

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

---

*E 673/1964*

**Dictyostelium minutum (Acrasina)**

**Aggregation**

Mit 6 Abbildungen

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): 160 m  
Vorfühdauer: 15 Min. — Vorführgeschwindigkeit: 24 B/s

Der Film zeigt die Entstehung und Wirkung der Aggregationszentren von *Dictyostelium minutum*: 1. Die Gründung der Zentren, 2. das gerichtete Wandern von Einzelamöben zu den Zentren, 3. die Bildung von Zellsträngen durch Amöben, die in ein Zentrum eingebaut waren, und 4. die Entstehung von Sekundärzentren unter dem Einfluß eines Primärzentrums.

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. HASENSTEIN)

# **Dictyostelium minutum (Acrasina)**

## **Aggregation**

G. GERISCH, Freiburg i. Br.

### **Allgemeine Vorbemerkungen**

#### **Systematische Stellung und Vorkommen**

*Dictyostelium minutum* ist eine von K. B. RAPER [4] zuerst in nord-amerikanischen Laubwaldböden entdeckte Art der kollektiven Amöben (*Acrasina*). Auf Grund des Habitus seiner Sporenträger würde man *Dictyostelium minutum* für eine besonders kleine Variante des sehr variablen *Dictyostelium mucoroides* halten. Doch lassen die hier im Film gezeigten, z. T. schon durch RAPER [4] vermerkten Besonderheiten des Aggregationsverhaltens [2], [3] an der Selbständigkeit der Art keinen Zweifel.

In mitteleuropäischen Laubwaldböden ist *Dictyostelium minutum* häufig. Es fand sich im Gebiet zwischen Pyrenäen und Eifel in rund 20% der von mir untersuchten Laubwaldböden.

#### **Die Aggregation der Zellen**

Im Laufe der Aggregation werden bei den kollektiven Amöben Einzelzellen zu Gliedern eines gewebeartigen Verbandes. Zumindest gedanklich trennbare Komponenten des Aggregationsgeschehens fast aller Arten sind 1. die Gründung von Aggregationszentren, 2. die auf einer chemotaktischen Reaktion beruhende Sammlung der Amöben und 3. die Ausbildung interzellulärer Kontakte. Die Reihenfolge, mit der diese Mechanismen in Aktion treten, ist verschieden. Bei den meisten Arten erlangen die Amöben die Fähigkeit zur Kontaktbildung oft schon vor der Zentrengründung, spätestens aber während ihrer Wanderung zu den Zentren. Infolgedessen verbinden sich die heranwandernden Amöben zu Strängen, die sich in der Regel radial um ein Zentrum gruppieren<sup>1)</sup>. Bei *Dictyostelium minutum* dagegen wandern die Amöben einzeln zu den Zentren, und

<sup>1)</sup> Vgl. auch: Die Entwicklung von *Dictyostelium mucoroides*, Wiss. Film C 381; *Dictyostelium purpureum* (*Acrasina*) — Aggregation und Bildung des Sporophors, Film E 630 der ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA und *Dictyostelium discoideum* (*Acrasina*) — Aggregation und Bildung des Sporophors, Film E 631 der ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA.

erst nach ihrem Einbau erlangen sie die Fähigkeit, sich zu Strängen zu verbinden.

Eine weitere Eigentümlichkeit von *Dictyostelium minutum* — allerdings nicht bei allen Stämmen deutlich erkennbar — ist die Fähigkeit der Aggregationszentren, die Gründung weiterer Zentren zu induzieren [3].

Im folgenden sollen die bei *D. minutum* am Gesamtablauf der Aggregation beteiligten Einzelvorgänge näher charakterisiert werden.

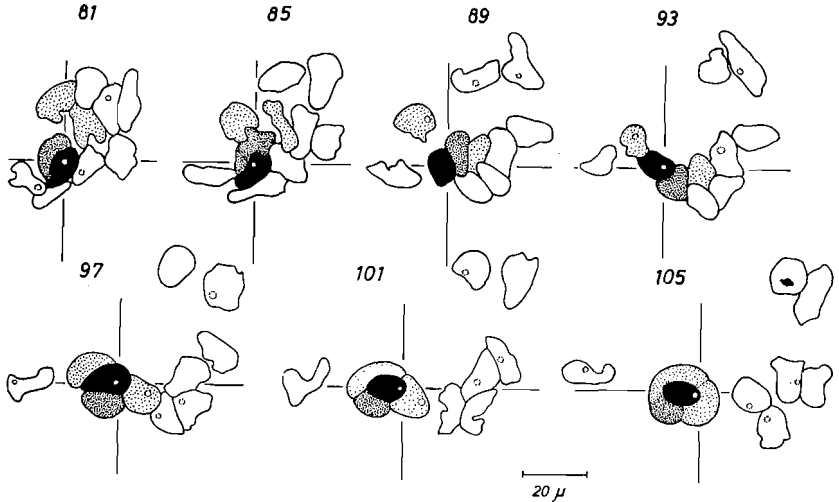


Abb. 1. Gründung eines Aggregationszentrums  
(zu Aufnahme 4 des Films)

Bildabstand 1 Min. Schwarz die Gründerzelle; dicht punktiert die 2. Zelle; locker punktiert die 3. und 4. Zelle des Zentrums. Die eingetragenen Bildnummern sind vom Aufnahmebeginn an gerechnet. Als fixes Bezugssystem ist ein Fadenkreuz eingezeichnet

## 1. Die Zentrengründung

Wie aus den Aufnahmen Nr. 4 und 5<sup>1)</sup> dieses Films hervorgeht (Abb. 1 und 2), wird die Zentrengründung durch einzelne Zellen ausgelöst, deren Größe innerhalb der Variationsbreite der übrigen Zellen liegt. Auch in ihrer Bewegung unterscheiden sich diese Amöben zunächst nicht von den anderen Zellen der Population. Da sie sich ähnlich wie die von SHAFER [5] bei *Polysphondylium violaceum* gefundenen „founder cells“ verhalten, seien sie als Gründerzellen bezeichnet.

Einige Minuten vor der Zentrengründung stellt die Gründerzelle ihre Ortsveränderungen allmählich ein und rundet sich weitgehend oder

<sup>1)</sup> Die Aufnahmeummern entsprechen der Einteilung des Abschnitts „Filminhalt“, S. 9—15.

auch vollständig ab. Dann nimmt eine zweite Zelle Kontakt mit ihr auf, wandert an ihr entlang und kommt schließlich zur Ruhe. In der Regel beginnt gleichzeitig die gerichtete Bewegung weiterer Zellen zum Zentrum, woraus hervorgeht, daß das Zentrum in diesem Stadium mit der Abgabe chemotaktisch wirksamer Substanz begonnen hat. Die Gründerzelle ist bald von einem Kranz dicht anliegender Zellen umgeben, bleibt aber noch eine Zeitlang individuell erkennbar (Aufn. Nr. 4 und 8).

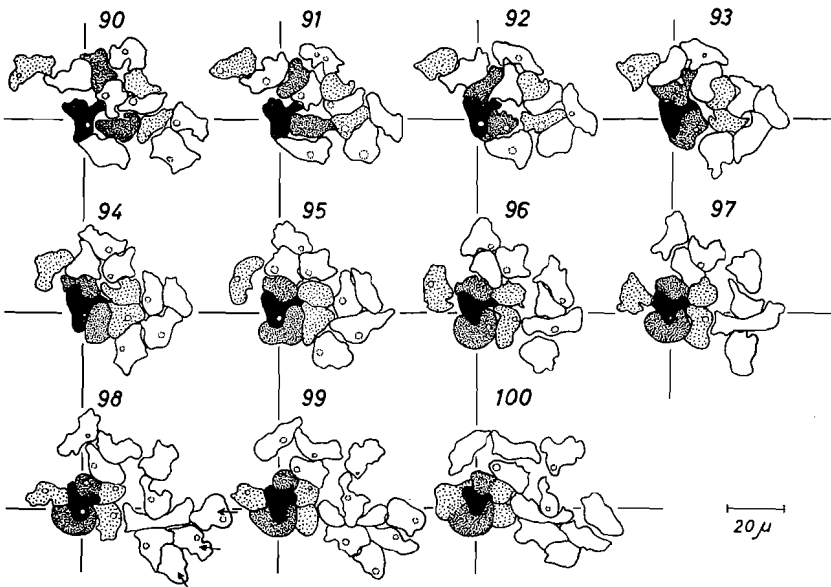


Abb. 2. Gründung eines Aggregationszentrums  
(zu Aufnahme 5 des Films)

Bildabstand 15 s. Schwarz die Gründerzelle, dicht punktiert die 2. und 3. Zelle, locker punktiert die 4. bis 6. Zelle des Zentrums. Bei den Bildnummern ist die nachträglich vorgenommene Bildverdopplung nicht berücksichtigt

## 2. Das Wandern der Amöben zum Zentrum

Bei *D. minutum* reagiert jede Amöbe individuell auf die vom Zentrum abgegebene, chemotaktisch wirkende Substanz. Daß selbst ein kleines Zentrum über eine Entfernung von  $> 100 \mu$  Amöben direkt beeinflussen kann, zeigt Aufnahme Nr. 7 (Abb. 3). Hier ist das Feld um ein aus 4 Zellen bestehendes Zentrum fast leer, so daß eine Beeinflussung aggregierender Zellen untereinander ausgeschlossen ist.

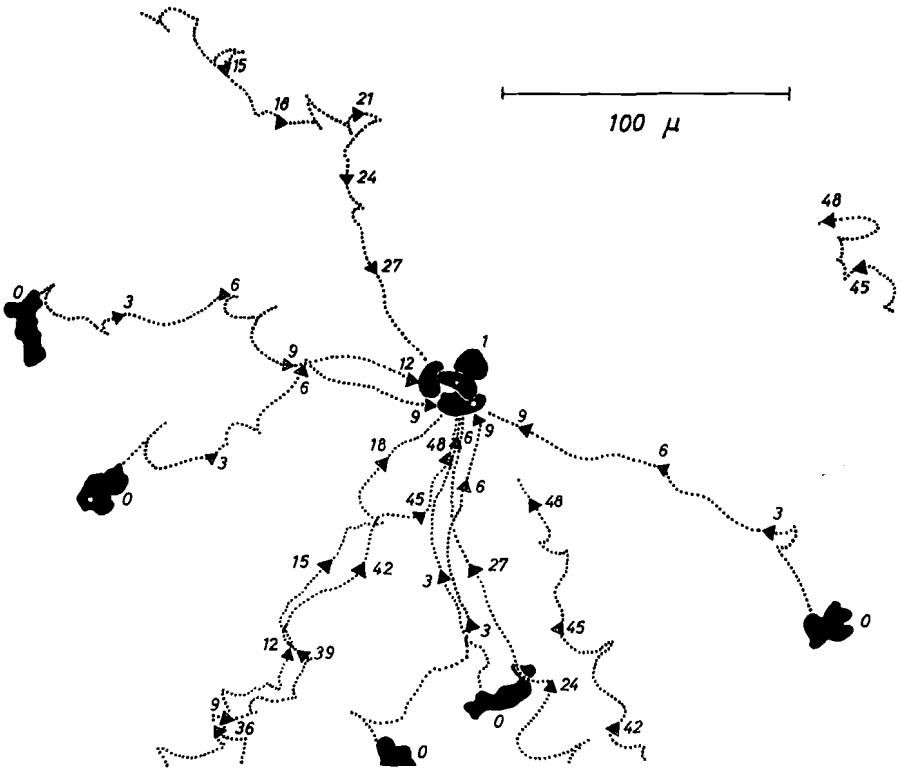


Abb. 3. Bewegungsbahnen chemotaktisch reagierender Zellen  
(zu Aufnahme 7 des Films)

Die Pfeile markieren die Orte der Amöbenspitze in Abständen von je 3 Min.; die Zahlen geben die Minuten nach Aufnahmebeginn an. Man erkennt, daß die reagierenden Amöben aus einem Abstand von etwa  $50\ \mu$  geradlinig auf das Zentrum zulaufen. Die Bewegungsbahn weiter entfernter Amöben enthält Zacken, die — wie im Film verfolgt werden kann — dort entstehen, wo ein Pseudopodium die Führung an ein anderes abgibt

Das Vorderende der aggregierenden Amöben ist dicht mit Pseudopodien besetzt (Aufn. Nr. 9). Kennzeichnend für *D. minutum* sind lamellenartig verbreiterte Pseudopodien; besonders ausgeprägt ist die Lamellenbildung, wenn den Amöben ein hoher Flüssigkeitsraum zur Verfügung steht. Was in Aufn. Nr. 10 als spitzes Pseudopodium erscheint, ist in der Regel der optische Schnitt durch eine Ektoplasma-lamelle, deren mehrere tütenartig um das Vorderende gestellt sind.

### 3. Die Entstehung von Zellsträngen aus Aggregationszentren

Im einfachsten Fall entstehen aus den Aggregationszentren unmittelbar Coni<sup>1)</sup> und aus diesen Sporenträger. Ein Zentrum kann sich aber auch vollständig in strangförmige, wandernde Amöbenverbände auflösen. Diese Stränge nehmen entweder durch Anschluß an andere Zentren an der Weiterentwicklung teil, oder sie bilden selbständig Coni. Dabei krümmt sich in der Regel der Strang am Vorderende ein

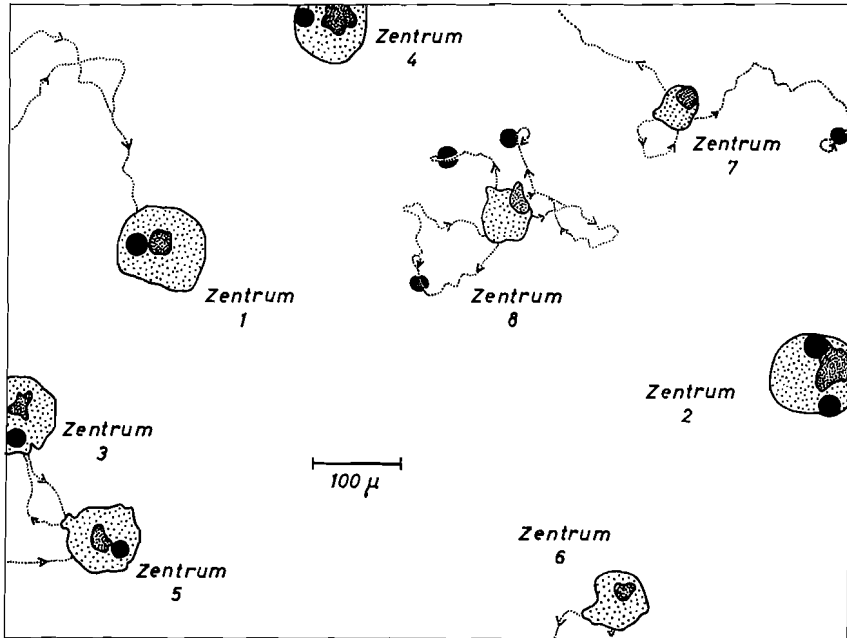


Abb. 4. Bildung von Zentren, Strängen und Sporenträgern

(Situationszeichnung zu Aufnahme 11 des Films)

Dicht punktiert die Zentren unmittelbar nach ihrer Gründung, locker punktiert die Ausdehnung der voll ausgebildeten Zentren, schwarz die Fußpunkte der Sporenträger. Auf den eingetragenen Bewegungsbahnen wandern Zellstränge von Zentren hinweg oder in Zentren ein

und rollt sich zu einer runden Zellgruppe auf, aus der dann der Conus hervorgeht. Ein Beispiel hierfür ist in Aufn. Nr. 15 zu sehen.

Die beiden Varianten der Entwicklung — Conusbildung direkt aus

<sup>1)</sup> Als Conus bezeichnet man nach ARNDT [1] die in den Luftraum ragenden kegelförmigen Körper, welche in der *Dictyostelium*-Entwicklung das Zwischenstadium zwischen dem unorganisierten Zentrum und dem fertigen Sporenträger darstellen (vgl. Entwicklung von *Dictyostelium*, Wiss. Film C 876).

dem Zentrum oder nach Zwischenschaltung der Strangbildung — können nebeneinander in ein und demselben Präparat auftreten. In Aufn. Nr. 11 gehen aus den zuerst entstandenen Zentren unmittelbar Sporenträger hervor, die später gegründeten Zentren dagegen lösen sich vollständig in Stränge auf (Abb. 4).

Die Fähigkeit der auswandernden Amöben, sich miteinander zu verbinden, ist Ausdruck eines Funktionswechsels dieser Zellen, den sie während ihres Aufenthaltes im Zentrum durchlaufen haben [3]. Parallel mit der funktionellen Umstimmung der Amöben gehen morphologische Veränderungen: Die im Verband auswandernden Zellen sind kleiner als freie Amöben (Aufn. 12), und nur sie enthalten zahlreiche metachromatisch färbbare Granula [3], die im Phasenkontrast durch ihre intensive Schwärzung auffallen (Aufn. Nr. 14).

#### 4. Die Induktion von Zentren

Für die Filmaufnahmen wurden zwei von verschiedenen Standorten isolierte *D.-minutum*-Stämme verwendet, *M 47-1* und *M 71-2*. Diese beiden Stämme unterscheiden sich darin, daß der erstere zur gruppenweisen Bildung von Aggregationszentren neigt, während bei dem zweiten Stamm diese Tendenz, wenn überhaupt vorhanden, dann nur sehr schwach ausgeprägt ist. Die Zentrengruppen bei *M 47-1* entstehen auf folgende Weise: Zuerst werden spontan einzelne Zentren gegründet, die eine chemotaktische Reaktion auslösen. Die reagierenden Amöben wandern anfänglich alle in diese „Primärzentren“ ein. Dann aber entstehen in deren Umgebung weitere Zentren, die einen Teil der aggregierenden Amöben abfangen. Diese „Sekundärzentren“ werden meist eindeutig wie die Primärzentren durch einzelne Amöben gegründet, sie können aber auch aus der Zusammenlagerung mehrerer Amöben hervorgehen, von denen keine als spezielle Gründerzelle angesprochen werden kann (Aufn. 16, Abb. 6). In allen untersuchten Fällen werden die Sekundärzentren aber durch Amöben gegründet, die vorher selbst chemotaktisch reagiert hatten (Aufn. 15, Abb. 5). Aus der Gruppierung der Sekundärzentren um ein Primärzentrum und aus der Reihenfolge ihrer Entstehung — sie entstehen zuerst in unmittelbarer Nähe des Primärzentrums, später auch weiter in der Peripherie — ist zu schließen, daß ihre Bildung auf dem induzierenden Einfluß des Primärzentrums beruht [3].

#### Material und Aufnahmetechnik

Die beiden für die Filmaufnahmen herangezogenen Linien von *Dictyostelium minutum* sind Klonkulturen von Stämmen, die in der Umgebung von Freiburg/Br. gesammelt wurden. *M 71-2* stammt aus einer Erdprobe vom Schönberg bei Freiburg, *M 47-1* vom Altrheingebiet bei Breisach.



Als Futterbakterium diente *Escherichia coli* B/2 oder ein Erdbakterium, Stammbezeichnung E 47-4, das zusammen mit M 47-1 isoliert wurde.

Die Amöben wurden zusammen mit dem Futterbakterium auf Glucose-Pepton-(GP)-Agar kultiviert (2% Difco-Bacto-Agar in m/60 Phosphat nach SÖRENSEN P<sub>H</sub> 6,0; Glucose- und Pepton-Zusatz je 0,005 bis 0,05%). Sie bewegten sich während der Aufnahmen auf der freien Agar-Oberfläche; nur für die Aufn. Nr. 10 und 14 waren die Präparate mit einem Deckglas abgedeckt.

Die Aufnahmen erfolgten mit einer Askana-Z-Kamera bei schwachen Vergrößerungen im Schräglicht, bei starken im Phasenkontrast. Belichtet wurde nur während der Exposition des Films, und zwar mit Grünlicht.

Die angegebenen Vergrößerungen sind auf 16-mm-Schmalfilm umgerechnet.

## Filminhalt

### *Bildung von Aggregaten aus Einzelzellen<sup>1)</sup>*

*2 bis 8 B/Min.*

#### 1. Vermehrungsphase und Übergang zur Aggregationsreife

Die Aufnahme zeigt die Aufsicht auf einen Bakterienrasen, in den von unten her Amöben einwandern. Im Feld sind zahlreiche Teilungen zu sehen, während deren die Amöben ihre Fortbewegung einstellen. Am Ende der Vermehrungsphase sammeln sich die Amöben in einem Wall; von unten kommend durchzieht er das Bildfeld und markiert die Grenze zwischen Bakterienrasen und bakterienfreiem Gebiet. Die Bewegungsgeschwindigkeit der Amöben wird nach Beendigung der Vermehrungsphase erhöht.

Vergrößerung 8,5fach, Aufnahmefrequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 12 h, Schräglichtaufnahme, Stamm M 47-1, Bakterium E 47-4, Substrat GP-Agar 0,02%.

#### 2. Übersicht über die Aggregation und Conusbildung

Die Aufnahme beginnt mit dem Ende der Vermehrungsphase. Die Beschleunigung der Amöbenbewegung nach dem Verbrauch der Bakterien ist auch hier zu erkennen, doch ist die Wallbildung nicht so regelmäßig wie in der vorigen Aufnahme. Im Bildfeld entstehen 4 Aggregationszentren, in denen sich die Amöben sammeln. Die Amöben wandern gerichtet zu den Zentren. Zeitweilig stauen sie sich vor den Zentren und bilden in einschichtiger Lage dichtgedrängt einen Hof, ehe sie in das Zentrum eingebaut werden. Wo sich die Einflußgebiete mehrerer Zentren überschneiden, sind die Amöben desorientiert.

<sup>1)</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Vom mittleren Zentrum gliedern sich Amöbengruppen ab, die später in Strangform in das Hauptzentrum überwandern. Aus dem mittleren und rechten Zentrum entstehen 4 bzw. 3 Coni, die sich entweder direkt oder nach kurzer Migration in Sporenträger umwandeln. In den beiden Zentren der linken Bildhälfte bilden sich ebenfalls Coni, nachdem ein Teil der Amöben aus den Zentren ausgewandert ist.

Vergrößerung 8,5fach, Aufnahme­frequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 17 h, Schräglichtaufnahme, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E 47-4*, Substrat GP-Agar 0,02%.

### 3. Aggregation

Am Beginn der Aufnahme befinden sich zwei Zentren im Bildfeld, die nahe an der Grenze zum Bakterienrasen entstanden sind. Während aus dem bakterienfreien Feld Amöben gerichtet zu den Zentren wandern, reagieren die im Bakterienrasen befindlichen Amöben nicht. Nachdem der den Bakterienrasen begrenzende Amöbenwall den rechten Bildfeldrand überschritten hat, entsteht ein drittes und später ein viertes Zentrum. Bei letzterem ist klar zu erkennen, daß vor der Zentren­gründung eine Amöbe ihre Fortbewegung einstellt.

Vergrößerung 5,5fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 7 h, Schräglichtaufnahme. Stamm *M 47-1*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar.

### 4. Gründung eines Aggregationszentrums (Abb. 1)

Durch Pfeil ist der Ort markiert, an dem das Zentrum entstehen wird. Eine Zelle stellt ihre Fortbewegung ein und rundet sich ab. Um diese Gründerzelle legen sich weitere Zellen herum. Unmittelbar nach der Anlagerung der ersten Zellen an die Gründerzelle beginnt das gerichtete Wandern freier Amöben zum Zentrum. Die Gründerzelle bleibt im Zentrum noch eine Zeitlang individuell erkennbar.

Vergrößerung 30fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $1\frac{1}{2}$  h, Phasenkontrast, Stamm *M 71-2*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,02%.

### 5. Gründung eines Aggregationszentrums (Abb. 2)

Der Ort, an dem das Zentrum entstehen wird, ist durch Pfeil markiert. Eine Zelle zeigt vom Beginn der Aufnahme an nur noch geringfügige Lageänderungen. Ohne daß diese Zelle sich vollständig abrundet, lagern sich ihr Amöben an. Unmittelbar danach wird gerichtetes Wandern weiterer Amöben zum Zentrum erkennbar.

Vergrößerung 23fach, aufgenommen mit 4 B/Min., durch Verdoppelung jedes Bildes bei der Reproduktion ist die Aufnahme­frequenz auf 8 B/Min. erhöht worden, wirkliche Dauer des Vorgangs  $\frac{1}{2}$  h, Phasenkontrast, Stamm *M 71-2*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,02%.

## 6. Gerichtetes Wandern der Amöben zu einem jungen Zentrum

Vergrößerung 23fach, Aufnahme­frequenz 7 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $1\frac{1}{2}$  h, Phasen­kontrast, Stamm *M 71-2*, Bakterium *E. coli* B/2, Substrat GP-Agar 0,02%.

## 7. Gerichtetes Wandern einzelner Amöben zu einem Zentrum (Abb. 3)

In der Mitte des Bildfeldes befindet sich ein Zentrum aus vier fest aneinanderhaftenden, aber nicht zu einer kompakten Masse verbundenen Zellen. An dieses Zentrum wandern im Laufe der Aufnahme 10 Amöben gerichtet heran.

Vergrößerung 23fach, Aufnahme­frequenz 7 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $\frac{3}{4}$  h, Phasen­kontrast, Stamm *M 71-2*, Bakterium *E. coli* B/2, Substrat GP-Agar 0,02%.

## 8. Ein junges Zentrum, das sich durch Zuwanderung von Amöben vergrößert

Am Beginn der Aufnahme besteht das Zentrum aus fünf Zellen: Eine Zelle in der Mitte, offenbar die Gründerzelle, wird von drei Zellen umfaßt, an die außen bereits eine weitere Zelle angelagert ist.

Vergrößerung 23fach, Aufnahme­frequenz 7 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $\frac{3}{4}$  h, Phasen­kontrast, Stamm *M 71-2*, Bakterium *E. coli* B/2, Substrat GP-Agar 0,02%.

## *Gerichtetes Wandern in flacher und hoher Flüssigkeitsschicht*

*30 und 60 B/Min.*

### 9. Amöben in flacher Flüssigkeitsschicht

Die in einer flachen Flüssigkeitsschicht auf der Agaroberfläche befindlichen Amöben wandern zu einem Zentrum am linken Bildrand. Am Vorderende besitzt jede Amöbe einen Saum von Pseudopodien, am Hinterende der Zelle liegt die pulsierende Vakuole, vor ihr der Zellkern.

Vergrößerung 55fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $\frac{1}{2}$  h, Phasen­kontrast, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E. coli* B/2, Substrat GP-Agar 0,02%.

### 10. Amöben in hoher Flüssigkeitsschicht

Amöben wandern zwischen Agaroberfläche und aufgelegtem Deckglas in einem Flüssigkeitsspalt. Die Pseudopodien sind bevorzugt auf das Zentrum gerichtet, doch sind sie hier räumlich angeordnet, im Gegensatz zur zweidimensionalen Anordnung bei der vorigen Aufnahme. Die Bewegung der Amöben ist, verglichen mit der vorhergehenden Aufnahme, weniger streng gerichtet.

Vergrößerung 55fach, Aufnahme­frequenz 60 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 16 Min., Phasen­kontrast, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E 47-4*, Substrat GP-Agar 0,05%.

## Entstehung von Zellsträngen aus Aggregationszentren

2 bis 30 B/Min.

### 11. Übersicht über die Entwicklung von der Vermehrungsphase bis zur Bildung von Sporenträgern (Abb. 4)

Die Aufnahme beginnt kurz vor dem Ende der Vermehrungsphase. Wie in Aufnahme 1 und 2 erkennt man die Beschleunigung der Amöbenbewegung nach dem Verbrauch der Futterbakterien; sie setzt hier im ganzen Feld gleichzeitig ein. Dann entstehen im Bildfeld insgesamt 8 Zentren, deren Einflußgebiete sich überschneiden, so daß die Amöben stellenweise desorientiert sind. Um das erste Zentrum stauen sich die aggregierenden Amöben vorübergehend.

Aus den Zentren 1 bis 5 gehen direkt Sporenträger hervor. Abgesehen von den Zentren 3 und 5, die zwei kleine Stränge austauschen, bilden diese Zentren keine Stränge; in das erste und fünfte Zentrum wandert je ein Amöbenstrang ein. Die Zentren 6, 7 und 8 dagegen lösen sich in Zellstränge auf. Während die aus dem 6. Zentrum entstandenen Stränge alle das Bildfeld verlassen, bilden die drei aus Zentrum 8 hervorgegangenen Stränge und ein aus Zentrum 7 stammender Strang innerhalb des Bildfeldes je einen Sporenträger.

Zentren und Stränge hinterlassen Eindrücke im Agar, obwohl das Präparat mit der Schichtseite nach unten gelagert war. Auf Einzelamöben wirken diese Vertiefungen wie eine Falle. Besonders deutlich ist das bei der von Zentrum 8 herrührenden Vertiefung zu erkennen.

Vergrößerung 8,5fach, Aufnahmefrequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 20½ h, Schräglichtaufnahme, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E 47-4*, Substrat GP-Agar 0,02%.

### 12. Aggregierende Einzelamöben und aus einem Zentrum im Verband auswandernde Amöben

Von oben her gelangen in das Bildfeld Amöbenstränge, die von einem außerhalb des Bildfeldes liegenden Zentrum stammen. Drei dieser Stränge schließen sich zu einem Kreis. Der kleinste dieser ringförmigen Verbände — er wandert in die linke Bildhälfte — besteht aus drei Amöben. Von unten her wandern in das Bildfeld Einzelamöben ein, die noch nicht in ein Zentrum eingebaut waren. Sie sind größer als die strangbildenden Amöben und verbinden sich nicht mit diesen.

Vergrößerung 55fach, Aufnahmefrequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 1 h, Phasenkontrast, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,02%.

### 13. Im Strangverband wandernde Amöben

Die Stränge stammen aus einem Zentrum, das sich links im Bildfeld befand, wo sein Ort noch an zurückgelassenem Material zu erkennen

ist. Die Amöben wandern dicht verbunden im Strangverband nach rechts in ein neues Zentrum.

Vergrößerung 20fach, Aufnahme­frequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 1½ h, Phasenkontrast, Stamm *M 71-2*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,02 %.

#### 14. Amöben im Strangverband

In den dicht verbundenen Amöben sind zu erkennen: Der im Verhältnis zur Plasmamenge große Zellkern, die pulsierenden Vakuolen und zahlreiche, hier im Phasenkontrast intensiv schwarz erscheinende Granula.

Vergrößerung 120 fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 13 Min., Phasenkontrast, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E 47-4*, Substrat GP-Agar 0,05 %. Nach Auflegen eines Deckglases auf die Agar­oberfläche aufgenommen.

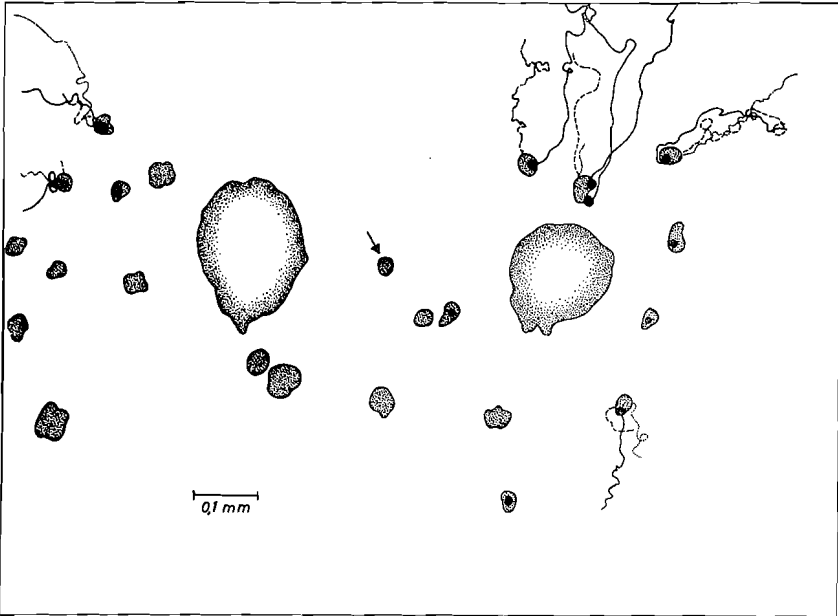


Abb. 5. Sekundärzentrenbildung

(Situationszeichnung zu Aufnahme 15 des Films)

Eingetragen ist der Umriß der beiden großen Primärzentren am Beginn der Aufnahme und der Umriß der Sekundärzentren jeweils unmittelbar nach ihrer Gründung. Schwarz ausgefüllte Kreise bezeichnen die Orte, an denen eine als Gründerzelle anzusprechende Amöbe vor der Zentrenbildung stillgelegen hat. Soweit sie im Film verfolgt werden können, sind die Bewegungsbahnen der Gründerzellen (ausgezogene Linien) sowie der zweiten (gestrichelt) und dritten (punktiert) Zellen eines Zentrums eingezeichnet. Eines der Zentren scheint auf zwei nebeneinanderliegende Gründerzellen zurückzugehen. Der Pfeil in der Mitte des Bildfeldes weist auf ein Zentrum, in das nur 8 Amöben einwandern; es ist das kleinste beobachtete Zentrum, dessen Amöben die Fähigkeit zur Strangbildung gewinnen

## Bildung und Auflösung von Sekundärzentren

2 bis 8 B/Min.

15. Übersicht über ein Aggregationsfeld, in dem zuerst Sekundärzentren und dann aus diesen Zellstränge entstehen (Abb. 5)

Am Beginn der Aufnahme sind im oberen Teil des Bildfeldes zwei große Zentren und ein kleines vorhanden. Zunächst wandern freie Amöben in diese Zentren ein; dann aber legt sich um sie ein Gürtel neuer Zentren, in dem die meisten Amöben abgefangen werden. Nachdem das Bildfeld weitgehend von Einzelamöben entleert ist, gehen aus den Sekundärzentren wie auch aus Primärzentren Zellstränge hervor. Sammelpunkte der

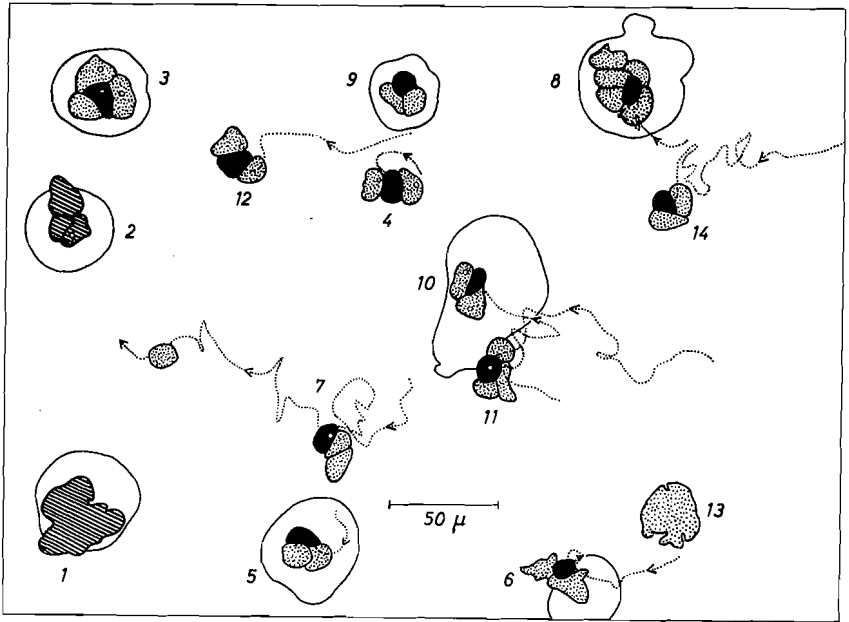


Abb. 6. Gründung von Sekundärzentren

(Situationszeichnung zu Aufnahme 16 des Films)

Das Primärzentrum befindet sich links außerhalb des Bildfeldes. Schraffiert sind Zentren, die bereits am Aufnahmebeginn vorhanden sind. Schwarz und punktiert neugegründete Zentren. Die Zentren sind chronologisch nummeriert. Die äußeren Umrisse bezeichnen die am Aufnahmeende noch bestehenden Zentren

Die hier registrierten Sekundärzentren sind nicht mit gleicher Sicherheit auf einzelne Gründerzellen zurückzuführen wie die Primärzentren der Aufnahmen 4 und 5. Amöben, die als Gründerzellen in Frage kommen, weil sie vor der Zentrengründung ihre Ortsveränderung einstellen, sind schwarz hervorgehoben. Die punktierten Linien sind die Bewegungsbahnen dieser Zellen. Die nach der Auflösung von Zentrum 7 weiterwandernde Amöbe ist vermutlich die Gründerzelle; am eingezeichneten Ort unterbricht sie ihre Bewegung

Stränge sind einerseits die Primärzentren, andererseits ein in der Bildmitte neu entstandenes, aus einem Strang hervorgegangenes Zentrum.

Vergrößerung 7fach, Aufnahme­frequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $10\frac{1}{4}$  h, Schräglichtaufnahme, Bildausschnitt während der Aufnahme geändert, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,005 %.

#### 16. Gründung von Sekundärzentren, stärker vergrößert (Abb. 6)

Zunächst wandern die Amöben bevorzugt nach links, wo sich am Bildfeldrand bereits zwei Zentren befinden. Dann entstehen im Bildfeld 12 Zentren, von denen bis zum Aufnahmeende 6 erhalten bleiben; die Zentren 10 und 11 verschmelzen miteinander, andere lösen sich wieder auf. Bei einem Teil der Zentren­gründungen ist deutlich zu erkennen, daß eine einzelne Amöbe vor der Gründung ihre Fortbewegung einstellt. Aus den hier relativ früh zerfallenden Sekundärzentren wandern die Amöben fast ausnahmslos als Einzelzellen aus. Bei der Auflösung des Zentrums 13 bleiben zwei Zellen miteinander verbunden. Beide Zellen teilen sich; die Tochterzellen bilden vorübergehend eine aus vier Zellen bestehende Kette.

Vergrößerung 20fach, Aufnahme­frequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 4 h, Phasenkontrast, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,02 %.

#### 17. Übersicht über ein Aggregationsfeld, in dem Sekundärzentren entstehen und sich wieder auflösen.

Am Beginn der Aufnahme sind neben dem Primärzentrum bereits einige Sekundärzentren vorhanden; weitere entstehen aus den von rechts heranwandernden Amöben. Später ziehen die Zellen der proximalen Sekundärzentren im Strangverband in das Primärzentrum. Aus den distalen Zentren wandern die Amöben meist einzeln aus; ein Teil von ihnen schließt sich nachträglich zu Strangverbänden zusammen.

Vergrößerung 6fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs  $10\frac{1}{2}$  h, Schräglichtaufnahme, Stamm *M 47-1*, Bakterium *E. coli B/2*, Substrat GP-Agar 0,02 %.

### Literatur

- [1] ARNDT, A., Rhizopodenstudien III. Untersuchungen über Dictyostelium mucoroides BREFFELD. Wilhelm Roux' Arch. Entwicklun­gsmech. Organ. **136** (1937), S. 681—747.
- [2] GERISCH, G., Eine für Dictyostelium ungewöhnliche Aggregationsweise. Naturwiss. **50** (1963), S. 160.

- [3] GERISCH, G., Die Bildung des Zellverbandes bei *Dictyostelium minutum*. I. Übersicht über die Aggregation und den Funktionswechsel der Zellen. Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organ. (1964) (Im Druck).
- [4] RAPER, K. B., *Dictyostelium minutum*, a second new species of slime mold from decaying forest leaves. *Mycologia* **33** (1941), S. 633—649.
- [5] SHAFFER, B. M., The cells founding aggregation centres in the slime mould *Polysphondylium violaceum*. *J. Exp. Biol.* **38** (1961), S. 833—849.



ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. Wolf

---

E 673/1964

Dictyostelium minutum (Acrasina)

Aggregation

with 6 Illustrations

Translation from the German arranged by:  
The Department of Audio Visual Communication,  
British Life Assurance Trust for Health Education  
with the British Medical Association

GÖTTINGEN 1964

---

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

## Dictyostelium minutum (Acrasina)

### Aggregation

G. GERISCH, Freiburg i. Br.

### Introduction

### Classification and Habitat

Dictyostelium minutum is one of the slime moulds (Acrasina) and was first discovered by Raper (4) in deciduous forest soils of North America. Because of the nature of its sporophore, D. minutum was held to be a particularly small variant of the highly variable Dictyostelium mucoroides. However, the film clearly shows distinct differences in aggregation behaviour. Some differences had already been noted by Raper (4), and they leave no doubt that D. minutum is a separate species (2, 3).

D. minutum is abundant in mid-European deciduous forest soils. In an area between the Pyrenees and the Eifel it occurred in 20% of the deciduous forest soils investigated by the author.

### Aggregation of Cells

During the aggregation of cellular slime moulds the individual cells become organised to form a tissue-like structure. At least three separate processes of aggregation can be distinguished in nearly all species: (1) the formation of aggregation centres; (2) the movement of amoebae through chemotaxis; and (3) the development of intercellular contacts. The sequence in which these actions occur varies. In most species the amoebae frequently acquire the ability to make contact before centres have been formed, and at the latest during their migration towards

the centres. Consequently the migrating amoebae link up into streams which are usually grouped radially about a centre.<sup>1</sup> However, amoebae of the species D. minutum migrate singly towards the centres and only link up to form streams after their incorporation.

A further characteristic of D. minutum, although not clearly recognisable in all strains, is the ability of the aggregation centres to induce the formation of further centres (3).

The individual stages in the process of aggregation in D. minutum are described in greater detail below.

#### 1. Formation of centres

As shown in Sequences 4 and 5 of the film<sup>2</sup> (Figs 1, 2), centres are formed by individual cells which are in the same size range as surrounding cells and whose movement is at first no different from that of the other cells in the population. They are termed 'founder cells' since they behave similarly to the founder cells of Polysphondylium violaceum described by Shaffer (5).

A few minutes before the formation of a centre the founder cell stops moving and becomes almost or completely round. A second cell then makes contact with the first, moves along it and finally comes

<sup>1</sup>See also: Scientific Film C 381, The development of Dictyostelium mucoroides; ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA Film E 630, Dictyostelium purpureum (Acrasina) - Aggregation and formation of the sporophore; and ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA Film E 631, Dictyostelium discoideum (Acrasina) - Aggregation and formation of the sporophore.

<sup>2</sup>Sequence numbers correspond to the contents description of the Film, see pp. 9 -

to rest. The migration of further cells towards the centre usually begins simultaneously, implying that the centre has already begun to secrete a chemotactically active substance. The founder cell is soon surrounded by a dense cluster of cells, although it remains identifiable for some time (Sequences 4 and 8).

2. Migration of amoebae towards the centre

D. minutum amoebae react individually to the chemotactic substance emitted by the centre. Sequence 7 (Fig.3) shows that even a small centre can directly influence amoebae over a distance of more than 100  $\mu\text{m}$ . Here the field surrounding a four-cell centre is virtually empty, so that the possibility of any influence of the aggregating cells among each other can be excluded.

The leading end of the aggregating amoebae is densely set with pseudopodia (Sequence 9) which are in a laminar arrangement typical for D. minutum. This laminar arrangement is particularly noticeable when the amoebae are surrounded by an abundance of fluid. What appears as a pointed pseudopodium in Sequence 10 is usually an optical section through a lamella of ectoplasm, several of which are arranged in a cone shape around the leading end.

3. Formation of cell streams from aggregation centres

In the simplest case a sporophore develops from a 'cone'<sup>1</sup> which

<sup>1</sup>According to Arndt (1) cones are defined as conical bodies projecting into the air and represent an intermediate stage in the development of Dictyostelium between the unorganised centre and the completed sporophore (see Scientific Film C 876, the development of Dictyostelium).

is formed directly from the aggregation centre. However, a centre can also disintegrate completely into migrating, stream-like groups of amoebae. These groups either participate in further development by making contact with other centres or they form their own cones. Here the cone usually develops from a round group of cells formed by the rolling up of the leading end of the strand. An example of this is shown in Sequence 15.

Both variations of development - cone formation direct from the centre or following stream formation - can occur in the same preparation. Sequence 11 shows that sporophores emerge directly from the early centres, while centres founded later disintegrate completely into streams (Fig. 4).

The ability of emigrating amoebae to become attached to each other is an indication of the functional change that these cells have undergone during their stay in the centre (3). Morphological changes have taken place simultaneously: linked cells moving away from a centre are smaller than free-moving amoebae (Sequence 12) and only they contain numerous metachromatic granules (3), which show up as intense black in phase contrast (Sequence 14).

#### 4. Induction of centres

Two strains of *D. minutum*, M 47-1 and M 71-2, isolated from different sources, were used for the observations in this film. M 47-1 is characterised by a tendency to group formation of aggregation centres. In M 71-2 this tendency, if actually present, is very weak. In M 47-1 individual centres are formed spontaneously and generate a chemotactic reaction. Initially, all reacting amoebae migrate towards

these "primary centres", but other amoebae are subsequently attracted by new centres which are formed nearby. These "secondary centres", like the primary centres, are usually formed by single amoebae. However, they can also be formed by groups of amoebae, none of which can be singled out as the founder cell (Sequence 16, Fig.6). In all the instances observed, the secondary centres were founded by amoebae that had previously shown a chemotactic response (Sequence 15, Fig.5). The grouping of the secondary centres around a primary centre, first in the immediate vicinity of the primary centre and then later further away on the periphery, indicates that the primary centre has an inductive influence on their formation (3).

#### Materials and Recording Technique

The two strains of D. minutum used in the making of the film were clonal cultures from strains collected near Freiburg i.Br. M 71-2 was isolated from a soil sample collected from the Schönberg and M 47-1 from the Old Rhine valley near Breisach. D. minutum was cultivated together with Escherichia coli B/2 or a soil bacterium, strain E 47-4, that was isolated with M 47-1, on glucose-peptone (GP) agar (2% Difco-Bacto-Agar in m/60 phosphate after Sørensen pH 6.0; 0.005-0.05% supplement of glucose and peptone each). During the filming the amoebae moved freely on the exposed surface of the agar. A cover slip was used only for Sequences 10 and 14.

The film was recorded with an Askania-Z camera at low magnification with oblique illumination and under phase-contrast at high magnifications. Illumination was only used during exposure of the film when a green filter was employed.

The magnifications given in the text have been converted for 16 mm film.

Description of the Film<sup>1</sup>Formation of aggregation centres from single cells2-8 frames/min

1. Multiplication phase and transition to the aggregation phase  
 The sequence shows a mass of bacteria into which amoebae are moving from the bottom of the picture. Numerous cell divisions can be observed; while they are occurring the amoebae stop moving forwards. At the end of the multiplication phase the amoebae congregate to form a wall which marks the area free of bacteria. When the multiplication phase has come to an end the speed of locomotion of the amoebae increases.

Magnification x 8.5, exposure 2 frames/min. actual duration of the sequence 12 hr., oblique illumination, strain M 47-1, bacterium E 47-4, substrate GP-agar 0.02%.

2. Survey of aggregation and cone formation  
 The sequence begins at the end of the multiplication phase. The acceleration of movement following consumption of the bacteria can again be recognised, although the formation of the wall is not as regular as in the previous film sequence. Four aggregation centres are seen to develop. Amoebae move towards the centres. Occasionally they accumulate in front of the centres and form a dense single layer of cells before they are incorporated into the centres. At points where the fields of attraction of several centres overlap the amoebae are disorientated.

Groups of amoebae move out from the centre in the middle of the field

<sup>1</sup>The headings correspond with the subtitles in the film.

and then migrate in stream formation to the main centre. The centres in the middle and to the right of the picture produce 4 and 3 cones respectively. These develop into sporophores directly or after a short period of migration. The two centres in the left half of the field also develop cones, after some of the amoebae have emigrated from the centres.

Magnification x 8.5, exposure 2 frames/min. actual duration of sequence 17 hr., oblique illumination, strain M 47-1, bacterium E 47-4, substrate GP-agar 0.02%.

### 3. Aggregation

At the start of the sequence there are two centres in the field. They are located at the edge of the bacterial mass. While amoebae from the bacteria-free area migrate towards the centre, amoebae among the bacteria show no response. When the wall of amoebae has moved beyond the right-hand edge of the field, a third and later a fourth centre are founded. Here a single amoeba is clearly seen to cease moving before forming the fourth centre.

Magnification x 5.5, exposure 4 frames/min, actual duration of sequence 7 hr., oblique illumination, strain M 47-1, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar.

### 4. Formation of an aggregation centre (Fig. 1)

The arrow indicates the point at which the centre will form. A cell ceases to move and becomes round. Further cells cluster around this founder cell. Immediately after one cell has attached itself free amoebae begin to migrate towards the centre. The founder cell remains visible for some time within the centre.



Magnification x 30, exposure 4 frames/min, actual duration of sequence  $1\frac{1}{2}$  hr, phase contrast illumination, strain M 71-2, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

5. Formation of an aggregation centre (Fig.2)

The arrow indicates the point at which the centre will form. From the start of the sequence one cell shows only slight changes in position. Amoebae begin to cluster around it without this cell becoming completely round. Other amoebae can be seen migrating towards the centre immediately afterwards.

Magnification x 23, exposure 4 frames/min, by duplicating each frame during printing the rate of exposure is increased to 8 frames/min, actual duration of sequence 30 min, phase contrast illumination, strain M 71-2, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

6. Directed migration of amoebae towards a newly formed centre

Magnification x 23, exposure 7 frames/min, actual duration of sequence  $1\frac{1}{2}$  hr, phase contrast illumination, strain M 71-2, bacterium E.coli B/2, substrate GP-agar 0.02%

7. Migration of amoebae towards a centre (Fig. 3)

The centre in the middle of the field is formed by four cells that are firmly attached to one another but do not form a compact mass. During the sequence 10 amoebae migrate towards this centre.

Magnification x 23, exposure 7 frames/min, actual duration of sequence 45 min, phase contrast illumination, strain M 71-2, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

8. A newly formed centre increasing in size with the incorporation of migrating amoebae.

At the start of the sequence the centre is composed of five cells. A central cell, apparently the founder cell, is surrounded by three others. A fifth cell has become attached to the periphery.

Magnification x 23, exposure 7 frames/min, actual duration of sequence 45 min, phase contrast illumination, strain M 71-2, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

#### Migration in Shallow and Deep Liquid Preparations

##### 30 and 60 frames/min

9. Amoebae in a shallow preparation

The amoebae migrate on the surface of the agar towards a centre on the left-hand side of the field. Each amoeba has a fringe of pseudopodia on its leading edge, with the pulsating vacuole behind the nucleus.

Magnification x 55, exposure 30 frames/min, actual duration of sequence 30 min, phase contrast illumination, strain M 47-1, bacterium E. coli B/2, GP-agar 0.02%.

10. Amoebae in a deep preparation

Amoebae move through a layer of fluid between the surface of the agar and the cover slip. The pseudopodia are mainly directed towards the centre but here they are arranged in three dimensions, in contrast to the two-dimensional arrangement in the previous preparation. The migration of the amoebae is not as clearly directed as in the previous sequence.

Magnification x 55, exposure 60 frames/min, actual duration of sequence 16 min, phase contrast illumination, strain M 47-1, bacterium E 47-4, substrate GP-agar 0.05%.

Formation of Cell Streams from Aggregation Centres

2-30 frames/min

11. Survey of development from the multiplication phase to the formation of sporophores (Fig.4)

The sequence begins shortly before the end of the multiplication phase. As in sequences 1 and 2, there is an acceleration in locomotion after consumption of the bacteria. This occurs here simultaneously across the whole field. Eight centres are then formed in the field of view. Their fields of attraction overlap and cause disorientation of amoebae. Aggregating amoebae pile up temporarily around the first centre.

Sporophores form directly from centres 1 to 5. These centres do not develop cell streams, apart from centres 3 and 5 which exchange two small streams. Streams migrate into centres 1 and 5. Centres 6, 7 and 8 disintegrate completely into cell streams. All the streams from centre 6 leave the picture. The three streams from centre 8 and one stream from centre 7 each form a sporophore.

The centres and streams leave impressions in the agar, even though the preparation was placed with the exposed surface of the agar facing downwards. These impressions acted as traps for single amoebae. This is shown particularly well by the impression left by centre 8.

Magnification x 8.5, exposure 2 frames/min, actual duration of sequence  $20\frac{1}{2}$  hr, oblique illumination, strain M 47-1, bacterium E 47-4, substrate GP agar 0.02%

12. Aggregation of individual amoebae and linked amoebae emigrating from a centre

Streams of amoebae move into the field of view from the top edge. Three of the streams close up to form circles. The smallest of these circular groups is formed by three amoebae and migrates to the left half of the field. Individual amoebae, not yet incorporated into a centre, move in from the bottom of the picture. They are larger than the linked amoebae and do not join up with them.

Magnification x 55, exposure 30 frames/min, actual duration of sequence 1 hr, phase contrast illumination, strain M 47-1, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

13. Migrating streams of amoebae

The streams originated from a centre on the left of the picture where its former position is indicated by residual debris. The amoebae migrate as a closely packed stream towards the right into a new centre.

Magnification x 20, exposure 8 frames/min, actual duration of sequence  $1\frac{1}{2}$  hr, phase contrast illumination, strain M 71-2, bacterium E coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

## 14. Amoebae in stream formation

Within the closely packed amoebae the following features can be seen: the nucleus, which is large in relation to the volume of cytoplasm, the pulsating vacuole, and numerous granules, which appear black in the phase contrast illumination.

Magnification x120, exposure 30 frames/min, actual duration of sequence 13 min, phase contrast illumination, strain M 47-1, bacterium E 47-4, substrate GP-agar 0.05%. Filmed with a cover slip placed over the preparation.

Formation and Dissolution of Secondary Centres

2-8 frames/min

## 15. Survey of aggregation with the formation of secondary centres and subsequent stream formation (Fig.5)

At the start of the sequence there are two large and one small centre in the upper part of the field. Free amoebae migrate into these centres. This is followed by the development of a belt of new centres around the primary centres. This belt captures most of the amoebae. When there are no more free amoebae in the field, cell streams develop from both primary and secondary centres. These streams collect at the primary centres and at a new centre formed in the middle of the picture from one of the streams.

Magnification x 7, exposure 2 frames/min, actual duration of sequence 10 1/4 hr, oblique illumination, strain M 47-1, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.005%. The field of view was changed during this sequence.

## 16. Formation of secondary centres at a higher magnification (Fig.6)

The amoebae are migrating towards the left where two centres are to be found at the end of the field. Twelve further centres develop, and six of these continue to exist up to the end of the sequence. Centres 10 and 11 merge and others dissolve. The way in which an individual amoeba ceases to move before it becomes a founder cell is clearly seen in the formation of several of the centres. In this sequence the secondary centres disintegrate relatively soon, and almost all the amoebae emigrate as single cells. When centre 13 breaks up two cells remain joined together. Both divide to form a temporary chain of four cells.

Magnification x 20, exposure 8 frames/min, actual duration of sequence 4 hr, phase contrast illumination, strain M 47-1, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

## 17. Survey of aggregation with formation and subsequent dissolution of secondary centres

At the start of the sequence a primary and several secondary centres can be observed. Further centres are formed by amoebae migrating in from the right. Later, cells from the proximal secondary centres move into the primary centre as streams. Amoebae migrate generally as single cells from the distal centres, but some of them link up later on to form streams.

Magnification x 6, exposure 4 frames/min, actual duration of sequence 10½ hr, oblique illumination, strain M 47-1, bacterium E. coli B/2, substrate GP-agar 0.02%.

References

- (1) ARNDT, A., Rhizopodenstudien III. Untersuchungen über *Dictyostelium mucoroides* BREFELD. Wilhelm Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organ. 136 (1937), 681-747.
- (2) GERISCH, G., Eine für *Dictyostelium* ungewöhnliche Aggregationsweise. Naturwiss. 50 (1963), 160.
- (3) GERISCH, G., Die Bildung des Zellverbandes bei *Dictyostelium minutum*. I. Übersicht über die Aggregation und den Funktionswechsel der Zellen. Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organ. (1964).
- (4) RAPER, K.B., *Dictyostelium minutum*, a second new species of slime mold from decaying forest leaves. Mycologia 33 (1941), 633-649.
- (5) SHAFFER, B.M., The cells founding aggregation centres in the slime mould *Polysphondylium violaceum*. J. Exp. Biol. 38 (1961), 833-849.

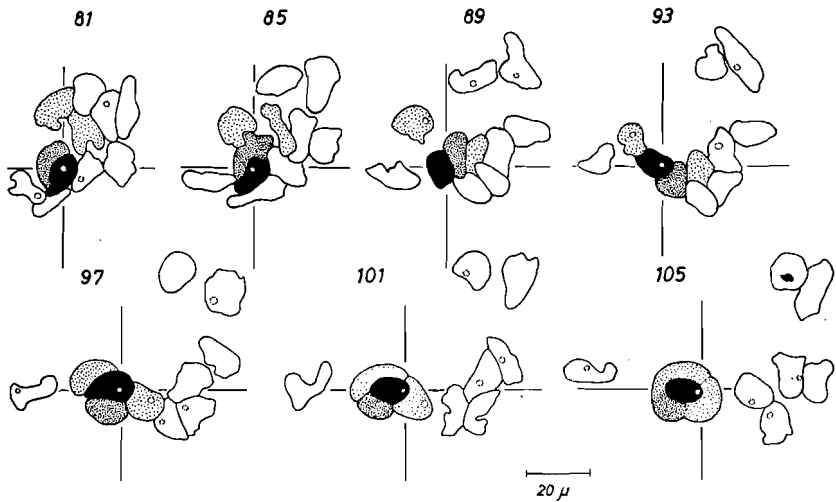


Fig. 1. Formation of an aggregation centre (Sequence 4). Illustrations reproduced at 1 min. intervals. Key: founder cell, black; cell 2, densely dotted; cells 3 and 4, lightly dotted. The illustrations are numbered in sequence as recorded in the film. A grid is used as point of reference.



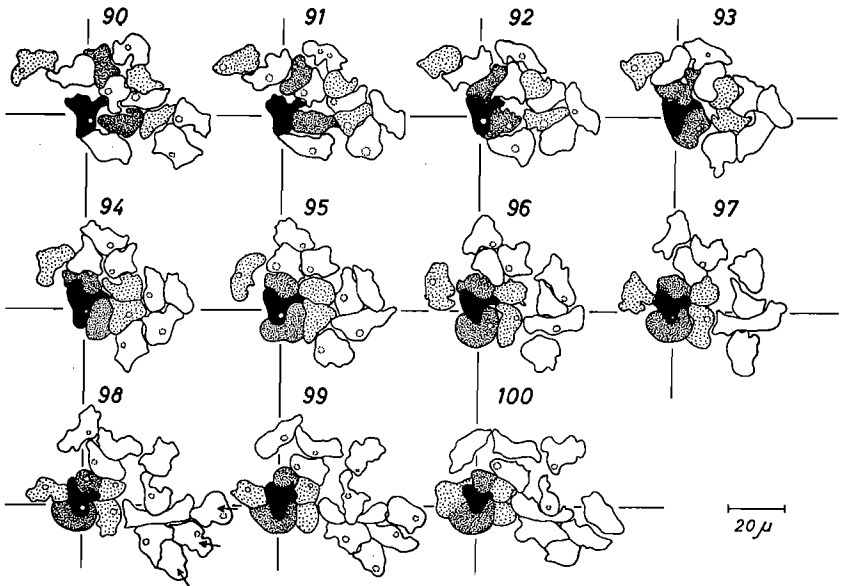


Fig. 2. Formation of an aggregation centre (Sequence 5). Illustrations reproduced at 15 sec. intervals. Key: founder cell, black; cells 2 and 3, densely dotted; cells 4-6, lightly dotted. The number sequence does not take into account the subsequent duplication of frames during printing.

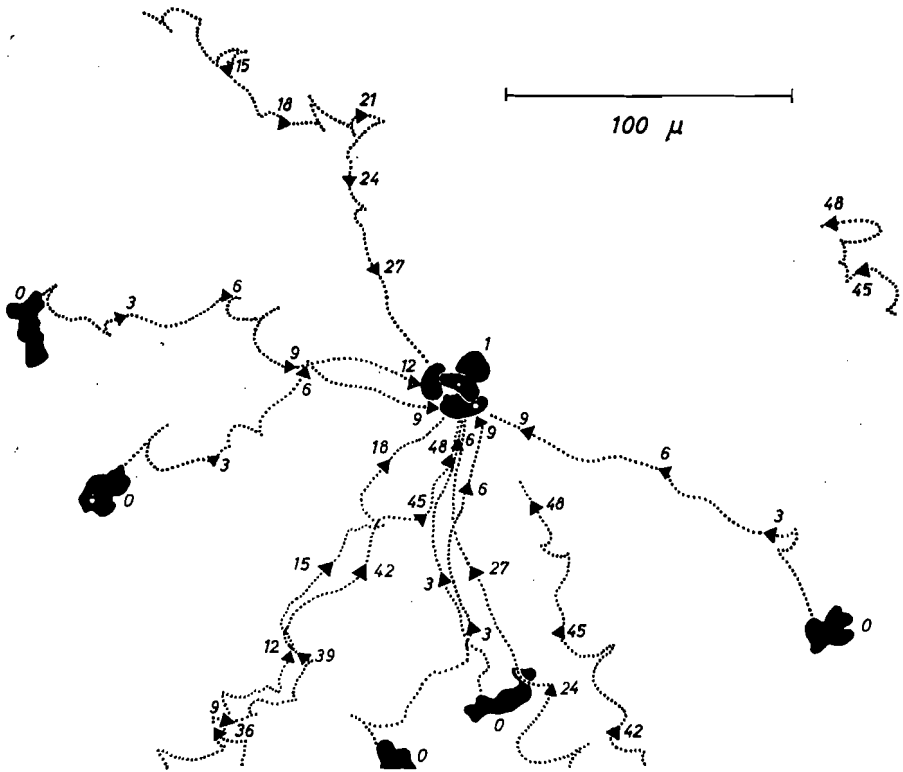


Fig. 3. Migration routes taken by cells showing chemotactic reaction (Sequence 7). The arrows indicate the position of the leading edge of amoebae at 3 min.intervals. The numbers indicate the time in minutes since the start of the sequence. From a distance of approximately  $50 \mu\text{m}$  the reacting amoebae can be seen to move in straight lines towards the centre. Further away the migration routes zig-zag where, as can be seen in the film, one pseudopodium takes over from another.

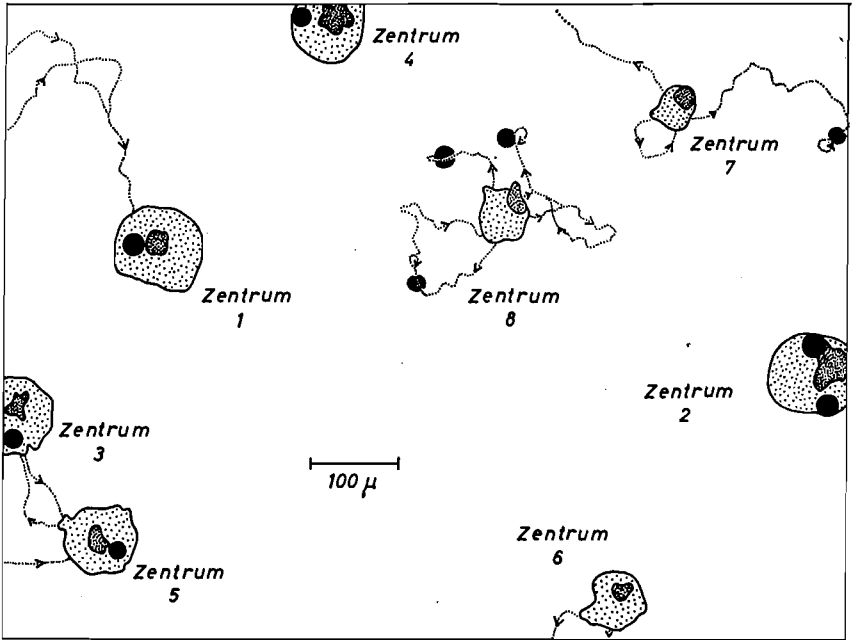


Fig. 4. Formation of centres, streams and sporophores (Sequence 11).

Key: centres immediately after foundation, densely dotted; full extent of centres, lightly dotted; base of sporophores, black. Arrows on dotted lines indicate the direction and routes of cell streams moving towards or away from centres.

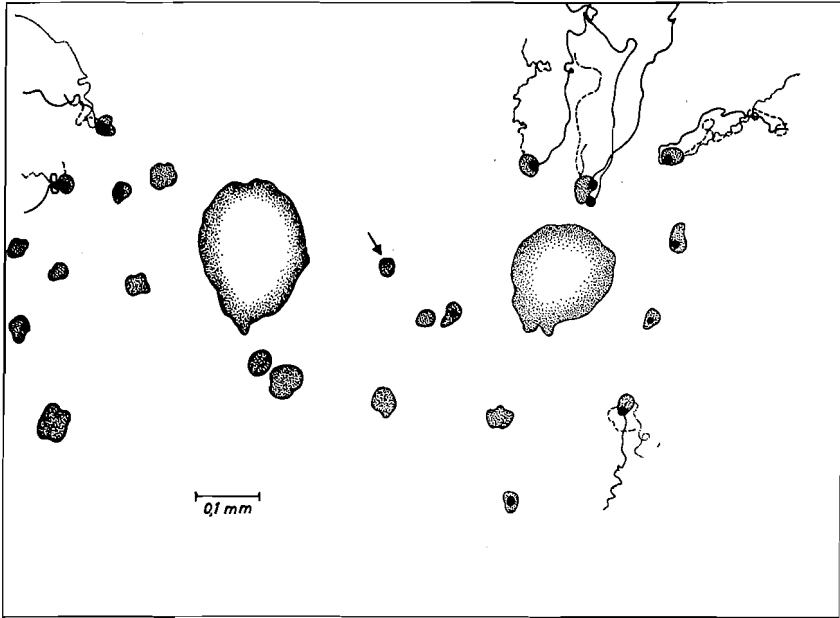


Fig. 5. Formation of secondary centres (Sequence 15). The outlines of the two large primary centres seen at the start of the sequence are shown, as well as the secondary centres immediately after their formation. Black spots indicate the points at which founder cell amoebae stopped moving prior to centre formation. The routes taken by founder cells (solid lines), second cells (broken lines) and third cells (dotted lines) are documented. One of the centres appears to have originated from two adjacent founder cells. The arrow in the middle of the field indicates a centre into which only eight amoebae migrate; this is the smallest centre observed with the ability to form cell streams.

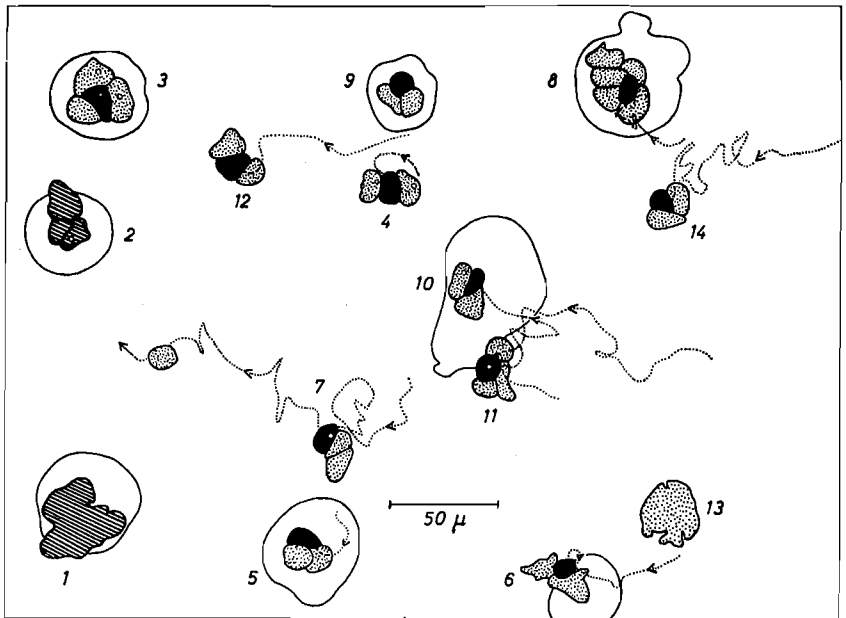


Fig. 6. Formation of secondary centres (Sequence 16). The primary centre lies on the left, outside the field of view. Key: centres present at the start of the sequence, cross hatched; newly formed centres, black and dotted. The centres are numbered in chronological order. The solid outlines indicate the centres remaining at the end of the sequence. The secondary centres recorded here cannot be traced back to individual founder cells with the same certainty as the primary centres shown in Sequences 4 and 5. The amoebae that may be regarded as founder cells, since they stopped moving before the centres were founded, are shown in black, and their migration routes are shown as dotted lines. The amoeba that migrates further after the dissolution of centre 7 is presumably the founder cell; it interrupts its journey at the point as indicated.

Information on the film

The film was made in 1963 by the Institute for Scientific Films, Göttingen (Director: Dr.-Ing. G. Wolf), with the support of the German Research Association.

Producer:	Dr. H. Kuczka
Photographer:	H.H. Heunert
Scientific Director:	Dr. G. Gerisch
Zoological Institute, University of Freiburg	
(Director:	Prof. Dr. B. Hassenstein)

The film is a research document and was issued for use in research and higher education.

16 mm, silent, black and white, 160 m., 15 min., 24 f.p.s.

Summary of the film

The film shows the genesis and function of aggregation centres of Dictyostelium minutum: (1) The formation of centres; (2) directed migration of individual amoebae towards the centres; (3) the formation of cell streams by amoebae previously incorporated in a centre; and (4) the formation of secondary centres under the influence of a primary centre.