konidie 1–2 cm und die Basidie 0,5 cm weit abgeworfen werden. Danach wird an der Konidie die Abrißstelle des Septums erkennbar; da nun der Gegendruck seitens der Basidie aufgehoben ist, kann sich der elastische Teil der Querwand an der Konidie zu einem Zipfel ausstülpfen (Abb. 2 A, F).

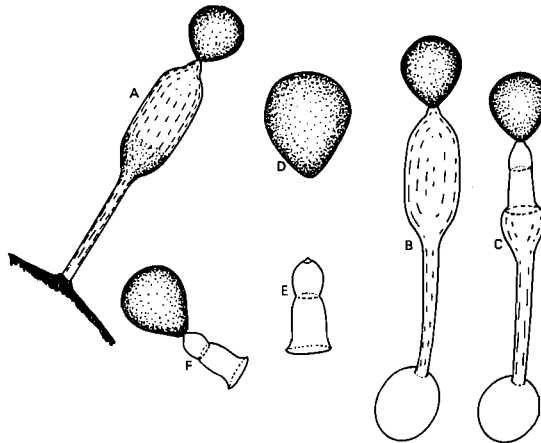


Abb. 2. A: ein reifer Konidienträger; B: ein Konidienträger, der sich aus einer Konidie entwickelt hat (Mikrozyklus); C: ein gleicher Konidienträger, der durch Zugabe von Jod seinen Turgor verloren hat; D: eine abgeschossene Konidie; E: eine abgeschossene „Basidie“; F: Konidie mit noch dranhängender Basidie (aus INGOLD 1971)

Dieser ballistische Vorgang wird häufig mit dem Raketenprinzip verglichen (INGOLD); dabei könnte das Abwerfen der Basidie dem Verlust einer Raketenträgerstufe entsprechen. Der Antrieb geschieht hier jedoch als Turgorspritzmechanismus; das Ausspritzen des Zellinhaltes befördert das Geschloß.

In diesem Film sollte zunächst versucht werden, das Geschloß, seine Flugbahn sowie die Ablösung der Trägerstufe im Zeitdehnungsverfahren darzustellen. Bei vorläufigen Aufzeichnungen, bei denen eine Aufnahme­frequenz von 800 B/s verwendet wurde, stellte sich jedoch heraus, daß der Abschluß des reifen Konidienträgers von einem Bild zum anderen, also innerhalb von 1/800 Sekunde vollendet war. Bei einem derartig rasch verlaufenden Vorgang können die Phasen der Bewegung nur dann genau erfaßt werden, wenn der Beginn mit größerer Genauigkeit vorhersagbar ist. Da dies bei *Basidiobolus*

nicht möglich war, wird der vermutliche Verlauf im Zeichentrick dargestellt. Die Konidie ist sofort nach dem Abwurf imstande, auf einem neuen Substrat auszukeimen. Dabei entwickeln sich meist mehrere Keimschläuche. Erfolgt die Keimung ohne weitere Nährstoffe — etwa am Deckglas einer feuchten Kammer —, dann entsteht nur ein Keimschlauch, der sich direkt zu einem funktionstüchtigen Konidienträger ausbildet (Abb. 2 B). Ein solcher „Mikrozyklus“ kann sich 2–3 mal wiederholen (EIDAM [3], DRECHSLER [2]). Bei diesen Aufnahmen wurde erstmals festgestellt, daß bei andauernder, relativ starker Belichtung der Mikrozyklus 4–9 mal durchgeführt werden kann, wenn die Konidie auf einen dünnen 1%igen Malzagarfilm fällt; anschließend entsteht auch auf diesem Substrat ein Mycel.

Die sexuelle Reproduktion tritt bei *Basidiobolus ranarum* in Form der Zygogamie auf. Hierbei verschmelzen Gametangien (= Gameten) in einer besonderen Weise miteinander. Sie entstehen meist nach 3tägiger Kultur in zentrifugaler Reihenfolge an alternden Hyphen. Als auslösender Faktor wird Nährstoffmangel angesehen (RACIBORSKI [11]). Einige ernährungsphysiologische Aspekte sind von NOWAK ([10]) ermittelt worden. Über das besondere Verhalten der Gametenkerne haben FAIRCHILD, WOYCICKI und NOWAK weitere Einzelheiten angegeben.

Die einkernigen Gametangien entstehen aus benachbarten somatischen Zellen, wahrscheinlich als Derivate der gleichen Mutterzelle, und treiben an der sie trennenden Zellwand je eine schnabelförmige Ausstülpung. Beide Auswüchse liegen über der Scheidewand eng nebeneinander und wachsen auf etwas mehr als die Hälfte des Durchmessers der Traghyph heran. In diese Schnäbel wandern auch die Kerne der beiden Zellen ein. Nach kurzer Zeit konzentriert sich das Plasma an der Zellwand und der Protoplast wird vom distalen Zellabschnitt nach dem Modus des Zellwachstums zurückgezogen. Gleichzeitig differenzieren sich zwei unterschiedlich stark anschwellende Zellen (Abb. 3). Die trennende Querwand bricht dann unterhalb der Schnabelfortsätze durch, und das Plasma wandert von dem Mikrogametangium (= männlich) in das Makrogametangium (= weiblich) hinein. Unmittelbar danach teilen sich die Schnabelkerne synchron. Jeweils ein Tochterkern verbleibt im Schnabel; er wird dort durch eine kleine Zellwand isoliert und degeneriert. Der andere wandert in das Plasma der Mutterzelle zurück, die damit erst zum funktionstüchtigen Gametangium geworden ist. Die Plasmogamie erfolgt also bei diesem Objekt ungewöhnlich früh, zu einem Zeitpunkt, in dem die Gametangien noch nicht reif sind. Bei der Analyse der kinematographischen Aufnahmen, bei denen die Zeit stark gerafft wurde, fällt auf, daß während der Gametangienentwicklung das Cytoplasma eine sehr starke Bewegung zeigt. Diese Bewegung hört jedoch zur Zeit der Kernteilung auf und setzt unmittelbar danach wieder ein. Offenbar wird die für die Bewegung benötigte Energie vorübergehend bei der Kernteilung eingesetzt.

In der letzten Phase dieses Befruchtungsvorganges rundet sich die junge Zygospore im Raum des ehemaligen Makrogametangiums ab und umgibt sich mit einer eigenen mehrschichtigen Zellwand. Die reifen Zygosporen sind dann durch die ihnen anliegenden leer erscheinenden Schnabelfortsätze gekennzeichnet. In diesem Zustand kann der Organismus am besten ungünstige Situationen überdauern. Über das Schicksal der beiden Gametenkerne sind die Angaben unterschiedlich. Da das Cytoplasma der Zygospore sehr dicht ist, sind diese im ungefärbten Material nicht zu erkennen. Nach FAIRCHILD kann die

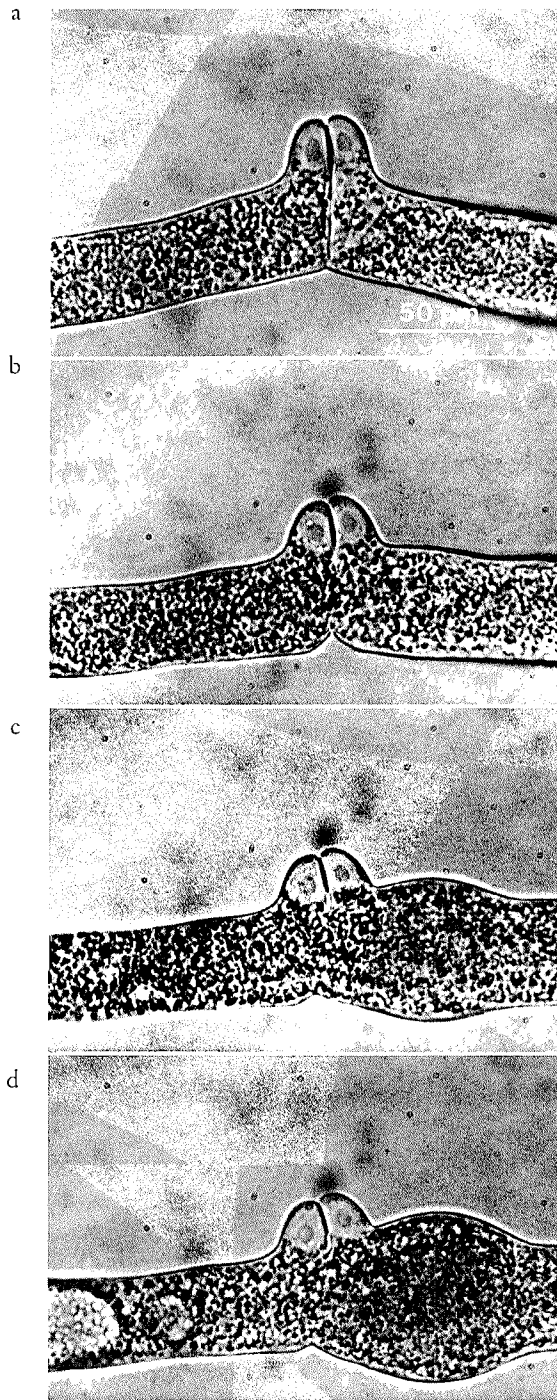


Abb. 3. Aus benachbarten somatischen Zellen entwickeln sich Mikro- (links) und Makrogametangium (rechts), die in ihren schnabelartigen Fortsätzen je einen Zellkern enthalten

Karyogamie schon zu einer Zeit erfolgen, in der die Zellwand der Zygote noch nicht ausdifferenziert ist. DRECHSLER gibt an, daß die Zygosporen noch länger zweikernig bleiben können, wenn die Kulturen nicht zu rasch austrocknen. Über den Zeitpunkt der Meiose liegen zur Zeit keine konkreten Angaben vor. Von den meisten Autoren wird vermutet, daß diese — analog dem Verhalten der typischen Zygomyceten — vor der Keimung der Zygospore stattfindet (WOYCICKI, NOWAK). Danach wäre *Basidiobolus ranarum* ein Haplont.

Zur Entstehung des Films

Material und Methode

Für die Untersuchung des vegetativen Wachstums sowie der Mitose wurden die Stämme 117-20 und 532-63 (CBS Baarn, Niederlande) verwendet, die sich durch regelmäßiges und geradliniges Wachstum auszeichnen. Die mikroskopische Untersuchung erfolgte an 1tägigen Kulturen auf Objektträgern, die mit Agar oder Gelatine befilmt waren, wobei diesen Trägersubstanzen 1% Glucose und 0,5% Hefeextrakt zugesetzt waren. Die beimpften Kulturen kamen in sterile, feuchte Kammern.

Da dieser CBS-Stamm weder Konidien noch Zygosporen bildete, wurde zusätzlich ein Wildstamm isoliert, der aus den Exkrementen eines bei Berlin im Freiland gefangenen Frosches stammte. Für das Studium der Konidienbildung erwies sich ein Substrat aus 1% Cornmeal, 0,5% Hefeextrakt und 1,5% Agar als günstig. Da sich die Konidienträger nur an Lufthyphen entwickeln, wurden durchwachsene Agarwürfel von 2-5 mm Kantenlänge mit der Schichtseite an den Deckel einer als feuchte Kammer hergerichteten Petrischale geklebt. Nach Belichtung ließen sich die einzelnen Entwicklungsstadien bequem durch den Deckel hindurch kontrollieren.

Die Entstehung von Zygosporen läßt sich sowohl auf Cornmeal- als auch auf Malzextraktagar verfolgen. Für die Aufnahmen wurden Kulturen auf beschichteten Objektträgern oder in dünn ausgegossenen Petrischalen benutzt. Da auch durch Deckglasabschluß diese Entwicklung in den meisten Fällen weiterlief, waren diese Präparate auch für eine mehrtägige Dauerbeobachtung geeignet.

Erläuterungen zum Film

Wortlaut des gesprochenen Kommentars¹

Schrittwachstum und Mitose

Das Mycel von *Basidiobolus ranarum* entwickelt sich durch Schrittwachstum, hier in der Zeitraffung.

Es handelt sich um eine besondere Art des Hyphenwachstums, bei dem der Protoplast akropetal wandert.

Objektfeldbreite 600 µm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/min

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

Der vom Protoplast jeweils verlassene Hyphenabschnitt wird periodisch durch Querwände abgetrennt. Dies geschieht etwa im Stundenrhythmus. Es bleibt eine Reihe von leeren Kammern zurück.

Objektfeldbreite 215 μm ; Interferenz-Kontrast (Inko); Aufn.-Freq. 2 B/min.

Jeder Protoplast enthält einen für Pilze ungewöhnlich großen Zellkern; er folgt der wachsenden Spitze.

Objektfeldbreite 250 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 6 B/min

Die Entleerung und Septierung von Hyphenabschnitten ist nur bei wenigen Pilzen entwickelt worden.

Im Phasenkontrast läßt sich der Zellkern besser darstellen; er enthält einen sehr großen dunklen Nucleolus.

Von Zeit zu Zeit unterbricht eine Mitose das Schrittwachstum.

Es entstehen zwei Tochterkerne. Sie werden durch ein Septum voneinander getrennt.

Objektfeldbreite 250 μm ; Phasenkontrast (Phako); Aufn.-Freq. 10 B/min

Der Nucleolus löst sich in der Prophase auf. Polkappen werden gebildet.

In der Telophase trennen sich die Tochterkerne voneinander.

Objektfeldbreite 100 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/min

Hier noch einmal die Auflösung von Nucleolus und Kernmembran in der Prophase.

Die Spindelachse und die spätere Metaphaseplatte stehen schräg.

Die Polkappen zeichnen sich als dunkle Bereiche ab. Zwischen ihnen ordnen sich die sehr kleinen Chromosomen in der Metaphaseplatte an und trennen sich in der Anaphase.

Objektfeldbreite 60 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 2 B/s

Als Resultat einer solchen Mitose werden die beiden Tochterkerne durch ein Septum voneinander getrennt. Das Septum entsteht zentripetal.

Die linke, die hintere der beiden Zellen wächst zu einem Seitenast aus, während die vordere nach dem Muster des Schrittwachstums weiterwächst.

In die seitlich auswachsende Hyphenspitze wandert der Zellkern ein.

Durch diese Art der Verzweigung kann das Mycel eine größere Fläche besiedeln.

Objektfeldbreite 80 μm ; Phako; Aufn.-Freq. 15 B/min

Konidienbildung und -abschuß

An der Oberfläche des durchwachsenen Substrates entstehen die Konidienträger unter Lichteinfluß innerhalb von etwa 40 Minuten. Sie schleudern ihre Konidien durch einen Turgormechanismus ab.

Objektfeldbreite 600 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 6 B/min

Der Abschuß erfolgt in Richtung auf das einfallende Licht.

Objektfeldbreite 275 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 4 B/min

Jede Lufthyphe differenziert terminal zunächst eine Blase und darauf sitzend die eigentliche Konidie.

Objektfeldbreite 310 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 10 B/min

Die Konidie selbst entwickelt sich als Knospe am Ende der Blase, die hier Basidie genannt wird.

Bei diesem Vorgang strömt das Protoplasma – wie beim Schrittwachstum – akropetal. Es entleert sich die gesamte Konidienträgerzelle. Zurück bleibt nur die Vakuole, die der Plasmafront folgt. Das restliche Plasma strömt als Strang durch die Mitte der Blase.

Der Einstrom endet, wenn sich das Septum an der Konidienbasis geschlossen hat. Danach steigt der Turgor in der Blase an.

4 bis 6 Minuten später reißt sie und die Konidie wird abgeschossen.

Objektfeldbreite 130 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/s

Wird der Abschluß verhindert, so läßt sich an der Abrißstelle austretender Zellsaft nachweisen.

Die Blase ist stark geschrumpft.

Objektfeldbreite 310 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/s

An diesem Konidienträger ist die präformierte Abrißstelle gut zu erkennen.

Objektfeldbreite 250 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/s

Die Vorgänge beim Abschluß der Konidie werden im Trick erläutert:

Bei erhöhtem Turgor trennen sich Basidie und Stiel. Vakuolenflüssigkeit tritt aus. Die in der turgeszenten Blase gespeicherte elastische Energie hat sich in kinetische umgesetzt.

Gleichzeitig schrumpfen die Zellwände von Basidie und Stiel.

Es folgt der Abschluß in der Bewegung: Die Trägerstufe stabilisiert zunächst die Flugbahn der Konidie und trennt sich dann von ihr. Die Konidie fliegt noch maximal 1 bis 2 cm weit, bevor sie landet.

Zuweilen findet man auf dem Substrat eine geschrumpfte Trägerstufe und etwas weiter entfernt eine Konidie.

Objektfeldbreite 250 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 24 B/s

Unter günstigen Bedingungen keimt die Konidie sofort aus.

Kernteilungen laufen ab und Septen werden gebildet; es entwickelt sich ein neues Mycel – wieder nach dem Muster des Schrittwachstums.

Objektfeldbreite 300 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/min

Bei Nährstoffmangel wächst die Konidie direkt zu einem neuen Konidienträger aus.

Innerhalb von 2–3 Stunden bildet er wiederum eine Konidie, die nach wenigen Minuten abgeschossen wird.

Objektfeldbreite 820 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 20 B/min

Von einem Agarblock, links, werden Konidien nach rechts in Richtung des Lichts abgeschossen. Diese breiten sich über mehrere Konidiengenerationen immer weiter nach rechts aus.

Innerhalb von 28 Stunden werden bis zu siebenmal Konidien gebildet, und dabei mehrere Zentimeter zurückgelegt.

Objektfeldbreite 16 mm; Auflicht; Aufn.-Freq. 12 B/h

Bildung der Zygoten

Ein Mycel von *Basidiobolus ranarum* bildet nach etwa 2tägigem Wachstum Gametangien und Zygoten. Diese sexuelle Entwicklung wird wahrscheinlich durch Nährstoffmangel ausgelöst.

Objektfeldbreite 8 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 1 B/min

Auch die Zygotenbildung, bei der die Mehrzahl der vegetativen Zellen einbezogen wird, verläuft nach dem Muster des Schrittwachstums.

Objektfeldbreite 2860 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 30 B/h

Die Gametangien entstehen stets aus benachbarten somatischen Zellen. Wenn sie sich zur Zygote vereinigen, wird ihr gesamter Protoplast verbraucht.

Objektfeldbreite 1650 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 B/h

Die Differenzierung der einkernigen Gametangien wird dadurch kenntlich, daß beide Zellen je einen schnabelförmigen Fortsatz treiben. In diese Schnäbel wandern Zellkerne ein. Bald danach beginnt die Gametangiogamie mit dem Übertritt des Plasma: Das Septum unterhalb der Schnäbel wird durchbrochen. Das Plasma verdichtet sich und strömt in das rechte Gametangium, das damit zum Makrogametangium wird.

Die angrenzenden Hyphenabschnitte entleeren sich und werden durch Septen verschlossen.

Während sich die Kerne in den Schnäbeln synchron teilen, verlangsamt sich die Plasmabewegung.

Von den 4 entstandenen Kernen verbleiben zwei in den Schnäbeln, wo sie degenerieren. Die beiden anderen verschmelzen miteinander. Sie sind im dichten Protoplasma nicht zu erkennen.

Bis zur Zygotenbildung vergehen etwa 10 Stunden.

Objektfeldbreite 250 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 10 B/min

Während der weiteren Reifung entsteht eine dicke Zellwand, die der Zygote den notwendigen Schutz verleiht.

Mit diesen resistenten Zygoten kann der Organismus ungünstige Umweltbedingungen überdauern.

Objektfeldbreite 250 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 12 B/h

English Version of the Spoken Commentary¹

Schrittwachstum und Mitose

(Stepwise growth and mitosis)

The mycelium of *Basidiobolus ranarum* develops a stepwise growth, here seen in time lapse.

During this special type of growth the protoplast creeps apically.

The hyphal segment left by the moving protoplast is periodically cut off by septae. This occurs roughly in hourly cycles. A chain of empty cell chambers remains.

Each protoplast contains an unusually large nucleus, which follows the growing apex.

This type of septation of hyphal compartments has been developed by only a few fungi.

In phase contrast, the nucleus can be recognized more clearly; it contains a large, dark nucleolus.

¹ The headlines in *italics* correspond with the subtitles in the film.

Periodically, a mitosis interrupts the stepwise growth. Two daughter nuclei appear; they are separated by a septum.

The nucleolus disperses during prophase.

Polar caps are formed.

During telophase both daughter nuclei separate.

Once more, the nucleolus and the nuclear membrane fade away during prophase.

The spindle axis and the later metaphase plate are oriented at an oblique angle to the cell wall.

The polar caps appear dark. Between them the very small chromosomes form the metaphase plate, and separate quickly during anaphase.

As a result of this mitosis, both daughter nuclei are separated by a septum. The septum is formed centripetally.

The left cell is now branching, while the distal one proceeds according to the stepwise growth.

The nucleus migrates into the branching hyphal tip.

Branching in this way, the mycelium is able to colonize a larger area.

Konidienbildung und -abschuß

(Conidia formation and discharge)

Induced by light, the conidiophores develop on the surface of an agar block within about 40 minutes. Their conidia are discharged by a turgor mechanism.

The direction of shooting is determined by the light.

At the tip of each aerial hypha first a swelling and later the conidium itself are differentiated.

The conidium develops as a bud at the tip of a vesicle.

During this process, the cytoplasm streams acropetally as is the case in the vegetative hypha. The conidiophorous cell is emptied, leaving behind the vacuole which follows the cytoplasm. The rest of the cytoplasm streams in the form of a central strand.

The streaming stops when the septum at the basis of the conidium is complete.

Now the turgid pressure inside the vesicle increases.

4–6 minutes later, it ruptures and the conidium is discharged.

If explosion is prevented, the cell sap escapes and the vesicle shrinks.

The preformed rim marks the spot where the vesicle will rupture.

Animated graphics elucidate these phenomena: At high turgor the vesicle is separated from its stipe. Vacuole fluid escapes. The elastic energy of the turgescient vesicle has become a kinetic one.

Simultaneously the cell walls are shrinking.

The ballistic phenomenon: The carrier system stabilizes the flight path, and separates from the conidium. The conidium flies 1–2 cm before landing.

Sometimes a shrunken carrier vesicle is seen on the substrate, and at a somewhat greater distance a conidium.

The conidium germinates if conditions are favorable.

Nuclear divisions proceed and septae are formed. A new mycelium develops on the principle of stepwise growth.

At low nutrient levels, the conidium develops directly into a new conidiophore.

Within 2–3 hours this one again forms a conidium, which will be discharged after a few minutes.

From the surface of an agar block — to the left — conidiophores are shooting in the direction of the light coming from the right. Several generations of conidia are spreading out to the right.

Within 28 hours, up to seven generations were registered. They have covered several centimeters' distance.

Bildung der Zygoten

(Formation of zygotes)

Normally the mycelium of *Basidiobolus ranarum* develops gametangia and zygospores after 2 days.

Probably the sexual reaction is induced by a low nutrient level.

The production of zygotes, which takes place in most of the vegetative cells, proceeds on the same pattern of stepwise growth.

The gametangia are derived from adjacent somatic cells. Their complete protoplast is absorbed by the fusion.

The differentiation of the gametangia is characterized by the fact that both cells form beak-like projections which are entered by the nuclei. Later, gametangiogamy occurs with the transit of the protoplasm.

The septum below the beaks is broken. The cytoplasm grows denser and streams into the right gametangium which has now become a macrogametangium.

The adjacent hyphal segments empty and are cut off by new septae.

While the nuclei in the beaks are dividing synchronously, the plasmatic movement decreases.

Of the 4 resulting nuclei 2 remain in the beaks, where they degenerate. The other two fuse.

They are not visible inside the dense protoplasm.

Formation of zygotes takes about 10 hours.

During maturation a thick cell wall is developed, protecting the zygote.

These resistant zygospores enable the organism to survive unfavorable environmental conditions.

Literatur

- [1] CALLAGHAN, A.A.: Light and spore discharge in Entomophthorales. Trans. Brit. mycol. Soc. 53 (1969), 87–97.
- [2] DRECHSLER, C.: Supplementary developmental stages of *Basidiobolus ranarum* and *Basidiobolus haptosporus*. Mycologia 48 (1956), 655–676.
- [3] EIDAM, E.: *Basidiobolus*, eine neue Gattung der Entomophthoraceen. Cohn's Beitr. Biol. Pflanzen 4 (1887), 181–251.
- [4] EMMONS, C.E. et al.: *Basidiobolus* and *Cercospora* from human infections. Mycologia 49 (1957), 1–10.
- [5] FAIRCHILD, D.G.: Über Kerntheilung und Befruchtung bei *Basidiobolus ranarum* Eidam. Jb. Wiss. Bot. 30 (1897), 285–296.

- [6] GREER, D.L., and L. FRIEDMAN: Studies on the genus *Basidiobolus* with reclassification of the species pathogenic for man. *Sabouraudia* 4 (1966) 231–241.
- [7] GULL, K., and A.P.J. TRINCI: Nuclear division in *Basidiobolus ranarum*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 63 (1974), 457–460.
- [8] INGOLD, C.T: Fungal spores, their liberation and dispersal. CLARENDON Press, Oxford 1971.
- [9] MARTIN, G.W.: Key to the families of fungi. In: Dictionary of the fungi. G.C. Ainsworth. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, Surrey, 1961.
- [10] NOWAK, W.: Untersuchungen an *Basidiobolus ranarum* Eidam. *Arch. Protistenk.* 69 (1930), 195–234.
- [11] RACIBORSKI, M.: Über Schrittwachstum der Zelle. *Bull. de l'Acad. Sciences Cracovie* (1907), 898–936.
- [12] ROBINOW, C.F.: Observations on cell growth, mitosis and division in the fungus *Basidiobolus ranarum*. *Journ. of Cell Biol.* 17 (1963), 123–152.
- [13] THAXTER, R.: The Entomophthoraceae of the United States. *Mem. of the Boston Soc. of Nat. Hist.* 4 (1888), 133–201.
- [14] WATERHOUSE, G.M.: Entomophthorales. In: The fungi: An advanced Treatise, IV B. Eds. G.C. AINSWORTH, F.K. SPARROW, and A.S. SUSSMAN. Academic Press, New York and London, 1973.
- [15] WOYCICKI, Z.: Über die Zygotenbildung bei *Basidiobolus ranarum* Eidam. *Flora N.F.* 22 (1927), 159–165.

Filmveröffentlichungen

- [16] ROBINOW, C., CH. THIELKE und INST. WISS. FILM: *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae) – Schrittwachstum und Mitose. Film E 2445 des IWF, Göttingen 1979.
- [17] THIELKE, CH., und INST. WISS. FILM: *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae) – Bildung der Zygoten. Film E 2446 des IWF, Göttingen 1978. Publikation von CH. THIELKE, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 11, Nr. 5/E 2446* (1978), 7 S.
- [18] THIELKE, CH., und INST. WISS. FILM: *Basidiobolus ranarum* (Entomophthoraceae) – Propagation durch Konidien. Film E 2448 des IWF, Göttingen 1978. Publikation von CH. THIELKE, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 11, Nr. 52/E 2448* (1978), 8 S.

Abbildungsnachweis

Abb. 1 u. 3: Einzelbilder aus dem Film; Abb. 2: Aus INGOLD [8].