

| | | | | |
|---------------------------|----|------|-------|--------------|
| Naturk. Jahrb. Stadt Linz | 23 | 1977 | 17—24 | 12. 11. 1978 |
|---------------------------|----|------|-------|--------------|

WILHELM FOISSNER

EUPLOTES MOEBIUSI F. QUADRICIRRATUS
(CILIOPHORA, HYPOTRICHIDA)

II. DIE FEINSTRUKTUR EINIGER
CYTOPLASMATISCHER ORGANELLEN

*Euplotes moebiusi f. quadricirratu*s (Ciliophora, Hypotrichida)
II. The Fine Structure of some Cytoplasmic Organelles

Mit 11 Abbildungen auf 4 Fototafeln

I. EINLEITUNG

Im ersten Teil der Studie über die Feinstruktur von *Euplotes moebiusi f. quadricirratu*s wurden der Cortex und die argyrophilen Strukturen beschrieben (FOISSNER 1978). Mit den dabei angewendeten Präparationsmethoden haben sich auch verschiedene cytoplasmatische Bestandteile, über deren Lage und Entstehung bisher keine Klarheit herrschte, verhältnismäßig gut erhalten. Sie sollen in dieser Arbeit kurz besprochen werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

Da dasselbe Tiermaterial und dieselben Präparationsmethoden wie im ersten Teil der Arbeit verwendet worden sind (vgl. FOISSNER 1978), kann hier auf diese verwiesen werden. In den Bildbeschreibungen ist die jeweilige Methode, die der Abbildung zugrunde liegt, genau bezeichnet (vgl. dazu FOISSNER 1978).

III. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

1. Das endoplasmatische Retikulum (ER) und seine Inhaltskörper

Mit der Champy-Fixierung war das endoplasmatische Retikulum meist klar darstellbar. Ähnlich wie bei *Euplotes eurytomus* (vergleiche WISE 1965) bildet es auch bei *Euplotes moebiusi* ein weitverzweigtes Membransystem mit riesigen Zisternen von verschiedener Form und Größe, wodurch das Cytoplasma wabenförmig aufgeteilt wird. An der Außenseite der einschichtigen Membranen, die die Zisternen begrenzen, liegen viele stark kontrastierbare etwa 120 Å große Partikel, die vielleicht Ribosomen sind (Tafel I: 1, 2). Die Zisternen des ER enthalten bei *Euplotes moebiusi* zweierlei Einschlüsse: Lithosomen und endosymbiotische Bakterien.

a) Die Lithosomen: FAURÉ-FREMIET et al. (1968) fanden im Cytoplasma von *Euplotes eurytomus* erstmals sphärokristalline Strukturen mit konzentrischen Zonen verschiedener elektronenoptischer Dichte, die sie Lithosomen nannten, da sie aus Calciumcarbonat und Calciumphosphat bestehen. Bei anderen *Euplotes*-Arten sind Lithosomen bisher nicht nachgewiesen worden. Ebenfalls unbekannt war die Entstehung dieser „Kristalle“ bei *Euplotes*, wenn es auch nahelag, sie als Produkte des endoplasmischen Retikulums anzusprechen, da ANDRÉ et al. (1962) bei *Prorodon morgani* die Entstehung von Lithosomen im endoplasmatischen Retikulum aufgezeigt haben.

Euplotes moebiusi besitzt Lithosomen von ganz ähnlicher Struktur wie *Euplotes eurytomus*. Sie sind im fertig ausgebildeten Zustand 400 bis 1200 nm groß, unregelmäßig kugelförmig und anscheinend regellos im Cytoplasma verstreut. Die Abbildungen 1 bis 5 (Tafel I, II) zeigen die Entstehung der Lithosomen in den Zisternen des ER. Ein frühes Bildungsstadium zeigt die Abb. 1 (obere Bildhälfte, Tafel I): Innerhalb einer Zisterne des ER liegen zwei Anhäufungen granulären Materials, die über mehrere membranöse Brücken mit dem ER in Verbindung stehen. Etwas weiter fortgeschrittene Bildungsstadien zeigen die Abbildungen 2 und 3 (Tafel I). Um das dunkel kontrastierte Zentrum findet sich eine breite helle Zone, auf die eine dünne dunkle Zone folgt, die wieder über viele membranöse Brücken mit dem ER in Verbindung steht. Die Abb. 3 (Pfeil, Tafel I) zeigt die enge Verbindung der äußeren Zone mit einer Membran des

ER besonders klar. Die Abb. 1 (untere Bildhälfte, Tafel I), 4 und 5 (Tafel II) zeigen fertig ausgebildete Lithosomen, die vier dunkle und drei helle Zonen erkennen lassen. Diese Zonenanzahl dürfte die maximale sein, da nie Lithosomen mit einer höheren Zonenanzahl beobachtet worden sind. Auch die fertigen Lithosomen lassen Verbindungen zum ER erkennen (Abb. 4, Pfeil, Tafel II), ja sie scheinen regelrecht an den Membranen des ER aufgehängt zu sein.

Die Entstehung der Lithosomen ist also bei *Euplotes moebiusi* und *Prorodon morgani* dieselbe (vgl. ANDRÉ et al. 1962). Bei *Prorodon morgani* sind sie allerdings größer und lang oval. Es ist jedoch interessant, daß die maximale Zonenanzahl dieselbe wie bei *Euplotes moebiusi* ist.

Untersuchungen über die Funktion der Lithosomen liegen nicht vor. Ihre Aufhängung in den Zisternen des ER deutet aber vielleicht darauf hin, daß sie ähnlich wie die Statolithen der höheren Tiere wirken könnten.

b) Endosymbiotische Bakterien (Omikron): Endosymbiotische Bakterien wurden erstmals von FAURÉ-FREMIET (1952) bei *Euplotes eurystomus* und *Euplotes patella* beschrieben, wobei dieser feststellte, daß es essentielle Symbioten sind, da die Tiere bei deren Verlust durch Einwirkung von Antibiotika ihre Vermehrungsfähigkeit verlieren. ROTH (1957) erwähnte cytoplasmatische Bakterien bei *Euplotes sp.* und stellte fest, daß sie vom Cytoplasma des Wirtes durch keine spezielle Membran isoliert sind. Bei *Euplotes patella* konnte er derartige Bakterien elektronenmikroskopisch nicht nachweisen. FAURÉ-FREMIET et al. (1968) legten dann auch die erste genauere elektronenmikroskopische Untersuchung dieser etwa 2,5 µm großen Symbioten vor. Sie stellten fest, daß diese Bakterien mehrere knotenförmige DNS-hältige Nucleoide besitzen und von einer gefalteten Membran eingehüllt werden, die mit dem Cytoplasma des Wirtes kontaktet.

Vor kurzem hat HECKMANN (1975) ein physiologisch und strukturell offensichtlich ganz identisches Bakterium unter dem Namen Omikron „neu“ beschrieben. Diese bei *Euplotes aediculatus* festgestellten Bakterien werden ebenfalls von einer mit granulären Partikeln besetzten Membran umhüllt, von der HECKMANN (1975) vermutet, daß sie dem endoplasmischen Retikulum entstammen könnte.

Euplotes moebiusi hat ebenfalls viele endosymbiotische Bakterien, die ganz den von FAURÉ-FREMIET et al. (1968) und von HECKMANN (1975) beschriebenen Aufbau besitzen (Abb. 6, 7, Tafel II). Sie sind etwa 2 μm lang, leicht gebogen und besitzen 4–7 Nucleoide (Abb. 6, Pfeile, Tafel II) und werden von einer mehr oder minder gefältelten Membran eingehüllt, die dem ER entstammt (Abb. 6, 7, große Pfeile, Tafel II). Versuche zur Essentialität dieser Bakterien für *E. moebiusi* wurden nicht durchgeführt.

HECKMANN (1975) erwähnt noch, daß die netzartigen Zusammenballungen von DNS auch ein Fixierungsartefakt sein könnten. Da sich diese Nucleoide auch bei der hier verwendeten Fixierungsmethode in der gleichen Weise darstellten, darf man annehmen, daß es reale Strukturen sind.

2. Intramitochondriale Partikel

Die dicht unterhalb der Fibrillenkomplexe des Cortex liegenden Mitochondrien von *Euplotes moebiusi* gleichen in Form und Größe denen von *Euplotes patella* (s. ROTH 1957). Sie sind unregelmäßig oval und im Inneren dicht mit ineinander verschlungenen Tubuli erfüllt. Die von FAURÉ-FREMIET et al. (1968) bei *E. eurystomus* beschriebene knäuelartige Aufrollung dieser Tubuli ist bei *Euplotes moebiusi* nicht vorhanden. JURAND et al. (1973) haben bei *Euplotes minuta* zwei morphologisch unterschiedliche Typen von Mitochondrien gefunden, die sich auch in der ATP-ase Aktivität unterscheiden. Bei *E. moebiusi* ist dagegen stets nur eine Art von Mitochondrien feststellbar.

Etwa die Hälfte der untersuchten *E. moebiusi* hatte in der Matrix der Mitochondrien lamelläre, stark kontrastierbare Einschlüsse. Diese ovalen Partikel besitzen einen Durchmesser von etwa 250 x 240 nm und erscheinen im Querschnitt papierrollenartig aufgewunden (Abbildung 9, Pfeile, Tafel III). Im Längsschnitt sind sie etwa 550 nm lang, und ihr Aufbau aus 8–15 Lamellen tritt klar hervor (Abb. 10, Tafel III). Etwa 70 Prozent der Mitochondrien besaßen diese Einschlüsse, die im Cytoplasma der Tiere nie festgestellt werden konnten. Ansonsten erschienen die Mitochondrien von normaler Struktur und Größe.

Über die Natur dieser intramitochondrialen Partikel liegen keine Ergebnisse vor. Morphologisch haben sie aber zweifellos eine große Ähnlichkeit mit den R-Körpern der Kappa-Partikel von *Paramecium*

(vgl. BALL 1969, SOLDI 1974). HECKMANN et al. (1967) beschrieben bei *Euplotes minuta* Killerstämme mit sogenannten Epsilon-Partikeln, die aber mit den hier beschriebenen intramitochondrialen Einschlüssen nicht identisch sein dürften, worauf ihre Lokalisation und der beträchtliche Größenunterschied hinweisen. Diese Partikel sind vermutlich auch nicht mit den von FAURÉ-FREMIET et al. (1962), ZAGON (1970) und PUYTORAC et al. (1972) beschriebenen intramitochondrialen Einschlüssen bei *Epistylis anastatica*, *Carchesium polypinum* beziehungsweise *Urotricha ovata* identisch.

3. Der Makronucleus

Die Feinstruktur des Makronucleus von *E. moebiusi* gleicht weitgehend der von *Euplotes patella* (vgl. ROTH 1957) und *Euplotes eury-stomus* (vgl. FAURÉ-FREMIET et al. 1968, KLUSS 1962). Die unterschiedlich großen Chromatin-Körper werden durch sehr feine Fibrillen untereinander verbunden (Abb. 11, Tafel IV) und lassen bei der hier angewendeten Präparationsmethode keine Substruktur erkennen. Die von KLUSS (1962) und FAURÉ-FREMIET et al. (1968) beschriebenen Nucleolen konnte ich bei *E. moebiusi* nicht sicher identifizieren (vgl. ROTH 1957), was aber präparationsbedingt sein dürfte, da sie lichtmikroskopisch identifizierbar sind (vgl. FOISSNER 1977).

Die Abbildungen 8 und 11 auf den Tafeln III und IV zeigen die Auflösung eines sehr großen Chromatin-Körpers im Reorganisationsband. Er wird in der Auflösungszone (Abb. 8 SP, Tafel III) in ein fibro-granuläres Netzwerk aufgelöst, das in der Rekonstruktionszone (Abb. 8 RP, Tafel III) wieder zu langsam größer werdenden Chromatin-Körpern verschmilzt.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Feinstruktur einiger cytoplasmatischer Organellen von *Euplotes moebiusi* f. *quadricirratu*s untersucht. Das ausgedehnte endoplasmatische Retikulum bildet große Zisternen, in denen die Lithosomen und die endosymbiotischen Bakterien eingeschlossen sind. Die Lithosomen entstehen aus granulären Verdichtungen innerhalb der Zisternen des endoplasmatischen Retikulums und bleiben auch im fertig ausgebildeten Zustand über membranöse Strukturen

mit diesem in Verbindung. Die endosymbiotischen Bakterien gleichen in ihrer Feinstruktur den bei anderen *Euplotes*-Arten beschriebenen Symbioten. Etwa bei der Hälfte der untersuchten Tiere wurden in der Matrix der Mitochondrien zylinderförmige Partikel unbekannter Natur festgestellt. In ihrem Aufbau sind sie den R-Körpern der Kappa-Partikel von *Paramecium* ähnlich. Die Feinstruktur des Makronucleus und des Reorganisationsbandes gleicht der anderer *Euplotes*-Arten.

SUMMARY

The fine structure of some cytoplasmic organelles of *Euplotes moebiusi* f. *quadricirratu*s was investigated. The extensive endoplasmic reticulum forms large vesicles which include lithosomes and endosymbiotic bacteria. The lithosomes originate from granular condensations inside these vesicles, and even the completely developed lithosomes are linked with the endoplasmic reticulum by membranous structures. The endosymbiotic bacteria have a similar fine structure as those described from other species of the genus *Euplotes*. In the matrix of the mitochondria of some half of the investigated specimens there were cylindrical particles whose nature remained unknown. Their structure remind of the R-bodies of the kappa-particles of *Paramecium*. The fine structure of the macronucleus and the reorganization band is similar to other species of *Euplotes*.

Danksagung

Mit dankenswerter Unterstützung des Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt 1838 und N 39), der Jubiläumsstiftung der Österreichischen Nationalbank, der Gesellschaft zur Förderung der Hochschule für Bodenkultur und der Naturkundlichen Station der Stadt Linz.

LITERATUR

- André, J. et Fauré-Fremiet, E. (1967): Formation et structure des concrétions calcaires chez *Prorodon morgani* Kahl. J. Microscopie **6**, 391—398.
- Ball, G. H. (1969): Organisms living on and in protozoa. Research in Protozoology, ed. Tze-Tuan Chen. Vol. **III**, pp. 567-718. Pergamon Press.
- Fauré-Fremiet, E. (1952): Symbiontes bactériens des ciliés du genre *Euplotes*. C. R. Acad. Sci. **235**, 402—403.
- Fauré-Fremiet, E. et Favard, P. et Carasso, N. (1962): Etude au microscope électronique des ultrastructures d' *Epistylis anastatica* (Cilié, Péritriche). J. Microscopie **1**, 287—312.
- Fauré-Fremiet, E. et André, J. (1968): Structure fine de l'*Euplotes eurytomus* (Wrz.). Arch. Anat. Microscop. **57**, 53—78.
- Foissner, W. (1978): *Euplotes moebiusi* f. *quadricirratu*s (Ciliophora, Hypotrichida). I. Die Feinstruktur des Cortex und der argyrophilen Strukturen. Arch. Protistenk. **120**, 86—117.
- Heckmann, K. (1975): Omikron, ein essentieller Endosymbiont von *Euplotes aediculatus*. J. Protozool. **22**, 97—104.
- Heckmann, K. et Preer, J. R. Jr. et Straetling, W. H. (1967): Cytoplasmic particles in the killers of *Euplotes minuta* and their relationship to the killer substance. J. Protozool. **14**, 360—363.
- Jurand, A. et Lipps, H. J. (1973): Two types of mitochondria in *Euplotes minuta*. Arch. Protistenk. **115**, 133—136.
- Kluss, B. C. (1962): Electron microscopy of the macronucleus of *Euplotes eurytomus*. J. Cell Biol. **13**, 462—465.
- Puytorac, P. de et Grain, J. (1972): Bactéries intramitochondriales et particularités de l'ultrastructure cytotomo-pharyngienne chez le cilié *Urotricha ovata* Kahl. C. R. Soc. Biol. **166**, 604—607.
- Roth, L. E. (1957): An electron microscope study of the cytology of the protozoan *Euplotes patella*. J. Biophysic. Biochem. Cytol. **3**, 985—1000.
- Soldo, A. T. (1974): Intracellular particles in *Paramecium*. In: *Paramecium* — A current survey, ed. Wagtendonk W. J. van, pp. 377—432; Elsevier, Amsterdam, London, and New York.
- Wise, B. N. (1965): Fine structure of *Euplotes*: filaments, vesicles, and kinetosomes. J. Cell Biol. **27**, 113 A—114 A.
- Zagon, I. S. (1970): Paracrystalline arrays in the mitochondria of the peritrichous ciliate *Carchesium polypinum*. J. Protozool. **17**, 664—667.

Anschrift des Verfassers:

Wilhelm Foissner
 ZOOLOGISCHES INSTITUT DER UNIVERSITÄT SALZBURG
 Akademiestraße 26
 A-5020 Salzburg

ERKLÄRUNG DER ABBILDUNGEN

Tafeln I und II

Abb. 1–5: Genese der Lithosomen in den Zisternen des endoplasmatischen Retikulums. Sowohl die Anfangs- als auch Endstadien sind über membranöse Strukturen mit dem endoplasmatischen Retikulum in Verbindung (Nähere Erklärungen im Text). Vergr. 48.000:1 (Methode b), 48.000:1 (Methode a), 48.000:1 (Methode b), 48.000:1 (Methode b), 48.000:1 (Methode b).

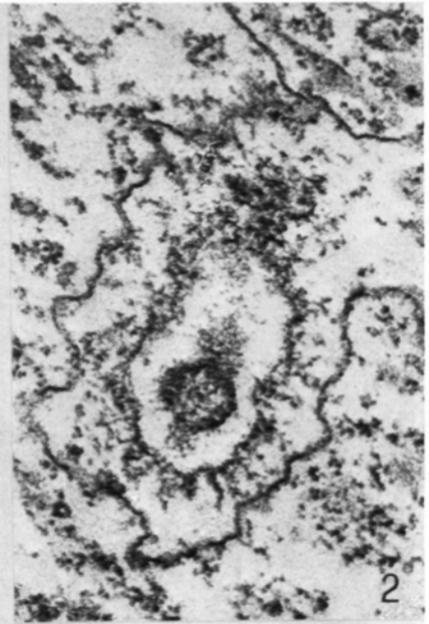
Abb. 6–7: Längs- und quergeschnittene endosymbiotische Bakterien. Die sie umgebende Membran des endoplasmatischen Retikulums ist klar erkennbar (große Pfeile). Im Längsschnitt sind fünf Nucleoide sichtbar (kleine Pfeile). Vergr. 48.000:1 (Methode b), 48.000:1 (Methode a).

Tafeln III und IV

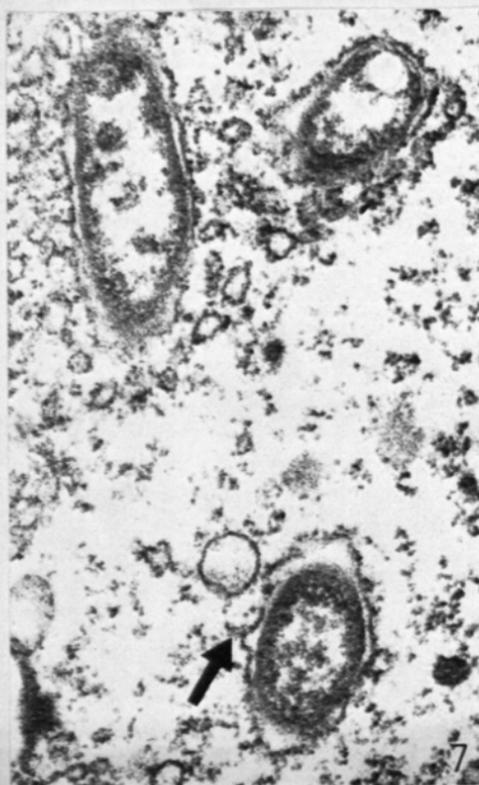
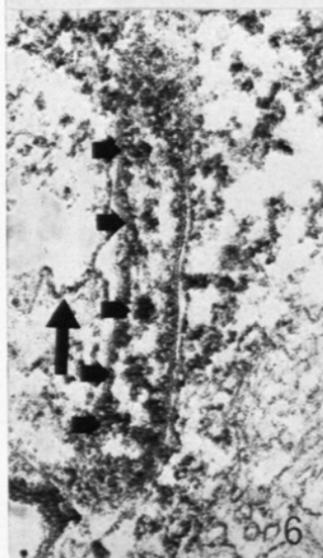
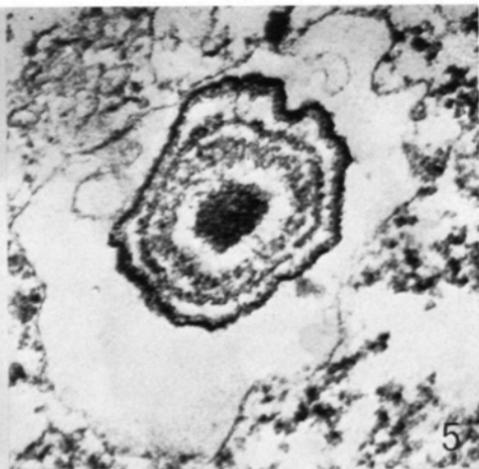
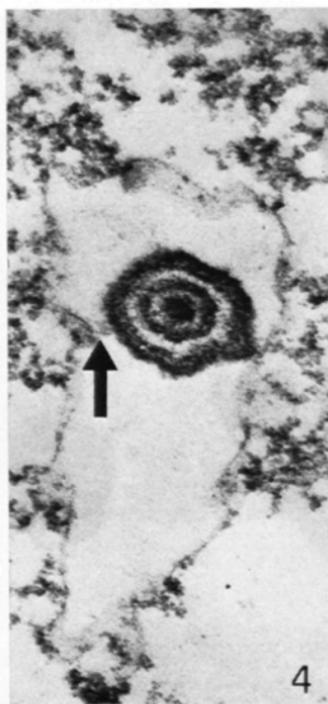
Abb. 9–10: Längs- und quergeschnittene intramitochondriale Partikel. Vergr. 56.000:1 (Methode a), 56.000:1 (Methode a).

Abb. 8, 11: Längsschnitte durch einen Makronucleus mit Reorganisationsband. Nähere Erklärungen im Text. Vergr. 10.000:1 (Methode a), 48.000:1 (Methode a).

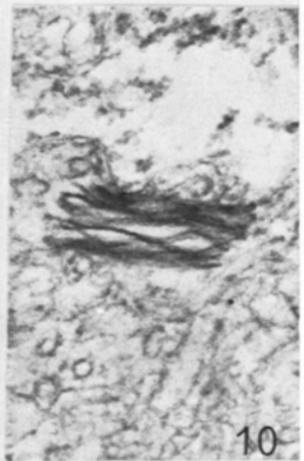
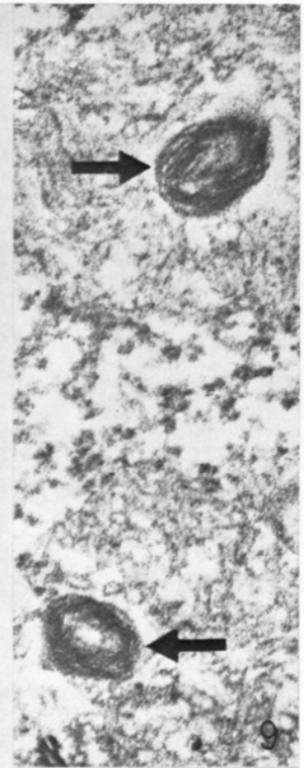
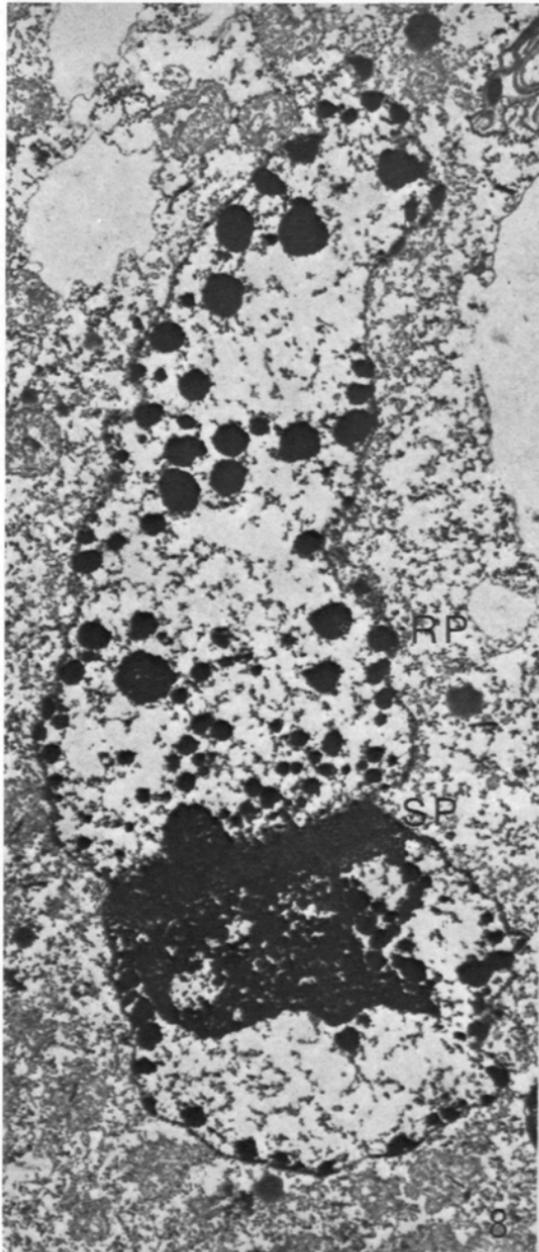
Tafel I, Abb. 1-3



Tafel II, Abb. 4-7



Tafel III, Abb. 8-10



Tafel IV, Abb. 11

