

Bild 1: *Paramecium*, Habitus. Differential-Interferenz-Kontrast.

Klaus Hausmann
Wilhelm Foissner

Das Pantoffeltierchen aus dem Heuaufguß gibt es nicht!

Ein Irrtum, der Jahrzehnte überdauert hat

Der folgende Bericht mag die Gemüter eingefleischter Mikroskopiker und Tümpeler in Aufruhr versetzen und zu Leserbriefen mit anderslautenden Beobachtungen führen. Unsere Autoren rechnen fast mit diesem Aufruhr und würden sich außerordentlich freuen, wenn aus der Leserschaft Hinweise für „die“ Methode zur Encystierung von Paramecien mitgeteilt würden. Sie versprechen, jedem Hinweis mit der gebührenden Akribie nachzugehen. Sollte sich tatsächlich eine reproduzierbare Methode zur Induktion von Encystierung bei *Paramecium* finden, wäre das eine absolute Sensation. Vorerst sind die Autoren jedoch äußerst skeptisch und behaupten: Das Pantoffeltierchen *Paramecium* kann sich nicht encystieren.

Der Heuaufguß ist eine bekannte und sehr beliebte Materialquelle für Mikroskopiker. Schon LEEUWENHOEK untersuchte ihn und beschrieb ei-

nige darin vorkommende Organismen in seinen Briefen an die britische Royal Society. Er publizierte in diesen Briefen auch die ersten Zeichnungen eines Pantoffeltierchens.

Aufgüsse oder „Infusionen“ als Quelle für „Urtierchen“ wurden schließlich so bekannt, daß LEDERMÜLLER im Jahre 1760 nahezu alle mikroskopisch kleinen Organismen als „Infusorien“ zusammenfaßte. Als Gipfel dieser Entwicklung trat EHRENBURG mit seinem Buch „Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen“ (1838) auf. Der Terminus „Infusorien“ ist auch heute als Trivialbezeichnung vielfach in Gebrauch, hat aber keine nomenklatorische Gültigkeit mehr.

Erst um die Jahrhundertwende begann die wissenschaftliche Erforschung der Heuaufgüsse, die aber bald wieder eingestellt wurde, so daß nur wenige verwertbare Arbeiten vorliegen. Die wichtigste ist vielleicht jene von WOODRUFF (1912). Er machte sorgfältige Experimente und

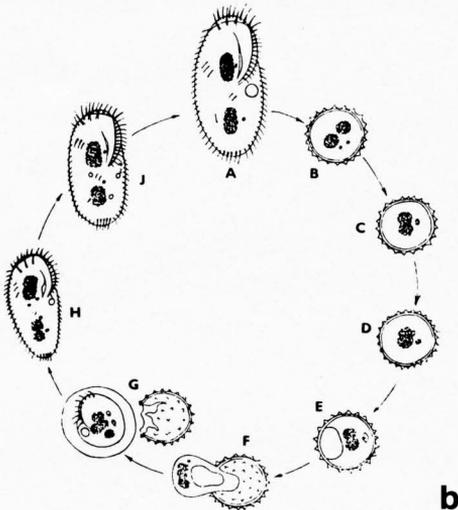


Bild 2: a Cysten von *Acanthamoeba*. (Aus HAUSMANN, 1985) b Lebenszyklus des Ciliaten *Oxytricha hymenostoma*: A aktive Form; B–D Cyste; E beginnende Excystation; F Schlüpfen aus der Ectocyste; G Ciliat in der Endocyste; H excystierter Ciliat; J Rückkehr zur aktiven Ausgangsform (Aus POMRJASKINSKAJA, 1940).

kam zu dem Schluß: "Ordinary hay added to tap water will not produce an infusion which is productive of a sufficient number of representative protozoan forms to make it profitable for the study of protozoan sequence." („Normales Heu, das in Leitungswasser gegeben wird, führt nicht zu einem Aufguß, der eine genügend große Anzahl repräsentativer Protozoen hervorbringt, um damit die Abfolge (= Sukzession) verschiedener Einzeller untersuchen zu können.“) Heu und

Leitungswasser ergaben in keinem der Experimente Pantoffeltierchen. Reichliches Wachstum von diesen und anderen Infusorien trat immer nur dann auf, wenn die Aufgüsse mit Wasser, das bereits diese Einzeller beherbergte, geimpft wurden.

Das deckt sich genau mit unseren Erfahrungen. Als wir im Alter von 14–15 Jahren als Liebhabermikroskopiker mit Heu- und anderen Aufgüssen arbeiteten, die mit Leitungswasser ange-setzt waren, war es jedesmal wieder eine Enttäuschung, keine Paramecien zu finden. Anders war es – zumindest bisweilen –, wenn anstelle des Leitungswassers Tümpelwasser verwendet wurde.

Warum werden dann Heuaufguß und Pantoffeltierchen (Bild 1) in der Literatur immer wieder in einem Atemzug genannt? Es ist die weitverbreitete, aber ganz unbewiesene Absicht, die sich übrigens auch bei STEHLI (1963, p. 48) und VATER-DOBBERSTEIN/HILFRICH (1982, p. 62) findet, daß Paramecien trockenresistente Überdauerungsstadien, sogenannte Cysten, bilden können. Bei günstigen Lebensbedingungen soll das Pantoffeltierchen aus diesem encystierten Zustand sozusagen erwachen und wieder aktiv werden können.

Tatsächlich ist die Fähigkeit, solche Überdauerungsstadien zu bilden, bei den verschiedensten Protisten weit verbreitet (Bild 2). Für *Paramecium* ist heute jedoch allgemein anerkannt, daß es keine Cysten bildet. Der Nachweis hierfür kann nur „via negationis“ erfolgen. Wie alle negativen Beweise ist auch dieser nur indirekt zu führen, und zwar mit folgenden Argumenten:

1. Verschiedene *Paramecium*-Arten werden seit beinahe einem Jahrhundert in der ganzen Welt intensiv erforscht und in zahlreichen Laboratorien kultiviert. Ein vertrauenswürdiger Bericht über Cystenbildung liegt nicht vor (CORLISS & ESSER, 1974).

2. Die Untersuchung einiger hundert Bodenproben, die auch die Grasnarbe enthielten, ergab in keinem Fall Paramecien (FOISSNER, im Druck). Anderslautende Befunde müssen als Fehlbestimmungen oder Verunreinigungen interpretiert werden. Vielleicht wurden manchmal *Colpoda*-Arten, die im Boden und auch in Heuaufgüssen sehr häufig sind, für Paramecien gehalten. Im Umriß haben sie zumindest eine entfernte Ähnlichkeit mit ihnen (Bild 3).

3. In Hunderten von untersuchten ephemeren Kleingewässern (Regenwassertümpel, Weidetümpel, Wegpfützen, etc.) wurden nie Paramecien gefunden (DINGFELDER 1962, FOISSNER 1980). DINGFELDER beobachtete zwar vereinzelt zwei Arten, vermutet aber, daß sie durch Bewässerungswasser oder fliegende Wasserinsekten eingeschleppt wurden.

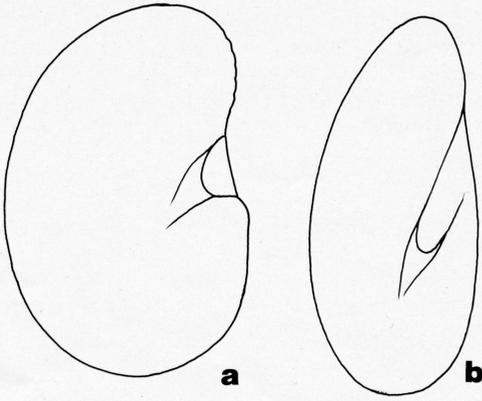


Bild 3: Umrißzeichnungen der Ciliaten *Colpoda cucullus* a und *Paramecium trichium* b. Bei flüchtigem Hinsehen können diese beiden Ciliaten aufgrund ihrer ähnlichen Umrisse und Dimensionen miteinander verwechselt werden.

Aus diesen Beobachtungen muß der Schluß gezogen werden, daß *Paramecium* tatsächlich keine Cysten bildet. Somit sind Anleitungen für die Cystenbildung, wie sie z. B. in VATER-DOBBERSTEIN & HILFRICH (1982) wiedergegeben werden, zum Scheitern verurteilt. Somit möchten wir noch einmal betonen: *Paramecium* kann nur über aktive, frei umherschwimmende Formen in frisch angesetzte Wasserproben übertragen werden!

STREBLE und KRAUTER (1973) schreiben über Heuaufgüsse ganz richtig: „Außerdem ist es ein Aberglaube, in solchen Aufgüssen stellten sich Pantoffeltiere und andere größere Ciliaten stets von selbst ein. Man muß den Aufguß mit Tümpel- oder Aquariumwasser impfen oder ihn von vornherein mit solchem Wasser ansetzen.“

Die Unfähigkeit, Cysten zu bilden, tritt auch bei einigen anderen häufigen Süßwasserciliaten (*Colpidium*, die meisten Arten des *Tetrahymena-pyriiformis*-Komplexes) und bei fast allen marinen Protisten auf (FENCHEL, 1969). Das in terrestrischen Faunenlisten häufig angeführte *Colpidium campylum* ist offensichtlich eine *Colpoda*-Art, vermutlich *Colpoda fastigata*, mit dem es im Umriß weitgehend übereinstimmt (Bild 4). Da die Kunst der richtigen Determination immer mehr verloren geht, sind solche krassen Fehlbestimmungen nicht verwunderlich.

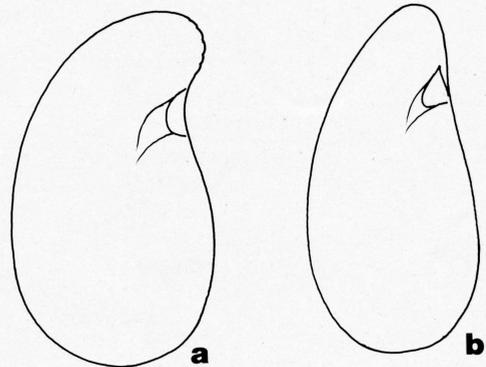
Was hat es nun überhaupt mit Cysten bei Protozoen auf sich? Viel weiß man nicht darüber. An dieser Stelle sei soviel zusammengefaßt: Cysten können obligatorische Schritte im Verlauf des Lebenszyklus sein. Als Beispiel ist der Lebenskreis des Rhizopoden *Vampyrella lateritia* abgebildet (Bild 5) (HÜLSMANN, 1985). Hier gibt es neben trockenresistenten Dauercysten sogenannte Verdauungs- und Teilungscysten. Ver-

mehrungscysten sind bei verschiedenen Einzelgruppen verwirklicht, so z. B. bei gewissen Ciliaten (Bild 6) und bei Sporozoen. Zum anderen gibt es Cystenstadien, während derer bestimmte Sexualprozesse ablaufen, z. B. bei der Autogamie des Sonnentierchens *Actinophrys*. Cystenbildungen können schließlich Reaktionen auf verschlechterte Umweltbedingungen darstellen. Derartige Dauerstadien, an die man beim Schlagwort Cysten wohl als erstes denkt, werden leicht durch Wind, Spritzwasser oder durch Trägerorganismen, wie beispielsweise Vögel, verbreitet. Die encystierten Organismen bleiben zum Teil 10–15 oder sogar noch mehr Jahre lang lebensfähig.

Bodenprotisten, die in einem Biotop mit rasch wechselndem Wassergehalt leben, en- und excystieren sich besonders leicht. Bei diesen Formen sind die Cystenwände wegen der Trockenperiode sehr stabil und impermeabel. Das gleiche gilt auch für Übertragungscysten von parasitischen Einzellern. Dagegen gibt es andere Protisten, die zwar schlechte Umweltbedingungen, zum Beispiel Nahrungsmangel, in Cysten überleben können, bei denen aber die Cysten im Wasser verbleiben müssen und nicht austrocknen dürfen (z. B. *Didinium*). Schließlich können gewisse Einzeller verschiedene Cystensorten ausbilden: dünnwandige temporäre Cysten, die ein schnelles Ausschlüpfen ermöglichen, und dickwandige Ruhecysten (= Dauercysten) für längeres Überdauern (Bild 7).

Die Cystenwände können verschiedene Schichten aufweisen: man spricht von Ento- und Exocysten. Bisweilen zeigen die Cysten außen eine auffällige Skulpturierung (Bild 8). In einigen Fällen ist die chemische Zusammensetzung der Wandungen genauer analysiert worden. Als häufiges Material fand sich Chitin. Zellulose wurde ebenfalls, aber nicht so häufig, festgestellt. Bei

Bild 4: Umrißzeichnungen der Ciliaten *Colpoda fastigata* a und *Colpidium campylum* b. Auch hier ist bei flüchtiger Betrachtung eine Verwechslung der Tiere möglich.



bestimmten Formen gibt es Silicatplättchen oder massive Kieselsäurecysten. Der Vorgang der Cystenwandbildung ist in vielerlei Hinsicht noch unverstanden.

Über die Mechanismen, die bei der Encystierung einleitend wirken, weiß man ebenfalls recht wenig. Man hat zwar herausgefunden, daß, um nur einige Faktoren zu nennen, Temperaturänderungen, Wasserentzug, pH-Änderungen, niedriger und hoher Sauerstoffgehalt, Anhäufung von Stoffwechselendprodukten, die hohe Populationsdichte sowie Nahrungsmangel und -überschuß die Encystierung in jeweils bestimmten Fällen begünstigen mögen. Über die internen Faktoren, die eine Encystierung einleiten und steuern, weiß man jedoch kaum etwas.

Exystierung kann ebenfalls durch verschiedenste externe Bedingungen initiiert werden. Bekannt sind Erneuerung des Kulturmediums, Zugabe von hyper- oder hypotonischen Lösungen, Zugabe bestimmter organischer Verbindungen zum Kulturmedium und Zugabe von Bakterien. Da also die Excystierung durch eine Vielzahl externer Faktoren eingeleitet werden kann, muß trotz der Cystenwände ein Informationsfluß ins Cysteninnere gegeben sein.

Die Auflösung der Cystenwand während der Excystierung soll durch die Sekretion entsprechender Enzyme erfolgen. Vielfach findet sich aber auch in der Cystenwand ein präformiertes Operculum, durch das der Organismus ausschlüpfen kann (Bilder 8 b, 9).

Kehren wir zurück zum *Paramecium*. Nachdem wir nun, wie wir hoffen, nachdrücklich genug betont haben, daß man mit Hilfe von reinen Heu-aufgüssen keine Paramecien erhalten kann, wollen wir allerdings auch nicht verschweigen, wie man sie tatsächlich bekommt. Eine 100%ige Quelle dafür ist der *Sphaerotilus*-Rasen („Abwasserpilz“) stark verschmutzter Fließgewässer. Weniger zuverlässig sind das häufig angeführte Tümpel- und Aquarienwasser, da *Paramecium* hier oft in nur sehr geringer Dichte – wenn überhaupt – vorkommt, und es sehr vom Zufall abhängt, ob man Tiere mit in den Aufguß bringt oder nicht. Wir gehen für unsere Praktika so vor: In eine größeren Petrischale werden etwa 50 ml Leitungswasser und 2–3 zerdrückte Weizenkörner gegeben. (Die Weizenkörner dienen als Nährstoffquelle für Bakterien, die ihrerseits von bakterienfressenden Einzellern phagocytiert werden.) Dazu gibt man einen Teelöffel voll *Sphaerotilus*-Rasen aus dem schwach durchströmten Uferbereich (nicht aus der stark durchströmten freien Welle, hier können sich die Paramecien nämlich nicht halten) eines stark verunreinigten Flusses oder Baches. Nach wenigen Tagen tritt eine Massenvermehrung verschiedenster Infusorien ein. Darunter finden sich auch stets diverse

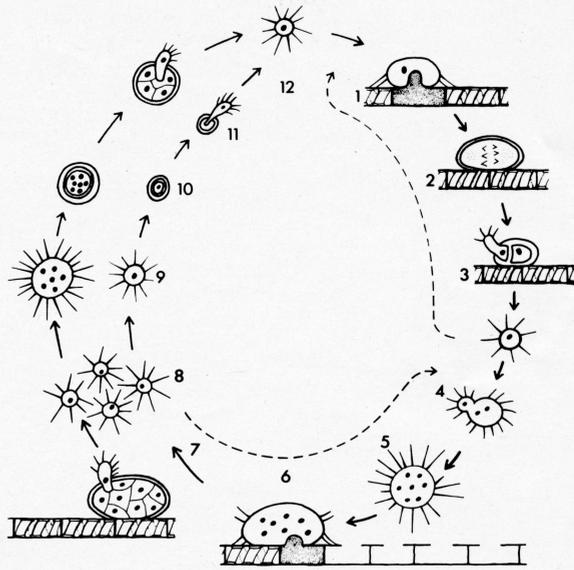


Bild 5: Entwicklungskreislauf der Rhizopoden *Vampyrella lateritia*: Die aus Dauerzysten (11) oder Verdauungs- und Teilungscysten (3) ausschließenden Schwärmer (12) attackieren einzelne Zellen von Grünalgen und encystieren sich unmittelbar darauf wieder (1). In diesen Cysten erfolgen die Verdauung der Nahrung und die anschließende Zellteilung (2). Bei entsprechend hoher Populationsdichte entstehen mehrkernige Fusionsplasmodien (4, 5), die sich in ihrem Verhalten kaum von Einzelzellen unterscheiden (6, 7, 8; vgl. mit 1, 2, 3). Bei Nahrungsmangel werden ein- oder mehrkernige Dauerzysten (10) gebildet, aus denen bei Eintritt günstiger Bedingungen wiederum aktive Schwärmer entlassen werden (11). (Aus HÜLSMANN, 1985.)

Paramecium-Arten. Von dieser Rohkultur kann man die Tiere dann in entsprechende Kulturmedien überimpfen (z. B. Weizenkorn-Methode oder Rübenschnitzel-Methode nach VATER-DOBBERSTEIN & HILFRICH, 1982) und weiterzüchten.

In Anbetracht der Unfähigkeit, Cysten zu bilden, muß es verwundern, daß *Paramecium* so weit verbreitet ist, nämlich auf der ganzen Welt. Wie verschiedene Autoren zeigen konnten (z. B. MAGUIRE & BELK 1967), spielen Tiere (Wasserinsekten, Schnecken) bei der Verbreitung vermutlich eine wichtige Rolle. In Anbetracht des hohen geologischen Alters, das die Ciliaten besitzen, ist es nicht sonderlich erstaunlich, daß viele Arten kosmopolitisch verbreitet sind, besonders, wenn sie, wie *Paramecium*, euryök sind. Andererseits wissen wir heute aber auch, daß durchaus nicht alle Protozoen Kosmopoliten oder gar Ubiquisten sind (FOISSNER, im Druck).

Um noch einmal an den eigentlichen Anlaß dieses Berichtes zu erinnern, möchten wir abschließend CORLISS & ESSER (1974) aus ihrem Artikel über die Rolle von Cysten bei Einzellern zitieren:

ren: "Recall that *Paramecium*, though widely dispersed, has no cysts of any kind!" („Denkt daran, daß *Paramecium*, obgleich weit verbreitet, keinerlei Art von Cysten aufweist!“) Übrigens: Eine ganz vergleichbare Problematik gibt es hinsichtlich *Amoeba proteus*. Obgleich diesem bekannten Einzeller immer wieder die Fähigkeit zur Cystenbildung zugeschrieben wird, wurde bislang nie eine Cyste gefunden, weder in der freien Natur noch in Laborkulturen.

Literaturhinweise:

BEERS, C. D.: Excystment in the ciliate *Bursaria truncatella*. Biol. Bull. **94**, 86–98 (1948).
 CORLISS, J. O., and S. C. ESSER: Comments on the role of the cyst in the life cycle and survival of free-living protozoa. Trans. Amer. Microsc. Soc. **93**, 578–593 (1974).
 DINGFELDER, J. H.: Die Ciliaten vorübergehender Gewässer. Arch. Protistenk. **105**, 509–658 (1962).
 EHRENBERG, C. G.: Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838.
 FENCHEL, T.: The ecology of marine microbenthos. IV. Structure and function of the benthic ecosystem, its chemical and physical factors and the microfauna communities with special references to the ciliated protozoa. Ophelia **6**, 1–182 (1969).
 FOISSNER, W.: Artenbestand und Struktur der Ciliatenzönosen in alpinen Kleingewässern (Hohe Tauern, Österreich). Arch. Protistenk. **123**, 99–126 (1980).
 FOISSNER, W.: Soil protozoa: Fundamental problems, ecological significance, adaptation, indicators of environmental quality. Progress in Protozoology, in press.
 HAUSMANN, K.: Protozoologie. Thieme Verlag Stuttgart, 1985.
 HÜLSMANN, N. und INST. WISS. FILM: Entwicklung und Ernährungsweise von *Vampyrella lateritia* (Rhizopoda). Film C 1522 des IWF, Göttingen 1983. Publikation von N. HÜLSMANN, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 17, Nr. 16/C 1522 (1985).
 MAGUIRE, B., and D. BELK: *Paramecium* transport by land snails. J. Protozool. **14**, 445–447 (1967).
 POMRJASKINSKAJA, N. A.: Observations on the cysts of the hypotrichous ciliate *Oxytricha hymenostomata*. Scient. Trans. Herzen. Leningr. State Pedag. Inst. **30**, 93–132 (1940).
 STEHLI, G.: Mikroskopie für Jedermann. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart, 1963.
 STREBLE, H. und D. KRAUTER: Das Leben im Wassertropfen. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart 1973 (1985).
 VATER-DOBBERSTEIN, B., und H.-G. HILFRICH: Versuche mit Einzellern. Experimentierbuch für Lehrer und Schüler. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart, 1982.
 WOODRUFF, L. L.: Observations on the origin and sequence of the protozoan fauna of hay infusions. J. exp. Zool. **12**, 203–264 (1912).

Verfasser: Prof. Dr. K. Hausmann, Institut für Allgemeine Zoologie, Freie Universität Berlin, Arbeitsgruppe Protozoologie, Königin-Luise-Straße 1–3, 1000 Berlin 33 und Univ. Doz. Dr. W. Foissner, Zoologisches Institut, Universität Salzburg, Akademiestraße 26, A-5020 Salzburg, Österreich

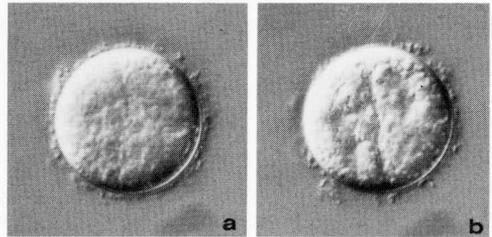


Bild 6: Ruhecyste (a) und Teilungscyste (b) des colpodiden Ciliaten *Groβglockneria acuta*.

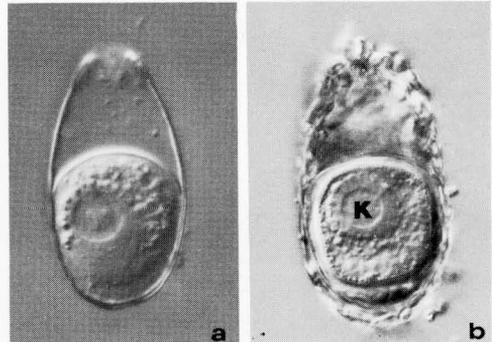


Bild 7: Dünnwandige temporäre Cyste der Testacee *Euglypha laevis* (a) und dickwandige Dauercyste der Testacee *Centropyxis elongata* (b). In b ist der Zellkern (K) gut sichtbar.

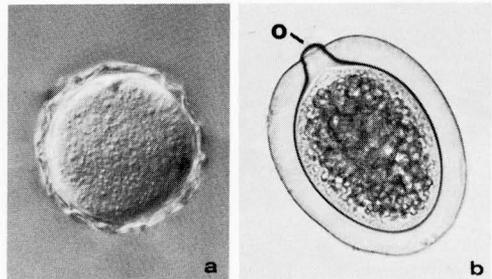


Bild 8: a. Ruhecyste des hypotrichen Ciliaten *Gastrostyla steini* mit deutlich skulpturierter Wandung. b. Ruhecyste des peniculinen Ciliaten *Frontonia* sp. mit extrem dicker Wandung und Operculum (O).

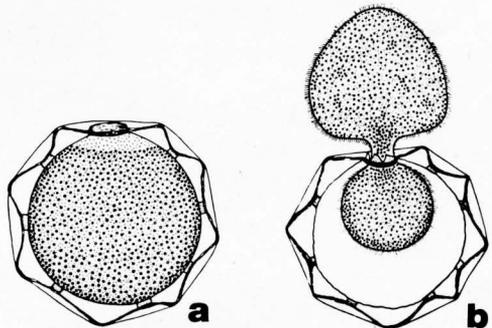


Bild 9: a. Cyste des Ciliaten *Bursaria truncatella* mit kompliziert gestalteter Wandung und Operculum. b. Ausschlüpfvorgang. (Aus BEERS, 1948).