

Herrn Dr. R. Jarosch hochachtungsvoll überreicht
vom Verfasser

Heinrich Dill

Mikrokosmos

Sonderabdruck aus
Heft 4 April 1967

Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart

Wimpertiere im Silberpräparat

Ein „trockenes“ Verfahren zur Darstellung des Silberliniensystems

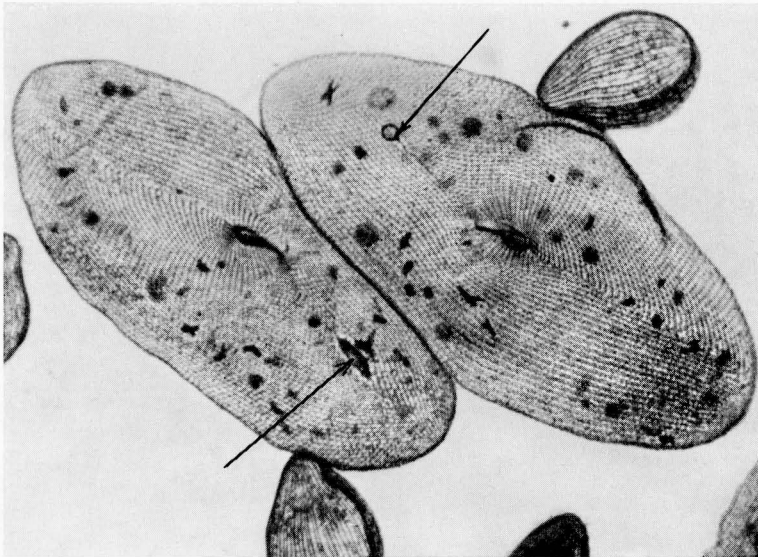
Das Kleinsche Silberliniensystem ist für systematische und physiologische Untersuchungen an Wimpertieren wichtig. Über die Bedeutung und die mikroskopische Darstellung dieses Systems hat sein Entdecker, Dr. Bruno M. Klein, im Mikrokosmos wiederholt berichtet.

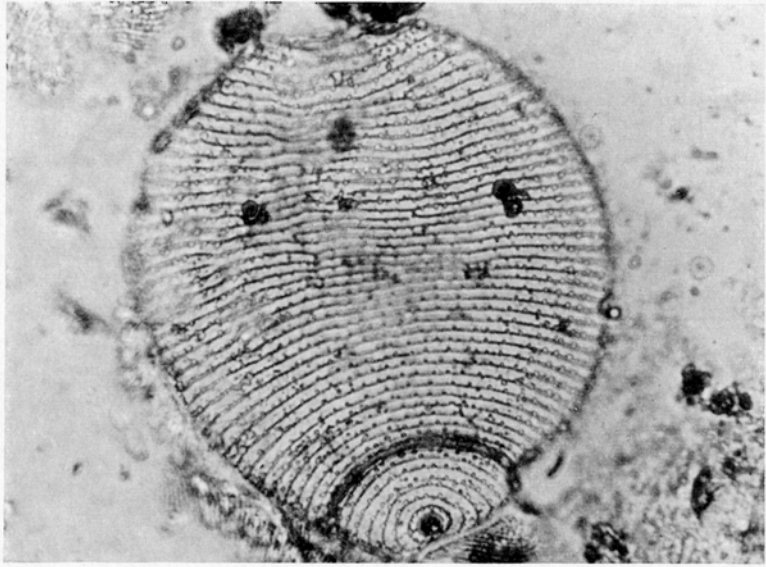
Mehrfach wurde versucht, die ursprüngliche Methode von Klein abzuändern; vor allem suchte man die von Klein angewandte „Entquellung“ durch eine der üblichen chemischen Fixierungen zu ersetzen. Gegen diese „nassen“ Verfahren hat Klein immer wieder Bedenken geäußert, da nach seinen Beobachtungen das Silberliniensystem nur bei der „trockenen“ Methode vollständig erhalten bleibt.

Bild 1: Silberliniensystem bei zwei Pantoffeltierchen (*Paramecium*), jeweils in der Mitte der Zellmund. Im Hinterteil erkennt man eine ovale Öffnung: den Zellafter, die Cytopyge (Pfeile). Beim linken Tier befindet sich die Cytopyge nach Ausstoßen des Kotballens in einer ersten Stufe der Regeneration. Das rechte Tier hat die Regeneration schon weitgehend vollendet — die Cytopyge ist fast verschwunden. Vergr. 500×

1926 entdeckte der Wiener BRUNO M. KLEIN ein Linien- und Gittersystem bei Wimpertieren, das er Silberlinien- oder neuroformatives System nannte. Zur Darstellung des Systems behandelte er die Tiere mit Silbernitrat, das anschließend durch Sonnenlicht reduziert wurde.

Später wurden ähnliche Verfahren von verschiedenen Autoren ausgearbeitet, darunter auch solche, die Fixierungsmittel verwenden — die sogenannten „nassen“ Methoden. Neuerdings beschrieb RUZICKA im MIKROKOSMOS eine Methode, bei der das Silber mit Hilfe eines Feinkornentwicklers ausgefällt wird. Sein ursprüngliches Verfahren zeigte bei mir allerdings gewisse Nachteile. So sind die Tiere oft von groben Silberniederschlägen bedeckt, und die Fibrillen zerfallen manchmal in eine körnige Struktur, da das Silber auf noch nicht ganz tote Tiere einwirkt. Ich habe daher die Methode abgeändert; sie ist dadurch komplizierter geworden, liefert aber mit Sicherheit ausgezeichnete Präparate. Die wesentliche Verbesserung liegt in der Verwendung





von Hühnereiweiß, das Form- und Strukturhaltung insbesondere des neuroformativen Systems in fast naturgetreuem Zustand gewährleistet.

An Substanzen sind erforderlich: 1% Silbernitratlösung, destilliertes Wasser, Hühnereiweiß, saures Fixierbad, 10% Natronlauge, Feinkornentwickler A (bestehend aus 20 g Borsäure, 20 g Borax, 10 g Hydrochinon, 200 g Natriumsulfit, 5 g Metol in der angegebenen Reihenfolge in 2 Liter warmem Wasser gelöst) und Feinkornentwickler B (käuflicher Para 10, der unverdünnt verwendet wird).

Die Entwickler werden folgendermaßen gemischt:

- I. 20 ccm Feinkornentwickler A (für die Differenzierung),
- II. 1 ccm 10% Natronlauge (für die Schwärzung),
- III. 1 ccm Feinkornentwickler B (für die Schwärzung).

Auf einige Besonderheiten des Entwicklungsgemisches sei aufmerksam gemacht. Setzen sich nach einigen Stunden Kristalle ab, so ist die Lösung für die Versilberung nicht verwendbar. Durch Erwärmen auf etwa 40°C können die Kristalle jedoch wieder gelöst werden, das Gemisch ist dann brauchbar. Je nach dem Mischungsverhältnis der Komponenten II und III mit I bekommt man stärker oder schwächer imprägnierte Präparate. Sollte es vorkommen, daß das System bei der Versilberung körnig zerfällt, so setzt man 1–2 Tropfen Natronlauge zu. Ist das System gut imprägniert, der Eiweißrand um den eingetrockneten Tropfen aber gelb, so fügt man dieselbe Menge der Komponente III hinzu. Erscheinen die Tiere gut versilbert, aber

Bild 2: Silberliniensystem eines Glockentierchens. Wie hier die Lebendbeobachtung zeigt, finden sich außer in der Mundregion keine Wimperapparate. Trotzdem erkennt man rudimentäre Basalkörner, die den kreisförmigen Meridianen aufsitzen. Der dunkle Pol, um den konzentrisch die Meridiane ziehen, ist der Stielansatz. Nahe beim Stielansatz ist ein ebenfalls rudimentärer Zilienkranz zu sehen. Vergr. 1350×

von nicht ausgefälltem Silber ganz oder teilweise bedeckt, so muß dem Gemisch noch etwa 5 ccm Feinkornentwickler A zugesetzt werden; die Imprägnierung wird dann wiederholt.

Voraussetzung für die Präparation ist ausreichendes Tiermaterial, das man leicht durch Aufgüsse erhält. Sehr bewährt haben sich Algeninfusionen: Eine Handvoll Algenwatten (*Spirogyra*, *Vaucheria*, *Zygnema* etc.) werden mit Standortwasser in Gläser von 200–500 ccm Inhalt gefüllt und an einem dunklen Ort aufgestellt. Innerhalb von 4 bis 8 Tagen hat sich eine dichte Kahmhaut gebildet, auf der es fast immer zu einer Massenvermehrung bestimmter Infusorienarten kommt.

Die Präparation

Der ganze Vorgang kann bis zur Entwicklung in gewöhnlichem Tageslicht oder künstlichem Licht ausgeführt werden.

Auf einem gut gereinigten Objektträger wird mit der Fingerkuppe eine nicht allzu dünne Schicht Hühnereiweiß aufgetragen und gleichmäßig verteilt. Die Infusorien werden nun vorsichtig auf der Eiweißschicht verteilt und bei einer Temperatur von mindestens 16°C eingetrocknet. Betrachtet man die Tierchen jetzt im Mikroskop, so stellt man fest, daß sie im Eiweiß

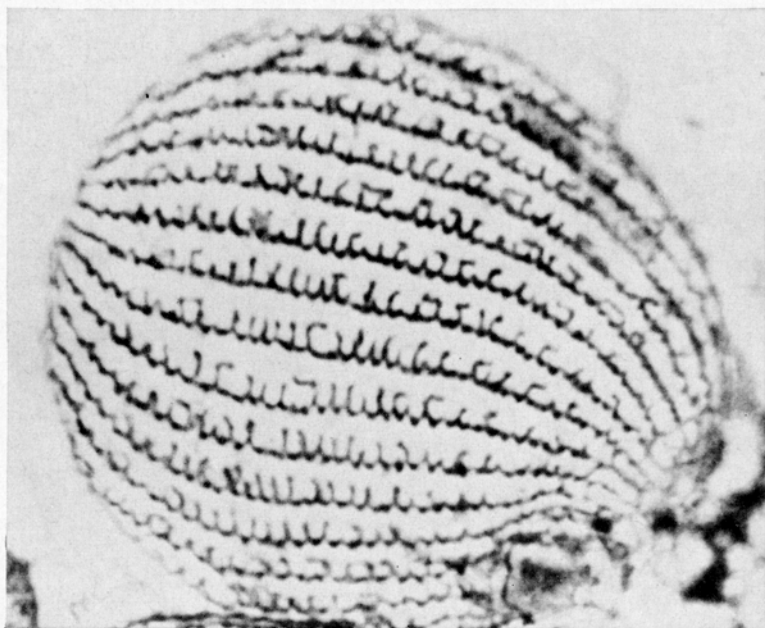
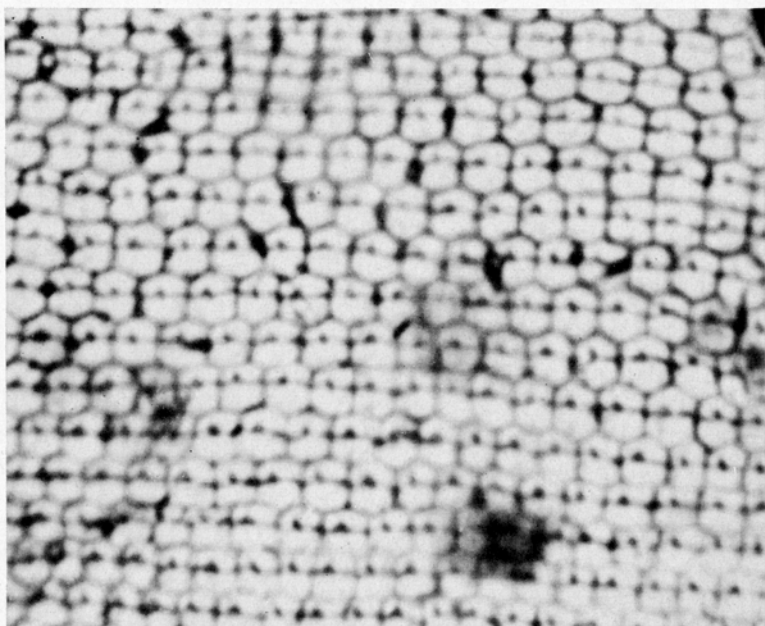


Bild 3: Das neuroformative System von *Paramaecium* in allen Einzelheiten. Die Basalfibrillen ziehen quer durch die Sechsecke. Jeweils in der Mitte der Sechsecke das Basalkorn. Diese Teile werden als „direktes System“ bezeichnet. Das „indirekte System“ umfaßt die Sechsecke, denen die Trichozysten und Gitterkörner angeschlossen sind. Wo die Basalfibrillen die Seiten der Sechsecke kreuzen, befinden sich die Trichozysten. Die Gitterkörner sind nur teilweise erhalten und be-

finden sich jeweils an der Stelle, wo drei Sechsecke zusammenstoßen. Vergr. 2700×

Bild 4: Neuroformatives System von *Glaucocystis pyriformis*. Von Pol zu Pol ziehen wieder die Basalfibrillen mit den in ihnen liegenden Basalkörnern. Die kleinen Ästchen, die von der Basalfibrille ausgehen, enthalten an ihren Enden die Protrichozysten — im Bild als Punkte zu sehen. Diese wurden zum Teil schon ausgestoßen.



eingebettet liegen und so die Entquellung ohne nennenswerte Formveränderung überstanden haben. Sie sollen sich reliefartig abheben. Ist der Tropfen völlig trocken, wird 1% Silbernitratlösung in ca. 2 mm hoher Schicht aufgetragen, nach 5 Minuten abgegossen und der Objektträger in destilliertem Wasser ca. 10 Sekunden gespült. Das Präparat wird nun abermals an der Luft getrocknet. Nach vollständiger Trocknung wird das Präparat in einem Abstand von etwa 3 cm für 30–60 Sekunden über eine 40-Watt-Glühbirne gehalten. Hierauf erfolgt die Überschichtung mit dem Entwicklergemisch. Man läßt den Entwickler 20 Sekunden einwirken und behandelt das Präparat anschließend 5 Minuten im Fixierbad. Nun wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und das Wasser innerhalb von 30 Minuten 1mal gewechselt. Nach der Wässerung wird das Präparat getrocknet und in neutralem Kanadabalsam eingeschlossen.

Die richtige Verwendung des Eiweißes ist sehr wichtig. Es wird 15–20 Stunden vor Gebrauch einem Hühnerei entnommen und unbedeckt in einem warmen Raum aufbewahrt. Es ist nun 2 bis 3 Tage verwendbar. Richtige Auftragsdicke ist entscheidend bei der Entquellung der Tiere. Nimmt man zu

Bild 5: Konjugierende Tiere von *Colpidium colpoda*. Das neuroformative System ist in der Verschmelzungszone verwachsen. Das System befindet sich im positiven Strukturzustand, d. h., das System ist ohne Zerfallerscheinungen erhalten. Das kreisrunde Loch beim rechten Tier ist der Ausgang der kontraktiven Vakuole. Dieser Ausgang ist eine bleibende Bildung, die, im Gegensatz zur Cytopyge, nicht regeneriert werden muß. Vergr. 1320×

wenig, so zerplatzen die Tiere. Nimmt man zu viel, so werden sie vom Eiweiß verdeckt, und die Versilberung fällt dann fast immer schlecht aus. Die Wirkung des Eiweißes ist darin zu sehen, daß die Tiere bei der Eintrocknung ein stützendes Medium umgibt, das eine gleichmäßige Wasserabgabe ermöglicht. Da Schmutzteichen nicht versilbert werden, ist die Reinheit der Präparate bemerkenswert. Auch eine übermäßige Ansammlung der Tierchen an wasserreicheren Teilen des Präparates wird fast stets vermieden.

Es sei noch erwähnt, daß die Chemikalien nur einmal gebraucht werden dürfen. Man tropft die entsprechende Lösung mit der Pipette auf. Für jede Lösung ist eine eigene Pipette zu verwenden. Der ganze Vorgang läßt sich am besten auf einer Färbepbank ausführen. Außerdem ist es vorteilhaft, gleich mehrere Objektträger zu versilbern.

Die den Mikroaufnahmen zugrunde liegenden Präparate sind alle nach der hier beschriebenen Silber-Methode hergestellt und mit Ölimmersionsobjektiv im Hellfeld aufgenommen worden. Bei den Bildunterschriften wurde die Terminologie nach KLEIN verwendet.

Für Arbeitsunterstützung, besonders bei der Herstellung der Mikroaufnahmen, danke ich der Naturkundlichen Station der Stadt Linz.

Verfasser: Wilhelm Foissner, Frensdorf 23, Österreich 4231

Literaturhinweise:

1. KLEIN, B. M.: Mikrokosmos 1938, Heft 5, 76—81 (1938).
2. KLEIN, B. M.: Annalen Naturhist. Museums in Wien, 52, 20—53 (1941).
3. KLEIN, B. M.: Annalen Naturhist. Museums in Wien, 53, 156—336 (1942).
4. KLEIN, B. M.: Mikrokosmos 1952, Heft 12, 267 bis 270 (1952).
5. KLEIN, B. M.: Mikrokosmos 1957, Heft 11, 241 bis 244 (1957).
6. KLEIN, B. M.: Mikrokosmos 1965, Heft 4, 101 bis 105 (1965).
7. RUZICKA, F.: Mikrokosmos 1966, Heft 6, 180 bis 183 (1966).
8. MATTHES, D. und WENZEL, F.: Einführung in die Kleinlebewelt: Wimpertiere (Ciliaten). Kosmos-Verlag, Stuttgart, 1966.

Bild 6. Regenerationsphase bei *Colpidium colpoda*, welche zum Neuanschluß der Protrichozysten führt. Die Basalfibrillen (= Meridiane 1. Ordnung) mit den in ihnen liegenden, stark imprägnierten Basalkörnern erscheinen sehr regelmäßig. Die Meridiane 2. Ordnung haben sich in mehrere Fibrillen aufgeteilt, sind jedoch noch ohne Protrichozysten. Der normale (positive) Strukturzustand ist je ein Meridian erster Ordnung mit den Basalkörnern und ein Meridian 2. Ordnung mit den Protrichozysten. Vergr. 1920×

