„Mikroskopie" Bd. 31 (1975), S. 193—205

(Zoologisches Institut der Universität Salzburg; Vorstand: Prof. Dr. Hans Adam)

Vergleichende licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an trocken präparierten Silberliniensystemen von Ciliaten *(Protozoa)* [1] [2]

(Comparative Light and Scanning Electron Microscopy Studies of Dry prepared Silverline Systems of Ciliates [*Protozoa*])

Von Wilhelm FOISSNER [3] und Peter SIMONSBERGER [4]

Mit 27 Abbildungen

(Manuskript eingelangt am 16. Dezember 1974)

Zusammenfassung

Eine Methode für die rasterelektronenmikroskopische (SEM) Untersuchung trocken präparierter Silberliniensysteme (KLEIN, 1926; FOISSNER, 1967) von Ciliaten wird beschrieben. Die vergleichende licht- und rasterelektronenmikroskopische Analyse der einzelnen Präparationsschritte einer trockenen Versilberungsmethode brachte keine Hinweise dafür, daß das Silberliniensystem durch Ablagerung von Silber auf Pelliculaerhöhungen oder spaltförmigen Vertiefungen derselben entsteht. Verschiedene Beobachtungen sprechen eindeutig dafür, daß sich die morphologische und chemische Grundlage des Silberliniensystems unter den Pelliculamembranen befindet. Die Silberlinien, die aus einer sehr feinen fadenförmigen und einer dickeren, den Zentralfaden umhüllenden Komponente aufgebaut erscheinen, sind je nach dem Präparationszustand und der Ciliaten-Art mehr oder weniger fein gekörnt.

Da die Silberlinien im Rasterelektronenmikroskop als schnurartige Gebilde erscheinen, wird vermutet, daß sich das Silber an eine im Querschnitt kreisförmige Struktur, möglicherweise einer Fibrille, anlagert.

Summary

A method for scanning electron microscopy (SEM) investigation of dry prepared silverline systems (KLEIN, 1926; FOISSNER, 1967) of ciliates is described. The comparative light and SEM analysis of the individual steps of preparation of a dry silver method produces no indications

[1] Herrn Prof. Dr. Friedrich SCHREMMER (Heidelberg) zum 60. Geburtstag gewidmet.

[2] Mit dankenswerter Unterstützung des Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt 1838 und N 39), der Jubiläumsstiftung der Oesterreichischen Nationalbank und der Gesellschaft zur Förderung der Hochschule für Bodenkultur.

[3] Wilhelm FOISSNER, Naturkundliche Station der Stadt Linz, Roseggerstraße 22, A-4020 Linz (Austria).

[4] Dr. Peter SIMONSBERGER, Zoologisches Institut der Universität Salzburg, Akademiestraße 26, A-5020 Salzburg (Austria).

that the silverline system is built up by deposition of silver on folds or rugae of the surface area of the pellicle. Some observations strongly suggest that the morphological and chemical basis of the silverline system must be below the membranes of the pellicle. The silverlines which seem to be built up of a very fine filiform and a bigger component, covering the fine one, are more or less fine grained depending on the condition of preparation and of the ciliate species used.

Since the silverlines appear like a cord in SEM, we suppose that the silver is deposited at a round structure, possibly at a fibril.

Einleitung

Der Aufbau des von Klein (1926) entdeckten Silberliniensystems der Ciliaten ist noch immer umstritten. Klein (1942) und Foissner (1969) postulierten auf Grund von morphologischen und experimentellen lichtmikroskopischen Untersuchungen eine fibrilläre Natur und eine subpelliculäre Lage dieses Organells. Ehret and Powers (1959), Puytorac (1959), Pitelka (1961), Dipell (1962) Bradbury (1965), Soltynska (1971) und Ruffolo (1972) folgern dagegen aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen, daß die Silberlinien durch Anlagerung von Silber an bestimmte Membranstoßpunkte der pelliculären Alveolen, die eine erhöhte Affinität zu Silber haben sollen (Pitelka and Child, 1964), entstehen, also nicht fibrillär sind. Es wäre hier sinnlos, die vielen elektronenmikroskopischen Arbeiten und zusammenfassenden Darstellungen zu zitieren, die die im wesentlichen auf Pitelka (1961) zurückgehende Ansicht übernommen haben, da in keinem Fall darüber bedeutend mehr ausgesagt worden ist. Es soll hier aber klar ausgesprochen werden, daß die aus diesen Arbeiten gezogenen „Schlüsse", genauso wie die lichtmikroskopischen „Beweise" nur hypothetischen Charakter besitzen. Keine der elektronenmikroskopischen Studien basiert nämlich auf der Untersuchung von nach Klein (1926) oder Chatton-Lwoff (1930) versilberten Ciliaten, sondern auf den mit konventionellen Techniken hergestellten Präparaten! Dipell (1962) will allerdings an den Membranstoßpunkten der pelliculären Alveolen von *Paramecium* einen Silberniederschlag gesehen haben, was in der Literatur häufig als Beweis gegen die fibrilläre Natur des Silberliniensystems angeführt wird. Diese nur als Abstract publizierte Arbeit, bei der nicht einmal die genaue Präparationsmethode angegeben worden ist und jeder Bildbeweis fehlt, hat unserer Meinung nach keine wissenschaftliche Beweiskraft.

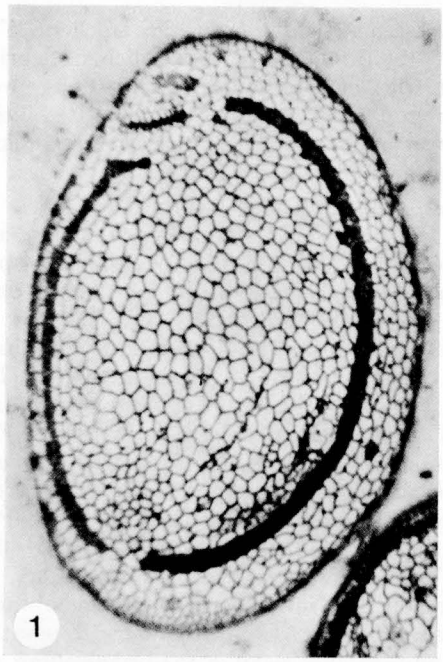
Die Frage nach der Natur des Silberliniensystems kann somit durchaus nicht als entschieden und abgeschlossen betrachtet werden. Gesichert ist bisher nur, daß das Silberliniensystem und die pelliculären Alveolargrenzen einen in den meisten Fällen gleichen oder doch sehr ähnlichen Verlauf besitzen, was ja auch schon Klein (1942) festgestellt hat. Die vorliegende Arbeit ist ein weiterer Beitrag zu diesem

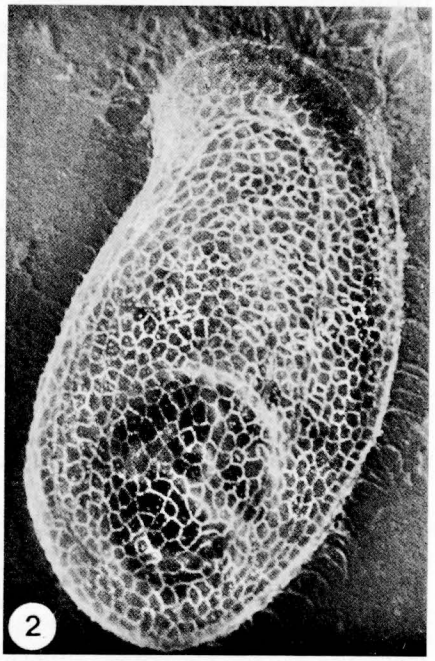
---

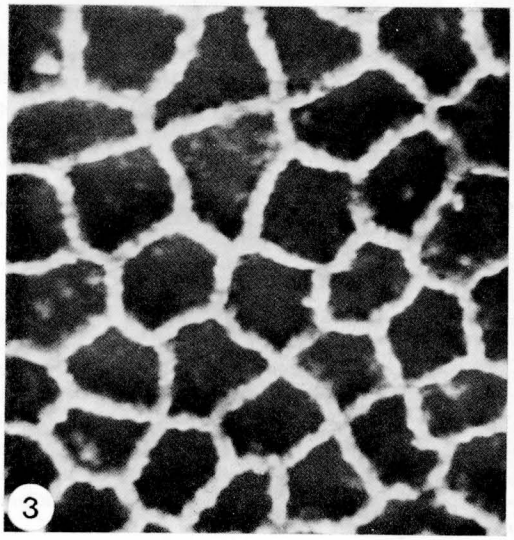
Abb. 1—5: Chilodonella uncinata.

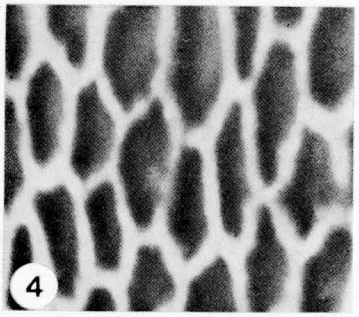
Abb. 1. Das gitterförmige Silberliniensystem der Dorsalseite im Hellfeld. Vergr. 1800:1. — Abb. 2. Das gitterförmige Silberliniensystem der Dorsalseite im SEM (5 kV, Methode c). Vergr. 1825:1. — Abb. 3. Teil des dorsalen Silberliniensystems bei stärkerer Vergrößerung. Die Silberanlagerung ist sehr feinkörnig (30 kV, Methode c). Vergr. 10.700:1. — Abb. 4. Teil des dorsalen Silberliniensystems bei einem Kippwinkel des Präparates von 65°. Die schnurartige Erscheinungsform der Silberlinien tritt deutlich hervor (30 kV, Methode c). Vergr. 8000:1. — Abb. 5. Teil eines leicht dissoziierten Silberliniensystems der Dorsalseite. Die Pfeile weisen auf die Zentralkomponente der Silberlinien (30 kV, Methode c). Vergr. 11.200:1.

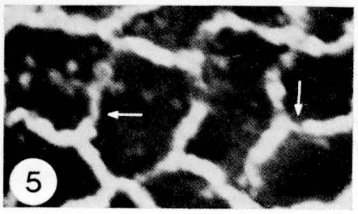
Problem und berichtet unseres Wissens nach zum erstenmal über vergleichende licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von Ciliaten, die mit einer trockenen Versilberungsmethode präpariert worden sind. Dabei wurde jeder wesentliche Schritt der Präparation licht- und rasterelektronenmikroskopisch analysiert.











Material und Methoden

Die zu den Untersuchungen verwendeten Ciliaten, *Chilodonella uncinata* (Ehrenberg, 1838), *Colpidium colpoda* (Ehrenberg, 1831), *Euplotes moebiusi* f. *quadricirratus* (Kahl, 1930—1935) und *Vorticella infusionum* (Dujardin, 1841), wurden in Pflanzenaufgüssen gezüchtet und vor der Präparation einmal mit destilliertem Wasser gewaschen.

Für die Darstellung des Silberliniensystems wählten wir die trockene Versilberungsmethode nach Foissner (1967, 1969). Die drei wesentlichen Schritte dieses Verfahrens, die Eintrocknung der Ciliaten auf einem mit Hühnereiweiß bestrichenen Objektträger, die Versilberung mit Silbernitrat und die Reduktion des Silbernitrates zu metallischem Silber wurden licht- und rasterelektronenmikroskopisch (SEM) mit folgenden Methoden untersucht:

a) SEM-Untersuchung eingetrockneter und Kohle-Gold-bedampfter Tiere.
b) Die nach Methode a eingetrockneten Ciliaten wurden zwei Minuten lang mit einer 2%igen Silbernitratlösung überschichtet, die mit dest. Wasser abgespült wurde. Die SEM-Untersuchung erfolgte nach Lufttrocknung und Kohlebedampfung der Präparate.
c) Bei nach Methode b behandelten Ciliaten wurde das Silbernitrat mit einem Reduktionsgemisch (Foissner, 1967) zu metallischem Silber reduziert. Das Reduktionsgemisch wurde nach einer Minute mit dest. Wasser abgespült und durch 96%igen Alkohol, der einmal gewechselt wurde, ersetzt. Die SEM-Untersuchung erfolgte nach Lufttrocknung und Kohlebedampfung der Präparate.
d) Bei nach Methode c präparierten *Euplotes* wurden mit einer feinen Nadel Teile der Pellicula abgehoben oder über dem Tier zusammengeschoben. Diese Präparation erfordert einige Übung und man verfährt dabei am besten so, daß man die Nadel in einem sehr flachen Winkel so lange über das Tier führt, bis die Pelliculamembranen mitgerissen werden. Das unter den Pelliculamembranen liegende Silberliniensystem wird bei sorgfältiger Ausführung der Präparation nicht beschädigt. Die SEM-Untersuchung erfolgte nach Kohlebedampfung der Präparate.

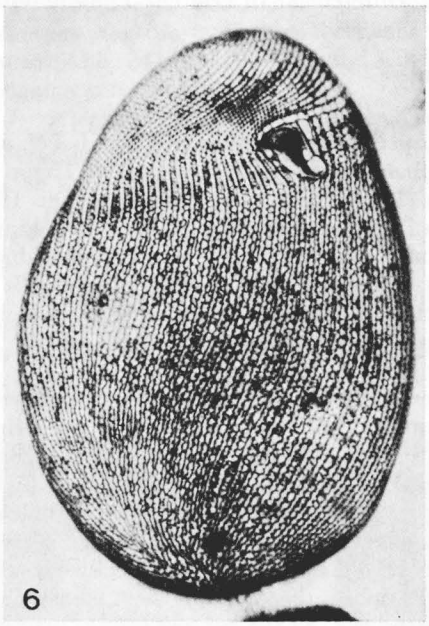
Sämtliche Arbeitsgänge wurden wie bei der lichtmikroskopischen Präparation auf normalen Objektträgern ausgeführt. Für die SEM-Untersuchungen (Cambridge Stereoscan scanning electron microscope Mark II) wurden aus dem Objektträger nach vorangegangener lichtmikroskopischer Kontrolle quadratische Stücke von ca. 4×4 mm Seitenlänge mit einem Diamanten herausgeschnitten und auf einem

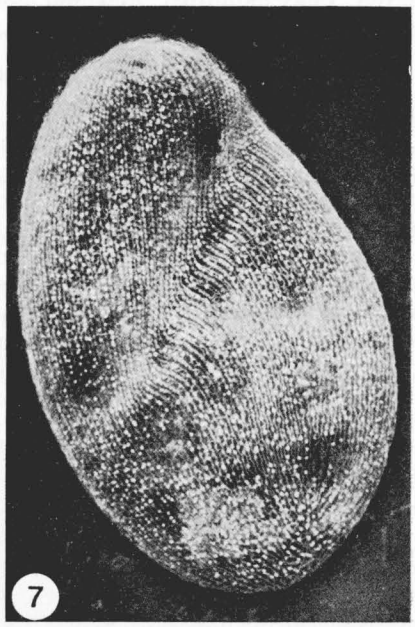
---

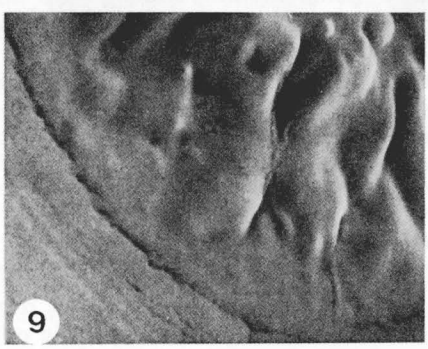
Abb. 6, 7, 8, 10: Colpidium colpoda; Abb. 9: Chilodonella uncinata.

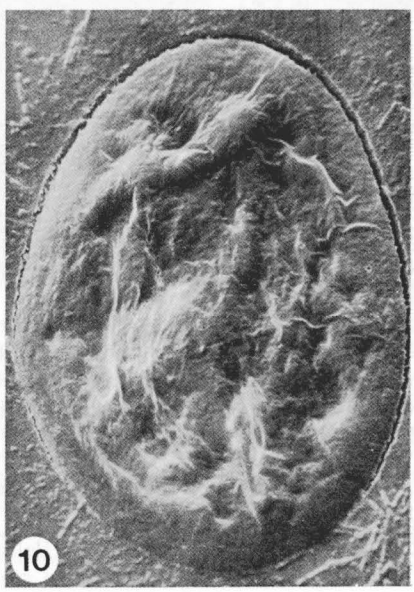
Abb. 6. Das streifenförmige Silberliniensystem der Ventralseite im Hellfeld. Vergr. 800:1. — Abb. 7. Das streifenförmige Silberliniensystem der Lateralseite im SEM. Die Relationskörper der Protrichocysten haben sich besonders kräftig imprägniert und erscheinen daher als leuchtend weiße Punkte (5 kV, Methode c). Vergr. 800:1. — Abb. 8. Teil der Dorsalseite eines eingetrockneten, unversilberten Individuums. Die stäbchenförmigen Protrichocysten, die infolge der Präparation zum großen Teil ausgestoßen wurden, sind erkennbar (30 kV, Methode a). Vergr. 3270:1. —Abb. 9. Teil der Dorsalseite eines eingetrockneten, unversilberten Tieres. Die Oberflächen der unregelmäßig verteilten Erhebungen und Einsenkungen der Pellicula erscheinen glatt (5 kV, Methode a). Vergr. 3330:1. — Abb. 10. Gesamtansicht der Dorsalseite eines eingetrockneten, unversilberten Individuums. Die Oberfläche ist unregelmäßig erhaben und vertieft. Viele kleine Falten bedecken diese Erhöhungen und Vertiefungen (5 kV, Methode a). Vergr. 6500:1.

SEM-Objektträger mit UHU-hart aufgeklebt. Glasobjektträger und SEM-Objektträger wurden durch eine Leitsilberbrücke miteinander verbunden. Die Untersuchung der Präparate wurde, falls nicht anders angegeben, bei einem Kippwinkel von 30^0 durchgeführt.









Die Bedampfung erfolgte mit einer Leibold EPA-100-Anlage. Nach Methode b und c behandelte Ciliaten können auch ohne Kohlebedampfung untersucht werden, jedoch treten dann starke Aufladungserscheinungen auf, die das Auflösungsvermögen und die Qualität der Bilder bedeutend herabsetzen.

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen erfolgten im Hellfeld, positiven und negativen Phasenkontrast und mit dem Differential-Interferenz-Phasenkontrast (DIK).

Ergebnisse

a) Lichtmikroskopische Untersuchungen

Mit keinem der vier angewandten lichtoptischen Verfahren ließ sich bei *C. uncinata*, *C. colpoda* und *E. moebiusi* an den lebenden oder eingetrockneten Tieren das Silberliniensystem oder eine ihm ähnliche Pelliculastruktur erkennen. Die Oberfläche der eingetrockneten Ciliaten zeigte im DIK unregelmäßig verteilte Erhöhungen und Vertiefungen, die im wesentlichen mit den verschiedenen Zelleinschlüssen korrespondieren. Gegenteilige Verhältnisse fanden sich erwartungsgemäß bei *Vorticella infusionum*. Hier war die typische kreisförmig verlaufende Oberflächenstruktur mit allen lichtmikroskopischen Untersuchungstechniken sowohl am lebenden als auch am eingetrockneten Tier gut zu erkennen.

An versilberten, aber nicht reduzierten Präparaten ist das Silberliniensystem meist andeutungsweise zu erkennen, was zum Teil wohl daher rührt, daß ein geringer Teil des Silbernitrates durch das Tageslicht oder durch das Licht der Mikroskopierleuchte bei der Untersuchung reduziert wird. Führt man die Präparation bis zur mikroskopischen Untersuchung im Dunkeln aus, so ändern sich die Verhältnisse nur wenig; die Sichtbarkeit des Silberliniensystems wird noch etwas geringer. Sicherlich ist diese andeutungsweise Sichtbarkeit nicht nur durch teilweise reduziertes Silbernitrat bedingt, sondern auch durch die veränderte Lichtbrechung der mit Silbernitrat imprägnierten Strukturen.

Für das Studium reduzierter Präparate (Methode c, d) hat sich die Hellfeldmikroskopie am besten bewährt (Abb. 1, 6, 15, 23). Bei den phasenoptischen Verfahren treten nämlich Beugungs- und Interferenzphänomene auf, die die Untersuchung sehr stören.

Besondere Beachtung verdient nun noch der Befund, daß es möglich ist, eine über dem Silberliniensystem liegende Schichte, die sicherlich mit den Pelliculamembranen identisch ist, abzutragen, ohne das Silberliniensystem zu beschädigen (Abb. 21). Dies weist nämlich eindeutig darauf hin, daß sich das Silberliniensystem unter den drei Pelliculamembranen (äußere Zellmembran, äußere und innere Alveolenmembran) befindet und die Silberanlagerung daher nicht an den Stoßpunkten der Pelliculamembranen erfolgen kann. Die Stärke dieser abhebbaren und leicht braun imprägnierten Schichte konnte nicht mit Sicherheit bestimmt werden, dürfte aber etwa 0,1 µm betragen. Stets war feststellbar, daß die Silberlinien nach dem Abtragen dieser Schichte sehr viel zarter erschienen (Abb. 22), was vermutlich darauf zurückzuführen ist, daß ein Teil des an die Silberlinien weniger fest gebundenen Silbers mitabgetragen wird.

b) Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

1. Untersuchung von nach Methode a präparierten Ciliaten. Ähnlich wie im DIK erschienen die Pelliculaoberflächen von *C. uncinata*, *C. colpoda* und *E. moebiusi* nicht eben, sondern stets mehr oder weniger unregelmäßig erhöht

und vertieft (Abb. 9, 10, 16). Die Oberflächen dieser meist sehr deutlich erkennbaren Erhöhungen und Vertiefungen sind teils glatt (Abb. 9, 16) und ohne erkennbare Feinstruktur, häufig aber mit vielen kleinen Falten bedeckt (Abb. 10), die jedoch nie eine regelmäßige Anordnung zeigen, also mit dem Silberliniensystem nicht identisch sein können. Die Pellicula von *Colpidium colpoda* erschien manchmal mit ausgestoßenen Protrichocysten teilweise bedeckt (Abb. 8). Bei *Vorticella infusionum* war die typische Oberflächenstruktur der Pellicula besonders gut erkennbar (Abb. 24). Basalkörper und Cilien waren bei allen untersuchten Arten nur andeutungsweise sichtbar.

2. Untersuchung von nach Methode c präparierten Ciliaten. Hier ergaben sich sehr klare Bilder, die den lichtmikroskopisch bekannten vollkommen entsprachen (Abb. 2, 7, 18, 25). Voraussetzung sind allerdings gute Präparate, in denen das Silberliniensystem lichtmikroskopisch strukturell unzerstört erscheint. Vergrößerungen bis 15.000fach ergeben dann durchaus noch brauchbare Bilder.

Die Silberlinien erscheinen bei einem Kippwinkel des Präparates von 60—70° als schnurartige Gebilde (Abb. 4, 12, 19). Ihre Oberfläche war je nach dem Präparationszustand bei *C. uncinata*, *C. colpoda* und *E. moebiusi* mehr oder weniger fein gekörnt (Abb. 3, 11, 18, 19). Eine deutliche grobkörnige Auflösung der Silberlinien

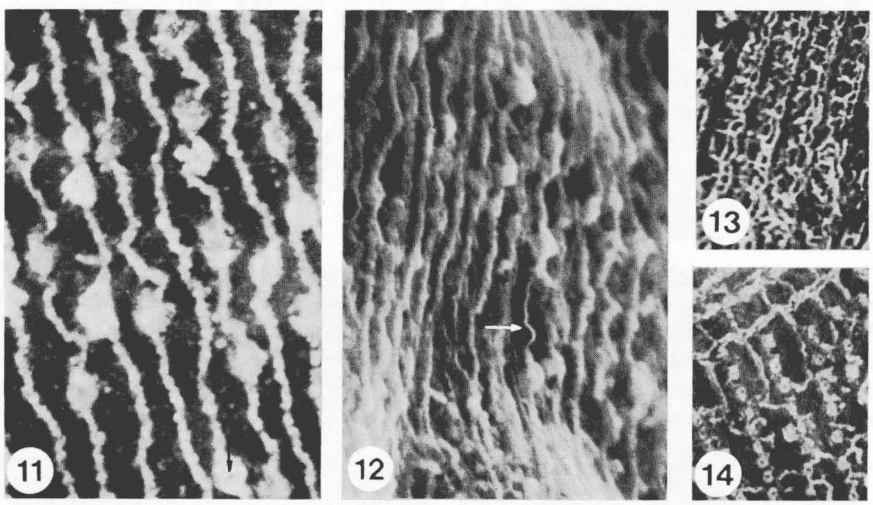


Abb. 11—14. Colpidium colpoda.

Abb. 11. Stark vergrößerter Teil des Silberliniensystems von Abb. 7. Bei diesem im Lichtmikroskop sehr fein imprägniert und strukturintakt erscheinenden Silberliniensystem sind die Silberlinien im SEM bei starker Vergrößerung sehr fein gekörnt. Der Pfeil weist auf das silberfreie Lumen der Zirkularfibrille einer Protrichocyste (30 kV, Methode c). Vergr. 7000:1. — Abb. 12. Teil des Silberliniensystems der Dorsalseite bei einem Kippwinkel des Präparates von 60°. Die Silberlinien erscheinen deutlich schnurartig. Der Pfeil weist auf die Zentralkomponente einer Silberlinie (30 kV, Methode c). Vergr. 6620:1. — Abb. 13. Teil des Silberliniensystems der Ventralseite (5 kV, Methode b). Vergr. 1700:1. — Abb. 14. Teil des Silberliniensystems der Ventralseite im Bereich der Polnaht. Die Basalkörper erscheinen im zentralen Bereich ohne Silberanlagerung (30 kV, Methode c). Vergr. 2900:1.

fand sich dagegen regelmäßig bei *Vorticella infusionum* (Abb. 26, 27), was im Einklang mit lichtmikroskopischen Untersuchungen steht (Foissner und Schiffmann, 1974).

Einige Präparate zeigten stellenweise sehr deutlich, daß die Silberlinien aus einer sehr feinen fadenförmigen argyrophilen Komponente und einer dickeren ebenfalls argyrophilen Hülle, an der das Silber grobkörniger angelagert ist, aufgebaut sind (Abb. 5, 12, 20, Pfeile). Die zentrale Komponente wird vermutlich dadurch sichtbar, daß im Verlaufe der Präparation die äußere Hülle verlorengeht (vgl. S. 196, Methode d). Zu denselben Folgerungen kam auch Klein (1942) aus lichtmikroskopischen Untersuchungen an *Euplotes*.

Die Basalkörper der Cilien und die Zirkularfibrille der Protrichocysten (Klein, 1942) sind im zentralen Bereich vielfach ohne Silberanlagerung (Abb. 11, Pfeil, 14). Bei den Protrichocystensilberlinien ist die Größe des silberfreien Lumens verschieden, was vermutlich auf die verschiedenen Funktionszustände dieser Organellen zurückzuführen sein dürfte, wie dies lichtmikroskopische Untersuchungen ja schon wiederholt gezeigt haben (Klein, 1942; Foissner, 1971).

3. Untersuchung von nach Methode d präparierten Ciliaten. Auch im Rasterelektronenmikroskop ist an den freigelegten Silberlinien ihre Feinheit, vor allem aber ihre recht unterschiedliche Stärke auffällig (Abb. 21, 22). Vermutlich handelt es sich bei den ganz fein erscheinenden, kein Silberkorn mehr zeigenden Silberliniensystemteilen (s. weiße Pfeile in Abb. 22) um die Zentralkomponente (vgl. S. 202).

4. Untersuchung von nach Methode b präparierten Ciliaten. Hier waren im wesentlichen dieselben Ergebnisse zu erzielen wie mit Methode c, da offensichtlich auch das nicht reduzierte Silbernitrat ausreicht, um für das Rasterelektronenmikroskop einen genügend hohen Kontrast zu schaffen (Abb. 13, 17).

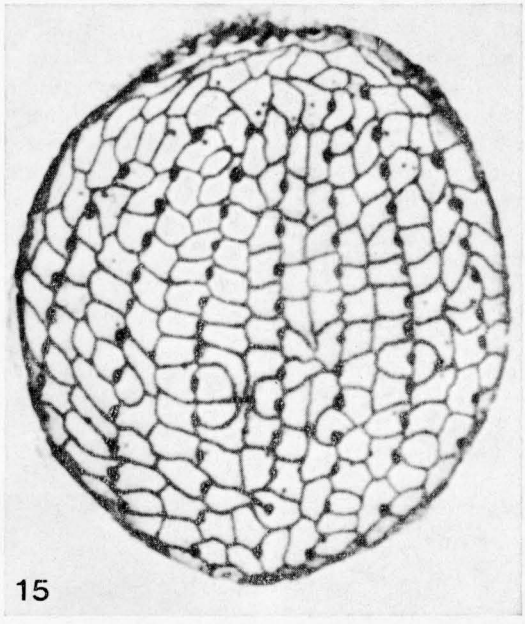
Diskussion

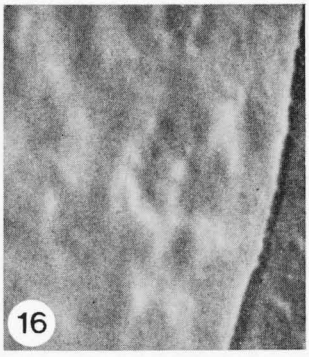
Die hier beschriebene Methode für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung trocken präparierter Silberliniensysteme von Ciliaten eröffnet neue Aspekte zur Morphologie und zur Untersuchung dieses Organells. Als besonders brauchbar dürfte sie sich für das Studium experimentell geschädigter Silberliniensysteme erweisen, wo die Einzelheiten meist an der Grenze der lichtmikroskopischen Auflösbarkeit liegen (Foissner, 1969).

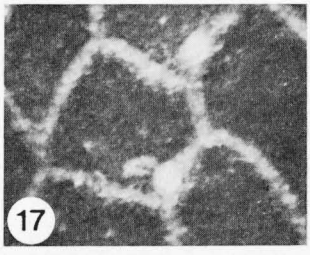
Abb. 15—20: Euplotes moebiusi f. quadricirratus.

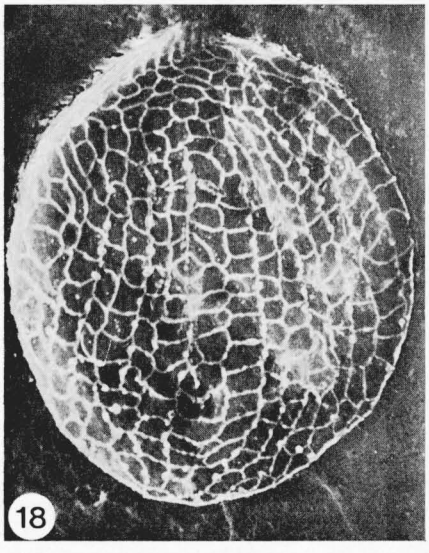
Abb. 15. Das gitterförmige Silberliniensystem der Dorsalseite im Hellfeld. Die Basalkörper der „Tastcilien" sind in regelmäßigen meridionalen Reihen angeordnet. Vergr. 1200:1. — Abb. 16. Ein Teil der Dorsalseite eines eingetrockneten, unversilberten Tieres. Die Oberfläche erscheint glatt (30 kV, Methode a). Vergr. 6950:1. — Abb. 17. Teil des Silberliniensystems der Ventralseite. Die Oberfläche der Silberlinien erscheint sehr fein gekörnt (5 kV, Methode b). Vergr. 10.400:1. — Abb. 18. Das gitterförmige Silberliniensystem der Dorsalseite im SEM (5 kV, Methode c). Vergr. 1000:1. — Abb. 19. Teil des Silberliniensystems der Ventralseite bei einem Kippwinkel des Präparates von 60°. Die schnurartige Erscheinungsform der Silberlinien ist auch hier deutlich zu erkennen (5 kV, Methode c). Vergr. 3330:1. — Abb. 20. Teil des Silberliniensystems der Dorsalseite. Die den Basalkörperkomplex umziehende Silberlinie (Zirkularfibrille) ist deutlich erkennbar (dicker Pfeil). Die Pfeile weisen auf zwei Zentralfäden von Silberlinien (5 kV, Methode c). Vergr. 9000:1.

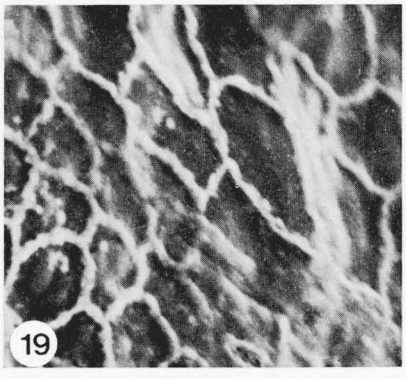
Da wir an der Oberfläche der Pellicula eingetrockneter Ciliaten keinerlei regelmäßige, dem Silberliniensystem entsprechende Falten oder Furchen feststellen konnten, darf mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß die Silberlinien durch eine rein physikalisch oder chemisch bedingte Ablagerung von Silber an der Oberfläche der Pellicula entstehen (Abb. 9, 10, 16). Da es uns außerdem gelungen ist, eine über dem Silberliniensystem liegende Schichte festzustellen und ohne Be-

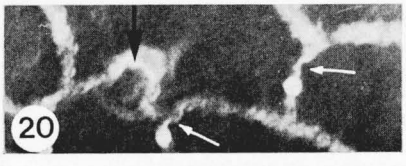

15


16


17


18


19


20

schädigung des Systems abzutragen, kann man mit Sicherheit darauf schließen, daß sich die morphologische und chemische Grundlage des Silberliniensystems unterhalb der Pelliculamembranen befindet (Abb. 21, 22). Die schnurartige Erscheinungsform (Abb. 4, 12, 19, 26) und der Nachweis eines feinen zentralen Anteils der Silberlinien (Abb. 5, 12, 20, 22) sind zwar kein Beweis für die fibrilläre Natur dieses Systems, aber doch ein deutlicher Hinweis dafür, daß sich das Silber an eine im Querschnitt runde Struktur anlagert.

Die bisher vorliegenden rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen an Ciliaten (z. B. Small *et al.*, 1969; Buhse *et al.*, 1970; Small *et al.*, 1971; Satir *et al.*, 1973; Buhse *et al.*, 1973) konnten mit wenigen Ausnahmen (s. unten) keine Struktur der Pellicula nachweisen, die formmäßig dem Silberliniensystem entsprechen könnte. Die Pelliculaoberfläche erscheint ähnlich wie bei eingetrockneten Ciliaten (Abb. 9, 10, 16) lediglich mit vielen kleinen Falten bedeckt, die man wohl als Präparationsartefakte deuten muß. Gerade diese vielen kleinen völlig unregelmäßig verteilten Falten an der Oberfläche eingetrockneter Ciliaten (Abb. 10), die offensichtlich hauptsächlich die äußere Zellmembran und die membranbegrenzten Alveolen betreffen, sind auch ein weiteres Argument dafür, daß sich das Silber nicht an den Stoßpunkten der pelliculären Alveolen anlagern kann; wäre dies nämlich der Fall, so könnten sich im Lichtmikroskop nie so artcharakteristische, stets gleich geformte Silberliniensysteme zeigen!

Besonders ausführliche SEM- und TEM-Untersuchungen liegen von peritrichen Ciliaten vor (z. B. Bradbury, 1965; Lom *et al.*, 1968; Zagon, 1970; 1971; Finley *et al.*, 1972). Da eine ausführliche Diskussion dieser Arbeiten in Hinsicht auf das Silberliniensystem vor kurzem bereits durchgeführt worden ist (Foissner *et al.*,

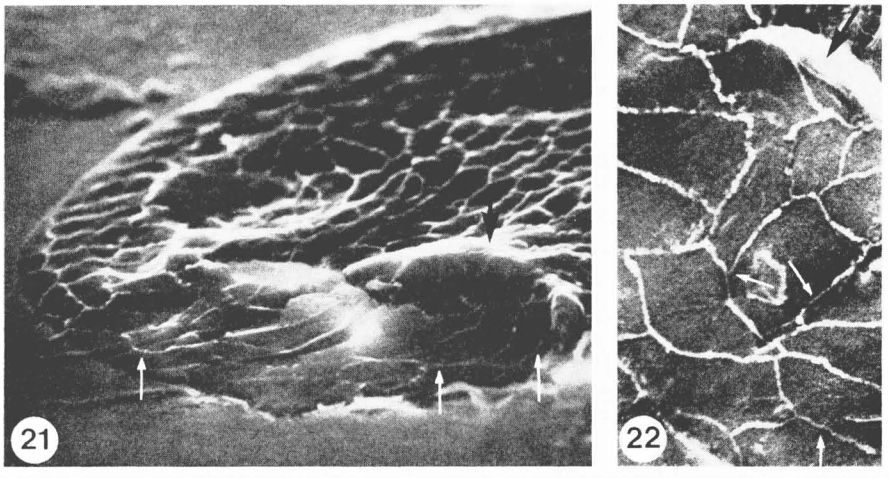


Abb. 21 und 22: Euplotes moebiusi f. quadricirratus

Abb. 21. Teil des Silberliniensystems der Ventralseite bei einem Kippwinkel des Präparates von 65°. Ein Teil der über dem Silberliniensystem liegenden Pellicula wurde zur Seite geschoben und ist nun als deutliche Erhebung sichtbar (dicker Pfeil). Die nunmehr freiliegenden Silberlinien erscheinen sehr fein (Pfeile) (30 kV, Methode d). Vergr. 1930:1. — Abb. 22. Teil des Präparates von Abb. 21. Die abgehobene, zusammengeschobene, über dem Silberliniensystem liegende Pellicula ist erkennbar (dicker Pfeil). Die Pfeile weisen auf silberkornfreie Zentralkomponenten von Silberlinien (30 kV, Methode d). Vergr. 2000:1.

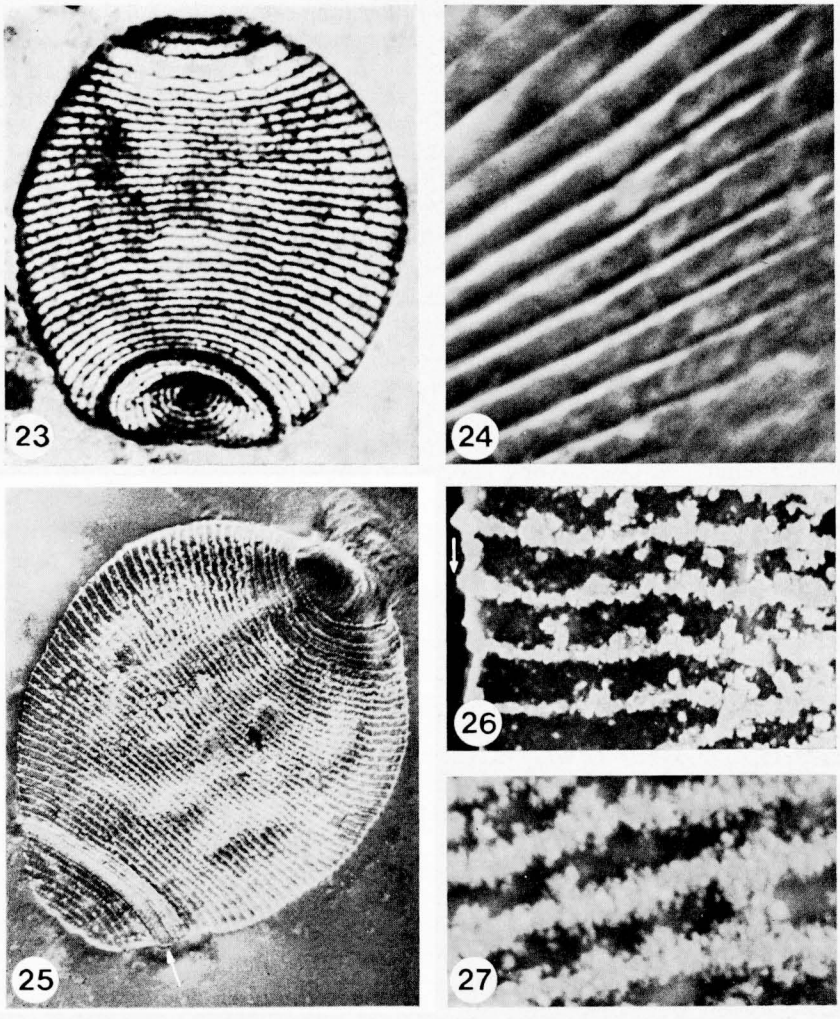


Abb. 23—27: Vorticella infusionum

Abb. 23. Ansicht des Horizontalstreifensystems im Hellfeld. Die den Silberlinien dicht anliegenden Pelliculaporen sind gut erkennbar. Vergr. 800:1. — Abb. 24. Teil eines eingetrockneten, unversilberten Individuums. Die typische Oberflächenstruktur der Pellicula tritt deutlich hervor (5 kV, Methode a). Vergr. 5330:1. — Abb. 25. Ansicht des Horizontalstreifensystems im SEM. Die Pelliculaporen und die schräggestellten Basalkörperreihen (Polykinete) des ausgebildeten hinteren Wimperkranzes (Pfeil) sind erkennbar (5 kV, Methode c, unbedampft). Vergr. 840:1. — Abb. 26. Der linke Rand des Tieres von Abb. 25 stärker vergrößert. Die Silberlinien treten halbkreisförmig hervor (Pfeil) (5 kV, Methode c, unbedampft). Vergr. 9800:1. — Abb. 27. Der mittlere Teil des Tieres von Abb. 25 stärker vergrößert. Die Silberanlagerung ist hier sehr grobkörnig (vgl. Abb. 26!) (5 kV, Methode c, unbedampft). Vergr. 7000:1.

1974), sei hier nur soviel gesagt, daß das Silberliniensystem den regelmäßigen Auffaltungen der Pelliculamembranen (Abb. 24) vermutlich unterlagert ist. Besonders erwähnt soll jedoch nochmals die Arbeit von Zagon (1970) werden, der an Ultradünnschnitten nachweisen konnte, daß sich mit der Protargol-Versilberungsmethode der Silber-Gold-Kupfer-Komplex bei *Carchesium polypinum* in den Alveolen der Pellicula niederschlägt. Da mit dieser Methode das Kleinsche Silberliniensystem aber kaum dargestellt werden kann, ist dies durchaus nicht als Beweis gegen eine fibrilläre Natur des Silberliniensystems zu werten, was Zagon (1970) auch richtig bemerkt. Übereinstimmend sind die Befunde über die Silberanlagerung bei den Basalkörpern. Bei beiden Methoden wird der größte Teil des Silbers im äußeren Bereich des Basalkörpers angelagert (Abb. 14).

Vor kurzem konnte Ruffolo (1972) mit der CPD-Methode bei *Euplotes eurystomus* eine sehr regelmäßige durch Falten und Furchen gebildete Textur der Zelloberfläche nachweisen. Diese Textur, die durch die äußere Zellmembran und die obere Alveolarmembran gebildet wird, ist dem Silberliniensystem verblüffend ähnlich, weswegen Ruffolo auch eine Identität beider Strukturen annimmt. Durch die freundliche Überlassung einiger Originalaufnahmen war es uns möglich, diese Oberflächenstruktur genau zu studieren. Es fiel uns auf, daß die Bilder bereits bei kleinen Vergrößerungen stets zwei oder noch mehr dicht nebeneinander liegende Auffaltungen und Furchen zeigen. An trocken oder naß versilberten *Euplotes*-Arten läßt sich jedoch ausnahmslos nachweisen, daß die Silberlinien einfach sind (s. z. B. Abb. 15, Klein, 1942; Tuffrau, 1960). Vor allem aus diesem Grund erscheint uns eine Identifikation dieser Oberflächenstruktur mit dem Silberliniensystem sehr fragwürdig. Jedenfalls konnten wir an eingetrockneten *Euplotes* solche Falten oder Furchen nicht nachweisen (Abb. 16). Gegen die Ruffolosche Deutung sprechen auch unsere mit Methode d erhaltenen Ergebnisse (vgl. S. 200). Weiters ist es bemerkenswert, daß Grim (1967) an Ultradünnschnitten von *Euplotes eurystomus* weder pelliculäre Alveolen noch irgendwelche Auffaltungen oder Furchen der Pellicula nachweisen konnte. Gliddon (1966) hat an derselben Species zwar pelliculäre Alveolen, nicht aber *regelmäßige* Falten oder Furchen der Pellicula beschrieben. Diese einander doch sehr widersprechenden Befunde machen deutlich, mit welcher Vorsicht die elektronenmikroskopischen Ergebnisse über die corticale Organisation der Ciliaten interpretiert werden müssen und sollten. Die Neigung zu Artefaktbildungen ist hier offenbar besonders groß.

Literatur

Bradbury P. C.: The infraciliature and argyrome of *Opisthonecta henneguyi* Fauré-Fremiet. J. Protozool. *12*, 345—363 (1965).

Buhse H. E. Jr., J. O. Corliss, and R. C. Holsen, Jr.: *Tetrahymena vorax:* Analysis of stomatogenesis by scanning electron and light microscopy. Trans. Amer. Microsc. Soc. *89*, 328—336 (1970).

Buhse H. E. Jr., S. J. Stamler, and J. O. Corliss: Analysis of stomatogenesis by scanning electron microscopy in *Tetrahymena pyriformis* strain W during synchronous cell division. Trans. Amer. Microsc. Soc. *92*, 95—105 (1973).

Chatton E. et A. Lwoff: Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infraciliature des Ciliés marins et d'eau douce, apres fixation cytologique et sans dessication. Compt. rend. Soc. Biol. *104*, 834—836 (1930).

Chatton E. et A. Lwoff: Techniques pour l'étude des Protozoaires, spécialement de leurs structures superficielles (cinétome et argyrome). Bull. soc. franc. microscop. *5*, 25—39 (1936).

Dipell R. V.: The site of silver impregnation in *Paramecium aurelia*. J. Protozool. *9*, Suppl. 24 (1962).

Ehret C. F. and E. L. Powers: The cell surface of *Paramecium*. Int. Rev. Cytol. *8*, 97—133 (1959).

Finley H. E., V. S. Ranganathan, and E. B. Small: Examination of the peritrich ciliate *Telotrochidium* by scanning electron microscopy. Trans. Amer. Microsc. Soc. *91*, 492—501 (1972).

Foissner W.: Wimpertiere im Silberpräparat. Ein verbessertes „trockenes" Verfahren zur Darstellung des Silberliniensystems. Mikrokosmos *4*, 122—126 (1967).

Foissner W.: Die Ausstoßung und Regeneration der Schleuderorganellen bei Ciliaten, beobachtet am Silberlinien- oder neuroformativen System. Mitteilungsbl. Mikrograph. Ges. Wien *3*, 30—40 (1968).

Foissner W.: Reaktionen des Silberliniensystems der Ciliaten auf mechanische Insulte. I. und II. Teil. Protoplasma *68*, 23—45 und 433—456 (1969).

Foissner W.: Das Silberliniensystem von *Uronema parduczi* sp. n. (Ciliata, Hymenostomatida, Uronematidae). Arch. Protistenk. *113*, 34—50 (1971).

Foissner W. und H. Schiffmann: Vergleichende Studien an argyrophilen Strukturen von vierzehn peritrichen Ciliaten. Protistologica *10*, 489—508 (1974).

Gliddon R.: Ciliary organelles and associated fibre systems in *Euplotes eurystomus* (Ciliata, Hypotricha). I. Fine structure. J. Cell Sci. *1*, 439—448 (1966).

Grim N. J.: Ultrastructure of pellicular and ciliary structures of *Euplotes eurystomus*. J. Protozool. *14*, 625—634 (1967).

Kahl A.: Urtiere oder Protozoa. I. Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria). In: Dahl F.: Die Tierwelt Deutschlands. G. Fischer, Jena 1930—1935, p. 1—886.

Klein B. M.: Über eine neue Eigentümlichkeit der Pellicula von *Chilodon uncinatus* Ehrbg. Zool. Anz. *67*, 1—2 (1926).

Klein B. M.: Das Silberlinien- oder neuroformative System der Ciliaten. Ann. Naturhist. Museums Wien *53*, 156—336 (1942).

Lom J. and J. O. Corliss: Observations on the fine structure of two species of the peritrich ciliate genus Scyphidia and on their mode of attachment to their host. Trans. Amer. Microsc. Soc. *87*, 493—509 (1968).

Pitelka D. R.: Fine structure of the silverline and fibrillar systems of three tetrahymenid ciliates. J. Protozool. *8*, 75—89 (1961).

Pitelka D. R. and F. M. Child: The locomotor apparatus of Ciliates and Flagellates: Relations between structure and function. In Hutner S. H.: Biochemistry and Physiology of Protozoa. Academic Press, N.Y. 1964, p. 131—198.

Puytorac P. de: Nouvelles observations sur l'argyrome des ciliés astomes, par l'emploi du microscope électronique. C. r. Ass. Anat. *46*, 675—679 (1959).

Ruffolo J. J. Jr.: Fine structure of cell development in *Euplotes*. Abstract of Ph. D. thesis, University of Iowa, Iowa City 1—5 (1972).

Satir B., C. Schooley, and P. Satir: Membrane fusion in a model system. Mucocyst secretion in *Tetrahymena*. J. Cell Biol. *56*, 153—176 (1973).

Small E. B. and D. S. Marszalek: Scanning electron microscopy of fixed, and frozen dried Protozoa. Science *163*, 1064—1065 (1969).

Small E. B., G. A. Antipa, and D. Marszalek: The cytological sequence of events in the binary fisson of *Didinium nasutum* (O. F. M.). Acta Protozool. *9*, 275—281 (1972).

Soltynska M. S.: Morphology and fine structure of *Chilodonella cucullulus* (O. F. M.). Cortex and cytopharyngeal apparatus. Acta Protozool. *9*, 49—82 (1971).

Tuffrau M.: Révision du genre Euplotes, fondée sur la comparaison des structures superficielles. Hydrobiologia *15*, 1—77 (1960).

Zagon I. S.: *Carchesium polypinum*: Cytostructure after Protargol silver impregnation. Trans. Amer. Microsc. Soc. *89*, 450—468 (1970).

Zagon I. S.: Scanning electron microscope observations on some life history stages of *Carchesium polypinum* (Ciliata, Peritrichia). J. Protozool. *78*, 317—328 (1971).