

(Naturkundliche Station der Stadt Linz; Leiter: Prof. Dr. Hans Grohs und Zoologisches Institut der Universität Salzburg; Vorstand: Prof. Dr. H. Adam)

## Beiträge zur Vitalfluorochromierbarkeit von Ciliaten

(Fluorescence microscopy of Ciliates *in vivo*)

Von Wilhelm FOISSNER<sup>1)</sup>, Anton LOSERT und Erich STEINER

(Manuskript eingelangt am 27. März 1975)

### Zusammenfassung

Es wurden 70 Fluorochrome auf ihre Eignung zur Vitalfluorochromierung von Ciliaten untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengefaßt worden. Die Primärfluoreszenz der Ciliaten war nur sehr gering. Die besten Färberesultate erzielten wir mit Acridinfarbstoffen, die eine unterschiedliche Fluoreszenz einiger Zellorganellen bewirken. Die Trichocysten verschiedener Ciliaten-Arten zeigten eine stark unterschiedliche Fluorochromierbarkeit. Eine Fluoreszenz der endo- und ectoplasmatischen Fibrillensysteme der Ciliaten konnte nicht induziert werden.

Der starke photodynamische Effekt der „guten“ Fluorochrome führt innerhalb weniger Minuten zu einer Schädigung und zum Absterben der Ciliaten. Der praktische Wert der Vitalfluorochromierung dürfte bei Ciliaten daher auf spezielle Fragestellungen beschränkt bleiben.

### Summary

70 fluorochromes were investigated for their aptitude in vital fluorochroming of ciliates. The results are summarized in table I. The auto-fluorescence of the ciliates was very insignificant. We obtained the best staining results with acridines that cause a differentiated fluorescence of various cell organelles. The trichocysts of different ciliate-species showed a remarkable different fluorescence. A fluorescence of the endo- and ectoplasmatic fibrillar systems of ciliates could be not induced.

The strong photodynamic effect of the most suitable fluorochromes causes a very heavy injury and the dead of the ciliates within a few minutes; accordingly, the vital fluorochroming of ciliates is probably restricted to special investigations.

### Einleitung

Über die differenzierte Darstellung bestimmter Zellorganellen bei Ciliaten durch Vitalfluorochromierung ist bisher nur wenig bekannt. Einige interessante Beobachtungen fielen im Zuge des Studiums der photodynamischen Erscheinung an (RAAB, 1900; METZNER, 1924; BECK *et al.*, 1937; BORCHERT *et al.*, 1950, 1951;

<sup>1)</sup> Wilhelm FOISSNER, Zoologisches Institut der Universität Salzburg, Akademiestraße 26, A-5020 Salzburg (Austria).

EPSTEIN *et al.*, 1962, 1965). So beobachteten METZNER (1924) und BORCHERT *et al.* (1950), daß die Sekundärfluoreszenz des Grundplasmas von *Paramecium* sehr vom Vitalitätszustand des Untersuchungsmaterials abhängig ist. BORCHERT *et al.* (1951) finden weiters, daß eine Indoxikation lebender *Paramecien* durch Acridinorange im Dunkeln dadurch verhindert wird, indem eine begrenzte Farbstoffmenge in den Mitochondrien gespeichert und unschädlich gemacht werden kann. Die für die photodynamische Erscheinung charakteristischen Effekte, besonders das schnelle Absterben vitalfluorochromierter oder vitalgefärbter Ciliaten (vgl. BECK *et al.*, 1937; ANDREOLI, 1964) bei Belichtung, beruhen nach METZNER (1924) und DRAWERT (1968) vor allem auf „Innenwirkung“. Für die Diskussion der chemisch-physikalischen Verhältnisse bei der Vitalfluorochromierung sei auf die zusammenfassenden Darstellungen von STOCKINGER (1964) und DRAWERT (1968) verwiesen.

Bei unseren Untersuchungen stand die Frage im Vordergrund, ob es möglich wäre, Cilien, Basalkörper, Schleuderorganellen und verschiedene licht- und elektronenmikroskopisch nachgewiesene Fibrillensysteme bei vitalfluorochromierten Ciliaten differenziert darzustellen. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei dem Silberliniensystem (KLEIN, 1926, 1942), dessen subpelliculäre Lage vor kurzem auch elektronenmikroskopisch bewiesen werden konnte (FOISSNER *et al.*, 1975a, b), geschenkt.

### Material und Methoden

Die zu den Versuchen verwendeten Ciliaten (*Chilodonella uncinata*, *Ctetoctema acanthocrypta*, *Cyrtolophosis mucicola*, *Dileptus anser*, *Lionotus* sp., *Euplotes patella*, *Paramecium bursaria*, *Tetrahymena pyriformis*, *Stylonychia mytilus*) wurden in Pflanzenaufgüssen gezüchtet und nach KAHL (1930—1935) bestimmt.

Zur Vitalfluorochromierung wurden die Infusorien mit den in destilliertem Wasser gelösten Farbstoffen auf einem Objektträger vermischt. In Vorversuchen hatte sich eine Endkonzentration der Farbstoffe von 1:20.000 als mehr oder weniger gut verträglich erwiesen, bei einer gleichzeitig ausreichend intensiven Blaulicht-Fluoreszenz. In Einzelfällen wurde auch mit anderen Farbstoffkonzentrationen gearbeitet (s. Tab. I). Einige weitere spezielle Methoden werden in den Ergebnissen besprochen.

Die Untersuchung erfolgte unmittelbar nach Zugabe der Farbstoffe mit einem REICHERT „Neozet“ mit adaptierter Beleuchtungseinrichtung „Binolux“. Lichtquelle: HBO 200 (Quecksilberdampf höchstdruckbrenner). Erregerfilter BG 12/6 mm (SCHOTT), Sperrfilter GG 9/1 mm + OG 1/1,5 mm (SCHOTT). Methode: Blau-Durchlicht-Hellfeldfluoreszenz.

### Ergebnisse

a) *Primärfluoreszenz der untersuchten Ciliaten*: In Übereinstimmung mit METZNER (1924) fanden wir bei unserem Untersuchungsmaterial eine kaum merkbare Primärfluoreszenz. PROWAZEK (1914) konnte mit Quarzoptik ebenfalls nur eine geringe UV-Fluoreszenz verschiedener Zellorganellen bei Ciliaten nachweisen. Die Zoochlorellen von *Paramecium bursaria* und die Ingestionsvakuolen von *Euplotes patella*, der kleine Algen fraß, fluoreszierten natürlich leuchtend rot. Ältere Nahrungsvakuolen von *E. patella* wiesen keine Primärfluoreszenz mehr auf. Die von PROWAZEK (1914) beobachtete rote und blaue Primärfluoreszenz einzelner Nahrungs-

vakuolen von *Colpidium* dürfte sich ebenfalls aus der Primärfluoreszenz aufgenommener Nahrungspartikel erklären.

*b) Die Toxizität der Farbstoffe und ihre photodynamische Wirksamkeit*

Über die Toxizität und photodynamische Wirksamkeit der verschiedenen Fluorochrome liegen teils sehr widersprüchliche Angaben vor (s. zusammenfassende Darstellung bei DRAWERT, 1968). Sie lassen sich am ehesten durch die nicht standardisierten Farbstoffe und Versuchsbedingungen erklären, da gerade die Giftigkeit und photodynamische Wirksamkeit von vielen Faktoren abhängig sind. Da die entsprechenden Befunde von DRAWERT (1968) und STOCKINGER (1964) bereits ausführlich diskutiert worden sind, greifen wir im folgenden aus unseren diesbezüglichen Ergebnissen nur einige repräsentative Beispiele heraus. Im übrigen sei auf Tabelle I verwiesen.

Ganz allgemein ließ sich feststellen, daß die Farbstoffe in der verwendeten Konzentration (1:20.000) bei diffusem Tages- oder Kunstlicht verhältnismäßig wenig toxisch waren. Die toxische Wirkung wurde jedoch durch die intensive Bestrahlung der Präparate während der mikroskopischen Beobachtung enorm erhöht und ist daher im wesentlichen durch den photodynamischen Effekt bedingt. Dabei ließ sich meist feststellen, daß die Tiere umso schneller abstarben, je besser sie mit einem bestimmten Fluorochrom anfärbbar waren (vgl. DRAWERT, 1968). Diese Farbstoffe (z. B. Euchrysin 3RX, Phosphin 3R) töteten die Tiere unter Lichtwirkung innerhalb weniger Sekunden bis Minuten; starke Bewegungsstörungen waren jedoch bereits unmittelbar nach Beginn der mikroskopischen Untersuchung feststellbar. Eine Ausnahme machten hier vor allem die Acridinfarbstoffe, bei denen trotz intensiver Fluoreszenz verschiedener Zellorganellen (s. Tab. I) der photodynamische Effekt und daher die Toxizität verhältnismäßig gering waren, besonders bei stark verdünnten Farblösungen (z. B. 1:100.000). Bewegungsstörungen der Tiere waren allerdings auch hier schon nach zwei bis drei Minuten mikroskopischer Beobachtung feststellbar. Nicht der erwähnten Regel entsprechend verhielten sich auch Malachitgrün und Rhodamin 6GD: obwohl beide Farbstoffe für die Ciliaten sehr stark toxisch wirkten, fand sich nur eine geringe Blaulicht-Fluoreszenz.

In Übereinstimmung mit DRAWERT (1968) konnte keine Korrelation zwischen der Fluoreszenzstärke eines Farbstoffes und seiner Giftigkeit bzw. photodynamischen Wirksamkeit festgestellt werden. So sind z. B. das stark fluoreszierende Fluorescein und Fluorescein-Na, die zu einer kaum merkbaren Fluoreszenz der Ciliaten führen, nur wenig toxisch. Gerade bei diesen Farbstoffen zeigt sich sehr schön die Abhängigkeit der Toxizität und photodynamischen Wirksamkeit vom Eindringungsvermögen der Farbe in die Zelle („Innenwirkung“). Stark giftig wirkt dagegen das Fluorescein-K, das zu einer schwachen Fluoreszenz des Zellkernes führt.

Eine Abhängigkeit der Toxizität und photodynamischen Wirksamkeit von dem sauren oder basischen Charakter eines Farbstoffes, wie eine solche verschiedentlich beobachtet worden ist (s. DRAWERT, 1968), konnten wir nicht feststellen. Zum Beispiel ist das basische Rhodamin 6GD bei Belichtung genauso stark toxisch wie das saure Phloxinrot. Ebenso waren in der Toxizität und photodynamischen Wirksamkeit der Farbstoffe bei den verschiedenen Ciliaten-Arten keine deutlichen Unterschiede feststellbar. Feinere Nuancen sind allerdings wegen des raschen Absterbens der Tiere schwer erkennbar.

Tabelle I

Zusammenfassende Darstellung der mit den verwendeten Farbstoffen erhaltenen Ergebnisse.

Bei jenen Farbstoffen, die nur eine sehr geringe Fluoreszenz der Ciliaten induzierten, wurde auf eine nähere Angabe der fluoreszierenden Strukturen verzichtet. Falls nicht anders angegeben, wurde mit einer Endkonzentration der Farbstoffe von 1.20.000 gearbeitet.

Farbstoff	Bezugsquelle	Toxizität unter Licht-einwirkung	Blau-licht-Fluoreszenz	Färbeergebnis
Acridingelb extra	1	+	+++	deutliche Zellkernfluoreszenz; Basalkörper schwach gelblich fluoreszierend
Acridinorange NO	1	+	+++	Zellkern, Cilien, Ingestionsvakuolen, Cytoplasma: grün-orange. Digestionsvakuolen: rot-orange. Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> : leuchtend orange. Trichocysten der anderen Ciliaten-Arten: schwache, weißlich-grüne Fluoreszenz. Konzentration von 1:100.000 liefert dieselben Ergebnisse.
Acridinrot	1	++	++	ähnlich Acridinorange NO; färbt etwas schwächer.
Acriflavin	1	++	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Auramin	1	+++	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Benzoflavin	1	+	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Berberinsulfat	2	++	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Brillantdianilgrün	1	+++	+++	differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> leuchtend gelb-orange. Trichocysten der anderen Ciliaten-Arten sehr gering fluoreszierend.
Brillantphosphin	1	+++	+++	differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Deutliche Fluoreszenz der Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> .
Coriphosphin O	1	++	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Cyanosin wasserl.	1	+++	+++	wenig differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Trichocysten bei allen Ciliaten-Arten schwach fluoreszierend. Cilien bei absterbenden Tieren leuchtend orange fluoreszierend.

*Eine mehr oder weniger differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz ergaben folgende Farbstoffe:* Capsinextrakt alkoholisch (Konzentration 1:2): 9, +++/+++; — Chromotropsäure-Natriumsalz: 1, +++/+++; — Morin: 3, +++/+++; — Pyronin G: 1, +++/+++; — Quinaerine-Hydrochlorid: 6, +++/+++; — Resorcinblau: 1, +/+; — Sulforhodamin: 1, +++/+++; — Trypoflavin: 3, +++/+++.

*Eine mehr oder weniger deutliche Zellkernfluoreszenz ergaben folgende Farbstoffe:* Aurophosphin: 2, +++/+++; — Bengalrosa: 1, +++/+++; — Fluorescein-K: 1, +++/+++; — Rhodamin 6 GD: 2, +++/+++.

*Eine sehr geringe Fluoreszenz ergaben folgende Farbstoffe:* Alizarinrot S: 3, +/+; — Alizarin-sulfosaures-Na: 1, +/+; — Aminotherephthalsäure: 1, +/+; — Azophloxin: 1, +/+; —

Bezugsquellen der Farbstoffe: 1 = „CHROMA“ (Stuttgart), 2 = „G. T. GURR“ (London), 3 = „GRÜBLER“, 4 = „MERCK“ (Darmstadt), 5 = „SAMPLE“ (England), 6 = „NBC“ (Cleveland), 7 = „H. HARMS“ (BRD), 8 = „BASF“ (BRD), 9 = eigene Herstellung.

Zeichenerklärung: + gering, ++ mäßig, +++ stark.

Farbstoff	Be- zugs- quelle	Toxizität unter Licht- einwirkung	Blau- licht- Fluo- reszenz	Färbeergebnis
Diamantphosphin	1	++	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Euchrisin 3RX	1	+++	++	deutliche Zellkernfluoreszenz.
Geranin G	1	+	++	Fluoreszenz der Basalkörper bei toten Tieren.
4-Methylumbelliferon	1	+	+	Nahrungsvakuolen schwach rot fluoreszierend.
Phloxinrot	1	+++	+++	wenig differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Basalkörper und Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> schwach rötlich fluoreszierend.
Phosphin 3R	2	+++	+++	Zellkern sehr stark weiß-grünlich fluoreszierend.
Primulin O	1	++	+++	deutlich differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> leuchtend rot-orange fluoreszierend.
RF-500	7	+	++	wenig differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> stark weißlich fluoreszierend.
Tartrazin	1	+	++	ähnlich Acridinorange NO! Differenzierung der einzelnen Zellorganellen aber nicht so deutlich.
Thiazolgelb G	3	++	++	wenig differenzierte Kern-Plasma-Fluoreszenz. Trichocysten von <i>C. acanthocrypta</i> leuchtend gelb fluoreszierend.
Thioflavin TCN	2	+++	+++	sehr kräftige Fluoreszenz des Zellkernes.
Uranin	1	+++	++	lebende Tiere zeigen keine Fluoreszenz; bei abgestorbenen <i>C. acanthocrypta</i> fluoreszieren die Trichocysten.

Brillantsulfoflavin: 1, +/+; — Chelidoniumextrakt: 1, +/+; — Chlorophyllextrakt wasserlöslich: 1, +/+; — Coerulein S: 1, +/+; — Congocorinth: 1, +/+; — Congorot: 1, +/+; — Cumarin: 4, +/+; — Dichlorfluorescein: 1, +/+; — Eosin gelblich: 4, +/+; — Erythrosin puriss, bläulich: 1, +/+; — Fluorescein-Na: 1, +/+; — Fluorescein: 2, +/+; — Janusgrün B: 1, +/+; — Lissamin-Rhodamin 200: 1, +/+; — Lissamin Rhodamin B 350: 5, +/+; — Magdalarot: 1, +/+; — Malachitgrün: 1, +/+/+; — Methylblau: 1, +/+; — Methyleneblau alkoholisch: 1, +/+; — Methylgrün 00: 3, +/+; — Neutralrot: 1, +/+; — Nilblausulfat: 1, +/+; — Orange G: 1, +/+; — Phloxinrhodamin: 1, +/+/+; — Ponceau 2R: 1, +/+; — Ponceau de Xylidine: 1, +/+; — Prune pure: 1, +/+; Rheumextrakt alkoholisch: 9, +/+/+; — Rhodamin FB: 8, +/+; — Rosolrot: 1, +/+; — Thionin: 1, +/+; — Thiazinrot: 1, +/+.

c) Intensität der Blaulicht-Fluoreszenz und Färbeergebnisse

Da wir die diesbezüglichen Ergebnisse ebenfalls übersichtlich in Tabelle I zusammengefaßt haben, können wir uns hier auf das Herausheben des Wesentlichen beschränken. Die Intensität der Blaulicht-Fluoreszenz war bei den untersuchten Ciliaten-Arten bei einem bestimmten Farbstoff praktisch gleich. Mit vielen Farbstoffen war jedoch nur eine sehr schwache Fluoreszenz der Ciliaten induzierbar. Eine Erhöhung der Farbstoffkonzentration führte bei diesen Fällen zwar meistens zu einer Intensitätszunahme der Blaulicht-Fluoreszenz, hatte dann aber auch einen sehr schnellen Tod der Tiere zur Folge. In allen Fällen war auch eine deutliche Intensitätszunahme der Fluoreszenz feststellbar, sobald die Tiere abstarben oder tot waren (vgl. BORCHERT *et al.*, 1950). Dies deutet sehr darauf hin, daß eine intensive Fluoreszenz in den meisten Fällen wohl eine Schädigung des Untersuchungsmaterials anzeigt.

Die besten Färbergebnisse erzielten wir mit den Acridinfarbstoffen, besonders mit Acridin NO. Diese Fluorochrome ergeben außergewöhnlich reizvolle und farbenprächtige Fluoreszenz-Bilder und ermöglichen eine differenzierte Darstellung verschiedener Zellorganellen (s. Tab. I). Unsere Erwartungen, mit Fluorochromen verschiedene Fibrillensysteme des Cortex der Ciliaten nachweisen zu können, haben sich leider nicht erfüllt. Auch die Cilien und ihre Basalkörper fluoreszieren nur bei absterbenden oder toten Tieren. Für die Darstellung des Zellkernes haben sich erwartungsgemäß eine ganze Reihe von Fluorochromen als geeignet erwiesen (s. Tab. I).

Ein sehr überraschendes Ergebnis war jedoch die unterschiedliche Fluorochromierbarkeit der Trichocysten bei den verschiedenen Ciliaten-Arten. Die Trichocysten von *Ctadoctema acanthocrypta* konnten mit einigen Farbstoffen sehr gut fluorochromiert werden (s. Tab. I). Dagegen waren die Trichocysten von *Paramecium*, *Lionotus* und *Dileptus* mit diesen Farbstoffen überhaupt nicht oder nur sehr schwach fluorochromierbar. Eine Fluoreszenz der Protrichocysten wurde in keinem Fall beobachtet.

d) Kombinationsfärbungen

Kombinationsfärbungen mit verschiedenen Fluorochromen (z. B. Acridinorange NO + Primulin O 1:1) brachten keine verbesserte Darstellung einzelner Zellorganellen.

e) Fluorochromierung eingetrockneter Ciliaten

Einen Teil der Farbstoffe versuchten wir auch an eingetrockneten (entquollenen) Ciliaten, und zwar vor allem in Hinsicht auf eine Darstellungsmöglichkeit des Silberliniensystems (vgl. KLEIN, 1942). Hierzu wurden die Ciliaten auf einem Objektträger luftgetrocknet und danach mit dem entsprechenden Farbstoff überschichtet und einige Minuten gefärbt. Die mikroskopische Untersuchung erfolgte nach Auflegen eines Deckglases in dieser Farblösung. Die Färbergebnisse waren denen der Vitalfluorochromierung recht ähnlich. Zum Beispiel waren mit den Acridinfarbstoffen und Coriphosphin O differenzierte Kern-Plasma-Färbungen und mit Brillantdianilgrün, RF 500 und den Acridinfarbstoffen bei *C. acanthocrypta* gute Trichocysten-Färbungen zu erzielen. Eine Fluorochromierung des Silberliniensystems wurde nicht beobachtet.

### Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse lassen es wenig aussichtsreich erscheinen, die Vitalfluorochromierung bei Ciliaten zu den üblichen systematischen und physiologischen Untersuchungen einzusetzen. Dies ist vor allem auf die starke photodynamische Wirksamkeit der „guten“ Fluorochrome zurückzuführen, die innerhalb sehr kurzer Zeit eine Schädigung und Abtötung des Untersuchungsmaterials verursachen. Die photodynamische Wirkung kann unter anaeroben Bedingungen zwar weitgehend verhindert werden (EPSTEIN *et al.*, 1962), jedoch ist diese Forderung in der Praxis kaum erfüllbar, da durch die Zugabe reduzierender Substanzen zur Kulturflüssigkeit oder einen andersartig bewirkten Sauerstoffentzug ebenfalls Veränderungen des Untersuchungsmaterials erwartet werden müssen. Jedenfalls glauben wir, daß aus vitalfluorochromierten Ciliaten vorläufig keine weitgehenden physiologischen oder morphologischen Folgerungen gezogen werden können, da man bei solchen Untersuchungen stets mit unkontrollierbaren Artefakten zu rechnen hat.

Die Anwendung der Fluoreszenzmikroskopie wird bei Ciliaten also weiterhin auf spezielle Fragestellungen, wie z. B. den Antikörpernachweis (BEALE *et al.*, 1957, 1962) und auf das Austesten von Antioxidantien (EPSTEIN *et al.*, 1965) beschränkt bleiben. Die differenzierte Darstellung verschiedener Zellorganellen und die Farbenprächtigkeit der Bilder nach Färbung mit Acridinfarbstoffen weisen auf die Möglichkeit einer Verwendung für den Lehr- und Unterrichtsfilm hin.

Aussichtsreich erscheinen auch weitere Untersuchungen über die Fluorochromierbarkeit der Trichocysten. Die stark unterschiedliche Fluorochromierbarkeit dieser Organellen bei den verschiedenen Ciliaten-Arten weist auf differenzierte chemische Unterschiede hin, die vielleicht für die Großsystematik der Ciliaten von Bedeutung sein könnten.

### Literatur

- ANDREOLI A. M. P.: Effects of vital dyes on *Paramecium caudatum*. Riv. Biol. 57, 67—75 (1964).
- BEALE G. H. und H. KACSER: Studies on the antigens of *Paramecium aurelia* with the aid of fluorescent antibodies. J. gen. Microbiol. 17, 68—74 (1957).
- BEALE G. H. und M. R. MOTT: Further studies on the antigens of *Paramecium aurelia* with the aid of fluorescent antibodies. J. gen. Microbiol. 28, 617—623 (1962).
- BECK L. V. und A. C. NICHOLS: Action of fluorescent dyes on *Paramecia*, as affected by pH. J. cellul. comp. Physiol. 10, 123—132 (1937).
- BORCHERT R. und J. G. HELMCKE: Bemerkungen zur Fluorochromierung lebender und toter Zellen mit Acridinorange. Naturwiss. 37, 565 (1950).
- BORCHERT R. und J. G. HELMCKE: Beobachtung eines photosensibilisierenden Effekts von Akridinorange bei *Paramecium caudatum*. Naturwiss. 38, 48 (1951).
- DRAWERT H.: Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen und Gewebe. Protoplasmatologia II D 3, 1—749 (1968).
- EPSTEIN S. S. und M. BURROUGHS: Some factors influencing the photodynamic response of *Paramecium caudatum* to 3,4-Benzopyrene. Nature 193, 337—338 (1962).
- EPSTEIN S. S., I. B. SAPOROSCHETZ, M. SMALL, W. PARK und N. MANTEL: A simple bioassay for antioxidants based on protection of *Tetrahymena pyriformis* from the photodynamic toxicity of benzo ( $\alpha$ ) pyrene. Nature 208, 655—658 (1965).

FOISSNER W. und P. SIMONSBERGER: Vergleichende licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an trocken präparierten Silberliniensystemen von Ciliaten (Protozoa). Mikroskopie (1975a; im Druck).

FOISSNER W. und P. SIMONSBERGER: Der elektronenmikroskopische Nachweis der subpelliculären Lage des Silberliniensystems bei *Colpidium colpoda* (Ciliata, Tetrahymenidae). Protoplasma (1975b; im Druck).

KAHL A.: Urtiere oder Protozoa. I. Wimpertiere oder Ciliata. In: Die Tierwelt Deutschlands (F. DAHL, Hgb.). Fischer, Jena 1930—1935.

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).

METZNER P.: Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung. III. Mitteilung: Über die Bindung der wirksamen Farbstoffe in der Zelle. Biochem. Z. 143, 498—523 (1924).

PROWAZEK S. v.: Über Fluoreszenz der Zellen. Kleinwelt 6, 30—32, 37—40 (1914).

RAAB O.: Über die Wirkung fluorescirender Stoffe auf Infusorien. Z. Biol. 39, 524—546 (1900).

STOCKINGER L.: Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung tierischer Zellen. Protoplasmatologia II D 1, 1—96 (1964).