

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

E 630/1963

Dictyostelium purpureum (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): 148 m
Vorföhrdauer: 13½ Min. — Vorföhrgeschwindigkeit: 24 B/s

Der Film zeigt die Gestaltungsbewegungen, welche nach Aufhören der Nahrungszufuhr in Kulturen von *Dictyostelium purpureum* ablaufen. Er beginnt mit der Sammlung der Amöben (Aggregation), zeigt dann die Wanderung des Konus auf dem Substrat (Migration) und endet mit der Ausformung des Sporenträgers (Kulmination).

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 purpureum (Acrasina)

Aggregation und Bildung des Sporophors

G. GERISCH, Freiburg i. Br.

Allgemeine Vorbemerkungen

Systematische Stellung von Dictyostelium purpureum

Die Art gehört zu einer Gruppe von Mikroorganismen, die als „zelluläre Schleimpilze“ oder „kollektive Amöben“ [10] bezeichnet und in der Ordnung *Acrasina* zusammengefaßt werden. Bei dieser handelt es sich um eine anscheinend artenarme Formenreihe — etwa 20 Arten sind beschrieben —, die wohl von solitären Amöben abzuleiten ist [9]. Im Gegensatz zu diesen können die amöboiden Einzelzellen der *Acrasina* gewebeartige Verbände bilden, in denen sich die Zellen bei den höchstentwickelten Formen in zwei Typen — Stielzellen und Sporen — differenzieren. Zu diesen Formen, die alle der Familie *Dictyostelidae* angehören, zählt auch *Dictyostelium purpureum* [6], das sich nur durch ein für den Entwicklungsgang unwesentliches Merkmal, die Färbung der Sporenköpfchen, von der häufigsten und zuerst entdeckten Art *D. mucoroides* [4] unterscheidet. Es sei besonders darauf hingewiesen, daß *D. mucoroides* — und das gleiche dürfte für das seltenere *D. purpureum* gelten — eine sehr variable Art ist, bei der von verschiedenen Standorten stammende Linien oft Unterschiede in der Ausgestaltung des Entwicklungsganges aufweisen. Der Film zeigt lediglich die Entwicklung einer dieser Linien.

Je nachdem ob die *Acrasina* im Rahmen der botanischen oder der zoologischen Systematik besprochen werden, wechselt die Endung der systematischen Bezeichnungen und je nach Auffassung des Autors auch der systematische Rang. Vorschläge zur systematischen Gliederung finden sich bei OLIVE [6], DOFLEIN-REICHENOW [5], PAVILLARD [7] und BONNER [1].

Entwicklungsgang

Die aus den Sporen von *D. purpureum* geschlüpften Amöben vermehren sich als Einzelzellen, solange ihnen Futterbakterien zur Verfügung stehen¹⁾. Nach dem Verbrauch der Bakterien beginnt der zweite, hier im Film gezeigte Entwicklungsabschnitt, die mit der Bildung eines Sporenträgers abschließende morphogenetische Phase. Zuerst wandern die Amöben zu Sammelzentren, wobei sie sich zu Zellsträngen verbinden. Noch während der Aggregation organisiert sich die Amöbenmasse im Zentrum, zuerst gegen den Luftraum hin ein Capitulum abgliedernd, das später die Spitze eines heteropolar gebauten Körpers, des Konus, bildet. In der Längsachse dieses Konus differenziert sich eine Säule von Stielzellen aus, die in eine zellulosehaltige Scheide eingeschlossen ist. Der folgende Entwicklungsabschnitt, die Migration, ist nicht obligatorisch. Der Konus kann sich längs auf das Substrat legen und mit seiner Spitze voran wandern (er wird dann auch als „migrierendes Pseudoplasmodium“ bezeichnet), wobei er positiv phototaktisch reagiert [8]. Während der Migration wird der Stiel an der Spitze des Konus fortlaufend verlängert, wobei eine je nach der zurückgelegten Wegstrecke verschieden große Anzahl von Zellen verlorengeht. Bei besonders ausgedehnter Migration, die nach BONNER u. SHAW [3] durch hohe relative Luftfeuchtigkeit erzwungen werden kann, bleiben nur wenige Zellen für den Aufbau des Sporenträgers übrig. Während der Migration lassen sich bereits die praesumptiven Stielzellen und Sporen mit cytochemischen [2] und immunochemischen [12] Methoden unterscheiden. Als Endabschnitt der Morphogenese folgt die Kulmination, worunter die Gesamtheit der zur definitiven Ausformung des Sporenträgers führenden Gestaltungsvorgänge verstanden wird. Die Spitze des Konus hebt sich steil vom Substrat ab, und die den Stiel außen umgebende Zellmasse löst sich von der Unterlage, während der Stiel sich weiter verlängert. Danach differenzieren sich die Zellen im basalen Teil der äußeren Zellmasse zu Sporen aus, während diejenigen im apikalen Teil noch als Baumaterial für den Stiel dienen. Im Gegensatz zu den länglichen Sporen, deren Plasma kondensiert ist, sind die Stielzellen von großen Vakuolen erfüllt.

Die hier gegebene Darstellung des Entwicklungsganges berücksichtigt nur den Regelfall, wie er bei Kultur auf Nähragarplatten mit geeigneten Futterbakterien beobachtet wird. Über experimentelle Abänderungen muß die Spezialliteratur eingesehen werden; sie ist von BONNER [1] und SHAFFER [11] referiert worden.

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

Methoden

Für die Filmaufnahmen wurde der *Dictyostelium-purpureum*-Stamm 3645 herangezogen, den uns Herr Prof. Dr. K. B. RAPER, Madison Wisconsin/USA, in Form einer lyophilisierten Kultur zur Verfügung gestellt hat. Der Stamm war vor den Filmaufnahmen drei bis sieben Monate lang auf Glucose-Pepton-Agar mit *Escherichia coli* B/2 als Futterbakterium kultiviert worden. Für die Filmaufnahmen selbst wurden die Amöben ebenfalls auf Glucose-Pepton-Agar (Glucose- und Peptonkonzentration je 0,02 bis 0,2%) mit *E. coli* B/2 bei 23° C gezüchtet. Für Aufnahme 11 diente ausnahmsweise ein Erdbakterium (Stamm E 47—4) als Futter. Das Medium wurde mit m/60 Phosphat auf PH = 6,0 gepuffert.

Bei Verwendung schwacher Objektive konnten die Kulturen durch die Agarschicht hindurch unmittelbar aufgenommen werden. Da sich die Amöben dabei in der flachen Flüssigkeitsschicht zwischen Agaroberfläche und Luftraum befanden, werden diese Präparate im folgenden als Agar-Oberflächen-Präparate bezeichnet. Die Wiedergabe des Oberflächenreliefs in diesen Präparaten gelang durch die Anwendung von Schräglicht, das durch Dezentrierung des Kondensors erzeugt wurde.

Für Phasenkontrastaufnahmen bei stärkerer Vergrößerung mußte die Amöbenschicht mit einem Deckglas abgedeckt werden. Solche Präparate werden als Agar-Deckglas-Präparate gekennzeichnet. In diesen Präparaten verläuft die Aggregation nahezu ungestört, wenn der Agarblock so klein gehalten wird, daß durch seine offenen Seitenflächen hindurch genügend Sauerstoff bis zur Amöbenschicht 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⁾

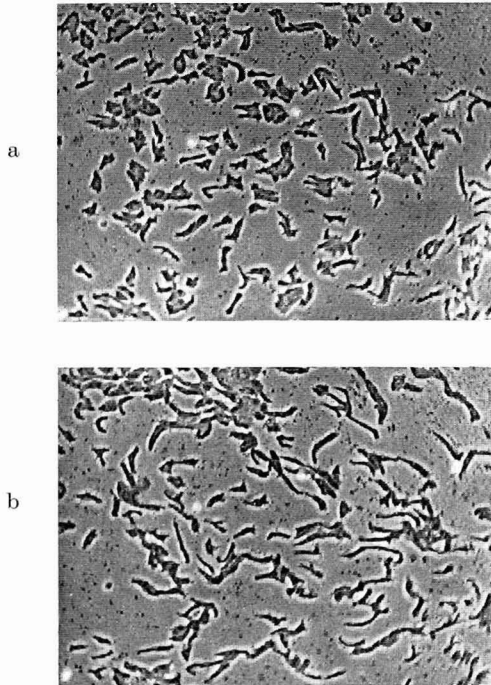
2 bis 8 B/Min.

1. Übersicht über den Aggregationsablauf

Die Aufnahme beginnt mit der Bildung von Aggregationszentren, um die in radialer Anordnung Amöbenstränge entstehen. Unter der Konkurrenz benachbarter Zentren löst sich später ein Teil der ursprünglich vorhandenen wieder auf, und die in ihnen enthaltenen Amöben wandern in die dominierenden Zentren über. In der rechten Bildhälfte entwickelt

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

sich ein großflächiges Strangsystem, das sich besonders nach links unten durch Angliederung noch freier Amöben ausdehnt. Hier ist besonders klar zu erkennen, daß sich die freien Amöben zu den nächstliegenden Strängen hin und nicht direkt auf das Aggregationszentrum zu orientieren. Im Aggregationszentrum entwickelt sich — in der Aufsicht nicht gut zu erkennen — ein Konus. Nach dem Beginn der Kulmination bilden die aggregierenden Amöben um den Stiel des jungen Sporenträgers



Einzelbilder aus einem Aggregationsablauf mit ausgeprägter Aktivitätsrhythmik der Amöben

- a: Die meisten Zellen sind verkürzt, desorientiert und nicht deutlich zu Ketten aneinandergereiht
 b: Die Zellen sind gestreckt und zu Ketten verbunden, die auf ein außerhalb des Bildfeldes liegendes Zentrum gerichtet sind

einen Ring, der sich allmählich — während die Amöben im Kreise wandern — um die Stielbasis zusammenzieht.

Vergrößerung $2\frac{1}{2}$ fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 11 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

2. Rhythmische Erregungsbildung in Aggregationszentren

Auch hier wird ein Teil der ursprünglich vorhandenen Zentren wieder aufgelöst. Die Strangbildung ist in der Bildmitte wenig ausgeprägt, doch zeichnen sich die Zentren durch intensive Tätigkeit aus. Sie senden periodisch Impulse aus, die zentrifugal über den Amöbenrasen hinwegziehende Erregungswellen auslösen.

Vergrößerung 1,4fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 5 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

3. Aggregationsbeginn mit rhythmischer Erregung der Amöben

Erregungsphasen treten hier bereits auf, bevor sich Aggregationszentren als Ursprungsstellen von Erregungswellen abzeichnen. Später entstehen Zentren. Doch wandert ein großer Teil der Amöben im Strangverband nach rechts aus dem Bildfeld hinaus.

Vergrößerung 2,4fach, Aufnahme­frequenz 2 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 6½ h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

4. Entstehung eines Aggregate

Die Aggregation beginnt auch hier mit rhythmischer Aktivität der Amöben, ohne daß von Anfang an ein distinkter Ausgangspunkt für Erregungswellen erkennbar ist. Auch die Anordnung der Amöben zu Strängen beginnt vor der Ausgliederung eines Zentrums, das später unter rhythmischen Pulsationen die Aussendung von Erregungswellen übernimmt. Während die Amöben zu Strängen verbunden oder auch einzeln zu ihm wandern, wird im Zentrum der Konus gebildet. Die Aufnahme endet mit dem Beginn der Kulmination.

Vergrößerung 5,7fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 4½ h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

5. Verteilung aggregierender Amöben auf die Einflußgebiete zweier Zentren

Am oberen Bildrand befinden sich zwei Zentren, von denen Stränge in das Bildfeld hereinstrahlen. Die Einzelamöben verteilen sich auf beide Strangsysteme.

Vergrößerung 5,7fach, Aufnahme­frequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 4 h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

6. Gesamt­ablauf der Aggregation

Am Aufnahmebeginn ist das Zentrum eben abgegliedert und einige Amöben haben sich zu lockeren Strängen zusammengelagert. Anfangs pulsiert das Zentrum, wobei die Übertragung der Kontraktionen auf die

heranwandernden Amöben erkennbar ist. Auf diese Phase rhythmischer Erregungsbildung folgt ein gleichmäßiges Strömen der Amöben im Strangverband zum Zentrum. Währenddessen zeichnet sich im Zentrum das Kapitulum ab, welches zur Spitze des Konus wird. In der Endphase der Aggregation erhalten die an der Basis des Konus gestauten Amöben Anschluß an einen Strang und wandern mit diesem, eine Schleife bildend, zum Konus zurück. Die Einstellung endet mit der Kulmination, von der hier in der Aufsicht keine Einzelheiten erkennbar sind.

Vergrößerung 5,7fach, Aufnahme­frequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 6 h, Schräglichtaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat.

15 und 30 B/Min.

7. Rhythmische Aktivität der Zellen

Diese Aufnahme zeigt bei starker Vergrößerung ein ähnliches Geschehen wie die Aufnahmen 2 und 3. Unter dem Einfluß eines rechts unten außerhalb des Bildfeldes liegenden Zentrums ändern die Amöben periodisch ihr Verhalten: 1. Phase: Streckung der Amöben, Verbindung zu Zellketten und gerichtetes Wandern zum Zentrum. 2. Phase: Verkürzung der Amöben, Zerfall der Zellketten durch Lösung eines Teiles der interzellulären Bindungen, keine gerichteten Bewegungen, aber lebhaftes Pseudopodienbildung nach allen Richtungen.

Vergrößerung 30fach, Aufnahme­frequenz 15 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs etwa 35 Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

8. Einordnung von Amöben in den Strangverband

Als Einzelzellen sind die Amöben fast immer ungestreckt, im Verband dagegen in der Regel gestreckt. Wie in der vorigen Aufnahme ändern sie periodisch ihr Verhalten.

Vergrößerung 40fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 20 Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

9. Angliederung von Amöben an das Ende eines Stranges

Im Bildfeld befindet sich das Ende eines Stranges, dessen Amöben im gestreckten Zustand mit gleichmäßiger Geschwindigkeit zu einem links außerhalb des Bildfeldes liegenden Zentrum wandern. Die Einzelamöben bleiben bis kurz vor ihrem Anschluß an den Strang ungestreckt.

Vergrößerung 30fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 25 Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

10. Umorientierung aggregierender Amöben

Anfangs wandern die Amöben im Strangverband nach links. Dann macht sich der Einfluß eines rechts oben außerhalb des Bildfeldes befindlichen Zentrums geltend. Im rechten oberen Teil des Bildfeldes zerfällt der Strangverband, und die Amöben ändern ihre Bewegungsrichtung. Die zahlreichen unbeweglichen Amöben sind vermutlich beim Auflegen des Deckglases geschädigt worden.

Vergrößerung 30fach, Aufnahme­frequenz 15 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 1 h, Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat.

11. Angliederung von Amöben an das Ende eines Stranges und Wandern im Strangverband

Im Strangverband wandern die Amöben mit gleichmäßiger Geschwindigkeit zu einem links außerhalb des Bildfeldes befindlichen Zentrum. Die in den Strang sich einordnenden Einzelamöben strecken sich, kurz bevor sie den Strang berühren.

Vergrößerung 50fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 30 Min., Phasenkontrastaufnahme, Agar-Deckglas-Präparat. Während der Aufnahme wurde das Bildfeld geändert.

Migration

8 und 30 B/Min.

12. Ein migrierender Konus

Der Konus hat sich längs auf das Substrat gelegt und migriert mit seiner Spitze voran, wobei sich die Spitze abwechselnd auf das Substrat senkt und wieder hebt. Während der Migration wird ein Stiel gebildet, der auf dem Substrat entlang des Migrationsweges liegenbleibt und nach vorn bis zur Spitze des Konus reicht. Auch innerhalb des Konus ist der aus vakuolisierten Zellen bestehende Stiel zu erkennen. Zerstreut im Bildfeld liegende, noch nicht aggregierte Einzelamöben wandern gerichtet auf den Konus zu. Gegen Ende der Aufnahme beginnt der Konus sich abzurunden — ein Zeichen für das Ende der Migrationsphase und die Vorbereitung der Kulmination.

Vergrößerung 8,5fach, Aufnahme­frequenz 30 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 30 Min., Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat in Aufsicht.

13. Ein Konus migriert über einen im Bildfeld liegenden Stiel

Von einem bereits vorübergewanderten Konus liegt der Stiel im Bildfeld. Beim Überkriechen dieses Stieles wird von einem zweiten Konus ein Teil seiner Amöbenmasse abgeschoren. Diese wird unabhängig und wandert allein nach rechts oben, wo sich anscheinend ein Zentrum

außerhalb des Bildfeldes befindet. Andere Amöben wandern einzeln oder im Verband kurzer Stränge gerichtet auf den im Bildfeld befindlichen Konus zu. Am Schluß der Aufnahme rundet sich der Konus vollständig ab und beginnt mit der Kulmination.

Vergrößerung 5,7fach, Aufnahmefrequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 1 h, 40 Min., Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat in Aufsicht.

Kulmination

(Seitenansicht)

4 und 8 B/Min.

14. Übergang von der Migration zur Kulmination

Ein längs auf der Substratoberfläche liegender Konus hebt sich, mit der Spitze beginnend, von der Unterlage ab, dabei sich umwendend, bis nur noch die Basis Kontakt mit dem Substrat hat. Dann trennt sich die Zellmasse außerhalb des Stieles ganz vom Substrat und folgt der Stielverlängerung. In ihrem Inneren ist der an der Spitze sich verlängernde Stiel S-förmig durchgebogen.

Vergrößerung 14fach, Aufnahmefrequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs etwa 2 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat in Seitenansicht.

15. Kulmination

Während der Stiel sich weiter verlängert, differenzieren sich die Sprossen. Die frei im Schleim eingebettete Sporenmasse rundet sich dann zu einem Köpfchen ab, das zunächst noch vom Stielende und den praesumptiven Stielzellen überragt wird.

Vergrößerung 20fach, Aufnahmefrequenz 8 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs etwa 2 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat in Seitenansicht.

16. Konusbildung und Kulmination

Aus den aggregierenden Amöben, die man hier von der Seite nur undeutlich zum Zentrum wandern sieht, bildet sich der heteropolar gebaute Konus. Nach seiner Fertigstellung senkt er sich auf das Substrat, beginnt aber nach lediglich angedeuteter Migration sogleich mit der Kulmination. Die Konusspitze hebt sich wieder, und die den Stiel umgebende Zellmasse löst sich vom Substrat ab.

Vergrößerung 8fach, Aufnahmefrequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs 10 h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat in Seitenansicht.

17. Endabschnitt der Kulmination

Die Aufnahme beginnt mit der Abrundung der Sporenmasse und endet mit dem Abschluß der Kulmination. Das Sporenköpfchen hat dann seine definitive Stellung an der Spitze des Stieles erhalten.

Vergrößerung 8fach, Aufnahmefrequenz 4 B/Min., wirkliche Dauer des Vorgangs $3\frac{1}{2}$ h, Hellfeldaufnahme, Agar-Oberflächen-Präparat in Seitenansicht.

Literatur

- [1] BONNER, J. T., *The Cellular Slime Molds*, Princeton, New Jersey. Princeton University Press, 1959 (enthält ausführliche Bibliographie).
- [2] 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.
- [3] BONNER, J. T. a. M. J. SHAW, The role of humidity in the differentiation of the cellular slime molds. *J. Cell. and Comp. Physiol.* **50** (1957), p. 145—154.
- [4] BREFELD, O., *Dictyostelium mucoroides*. Ein neuer Organismus aus der Verwandtschaft der Myxomyceten. *Abhandl. Senckenb. Naturf. Ges.* **7** (1869), S. 85—107.
- [5] DOPLEIN, -REICHENOW, *Lehrbuch der Protozoenkunde*. VEB-GUSTAV-FISCHER-Verlag. 6. Aufl., S. 725. Jena 1953.
- [6] OLIVE, E. W., Monograph of the Acrasinae. *Proc. Bost. Soc. Natural History* **30** (1902), p. 451—510.
- [7] PAVILLARD, J., *Ordre des Acrasiés*. In: *Traité de Zoologie*. Tome I, Fascicule II, p. 493, Paris 1953.
- [8] RAPER, K. B., Developmental patterns in simple slime molds. *Growth, Third Growth Symposium* **5** (1941), p. 41—76.
- [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 cells founding aggregation centres in the slime mould *Polysphondylium violaceum*. *J. Exp. Biol.* **38** (1961), p. 833—849.
- [11] SHAFFER, B. M., The Acrasina. *Advances in Morphogenesis* **2** (1962), p. 109—182.
- [12] TAKEUCHI, J., Immunochemical and immunohistochemical studies on the development of the cellular slime mold *Dictyostelium mucoroides*. *Develop. Biol.* **8** (1963), p. 1—26.