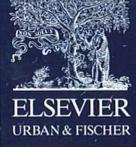


II-90372/100,3



MIKROKOSMOS

100. Jahrgang

◆ www.elsevier.de/mikrokosmos

◆ ISSN 0026-3680

◆ Heft 3, Mai 2011



Mitteilungsorgan für den Arbeitskreis Mikroskopie im Freundeskreis Botanischer Garten Köln, Arbeitskreis Mikroskopie im Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen, Arbeitskreis Rhein-Main-Neckar, Berliner Mikroskopische Gesellschaft e.V., Mikroskopie-Gruppe Bodensee, Mikroskopischer Freundeskreis Göppingen im Naturkundeverein Göppingen e.V., Mikrobiologische Vereinigung im Naturwissenschaftlichen Verein zu Hamburg, Mikrobiologische Vereinigung München, Mikroskopische Gesellschaft Wien, Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft der Naturwissenschaftlichen Vereinigung Hagen e.V., Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Hannover, Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Mainfranken, Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Stuttgart, Mikroskopische Gesellschaft Zürich, Tübinger Mikroskopische Gesellschaft e.V.

Inhalt

Artikel

- 129** Das Bakterium *Holospora* im Ciliaten *Paramecium* – Symbiont oder Parasit?
Martin Kreutz
- 136** Biomechanik von Flugsamen
Teil 7: Zur Windverbreitung der Diaspore des Wiesenbocksbarts,
Tragopogon orientalis
Werner Nachtigall
- 140** Vom Bilderstapel in die dritte Dimension:
3D-Mikroaufnahmen mit PICOLAY
Eberhard Raap und Heribert Cypionka
- 145** Toxine der Cyanobakterien
Hermann Bothe
- 154** Anatomie und Biologie von Hydrozoa (Cnidaria)
Hydromedusen
Thomas Fromm
- 163** Mikroskopische Beobachtungen an Wurzelknöllchen und ihren symbiontischen Bakterien
Siegfried Hoc
- 167** Guten Appetit! – Amöbe labt sich an Ciliaten
Wilhelm Foissner
- 169** Weiterentwicklung einer Mikroblitzleinrichtung
Ralf Schmidt
- 175** Natriumchlorid: Konventionell kristallin gegittert, aber auch quasi explosiv und schließlich gar amorph
Klaus Hausmann
- 183** Kristalline Welt – Es darf auch mal Hellfeld sein
Bernd Walz

Rubriken

- 135**
Mikro-Cartoon
- 139**
Mikro-Ufo
- 161, 173, 186, 187**
Kurze Mitteilungen
- 162**
Nachrichten
- 168, 174, 188, 189**
Buchbesprechungen
- 189**
Mikro-Markt
- 190**
Mikro-Dialoge
- 191**
Aus den
Arbeitsgemeinschaften

Das jeweils neueste Inhaltsverzeichnis können Sie jetzt auch kostenlos per e-mail (ToC Alert Service) erhalten.
Melden Sie sich an: www.elsevier.de/mikrokosmos

Indexed in: Bibliography and Index of Geology (also known as GeoRef)/Biological Abstracts/Chemical Abstracts/Excerpta Medica/Scopus/Zoological Records

Mehr Informationen zum MIKROKOSMOS und anderen Zeitschriften finden Sie im Internet:
www.elsevier.de

Umschlagabbildung: Karpfenlaus *Argulus* in anaglyphischer 3D-Darstellung ().
Siehe Artikel E. Raap und H. Cypionka, S. 140–144.

Das Bakterium *Holospora* im Ciliaten *Paramecium* – Symbiont oder Parasit?

Martin Kreuzt

Eines der am häufigsten mikroskopierten Objekte überhaupt ist sicherlich *Paramecium caudatum*. Jeder Mikroskopiker kennt diesen Ciliaten und sein Innenleben. Abweichungen fallen sofort auf. So wurde ich auf Exemplare aufmerksam, welche einen circa 20–50 µm großen, hochbrechenden, rundlichen Körper im vorderen Körperdrittel aufwiesen. Es hatte den Anschein, als wenn diese Exemplare eine Nahrungsvakuole enthalten, welche mit dicht gepackten, spindelförmigen Bakterien gefüllt ist, während alle anderen Nahrungsvakuolen in diesen Zellen unauffällig waren (Abb. 1). Bei genauerer Untersuchung dieser Exemplare stellte sich jedoch heraus, dass die wahren Verhältnisse ganz anders liegen.

Um diesem interessanten Phänomen auf die Spur zu kommen, habe ich die betroffenen *Paramecien* isoliert, gequetscht und bei hoher Vergrößerung untersucht. Tatsächlich befanden sich in der vermeintlichen Vakuole sehr große Bakterien mit etwa 15 µm

Länge (Abb. 2). Es war nur stets eine dieser dicht gepackten Vakuolen vorhanden. In allen anderen Vakuolen dieser Exemplare fehlten diese. Es war also schwer vorstellbar, dass es sich hier um selektiv aufgenommene Nahrung handelte.

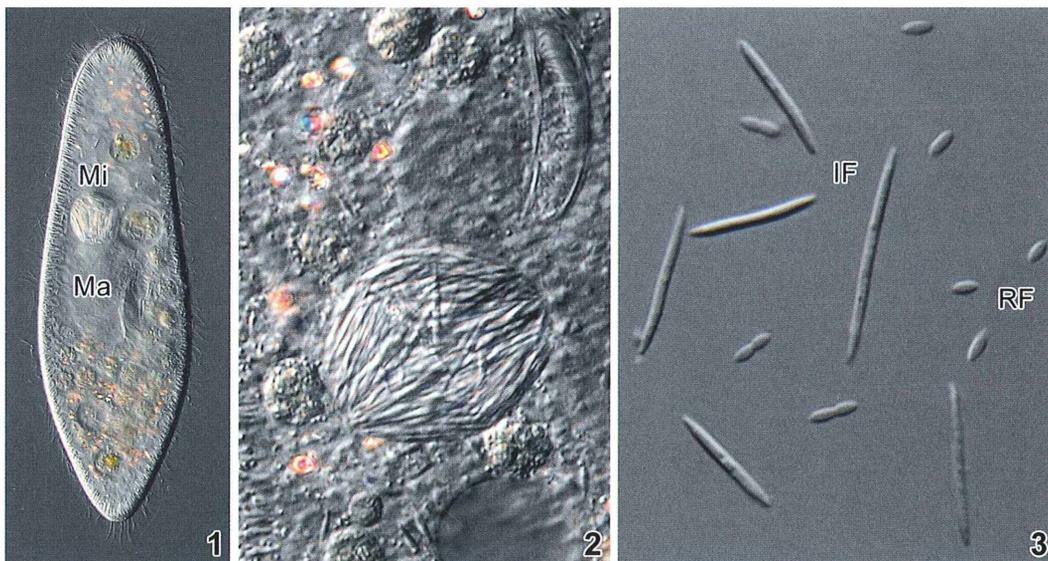


Abb. 1–3: In der Simmelrieder Population von *Paramecium caudatum* besaßen 20–30% der Exemplare Mikrokerni (Mi), welche mit dem Bakterium *Holospora elegans* infiziert waren. – **Abb. 1 und 2:** Die Bakterienzellen liegen sehr dicht gepackt, so dass Einzelzellen nur schwer erkennbar sind. – **Abb. 3:** Erst nach dem Quetschen des befallenen Mikrokerns quellen die Einzelzellen von *H. elegans* hervor. Die infektiösen Formen sind gerade spindelförmig und 10–20 µm lang. Nur 2–3 µm messen die ovalen Zellen der reproduktiven Form. Ma Makrokernel. Vergr. Abb. 1: 290fach; Abb. 2: 650fach; Abb. 3: 1500fach.

Der fehlende Mikronukleus

Die Spur zur Aufklärung dieses Phänomens führte jedoch über die Kernverhältnisse, denn in den betroffenen Exemplaren von *P. caudatum* fehlte scheinbar der Mikronukleus. Dagegen war der Makronukleus vergrößert und mit flockigen Granula gefüllt. Da sich der stets in Einzahl auftretende, hochbrechende Körper immer in der Nähe des Makronukleus fand und manchmal auch in diesen eingesenkt war, hatte es den Anschein, als wenn die Mikronuklei dieser Exemplare von hochbrechenden Bakterien durchsetzt und stark angeschwollen waren, ohne dabei Schaden zu nehmen.

Unter dieser Annahme gelang die Identifizierung als Bakterien der Gattung *Holospora*. Diese Bakterien können sowohl den Mikro- als auch den Makronukleus von *Paramecium* befallen. Man kennt neun Arten der Gattung *Holospora*, die sich sowohl im äußeren Erscheinungsbild als auch in ihrem hochspezifischen Infektionsverhalten bezüglich des Mikro- oder Makronukleus des Wirtes innerhalb der Gattung *Paramecium* unterscheiden. Im vorliegenden Fall lag ein Befall von *Holospora* ausschließlich im Mikronukleus von *P. caudatum* vor. Dies schränkt die Möglichkeiten auf die zwei Arten *H. elegans* und *H. undulata* ein.

Eine Differenzierung ist über das Erscheinungsbild der Bakterien möglich. In dem dicht gepackten Mikronukleus kann man kaum Einzelzellen erkennen, weshalb ich für eine genaue Untersuchung die befallenen Mikronuklei stark gequetscht habe, so dass die darin enthaltenen Bakterien herausquollen. Die Bakterien hatten die Form von geraden Stäbchen mit zugespitzten Enden und waren 10–20 µm lang (Abb. 3). Damit konnte die Spezies eindeutig als *H. elegans* identifiziert werden, da die alternative Form, *H. undulata*, spirillenförmig ist.

Symbiont oder Parasit

Die enge Beziehung zwischen *P. caudatum* und *H. elegans* zeugt von einer perfekten evolutionären Anpassung, die über einen sehr langen Zeitraum erfolgt sein muss. Immerhin lebt *H. elegans* im Allerheiligsten, dem reproduktiven Kern des Wirtes, ohne diesen offensichtlich zu schädigen. Diese Beziehung wurde intensiv untersucht, und es konnten keine direkten, nachteiligen Auswirkungen für *P. caudatum*

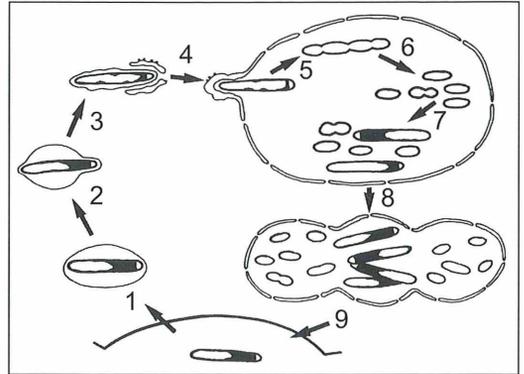


Abb. 4: Entwicklung und Infektionszyklus von *H. elegans*. Die infektiöse, langgestreckte Form wird am Cytostom in eine Nahrungsvakuole aufgenommen (1 und 2). Ein Transportvesikel mit dem Bakterium trennt sich von der Nahrungsvakuole ab (3), umgibt sich mit Cisternen des endoplasmatischen Retikulums und verschmilzt mit der Kernhülle (4). Im Kern teilt sich *Holospora* zur reproduktiven Form (5 und 6), die sich dann vermehrt. Später entwickeln sich einige wieder zu langen, infektiösen Formen (7), die nach einer Kernteilung (8) ins umgebende Medium freigesetzt werden (9) (aus Görtz, 1996).

festgestellt werden. Durch Antibiotika kann *Holospora* aus einer infizierten *Paramecium*-Population ohne Auswirkungen auf den Wirt entfernt werden.

Für *Holospora* jedoch ist der Wirt essentiell. Es ist bisher nicht gelungen, *Holospora* außerhalb von *Paramecium* zu kultivieren. Der gesamte Lebenszyklus von *Holospora* ist daher eng mit dem von *Paramecium* verbunden, jedoch nicht umgekehrt. Es ist daher nicht ganz klar, welche Art von Lebensgemeinschaft hier vorliegt. Es gibt jedoch einen Hinweis darauf, dass es sich hier nicht um eine lupenreine Symbiose handelt, wie es in der Literatur häufig beschrieben wird. Tatsächlich konnte festgestellt werden, dass *Paramecium* über Abwehrmechanismen verfügt, die Infektion zu verhindern. So konnte in Laborexperimenten gezeigt werden, dass eine 100%ige Infektion einer *P. caudatum*-Population mit *Holospora* nicht zu erreichen ist, da die Bakterienzellen im Zytoplasma und auch im Karyoplasma lysiert werden können (Fokin und Görtz, 2009). Wie diese zelluläre Immunabwehr funktioniert, ist nicht bekannt. Es zeigt jedoch, dass hier keine Symbiose vorliegt, da *Paramecium* sonst die Infektion nicht bekämpfen würde. Ein Grund für die Abwehr-

reaktion könnte auch sein, dass infizierte *Paramecien* nicht mehr zur Konjugation fähig sind, was einen effektiven Selektionsnachteil darstellt. Aus der Sicht des Wirtes scheint es sich also eher um Parasitismus zu handeln.

Der bakterielle Lebenszyklus

Den Mikronukleus eines Ciliaten als Lebensraum zu erobern, ist schon erstaunlich genug, jedoch stellen sich sogleich Fragen, wie es *Holospora* schafft, diesen zu infizieren und vor allem auch wieder zu verlassen, um andere *Paramecien* infizieren zu können. Dazu greift *Holospora* tief in die Trickkiste und hat einen Lebenszyklus entwickelt, der die perfekte Anpassung dieses Bakteriums an seinen Wirt widerspiegelt (Abb. 4). Die infektiösen Zellen von *H. elegans* werden vom Wirt aktiv phagozytiert und gelangen in eine Nahrungsvakuole. Hier entgeht *H. elegans* der sofortigen Verdauung durch Umprogrammieren der Membranproteine der Nahrungsvakuole, wodurch das Fusionieren der Nahrungsvakuole mit Lysosomen aus dem umgebenden Plasma verhindert wird. Diese Umprogrammierung der Proteine der Nahrungsvakuolenmembran ist wirtsspezi-

fisch. Landet *Holospora* im falschen Wirt, entgeht das Bakterium nicht der Verdauung.

In der richtigen Nahrungsvakuole beginnt nun die Umwandlung der Vakuolenmembran zum Transportvehikel, welches *Holospora* schließlich zum Mikronukleus führt (Fujishima, 2009). Dieser Prozess wird durch die Absenkung des pH-Wertes innerhalb der Nahrungsvakuole induziert, welcher durch so genannte ATPasen in der Vakuolenmembran erfolgt. Infolge dieser Ansäuerung verlässt *Holospora* die Nahrungsvakuole, wobei sich die Vakuolenmembran wie eine zweite Haut um die Bakterienzelle legt. In diesem Tarnanzug wird *Holospora* nun über das Aktin-Myosin-Gerüst der Zelle zum Mikronukleus transportiert. Dieser Transport wird von *Holospora* aktiv eingeleitet, indem sich an einem Ende des Bakteriums ein spezielles 89-kDa-Protein bildet, welches die Aktinpolymerisation/-depolymerisation induziert (Fujishima, 2009). Es erfolgt eine Bewegung durch das Plasma hin zum Mikronukleus. Hier angekommen, durchdringt das Bakterium die Kernhülle mit dem Zellende, an dem die 89-kDa-Proteine lokalisiert sind. Beim Eindringen in den Mikronukleus werden anhaftende Aktinfilamente, die 89-kDa-Proteine und die ehemalige Membran der Nahrungsvakuole außen zurückgelassen.

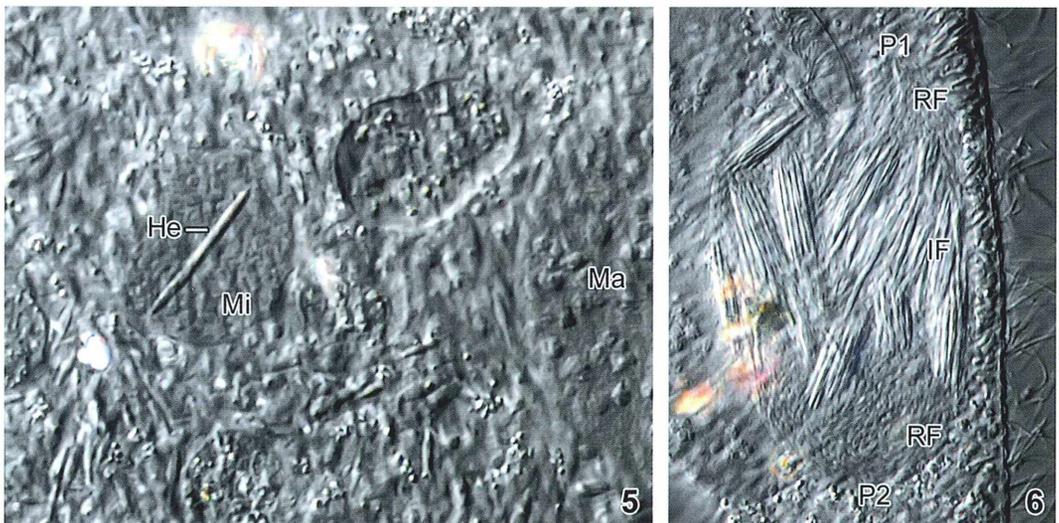


Abb. 5: Stadium der Infektion kurz nach dem Eindringen einer *H. elegans*-Zelle in den Mikronukleus von *P. caudatum*. Sofort nach der Infektion des Mikronukleus beginnt bereits eine multiple Teilung der Bakterienzelle. He Infektiöse Form von *H. elegans*, Ma Makronukleus, Mi Mikronukleus. – **Abb. 6:** Infizierter Mikronukleus bei einsetzender Mitose. P1, P2 Pole der Mitosespindel. Trennung der reproduktiven Formen (RF) von den infektiösen (IF) während der Mitose und Aufteilung auf die sich bildenden Tochterkerne. Aggregation der infektiösen Formen in der Äquatorialebene des Mikronukleus. Vergr. Abb. 5: 1300fach; Abb. 6: 850fach.



Abb. 7: Mitose des infizierten Mikronukleus in einem fortgeschrittenen Stadium. Die infektiösen Formen von *H. elegans* haben sich in einem Zwischenkörper (ZK) angesammelt. Links und rechts der sigmoiden Anordnung erkennt man die beiden neuen Tochterkerne (Mi1, Mi2) mit den darin enthaltenen reproduktiven Formen von *H. elegans*. Die Tochterkerne werden auf die Tochterzellen von *P. caudatum* verteilt, wodurch beide Zellen infiziert werden. Der Zwischenkörper wird jedoch aus der Zelle geschleust und in die Umgebung entlassen, um dort für Neuinfektionen zu sorgen. Ma1, Ma2 Makronuklei. Vergr. 500fach.

Der Fluchtmechanismus

Im Mikronukleus angekommen (Abb. 4 und 5), setzt eine Mehrfachteilung der infektiösen Bakterienzelle ein, wobei sich jedoch wesentlich kleinere Zellen bilden. Diese Umwandlung der äußeren Form in Anhängigkeit des Infektionsstadiums nennt man Dimorphismus. Die kleineren Zellen sind oval und nur 2 µm lang (Abb. 3). Es handelt sich hier um die reproduktiven Formen, welche einen aktiven Stoffwechsel besitzen und sich schnell vermehren. Ein Teil der neu gebildeten *H. elegans*-Zellen wandelt sich in die großen, bis zu 20 µm langen, infektiösen Formen um. Während der Wachstumsphase kann der Mikronukleus von *P. caudatum* um das Zehnfache seiner ursprünglichen Größe anschwellen. Dabei wird das genetische Material von *P. caudatum* offensichtlich nicht geschädigt.

Um die Wirtszelle zu verlassen, hat *Holospira* einen dualen Mechanismus entwickelt, der zum einen dafür sorgt, dass bei einer Zellteilung von *Paramecium* die Tochterzelle ebenfalls mit *Holospira* infiziert wird und zum anderen die gebildeten infektiösen Formen freigesetzt werden, um von anderen Paramecien phagozytiert zu werden. Dabei gilt es, Kernhülle und Zellmembran des Wirtes zu überwinden.

Dieses Kunststück erfolgt bei einer einsetzen- den Zellteilung von *Paramecium*. Dann bildet sich innerhalb des Mikronukleus eine Mitose- spindle aus (Abb. 6). Es werden daraufhin je-

doch nicht nur die Chromosomen geordnet und separiert, sondern auch die *Holospira*- Zellen. Dabei werden sehr selektiv die reproduktiven Formen zu den Polen der Mitose- spindle gezogen, während sich die großen, infektiösen Formen in der Äquatorialebene des Mikronukleus sammeln. Beim weiteren Auseinanderdriften der neu gebildeten Tochterkerne verbleibt zwischen ihnen ein Körper, welcher angefüllt ist mit den infektiösen Formen von *H. elegans* (Abb. 7). Dieser wird schließlich separiert und über einen im Detail noch nicht verstandenen Prozess durch die Pellikula ausgeschleust (Fokin und Görtz, 2009).

Mit diesem ausgeklügelten Mechanismus schafft es *Holospira*, sowohl in die beiden Tochterzellen zu gelangen, als auch neue, infektiöse Formen in die Umwelt zu entlassen, um Neuinfektionen zu ermöglichen.

Bei der Mitose des Mikronukleus von *Paramecium* verursacht die Anwesenheit von *Holospira* häufig Teilungsanomalien. Die Spindel streckt sich dann nicht ausreichend, sodass beide Tochtermikronuklei in einer Zelle bleiben. Oder es bilden sich anomale Spindeln aus, mit vier statt zwei Polen. Manchmal verbleibt auch ein Teil des Zwischenkörpers mit den infektiösen Formen in der Wirtszelle zurück. Dies äußert sich in Funden von *P. caudatum*, die scheinbar vier bis acht oder sogar mehr infizierte Mikronuklei beinhalten (Abb. 8; Görtz, pers. Mitteilung).

Die Simmelrieder Population

Es ist bemerkenswert, dass die Zahl der bisher dokumentierten Infektionen von *Holospora* in *Paramecium* in natürlichen Populationen äußerst gering ist. So liegen beispielsweise aus Italien und Japan jeweils nur zwei dokumentierte Fälle von *Holospora* in *Paramecium* vor. Dies mag natürlich darin begründet sein, dass die meisten Biotope hinsichtlich der in ihnen lebenden Protozoen wenig untersucht sind. Ein anderer Grund könnte sein, dass *Holospora* vielleicht in zyklischen Maxima auftritt, wofür es derzeit jedoch keine Belege gibt.

Im Simmelried wurde ich auf *H. elegans* erstmals aufmerksam im Jahre 2006. Es ist jedoch davon auszugehen, dass dieses Biotop auch schon vorher Lebensraum von *H. elegans* war. Infizierte Zellen von *P. caudatum* fand ich regelmäßig, jedoch habe ich nicht geprüft, wie hoch der Durchseuchungsgrad der Populationen war. Eine Abhängigkeit von der Jahreszeit konnte ich zumindest nicht ausmachen, da ich befallene Exemplare sowohl im Mai als auch im Dezember 2006 finden konnte.

Eine Gelegenheit zur intensiveren Untersuchung dieses interessanten Bakteriums ergab sich erst im Winter 2010. Alte Proben aus dem Simmelried gieße ich als Endlager in ein 10-l-Aquarium, in dem sich bald dicht unter der Wasseroberfläche große Mengen an *P. caudatum* sammelten. In dieser Population wiesen 20–30% aller Exemplare einen Befall mit *H. elegans* auf, was sich wegen des hochbrechenden, infizierten Mikronukleus schon bei niedrigen Vergrößerungen gut prüfen ließ. Dass in diesem Aquarium eine so hohe Infektionsrate zu beobachten war, ist ein interessanter Aspekt, weil M. W. Hafkine, der *Holospora* im Jahre 1890 erstmals beschrieb, seine Proben ebenfalls aus einem Aquarium am Pasteur Institut bezogen hat. Kurioser Weise wurde *Holospora* danach nie wieder in Frankreich gefunden (Fokin und Görtz, 2009).

Nadel im Heuhaufen

Obwohl ich einige tausend *Paramecien* untersuchte, konnte ich nie die verschiedenen Stadien des Lebenszyklus von *Holospora* beobachten. Insbesondere interessierten mich die Vorgänge bei der Mitose, speziell die Ausbildung des Zwischenkörpers. Um diese zu sehen,

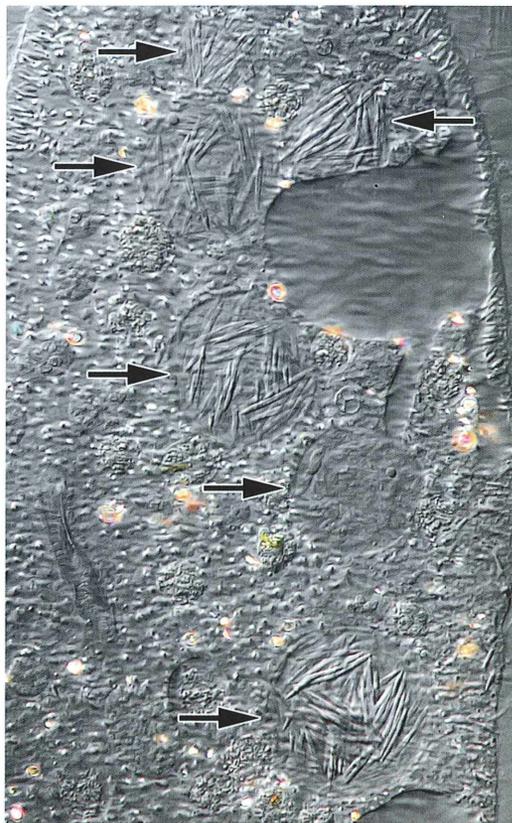


Abb. 8: Sehr selten gefundene *P. caudatum* mit mehreren bakterieninfizierten Mikronuklei (Pfeile) verursacht durch von *H. elegans* induzierten Teilungsanomalien. Vergr. 630fach.

musste ich die Teilungsrate in der *Paramecium*-Population erhöhen. Deshalb habe ich einfach einige Tropfen Kondensmilch in das Aquarium gegeben. Schon nach 24 Stunden stieg die Zahl der *Paramecien* drastisch an und in dieser Wachstumsphase habe ich schnell Teilungsstadien von *Paramecium* gefunden, welche bei niedrigen Vergrößerungen leicht zu erkennen sind.

In diesen Zellen hatte sich der Mikronukleus jedoch schon geteilt. Um die Vorgänge, die sich während der Kernteilung abspielen, dokumentieren zu können, war es also nötig, Zellen zu suchen, welche bereits die Mitose eingeleitet hatten, aber noch keine äußerlichen Teilungssymptome zeigten. Um diese zu finden, müssen die Zellen gequetscht werden, um die Kernverhältnisse zu erkennen. Unter circa 500 *Paramecien* konnte ich jeweils eine infizierte Zelle mit *Holospora* im teilenden Mikronukleus finden.



Abb. 9 und 10: Mikronuklei von *Paramecium bursaria* infiziert mit dem wirtsspezifischen Bakterium *Holospora acuminata*. Im gequetschten Mikronukleus (Mi; Abb. 10) erkennbare reproduktive Formen (RF; 2 μ m lang) und spindelförmige infektiöse Stadien (IF; 5–7 μ m lang). Ma Makronukleus. Vergr. Abb. 9: 1200fach, Abb. 10: 2300fach.

Die zweite Art

Derartig auf *Holospora* sensibilisiert, habe ich alte Fotos aus meinem Archiv auf vermeintliche Hinweise eines *Holospora*-Befalls bei anderen *Paramecium*-Arten aus dem Simmelried hin geprüft. Ich wurde fündig bei Exemplaren von *Paramecium bursaria*, welche ich im März 2004 fotografiert hatte. Damals war mir noch nicht bewusst, dass hier ein Befall mit *Holospora* vorliegt. Daher habe ich leider keine Detailfotos angefertigt. Deshalb habe ich versucht, befallene *P. bursaria*-Zellen in frisch gezogenen Proben aus dem Simmelried aufzuspüren.

Tatsächlich konnte ich zwischen Oktober und Dezember 2010 zahlreiche infizierte Exemplare finden. Bei allen Exemplaren von *P. bursaria* war, wie bei *P. caudatum*, der Mikronukleus befallen. Das äußere Erscheinungsbild des infizierten Mikronukleus war ganz ähnlich (Abb. 9). Jedoch zeigten sich Unterschiede bei genauerer Untersuchung der *Holospora*-Bakterien. Auch hier konnte der Dimorphismus von *Holospora* festgestellt werden. Die reproduktiven Zellen waren etwa 2 μ m lang und leicht oval, wie bei *H. elegans*. Die infektiösen Stadien hatten jedoch eine eher spindelförmig Gestalt bei einer

Länge von fünf bis sechs Mikrometern (Abb. 10).

Aus der Wirtsspezifität und den Abmessungen der infektiösen Form gelang die Zuordnung der Art als *H. acuminata*. Von dieser Spezies wird angenommen, dass sie das kleinste Genom aller *Holospora*-Arten besitzt. Der Lebenszyklus wird als identisch mit dem von *H. elegans* beschrieben. Wegen der geringen Teilungsrate von *P. bursaria* in der von mir beobachteten Population konnte ich selbst keine weiteren Stadien des Lebenszyklus von *H. acuminata* beobachten.

Danksagung

Ich danke Prof. Dr. Hans-Dieter Görtz von der Universität Stuttgart und William Bourland aus Boise/Idaho, USA, für ihre Hilfe bei der Identifizierung von *Holospora*.

Literaturhinweise

Fokin, S., Görtz, H.-D.: Diversity of *Holospora* bacteria in *Paramecium* and their characterization. In: Fujishima, M. (Ed.): Endosymbionts in *Paramecium*, pp. 162–194. Springer Verlag, Berlin 2009.

- Fujishima, N.: Infection and maintenance of *Holospira* species in *Paramecium caudatum*. In: Fujishima, M. (Ed.): Endosymbionts in *Paramecium*, pp. 201–249. Springer Verlag, Berlin 2009.
- Görtz, H.-D., Dieckmann, J.: Life cycle and infectivity of *Holospira elegans* Hafkine, a micronucleus-specific symbiont of *Paramecium caudatum* (Ehrenberg). *Protistologica* 16, 591–603 (1980).
- Görtz, H.-D., Fujishima, M.: Conjugation and meiosis of *Paramecium caudatum* infected with the micronucleus-specific bacterium *Holospira elegans*. *Europ. J. Cell Biol.* 32, 86–91 (1983).
- Görtz, H.-D., Wiemann, M.: Route of infection of the bacteria *Holospira elegans* and *Holospira obtusa* into the nuclei of *Paramecium caudatum*. *Europ. J. Protistol.* 24, 101–109 (1989).
- Görtz H.-D., Bentig, J., Freiburg, M., Wiemann, M., Fokin, S. I.: The infection of the nuclei of *Paramecium* by *Holospira* bacteria. In: Sato, S., Ishida, M., Ishikawa, H. (Eds.): Proceedings of the 5th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, Kyoto, June 23–27, 1992. Tübingen University Press, Tübingen 1993. *Endocytobiology* 5, 509–514 (1993).
- Görtz, H.-D.: Symbiosis in ciliates. In: Hausmann, K., Bradbury, P. C. (Eds.): Ciliates – Cells as organisms, pp. 441–462. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.
- Hafkine, M. W.: Maladies infectieuses des Paramécies. *Ann. Inst. Pasteur* 4, 363–379 (1890).
- Kreutz, M., Foissner, W.: The *Sphagnum* ponds of Simmelried in Germany: A biodiversity hot-spot for microscopic organisms. *Protozoological Monographs* 3, 1–267 (2006).
- Ossipov, D. V., Skoblo, I. I., Borchsenius, O. N., Rautian, M. S.: *Holospira acuminata* – a new species of symbiotic bacterium from the micronucleus of the ciliate *Paramecium bursaria* Focke. *Cytology* 22, 922–929 (1980).
- Rautian, M. S., Skoblo, I. I., Lebedeva, N. A., Ossipov, D. V.: Genetics of symbiotic interactions between *Paramecium bursaria* and the intranuclear bacterium *Holospira acuminata*, natural genetic variability by infectivity and susceptibility. *Acta Protozool.* 32, 165–173 (1993).
- Skoblo, I. I., Borchsenius, O. N., Lebedeva, N. A., Ossipov, D. V.: Symbiogenic lysis of bacteria *Holospira acuminata* in the generative nucleus of the ciliate *Paramecium bursaria*. *Cytology* 32, 515–519 (1990).

Verfasser: Dr. Martin Kreutz,
Am See 27, 78465 Konstanz,
E-Mail: makreu@gmx.de

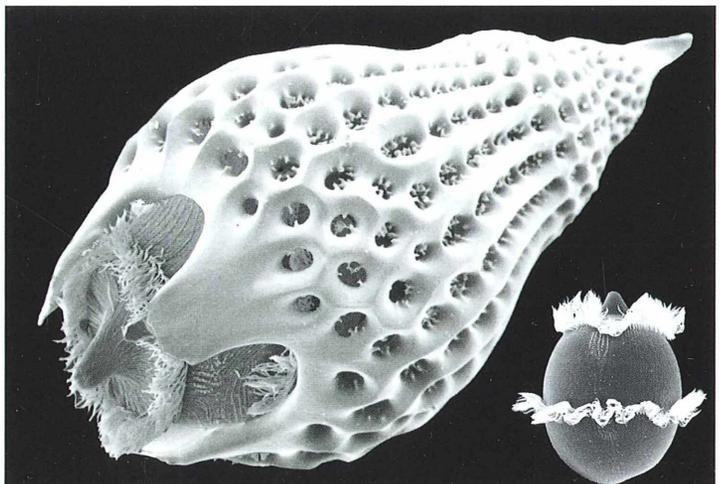
Mikro-Cartoon

Vorwitziger Naseweis – Ganz klein

Das kann ja wohl nicht wahr sein!? Welcher Naseweis lugt da wo heraus? Es sieht aus, als ob ein etwas älterer, langnasiger und bärtiger Mensch aus einer bizarren Behausung herauschaut, und das in mikroskopischer Dimension.

Kennt man sich etwas bei den Einzellern aus, wird man mehr oder weniger auf Anhieb feststellen, dass es sich ein Wimpertierchen in einem Radiolarienskelett als Untermieter gemütlich gemacht hat. Es ist der Süßwasserciliat *Didinium nasutum* (rechts unten im Normalaspekt), der in dieser artifiziellen Daseinsform seinem deutschen Trivialnamen Nasentierchen alle Ehre macht. Er hat sich, wie es den Anschein macht, im intrazellulären Skelett einer den ausschließlich marinen Radiolarien zugehörnden Nassellariden häuslich eingerichtet. Eine absolut abstruse Situation!

Wieder einmal mehr ist es der Fall, dass Photoshop Situationen möglich macht, die es im wirklichen Leben nicht gibt. Und wieder einmal war ein Student am Werke, der sich mit der Bildbearbeitung auskannte und im Rahmen eines elektronenmikroskopischen Praktikums dieses Kunstprodukt herstellte. Diesmal war es David von der Kemp aus Berlin. Gratulation!



Klaus Hausmann

Biomechanik von Flugsamen

Teil 7: Zur Windverbreitung der Diaspore des Wiesenbocksbarts, *Tragopogon orientalis*

Werner Nachtigall

Im MIKROKOSMOS hat der Autor sechs Mitteilungen über die Verbreitungsbiologie und -biophysik Pappus tragender Diasporen von Korbblütlern, Weiden und Tamarisken veröffentlicht (2009a–d, 2010a, b). Bei diesen überlappt sich die Feinbehaarung der Pappusstrahlen, wenn vorhanden, nicht. Ergänzend und abschließend folgt nun eine kurze Mitteilung zum Wiesenbocksbart. Seine Diaspore ist nicht nur die wohl größte und schwerste der heimischen Flora. Die Feinbehaarung der Pappusstrahlen überlappt sich auch zwischen zwei Strahlen netzförmig.

Die Diasporen von *Tragopogon orientalis* (Abb. 1a, b) sind etwa 2,5 cm lang. Die kreisförmige Projektionsfläche der Pappusstrahlen hat einen Durchmesser von bis zu 3 cm. Die Diaspore besitzt 24, gelegentlich auch 23 Strahlen, im Mittel $23,80 \pm 0,43$ ($\pm 1,77\%$; $n = 10$) von etwa 80 μm mittlerem Durchmesser. Die äußersten Spitzen der Strahlen sind frei. Über einen Durchmesser von etwa 2,5 cm (Fläche $4,91 \text{ cm}^2$) sind die Pappusstrahlen fein behaart (Abb. 1c). Der mittlere Durchmesser der feinen Härchen beträgt etwa 12 μm . In der Mitte ihrer Länge stehen die Pappusstrahlen rund 2–2,5 mm auseinander. So lange sind in etwa auch die Härchen. Die gegenüberstehenden

Härchenreihen zweier Strahlen überlagern sich mittig zu einem netzförmigen Band von etwa 1 mm Breite und 1,5 cm Länge (Abb. 1d). Die Frucht selbst ist etwa 1 cm lang und bis 2 mm dick. Die Masse einer gesamten Diaspore beträgt im Mittel 14,37 mg ($n = 20$ im Block gewogen). Vergleichswert *Taraxacum officinale*: 1,16 mg).

Fragestellung

Die pappusbesetzten Diasporen von *Tragopogon* gehören mit zu den größten und schwersten der heimischen Flora. Ihre Flächenbelastung ist mit $14,37 \text{ mg}/4,91 \text{ cm}^2 = 2,93 \text{ mg cm}^{-2}$

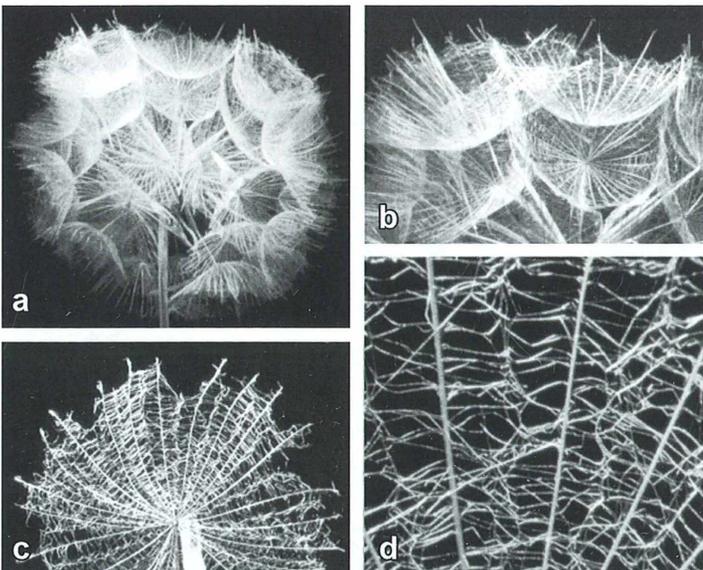


Abb. 1: Makro- und raster-elektronenmikroskopische Aufnahmen.
a Übersicht des Fruchtstands.
b Ausschnitt von a.
c Übersicht über ein Schirmchen.
d Ausschnitt aus c mit den feinen Härchen und ihren netzförmigen Überlappungsstrukturen zwischen zwei Pappusstrahlen.

= $0,287 \text{ N m}^{-2}$ relativ hoch (Vergleichswert *Taraxacum*: $0,074 \text{ N m}^{-2}$). Aus diesen beiden Gründen sollte ihre Sinkgeschwindigkeit relativ groß sein, was verbreitungsbiologisch ungünstig wäre. Von feinen Netzwerken ist bekannt, dass sie mit ihrer Fläche einen besonders großen Widerstand erzeugen (vgl. die Diskussion bei Nachtigall, 2009d). *Tragopogon* besitzt, im Gegensatz zu *Taraxacum*, zwischen zwei Pappusstrahlen ein feines, netzförmiges Mittelband. Das wiederum müsste die Sinkgeschwindigkeit günstiger Weise reduzieren, wenn es sich flächenmäßig auswirken könnte. Man könnte also die Hypothese aufstellen, dass Vernetzung bei *Tragopogon* ein Kompensationsmittel gegen die negativen Einflüsse der Diasporen-Größe ist.

Absinkversuche

Mit der bei Nachtigall (2009a) beschriebenen Falleinrichtung wurden Absinkversuche durchgeführt, und zwar bei $25 \text{ }^\circ\text{C}$ Lufttemperatur, 70% relativer Luftfeuchte und 985 hPa Luftdruck. Die Blitzfrequenz betrug 10,0 Blitze pro Sekunde (Blitzabstand 0,10 s). Die Abbildung 2 zeigt Registrierungen sowie Makroaufnahmen zur zugeordneten Pappuskonfiguration.

Zunächst wurde die Sinkgeschwindigkeit von unveränderten Diasporen zu $55,8 \pm 9,0 \text{ cm s}^{-1}$ ($\pm 16\%$) bestimmt (3 Diasporen, $n = 24$ registrierte Blitzintervalle, Beispiel Abb. 2a). Dann wurde mit einer Augenbrauenpinzette der netzförmige Härchen-Überlappungsbereich aufgelöst, wobei die Härchen aber in ihrer Länge,

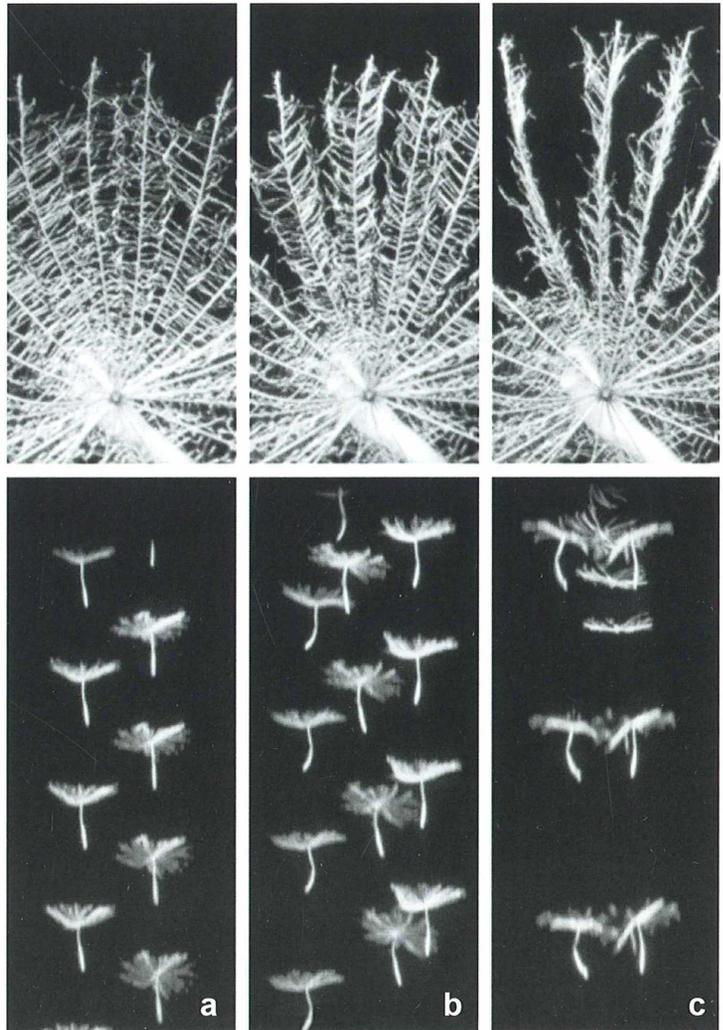


Abb. 2: Fallversuche zur Bestimmung der Sinkgeschwindigkeit. Registrierungen mit Blitzabstand 0,10 sec. Gleicher Vergrößerungsmaßstab. Darüber jeweils Aufnahmen ein und desselben Ausschnitts einer Diaspore.

a Normalfall. **b** Netzförmige Überlagerung aufgelöst. **c** Feinhaarbesatz an Pappusstrahlen angenähert angelegt.

wenn auch nicht genau in ihrer ursprünglich etwa senkrecht zu den Pappushaaren verlaufenden Ausrichtung, erhalten blieben. Mit den gleichen Diasporen ergab sich nun eine Sinkgeschwindigkeit von $52,5 \pm 6,2 \text{ cm s}^{-1}$ ($\pm 12\%$; $n = 13$ registrierte Blitzintervalle, Beispiel Abb. 2b). Schließlich wurden durch rasches Durchziehen mit einem FeinstlötKolben die feinen Härchen an die Pappushaare angenähert angelegt, blieben aber massenmäßig erhalten. Die Biegung der Pappushaare konnte sich dabei leicht ändern. Nun betrug die Sinkgeschwindigkeit $84,1 \pm 8,8 \text{ cm s}^{-1}$ ($\pm 11\%$; $n = 14$ registrierte Blitzintervalle, Beispiel Abb. 2c). Der Unterschied a–b ist statistisch nicht signifikant (t-Test, $p = 0,05$); die Unterschiede a–c und b–c sind signifikant. Die Verhältnisse sind in dem Histogramm der Abbildung 3 zeichnerisch zusammengestellt. Zum Vergleich: Bei *Taraxacum* beträgt die Sinkgeschwindigkeit $29,75 \pm 1,83 \text{ cm s}^{-1}$.

Die geringen Messumfänge reichen bereits für die Aussage aus, dass die einzeln stehenden Härchen an den Pappusstrahlen (Fall b) die Sinkgeschwindigkeit gegenüber den unveränderten Pappusstrahlen (Fall a) nicht erhöhen. Ob sich die Härchen in der Mitte netzartig überlappen (Fall a) oder nicht (Fall b) spielt also keine signifikante Rolle. Damit kann die eingangs geäußerte Hypothese nicht aufrechterhalten werden. Schaltet man diese Härchen dagegen angenähert aus (Fall c), so erhöht sich die Sinkgeschwindigkeit sehr deutlich, nämlich um 51 % gegenüber dem Normalfall.

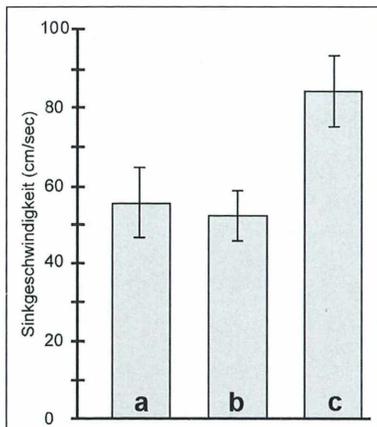


Abb. 3: Histogramm zur graphischen Verdeutlichung der Ergebnisse. a–c entsprechen den Teilabbildungen a–c von Abbildung 2. Vertikale Strecken: Einfache Standardabweichungen.

Ähnlich wie bei *Cirsium* (Nachtigall, 2009c) vermindert der feine Haarbesatz der Pappusstrahlen also die Sinkgeschwindigkeit unabhängig von seiner Orientierung. Die netzförmige, zentrale Überlagerung der Härchen muss also andere Gründe haben; möglicherweise ergibt sie sich zwangsläufig aufgrund der Härchenlänge und der Raumkonkurrenz in der Diasporenanlage.

Danksagungen

Der Autor dankt der Akademie der Wissenschaften und der Literatur Mainz für Arbeitsmöglichkeiten sowie Herrn Dr. A. Wissler, Saarbrücken, für die Tafelanordnung der Abbildungen.

Literaturhinweise

- Nachtigall, W.: Biomechanik von Flugsamen. Teil 1: Mikrostrukturierung und Verringerung der Sinkgeschwindigkeit der Fallschirmchen des Löwenzahns. *Mikrokosmos* 98, 153–158 (2009a).
- Nachtigall, W.: Biomechanik von Flugsamen. Teil 2: Stabilität und Verbreitung der Fallschirmchen des Löwenzahns. *Mikrokosmos* 98, 198–205 (2009b).
- Nachtigall, W.: Biomechanik von Flugsamen. Teil 3: Die Federbällchen der Kratzdistel als Meister der Windverbreitung. *Mikrokosmos* 98, 266–271 (2009c).
- Nachtigall, W.: Biomechanik von Flugsamen. Teil 4: Strömungseffekte am Pappus und seinen Flughaaaren bei Löwenzahn und Kratzdistel. *Mikrokosmos* 98, 352–358 (2009d).
- Nachtigall, W.: Biomechanik von Flugsamen. Teil 5: Absinken von Pappus tragenden Diasporen geringer Flächenbelastung. Beispiel Weide, *Salix spec.* *Mikrokosmos* 100, 14–18 (2011a).
- Nachtigall, W.: Biomechanik von Flugsamen. Teil 6: Diasporen der Tamariske mit rasch reagierenden hygroskopischen Pappushaaren: Funktionsmorphologie – Ausbreitung – Bionik. *Mikrokosmos* 100, 86–91 (2011b).

Corrigendum

In Teil 5 dieser Serie *Biomechanik von Flugsamen* (*Mikrokosmos* 100, 14–18, 2011) sind auf der Seite 16 in der Abbildung 2c die Bezeichnungen „groß“ und „klein“ versehentlich vertauscht worden.

Verfasser: Prof. em. Dr. rer. nat. Werner Nachtigall, Außenstelle Universität des Saarlandes zur Arbeitsstelle für Technische Biologie und Bionik der Akademie der Wissenschaften und der Literatur Mainz an der Universität Bonn.

Postanschrift: Prof. Dr. W. Nachtigall, Universität, Bau A 2.4, Raum 043, 66041 Saarbrücken, E-Mail: w.nachtigall@mx.uni-saarland.de

Mikro-Ufo

Wem gehörte diese Haut?

Unser Autor Wolfgang Jacob aus Großräschen schickte uns Bilder und einen kleinen Fundbericht mit der Bitte zu, den Lesern des MIKROKOSMOS sein *Mikro-Ufo* vorzustellen. Vielleicht kann jemand Tipps zur Auflösung des unbekanntes Fundstückes liefern.

Es handelt sich bei dem Fund um ein etwa 100×150 mm großes, durchsichtiges Hautstück mit wellenförmiger Struktur (Abb. 1 und 2). Der Abstand zweier Wellen beträgt $3,8\text{--}4,5$ μm , die Dicke von vier beobachteten Borsten betrug etwa $5\text{--}7$ μm , die Länge erreichte bis 80 μm . Bemerkenswert ist die interessante Verankerung dieser Borsten oder Haare, die auf eine sensorische Funktion hinweist.

Fundort ist ein kleiner Gartenteich, der den Lesern des MIKROKOSMOS als Biotop der Fadenalge *Oedogonium* (Mikrokosmos 98, S. 2–7, 2009) bekannt ist. Eine hier im September 2010 genommene Probe wurde Anfang 2011

noch einmal betrachtet. Dabei wurde der vorliegende Fund gemacht. Der Teich wird seit langem intensiv beprobt, ein ähnliches Fundstück wurde bisher nicht gesehen. Als mögliche Bestimmungshilfe seien noch einige Angaben zu diversen Bewohnern dieses Biotops gemacht. Neben Fadenalgen (*Oedogonium*, *Spirogyra*), einigen Zieralgen (*Closterium*, *Cosmarium*) und verschiedenen Ciliaten einschließlich *Paramecium* ist der Teich auch von Rohrkolben besiedelt. Nematoden, Wasserkäfer, Wasserläufer, Libellen und deren Larven sind ebenfalls häufiger zu beobachten, Wasserfrösche sind gelegentliche Gäste.

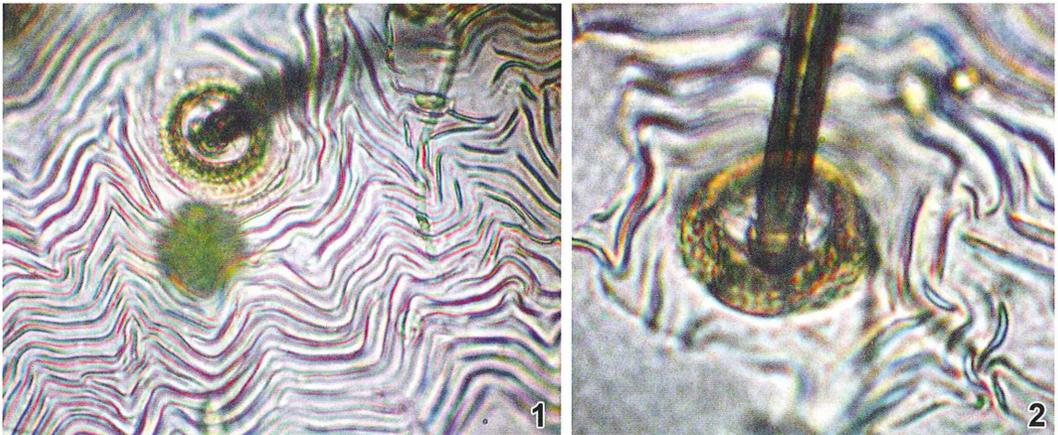


Abb. 1 und 2: Hautstücke mit wellenförmiger Struktur und Borsten, gefunden in einem Gartenteich.

Herr Jacob würde sich freuen, wenn das Hauträtsel mit Ihrer Mithilfe gelöst werden könnte.

Redaktion MIKROKOSMOS

Vom Bilderstapel in die dritte Dimension: 3D-Mikroaufnahmen mit PICOLAY

Eberhard Raap und Heribert Cypionka

So lange es die Fotografie gibt, so lange gibt auch die Stereofotografie. In der circa 150-jährigen Geschichte der Fotografie erlebte sie einige Höhepunkte, etwa nach 1945 das Stereo-Laufbild und auch das Stereo-Stehbild. In Europa blieb der große Durchbruch jedoch aus, während stereoskopische Aufnahmetechniken, Bilddokumentationen und deren Wiedergabe in den USA mehr Verbreitung fanden.

Grundlage der stereoskopischen Wahrnehmung ist das gleichzeitige Verarbeiten zweier Bilder eines Objekts aus zwei verschiedenen Betrachtungswinkeln. Im menschlichen Gehirn werden diese Bilder dann zu einem räumlichen Bild zusammengeführt. Dieser Betrachtungswinkel wird durch den Augenabstand der menschlichen Augen bewirkt. Der Abstand kann zwischen 50 und 75 mm liegen, im Durchschnitt wird aber mit einem Wert von 65 mm gerechnet. Dieser Abstand ist die Stereobasis. Die Stereobasis, als Bild bestimmende Ausgangsgröße, muss in allen stereoskopischen Aufnahmetechniken unbedingt Beachtung finden. Gerhard Göke hat vor Jahren in einigen Veröffentlichungen sehr interessante Möglichkeiten der stereoskopischen Beobachtung mit dem Mikroskop und der MikrosterEOFotografie mitgeteilt, von denen auch viele Liebhaber Gebrauch machten.

In den letzten Jahren hat die digitale Bildverarbeitung enorme Fortschritte gemacht. Hochauflösende Kameras, schnell arbeitende Computer, Bildspeicher mit großem Speichervolumen, elektronische Bildbearbeitung, große hochauflösende Bildschirme und Beamer zum Vorführen von digitalen Bildern sind nur einige Beispiele dieses technischen Fortschritts. Diese neuen Techniken wurden für die stereoskopischen Bildaufnahme- und Berechnungsverfahren in Anwendung gebracht.

Das gestackte Bild, die Voraussetzung für die 3D-Bilderstellung

Um stereoskopische Bilder herzustellen, muss man zunächst auf eine richtige Präparate- beziehungsweise Motivauswahl achten. Die Objekte sollten nach Möglichkeit schon bei der

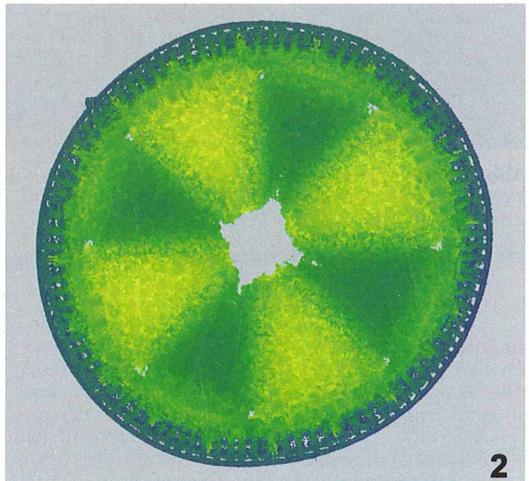
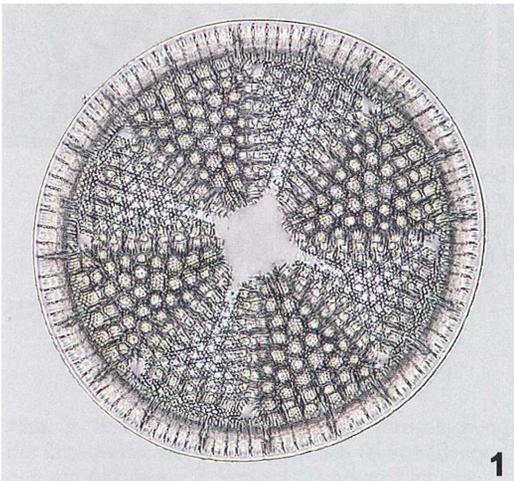


Abb. 1: Gestacktes Bild von *Actinoptychus heliopelta*. – **Abb. 2:** Tiefenkarte zur Abbildung 1.

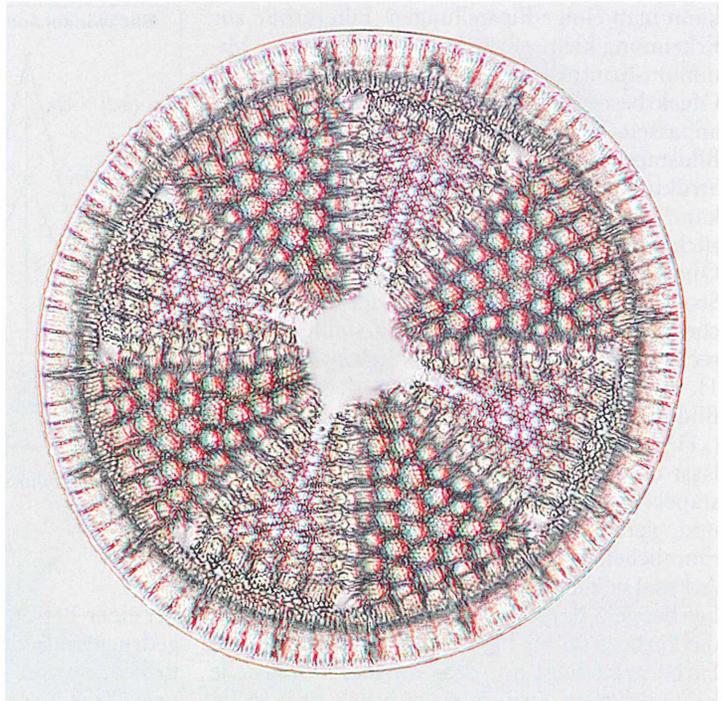


Abb. 3: 3D-Bild der Diatomee *Actinoptychus heliopenella* (Betrachtung mit einer anaglyphischen Stereobrille: ).

Präparation die bildlichen Anforderungen an eine spätere 3D-Bilderstellung erfüllen (siehe Titelbild). So sind sehr flache Objekte wie beispielsweise histologische Schnitte für die räumliche Wiedergabe, wenn überhaupt, dann nur sehr bedingt geeignet.

Beim abzubildenden Objekt sollte die z-Achse ein Mehrfaches des Schärfentiefebereichs des verwendeten Objektivs bei einer gewählten Vergrößerung betragen, um eine spürbare Rauntiefe im stereoskopischen Endbild zu erreichen. Der Schärfentiefebereich von hochaperturigen Objektiven mit hohem Vergrößerungsmaßstab ist relativ gering. Trifft diese Aussage zu, so werden in gleichen Abständen der z-Achse (Tischtrieb), ohne Verschiebung der x-y-Achse (Kreuztisch), mit gleicher Belichtungseinstellung (ohne Ablendung der Aperturblende) Schichtaufnahmen angefertigt. Bei einer Verwendung von Halogenlampen kann es durch die Netzfrequenz zu Abweichungen in der Bildbelichtung kommen. Hier sind LED-Beleuchtungen von Vorteil. Wenn man sich klar macht, dass für die Darstellung der x- und y-Achse des Objekts (Breite und Höhe des Bildes) meist mehr als jeweils 1000 Bildpunkte zur

Verfügung stehen, ist leicht zu verstehen, dass auch für die Tiefendarstellung (z-Achse) genügend Bilder gemacht werden müssen. Der (möglichst gleichmäßige) Fokuspvortrieb darf pro Bild nicht größer sein als der Schärfentiefebereich des Objektivs bei der jeweiligen Vergrößerung. Bei der visuellen Kontrolle – am besten mit einem Einstellfernrohr – ist darauf zu achten, dass jedes zu fotografierende Strukturdetail entlang der z-Achse mindestens einmal scharf abgebildet wird.

Diese Schichtaufnahmen werden mit dem Freeware-Programm PICOLAY geöffnet. PICOLAY ist ein Bildbearbeitungsprogramm, mit dem man unter anderem Bilder mit erhöhter Schärfentiefe aus einem Bilderstapel erstellen kann, und das verschiedene dreidimensionale Ansichten und Projektionen liefern kann. Die Originaldateien werden bei den folgenden Arbeitsgängen nicht überschrieben und auch nicht gelöscht. Falls nötig, lassen sich geringe Abweichungen in der Helligkeit der Bilder und ein geringer Versatz in x- beziehungsweise y-Richtung automatisch korrigieren. Nun werden die schärfsten Bereiche der Bilder des Stapels zu einem scharfen Endbild verrechnet. Hierbei

kann man einige Einstellungen (Filtergröße zur Erkennung kleiner bzw. großer Strukturen, Minimum-Kontrast zur Rauschunterdrückung) an Objektbesonderheiten wie zum Beispiel Haare anpassen. Sollen oben liegende Strukturen in Bildstapel bei der Zusammenführung scharfer Strukturelemente mehr Beachtung finden, so kann dies über eine „Präferenz-Vorgabe“ berücksichtigt werden. Die im fotografierten Objekt vorhandenen Strukturerehöhungen oder Strukturvertiefungen sind in der neuen, flächenhaften, bildlichen Objektdarstellung im errechneten Endbild nicht mehr erkennbar (Abb. 1). PICOLAY legt aber neben dem scharfen Bild eine Tiefenkarte an, die durch Anklicken („Flip view“) angezeigt wird. Diese Tiefenkarte lässt erkennen, aus welcher Ebene des Bildstapels die verwendeten Bildpunkte stammen und veranschaulicht farblich die Lage der räumlichen Strukturen des Objektes in der z-Achse. Die oben liegenden Strukturteile werden hierbei gelb dargestellt und tiefer liegende über die Farbe grün bis blau kenntlich gemacht. Die Farbe grau zeigt an, dass an dieser Bildstelle keine scharfen Strukturen sichtbar sind (Abb. 2). Diese Tiefenkarte und das errechnete gestackte Bild werden für die Berechnung eines synthetischen 3D-Bildes benötigt.

Errechnung des 3D-Bildes

In der Bildleiste des gestackten Bildes wird nun „3D view“ angeklickt, und es öffnet sich die Tiefenkarte und gleichzeitig ein neues Fenster für die 3D-Bearbeitung. Die für die räumliche Wahrnehmung benötigten zwei Bilder für das linke und rechte Auge lassen sich nebeneinander für den Kreuz- und Parallelblick oder auch als Wackelbild darstellen. Bei den hier vorgestellten Bildern für die Anaglyphenbrille wurden das linke und rechte Bild über eine farbliche Filterung in den Farben Rot und Cyan berechnet und überlagert dargestellt (Abb. 3). Der Blickwinkel sollte dabei entsprechend dem Abstand des Betrachters zum Bild eingestellt werden. In der Grafik (Abb. 4) ist der Zusammenhang zwischen Objektabstand bei der Betrachtung des 3D-Bildes und dem Blickwinkel dargestellt. Große Winkel sind von Vorteil

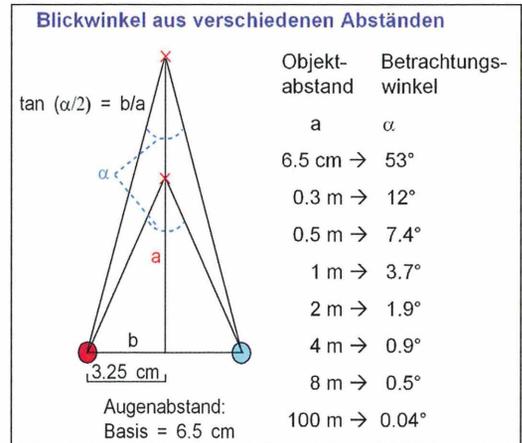


Abb. 4: Blickwinkel aus verschiedenen Abständen.

bei einer Betrachtung am Computer oder eines gedruckten Bildes, anders verhält es sich bei der Projektion von Stereobildern auf Großbildwänden. Wird hier der Winkel zu groß gewählt, so können sich zum Beispiel kugelförmige Körper übertrieben und unnatürlich in der z-Achse dem Betrachter darstellen.

Bildliche Darstellung des 3D-Anaglyphenbildes in den Farben Rot und Cyan

Die nachfolgend gezeigten Bildbeispiele (Abb. 5–7) zeigen den 3D-Effekt im Anaglyphenverfahren (rot-cyan).

Die bildliche Wiedergabe von 3D-Anaglyphenbildern ist relativ einfach, kostengünstig und ohne großen technischen Aufwand möglich. Die Bilder können auf dem Computer bearbeitet und auch mit einer Anaglyphenbrille betrachtet werden. Fernseher mit Full HD Qualität eignen sich für die Bilddarstellung hervorragend, und man kann bei entsprechender Bildschirmgröße die Bilder auch einer größeren Zuschauerzahl vorführen. Für größere Veranstaltungen können die Bilder über einen Beamer den Zuschauern präsentiert werden. Bei allen digitalen Bildwiedergaben ist jedoch darauf zu achten, dass in diesen Geräten die Farbeinstel-



lungen in Normbereich liegen. Kommt es zu Abweichungen, können störende Geisterbilder die Folge sein. Das jeweilige Filterglas der Brille schafft es dann nicht, das dazugehörige Farbbild sauber herauszufiltern, und es bleiben störende Restbilder übrig. Bei richtiger Filterung werden dann beide Bilder, das heißt das linke und rechte Bild im menschlichen Gehirn zu einem räumlichen Bild verarbeitet und auch so empfunden. Fernseher älterer Bauart eignen sich nicht für die 3D-Darstellung.

Die für die Betrachtung notwendigen Anaglyphenbrillen kann man im einschlägigen Fachhandel für unter einem Euro erwerben. Somit wäre dies auch eine interessante didaktische, preisgünstige Darstellungsmöglichkeit für schulische Veranstaltungen. Mit einschlägigen Bildbearbeitungsprogrammen wie Photoshop ist eine Nachbearbeitung der Bilder von Vorteil. Zu bemerken ist, dass auch PICOLAY viele Nachbearbeitungsmöglichkeiten besitzt. Hier kommt es vor allen Dingen darauf an, dass

Bildnebensächlichkeiten entfernt werden, um den Betrachter nicht vom 3D-Bildobjekt abzulenken.

Abschlussbemerkungen

Beim normalen Stacking werden nur die schärfsten Bildpunkte des Stapels erhalten, weniger scharfe Strukturen gehen verloren. Problematisch ist dies bei Objekten mit sich überlagernden Strukturen, die man durchaus im Mikroskop sehen, aber kaum durch Stacken darstellen kann. PICOLAY bietet jedoch auch ein so genanntes Hologramm-Stacking an, mit dem insbesondere auch tiefer liegende und verdeckte Strukturen dargestellt werden können. Dabei werden die Objekte um beliebige Winkel gedreht und lassen sich von allen Seiten betrachten. Man kann sogar bewegte Bilder (Gif-Animationen) rotierender Objekte erzeugen. Die stereoskopische Darstellung von Objektstrukturen in voller Schärfentiefe vermittelt von biologischen Objekten neue Eindrücke, die der Realität viel näher kommen als ein gestacktes Bild. Das Verfahren lässt sich kostenlos unabhängig von Vergrößerung und Art der Beleuchtung anwenden und erlaubt Dreidimensionalität auch jenseits der mit einem Stereomikroskop erreichbaren Vergrößerung.

Literaturhinweise

- Cypionka, H.: PICOLAY Anleitung Version 2010-09-09. Institut für Chemie und Biologie des Meeres, Universität Oldenburg.
 Göke, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1988.
 Günther, G.: Hochgestapelt – tiefscharf: Anwendung aktueller Software zur Verarbeitung von Bilderstapeln. *Mikrokosmos* 95, 153–159 (2006).
 Vierling, O.: Die Stereoskopie in der Photographie und Kinematographie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1965.
 PICOLAY-Download, Anleitung und Beispiele im Internet: www.picolay.de

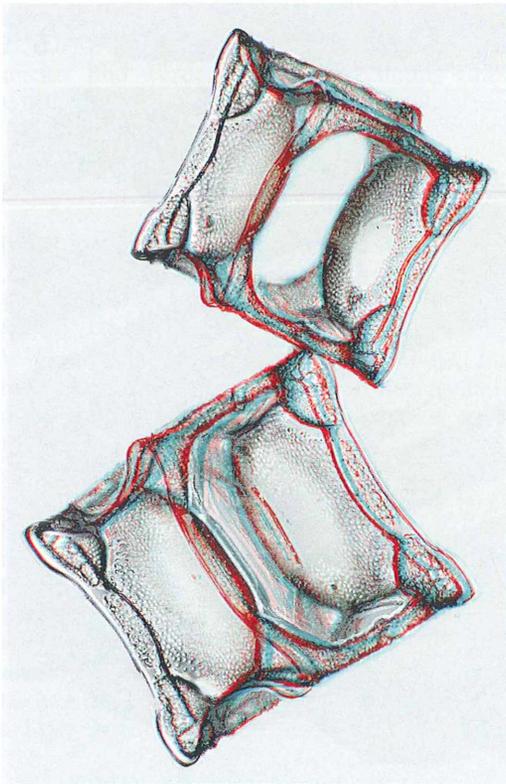


Abb. 7: Fossile Diatomeen (*Solium exsculptum*) von der Insel Mors ().

Verfasser: Dipl.-Ing. Eberhard Raap, Georg-Schumann-Straße 15, 06526 Sangerhausen, und Prof. Dr. Heribert Cypionka, Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM), Universität Oldenburg, Postfach, 26111 Oldenburg

Toxine der Cyanobakterien

Hermann Bothe

Die mikroskopisch kleinen Cyanobakterien synthetisieren Toxine unterschiedlichster chemischer Struktur und biologischer Wirkungsweise. Die Hauptgifte sind Hepatotoxine und Neurotoxine. Massenvorkommen von Cyanobakterien im Meer und in Süßgewässern können aus toxischen, aber auch aus nicht giftigen Stämmen bestehen. Die Fülle der verschiedenen Gifte mit ihren unterschiedlichen Wirkungsgraden macht deren Quantifizierung schwierig. Molekulare Methoden zur Bestimmung der Effektivität der Toxine sind in der Entwicklung. Da die Toxine in der Regel erst mit dem Absterben der Zellen freigesetzt werden, ist das Gefährdungspotential für den Menschen verhältnismäßig gering. Jedoch sind Vergiftungsfälle sogar mit tödlichem Ausgang bekannt.

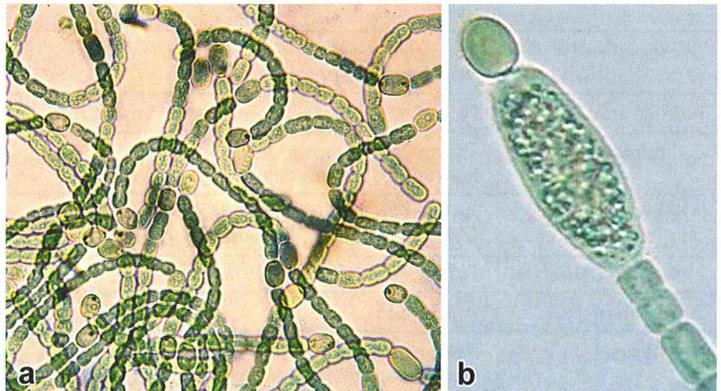
Cyanobakterien sind in vieler Hinsicht eminent wichtig. Sie sollen vor 3,5 Milliarden Jahren entstanden sein, entwickelten die photosynthetische Sauerstoffproduktion über Photosystem II und sorgten damit für die Anreicherung von Sauerstoff in der Atmosphäre. Nach der Endosymbionten-Theorie sind die Chloroplasten der Pflanzen aus freilebenden Cyanobakterien entstanden. Diese blau-grünen Mikroorganismen entwickelten unter den Prokaryoten die klarste Arbeitsaufteilung in verschiedenen Zelltypen: In den vegetativen Zellen findet die photosynthetische Kohlendioxid-Fixierung und Sauerstoff-Produktion statt (Abb. 1a). Heterocysten der fädigen Cyanobakterien beherbergen die Stickstoff-Fixierung, unter der man die Umwandlung von Luftstickstoffgas zu Ammonium-Ionen – kataly-

siert durch die Nitrogenase – versteht (Bothe et al., 2010). Dauerstadien (größere Zellen, sog. Akineten, Abb. 1b) werden unter ungünstigen Lebensbedingungen gebildet. Kurze Stücke aus 5–15 vegetativen Zellen (Hormogonien) in den Fäden fragmentieren und dienen bei einigen Arten zur Vermehrung.

Viele Cyanobakterien haben die einfachsten Nahrungsansprüche aller Organismen, denn sie leben auf rein anorganischem Medium mit Licht als Energiequelle und dem Distickstoffmolekül der Luft zur Stickstoffgewinnung. Sie besiedeln praktisch alle Biotope weltweit, von der Arktis bis zur Antarktis, das Meer, das Süßwasser oder die Bodenoberfläche von den feuchtesten bis zu den trockensten Standorten wie die Felsen der Wüsten. Die Zellen der Cyanobakterien weisen keine Kompartimentie-

Abb. 1: Toxische Cyanobakterien-Gattungen.

a Die Gattung *Anabaena* hat Toxin-bildende Vertreter. Das Bild zeigt die nicht-toxische *Anabaena variabilis* mit vegetativen Zellen und interkalaren Heterocysten. Vergr. 100fach.
b *Cylindrospermum* mit einer terminalen Heterocyste, daran anschließender Akinete gefolgt von vegetativen Zellen. Vergr. ca. 250fach.



rung etwa durch Zellkerne, Chloroplasten, Mitochondrien oder Vakuolen auf. Sie sind im Gegensatz zu echten Algen Prokaryoten und werden seit der wegweisenden Arbeit von Stanier und Cohen-Bazire (1977) in der einschlägigen Fachliteratur nur noch als Cyanobakterien und nicht mehr wie früher als Blaualgen oder blau-grüne Algen bezeichnet.

Cyanobakterien der Meere, des Brackwassers sowie der Seen in den Landgebieten haben auch unangenehme Eigenschaften. Neben der Bildung von übelriechenden Stoffen (Geosminen) synthetisieren manche Arten Toxine mit unterschiedlichen chemischen Eigenschaften, Wirkungsweisen und Gefährdungspotentialen. Da in der Öffentlichkeit vielfach Beunruhigungen und Unklarheiten über die Bedeutung der Toxine dieser Mikroorganismen bestehen, wird über sie in diesem Artikel berichtet.

Chemie und Wirkungsweise der Toxine der Cyanobakterien

Dieses komplexe Gebiet wurde vielfach referiert (Codd et al., 2005; Wiegand und Flugmayer, 2005; Araoz et al., 2010), so dass hier – auch aus Platzgründen – nur einige Grundzüge wiedergegeben werden sollen.

Hepatotoxine

Die wichtigsten Toxine der Cyanobakterien der Süßgewässer sind die Microcystine. Es handelt

sich um zyklische Heptapeptide mit der Grundzusammensetzung Adda–D-Glu–Mdha–D-Ala–L-X–DMeAsp–L-Z (Abb. 2). Dabei sind L-X und L-Z variable L-Aminosäuren, D-Glu und D-Ala die D-Isomere von Glutaminsäure beziehungsweise Alanin und die restlichen drei sehr ungewöhnliche Aminosäuren, nämlich N-Methyldehydro-Alanin (Mdha), die aus 20 C-Atomen bestehende β -Aminosäure (2S,3S,8S,9S)-3-Amino-9-Methoxy-2,6,8 Trimethyl-10-Phenyldeca-4,6-dienoische Säure (Adda) und D-Erythro- β -Methylasparaginsäure (D-MeAsp). Von dieser chemischen Grundstruktur gibt es über 80 Varianten (Araoz et al., 2010), wobei neben den beiden Aminosäuren L-X und L-Z vor allem die Methylierungen in den restlichen fünf Aminosäuren verändert werden (McElhiney und Lawton, 2005). Microcystine werden von Cyanobakterien der Gattungen *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* und in kleineren Mengen von *Nostoc*, *Hapalosiphon* und *Anabaenopsis* synthetisiert (Tabelle 1; McElhiney und Lawton, 2005; Codd et al., 2005).

Beim nah verwandten zyklischen Pentapeptid Nodularin, das bei *Nodularia spumigena* und *N. harveyana* vorkommt, fehlen die Aminosäuren L-X und D-Ala, und es besitzt L-Arginin anstelle von L-Y sowie N-Methyldehydrobutyrin anstelle von Mdha (Abb. 2). Auch hier sind sechs Varianten bekannt (Codd et al., 2005).

Die verschiedenen Microcystine und Nodularine unterscheiden sich im Grad ihrer Giftigkeit. Als Bezugs-Microcystin wird häufig Microcystin-LR verwendet. Es enthält in den beiden

Tabelle 1: Cyanobakterielle Toxine, deren Vorkommen und Giftigkeit (aus Codd et al., 2005).

Toxin	Vorkommen in Cyanobakterien in der Natur	Letale Dosis (LD ₅₀) Maus $\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht
Microcystine	<i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Anabaenopsis</i> , <i>Hapalosiphon</i>	25 bis ~1000
Nodularine	<i>Nodularia spumigena</i> und <i>N. harveyana</i>	30 bis 50
Cylindrospermopsin	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Umezakia</i>	200 bis 2100
Anatoxin-a	<i>Anabaena</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Cylindrospermum</i> , <i>Planktothrix</i>	250
Homoanatoxin-a	<i>Planktothrix</i>	250
Anatoxin-a(s)	<i>Anabaena</i>	40
Saxitoxine	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Lyngbya</i>	10 bis 30

variablen L-Aminosäuren in den Positionen 2 und 4 (mit X und Z gekennzeichnet) die Aminosäuren Leucin (L) und Arginin (R).

An der Biosynthese der Grundstruktur der Microcystine sind zehn Gene beteiligt. Bemerkenswert ist dabei, dass die Microcystine wie auch andere (alle?) cyanobakteriellen Toxine nicht-ribosomal, also über Multi-Enzym-Komplexe (Nicht-ribosomale Peptid-Synthetasen) gebildet werden, wobei die einzelnen Syntheseschritte aufgeklärt wurden (Dittmann und Börner, 2005; Welker und von Döhren, 2006).

Die Microcystine sind Hepatotoxine, also Lebergifte. Sie verursachen in der Leber Nekrosen (Absterben von Zellen) und Blutungen. Außerdem erzeugen sie Krebs-Tumore in der Leber. Auf biochemischer Ebene werden die Serin- und Threonin-Protein Phosphatasen 1 und 2A der Leber blockiert (McElhiney und Lawton, 2005; Wiegand und Flugmacher, 2005). Die Microcystine gelangen in die Leberzellen durch ein hoch exprimiertes Gallensäure-Transportsystem, das unspezifisch die Aufnahme von organischen Anionen katalysiert (Wiegand und Flugmacher, 2005).

Beim Cylindrospermopsin handelt es sich nicht um ein Peptid, sondern um ein Alkaloid. Dabei ist ein Hydroxymethyl-Uracil Ring an ein sulfoniertes trizyklisches Guanidin angeheftet (Abb. 2). Als Zwitterion ist es gut wasserlöslich. Auch beim Cylindrospermopsin sind mindestens zwei weitere Modifikationen der Grundstruktur des Moleküls bekannt. Das hitzestabile Cylindrospermopsin zersetzt sich im Sonnenlicht in Gegenwart von Lysaten aus dem Cyanobakterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, aber nicht im reinen Wasser, zu weiteren, möglicherweise toxischen Substanzen (Chiswell et al., 1999). Das Gift wurde zunächst für dieses tropische Cyanobakterium beschrieben, kommt aber auch in anderen wie *Umezakia natans*, *Aphanizomenon ovalisporum*, *Rhaphidiopsis curvata* oder *Anabaena bergii* vor (Wiegand und Flugmacher, 2005). Die Giftproduktion ist aber nicht auf tropische Gebiete beschränkt, sondern sie wurde auch für *Aphanizomenon flos-aquae* aus zwei Seen im Land Brandenburg berichtet (Preußel et al., 2006).

Cylindrospermopsin ist ebenfalls ein Lebergift, aber zersetzt auch Nieren, Thymus und Herz-Zellen (Wiegand und Flugmacher, 2005). Auf enzymatischer Ebene blockiert es im Gegensatz zu den Microcystinen nicht die Protein-Phosphatasen. Möglicherweise wird die Cytotoxi-

zität durch Cytochrom P₄₅₀ aktiviert. Es verursacht auch Brüche in den DNA-Strängen und wirkt damit mutagen und auch krebserregend. Die komplette Biosynthese sowie das kodierende Gencluster (43 kb mit 10 offenen Leserastern = Genen) wurden beschrieben (Mihali et al., 2008).

Neurotoxine

Diese Nervengifte werden vor allem in marinen Ökosystemen von Dinoflagellaten gebildet (Kalaitzis et al., 2010; Lewis und Poli, 2010), kommen aber auch in Cyanobakterien sowohl im Meer als auch im Süßwasser vor. Das gilt für das Saxitoxin, das mit anderen unter dem Namen „paralytische Muschel-Gifte“ (paralytic shellfish poisons = PSPs) zusammengefasst wird. Es wurde zuerst in der Muschel *Saxidomus giganteus* identifiziert, die sich von toxischen Dinoflagellaten und/oder Cyanobakterien ernährt hatte und von der sich der Name Saxitoxin ableitet (Wiegand und Flugmacher, 2005). Die Cyanobakterien *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena circularis*, *Lyngbya wollei*, *Planktothrix* sp. und *Cylindrospermopsis raciborskii* synthetisieren Saxitoxin. Das Gift blockiert die Nervenleitung, indem es an die Na⁺-Kanäle in den Nervenzellen bindet, damit das Öffnen der Kanäle verhindert und die Bildung von Aktionspotentialen hemmt. Dadurch kann es im Extremfall zur Atmungsparelyse und Tod bei Säugetieren kommen. Chemisch ist Saxitoxin ein komplexes Molekül mit drei Ringstrukturen (Abb. 2).

Weitere Neurotoxine sind die Anatoxine, von denen drei verschiedene beschrieben wurden (Wiegand und Flugmacher, 2005; Araoz et al., 2010). Anatoxin-a und das um eine CH₂-Gruppe verlängerte Homoanatoxin-a wirken als Antagonist zum Acetylcholin. Sie binden wie Acetylcholin an den Acetylcholin-Rezeptor in den Muskelzellen und lösen eine Kontraktion aus. Acetylcholin wird anschließend durch das Enzym Acetylcholinesterase abgebaut, wodurch die Muskelzelle in den Ruhezustand überführt wird. Das Enzym kann jedoch nicht Anatoxin-a beziehungsweise Homoanatoxin-a abbauen. Der Na⁺-Kanal bleibt geöffnet, und die Muskelzelle ist dann ständig kontrahiert. Wenn dieses bei der Atemmuskulatur erfolgt, droht die Erstickung mangels Sauerstoffzufuhr zum Gehirn.

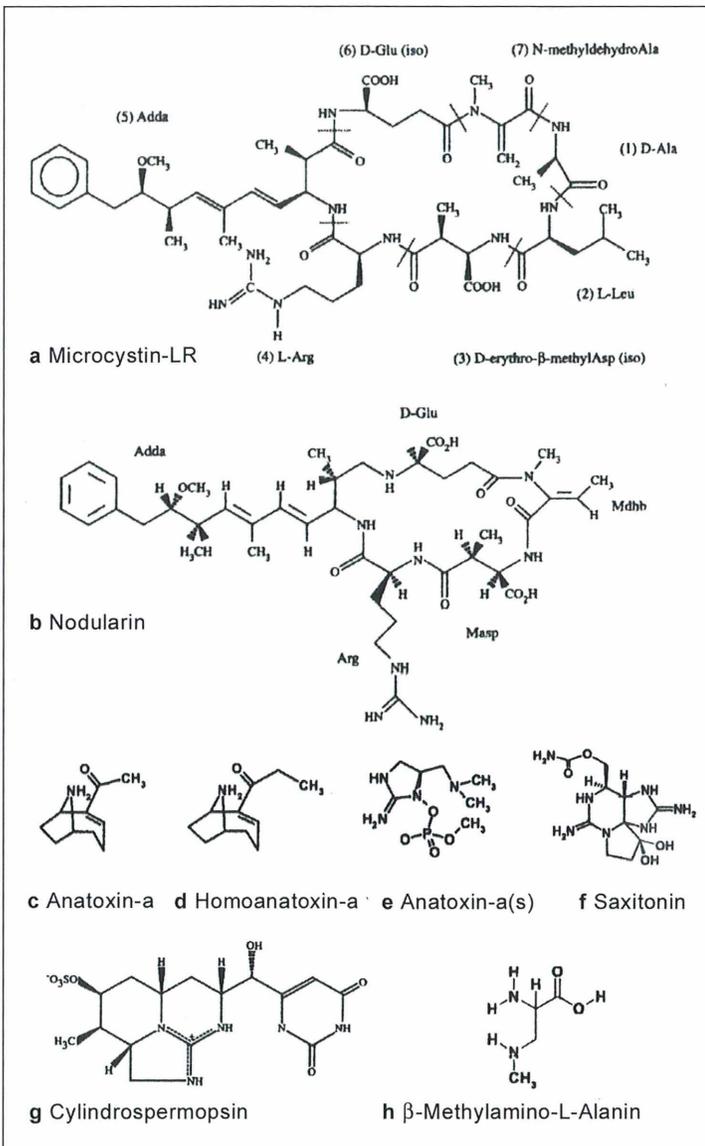


Abb. 2: Chemische Strukturen der wichtigsten cyanobakteriellen Toxine.

Anatoxin-a(s) hemmt unmittelbar das Enzym Acetylcholinesterase. Bei Mäusen führt die Applikation dieses Giftes zu einem viskosen Speichelfluss, englisch salivation, welches das (s) am Ende des Worts erklärt. Auch bei Vergiftung mit Anatoxin-a(s) kommt es letztlich zum Atemstillstand.

Chemisch sind Anatoxin-a und Homoanatoxin-a zyklische sekundäre Amine. Anatoxin-a(s) ist ein Phosphatester des zyklischen N-Hydroxy-Guanidins, wobei die N-P-Bindung in der Biologie relativ ungewöhnlich ist. Anatoxin-a be-

ziehungsweise Homoanatoxin-a einerseits und Anatoxin-a(s) andererseits sind mithin chemisch nicht miteinander verwandt (Abb. 2). Das mutmaßliche Gencluster und die Biosynthese von Anatoxin-a und Homoanatoxin-a von *Oscillatoria* PCC 6506 wurden kürzlich publiziert (Méjean et al., 2009).

Von anderer Wirkungsweise und chemischer Struktur ist β-Methylamino-L-Alanin (BMAA). Es besteht aus der nicht-essentiellen Aminosäure L-Alanin, an die eine Methylamino-Gruppe geknüpft ist (Abb. 2). Es kommt in

Zellen sowohl in freier Form als auch als falscher Aminosäure-Baustein in Proteinen vor. BMAA wird als eine der Ursachen der amyotrophen Lateralsklerose (ALS) diskutiert. Dabei kommt es zu einer allmählich fortschreitenden, irreversiblen Degeneration der Neuronen, die für die Muskelbewegung verantwortlich sind. Eine Variante der ALS, die auch Symptome eines Parkinson-Syndroms sowie einer Demenz zeigt, trat um 1940 sehr gehäuft bei der Urbevölkerung (den Chamorros) der Pazifik-Insel Guam auf. Nationalgericht dieser Volksgruppe waren Tortillas aus Mehl von Samen der Gymnosperme *Cycas micronesia*. Dieses Mehl enthielt BMAA jedoch nur in sehr geringen Mengen, so dass die ursprüngliche Theorie, dieses Gift sei Ursache von ALS, zwischenzeitlich aufgegeben wurde. Danach wurde jedoch gefunden, dass BMAA nicht nur frei, sondern auch Protein-gebunden vorkommt und daraus allmählich wieder freigesetzt wird (Murch et al., 2004). Weiterhin wird das Gift (überwiegend) nicht selber von *Cycas* synthetisiert, sondern von einem Cyanobakterium der Gattung *Nostoc*, das in Symbiose in den Wurzeln von *Cycas* lebt (Banack et al., 2007). *Cycas* nimmt vermutlich das von *Nostoc* synthetisierte BMAA über die Wurzeln auf, bindet es in seinen Proteinen und lagert diese unter anderem in die Samen ein. Die Samen werden von Fledermäusen der Gattung *Pteropus* gefressen, und in diesen Tieren kommt BMAA in stark angereicherter Form, nämlich in 10.000-fach höheren Mengen als in *Nostoc* selbst vor (Cox et al., 2003). Die Fledermäuse werden von den Chamorros als Delikatesse verzehrt.

BMAA kommt in mehr als 90 % aller getesteten Cyanobakterien vor und wurde kürzlich auch für die Cyanobakterien Gattungen *Nodularia* und *Aphanizomenon* der Ostsee beschrieben (Jonasson et al., 2010). Es wird gegenwärtig untersucht, ob tatsächlich ein Zusammenhang zwischen der Aufnahme von BMAA ins Säugetiergehirn und dem Ausbruch von Demenzkrankheiten wie ALS und Alzheimer bestehen kann.

Andere cyanobakterielle Giftstoffe

Cyanobakterien sind Gram-negativ, und somit besteht die äußere Schicht der Zellwand aus komplex aufgebauten Lipopolysacchariden (LPS). LPS können bei Säugern Antikörper-

reaktionen, Fieber und septische Schocksyndrome hervorrufen und auch das Entgiftungssystem beeinflussen. Jedoch sind die cyanobakteriellen LPS bei weitem nicht so toxisch wie etwa die von Vertretern der Gattung *Salmonella*. Derzeit ist ungeklärt, ob die cyanobakteriellen LPS spezifische, nur für diese Organismen geltende Toxizitäten im Vergleich zu denen anderer Gram-negativer Bakterien hervorrufen. Die Wirkungsweisen neurotoxischer Cyanobakterien-Lipopeptide wie Antillatoxin A und B, Kalkitoxin oder Jamaicamid sind erst in Grundzügen bekannt (Araoz et al., 2010). Mehr als 600 verschiedene Oligopeptide oder peptidische sekundäre Stoffwechselprodukte sind von den verschiedenen Taxa der Cyanobakterien beschrieben worden. Die Human-Toxizität ist bislang nur für wenige dieser Substanzen untersucht worden. Hier könnten zukünftige Untersuchungen neuartige Wirkungsweisen und manche Überraschungen liefern.

Ökologische Rolle der cyanobakteriellen Toxine

Cyanobakterien besitzen somit ein Arsenal an Toxinen unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung und biologischer Wirkungsweise. Überraschenderweise ist die ökologische Bedeutung der Toxine für die Cyanobakterien selber weitgehend unklar. Die Toxine werden von den Cyanobakterien nicht in allen Entwicklungsstadien, sondern häufig nur in der späten

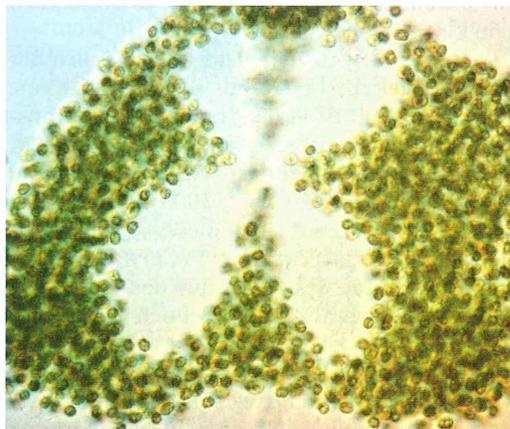


Abb. 3: Massenkultur von *Microcystis* aus einem Badensee bei Heidelberg; Vergr. 50fach (Foto: Eberhard Schnepf, Heidelberg).

logarithmischen Wachstumsphase gebildet. Bedeutsamer ist, dass es von *Microcystis* (Abb. 3) oder *Cylindrospermopsis* Stämme gibt, die Toxine synthetisieren und andere, die dieses nicht durchführen (Dittmann und Börner, 2005; Preußel et al., 2006; Humbert et al., 2010). Positive und negative Stämme wachsen nebeneinander in einem Habitat, und der Toxin-produzierende Stamm hat keinen (offensichtlichen) Selektionsvorteil. Ausscheidungen (Exudate) von *Oscillatoria* sp. hemmen zwar das Wachstum der Grünalge *Chlorella*, und zyklische Peptide könnten Ursache für diese allelopathischen Wechselwirkungen sein (Leao et al., 2010). Andere Beispiele zu derartigen Interaktionen wurden von Wiegand und Flugmacher (2005) aufgeführt. Aber angesichts der Vielzahl der von Cyanobakterien gebildeten sekundären Stoffe ist der kausale Zusammenhang zwischen Toxin und Allelopathie in den seltensten Fällen eindeutig. Im Durchschnitt sollen 60 % aller Cyanobakterien-Blüten in den Süßgewässern weltweit toxisch sein (Vareli et al., 2009).

Toxische *Microcystis*-Stämme enthalten Plasmide (kleine DNA-Stücke), und der häufige Verlust oder leichte Transfer eines Plasmids oder chromosomaler DNA von einem toxischen Stamm zu einem anderen würde erklären, warum nur einige der *Microcystis*-Vertreter das Gift produzieren können (Dittmann und Börner, 2005). Aber ein möglicher Zusammenhang zwischen der Fähigkeit zur Microcystin-Biosynthese und dem Besitz von Plasmiden ist nach wie vor ungeklärt. Verschiedene *Microcystis*-Stämme besitzen unterschiedliche Plasmide, und ein Toxin produzierendes Isolat besitzt offensichtlich kein Plasmid (Schwabe et al., 1988).

Die Toxine bleiben zeitlebens in den Zellen der Cyanobakterien; bestenfalls 10 % der Toxine wird durch Diffusion oder auch aktiven Transport (Dittmann und Börner, 2005) freigesetzt. Eine Ausnahme bildet das *Cylindrospermopsis* (Wiegand und Flugmacher, 2005). Bei der *Cylindrospermopsis*-Art, die dieses Gift produziert, ist ein Transportprotein (Carrier) für das Herausschleusen des Giftes aus den Zellen bekannt (Mihali et al., 2008). Bei den Cyanobakterien erfolgt die Toxinabgabe (weitgehend) passiv, und die an das Wasser abgegebene Menge dürfte in der Regel infolge sofortiger starker Verdünnung für eine Wechselwirkung mit anderen Organismen zu klein sein.

Allerdings können sich die Toxine in der Nahrungskette anreichern. Das Beispiel Fleder-

mäuse auf Guam wurde bereits bei der Besprechung von BMAA erwähnt. Cyanobakterielle Toxine können sich in Wasserpflanzen wie *Ceratophyllum demersum* oder *Elodea canadensis*, aber auch im Schilfrohr am Rande von Seen anreichern (Wiegand und Flugmacher, 2005). Vertreter des Zooplanktons (z.B. Daphnien), Muscheln, Krebse oder diverse Fischarten können die Gifte ebenfalls akkumulieren (Wiegand und Flugmacher, 2005). Das wurde vor allem für das Microcystin gezeigt. Diese Tiere werden offensichtlich durch das Gift nicht geschädigt, so dass auch hier kein Selektionsvorteil für toxische Cyanobakterien erkennbar ist.

Schwierigkeiten beim Nachweis cyanobakterieller Toxine

Die verschiedenen Cyanobakterien-Gattungen können relativ leicht mikroskopisch bestimmt werden, und die Mengen an Zellen in einer Probe kann mit der Durchfluss-Cytometrie ermittelt werden. Selbstverständlich kann so nicht zwischen toxischen und nicht-giftigen Stämmen unterschieden werden, und der Gehalt beispielsweise von Microcystin in den *Microcystis*-Zellen eines Sees schwankt mit der Jahreszeit (Dittmann und Börner, 2005). Microcystin als das wichtige cyanobakterielle Toxin der Süßgewässer wird üblicherweise über HPLC aufgetrennt und dann photometrisch oder massenspektrometrisch bestimmt. Das erfordert zunächst eine Anreicherung des Gifts aus den Proben. Standards gibt es nur für Microcystin-LR und für wenige andere (McElhiney und Lawton, 2005). Die Quantifizierung krankt daran, dass die 80 verschiedenen Microcystine unterschiedlich absorbieren und teilweise identische Massen haben (McElhiney und Lawton, 2005). Zwar sind Antikörper gegen Microcystin-LR entwickelt worden und käuflich erwerbbar, aber auch hier unterscheiden sich im ELISA-Test die verschiedenen Microcystine in ihrer Empfindlichkeit bei der Antikörper-Antigen Reaktion (McElhiney und Lawton, 2005). Die Toxizität der Microcystine wie auch der anderen Gifte wird üblicherweise an lebenden Organismen wie Mäusen, *Drosophila*, Daphnien oder am Salzkrebs (*Artemia salina*) getestet. Aber solche Tests an lebenden Organismen unterliegen heute der öffentlichen Kritik. Biochemische Tests basieren auf der Hemmung der Phosphatasen. Aber auch hier unterschei-

den sich die verschiedenen Microcystine in der Stärke der Hemmwirkung (McElhiney und Lawton, 2005). Mithin ist die Quantifizierung der Microcystine in Umweltproben und vor allem die Ermittlung des Toxizitätsgrades allgemein problematisch und fehlt fast immer (Codd et al., 2005). Hinzu kommt, dass die verschiedenen Methoden zur Quantifizierung der Toxine oft zu abweichenden Ergebnissen führen (Hoeger et al., 2005).

Die rasante Entwicklung der Molekularbiologie in den letzten 15 Jahren hat zum Einsatz von molekularen Methoden zur Bestimmung von toxischen Cyanobakterien-Zellen und deren Toxizitätsgraden geführt, und der gegenwärtige Stand der Forschung auf diesem Sektor wurde kürzlich ausführlich referiert (Humbert et al., 2010). Quantifizierungen von toxischen Prokaryoten-Arten können durch DNA-Hybridisierungen, meist über die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-Technologie (FISH) oder über quantitative real-time-PCR erfolgen. Diese Studien basieren fast immer auf Hybridisierungen mit dem 16S-rDNA Gen oder dessen Transkripten, und es wurden auch Mikroarray-Platten (Microarrays) mit DNA dieses Gens aus einer Vielzahl toxischer Prokaryoten entwickelt. Somit ist die qualitative Abschätzung der Anwesenheit oder Abwesenheit von diversen Cyanobakterien möglich (Humbert et al., 2010). Dabei können jedoch keine toxischen von nicht-giftigen Stämmen unterschieden werden. Dazu müssen die Gene der die Toxin-Synthese kodierenden Enzyme erfasst werden. Bei den Neurotoxinen ist die Biosynthese der Toxine erst seit kurzem bekannt. Beim Microcystin müssen Genproben entwickelt werden, die alle der mehr als 80 Varianten dieses Giftes erfassen. Derartige Erkennungen und Quantifizierungen über Genproben setzen voraus, dass die Gene immer zunächst über PCR mit all den damit verbundenen Problematiken quantifiziert werden. Ein Gen, das erfasst wurde, muss nicht notwendigerweise aktiv sein, sondern kann durch Mutagenese inaktiviert worden sein (Humbert et al., 2010). Ein neuerer Ansatz besteht darin, artifizielle Zellrezeptoren (molecular imprinted polymers, MIPs) zu synthetisieren, die Gifte wie Microcystin-LR binden und die damit die Quantifizierung der Microcystine ermöglichen (McElhiney und Lawton, 2005). Bislang befinden sich all diese beschriebenen Entwicklungen im Stadium der Forschung und müssen zur Routineanalyse mit Proben aus der

Umwelt noch validiert werden (Humbert et al., 2010). Es ist jedoch zu erwarten, dass in den nächsten Jahren umfassende und eventuell auch kostengünstige Frühwarnsysteme zur Bildung toxischer Cyanobakterien-Blüten durch molekularbiologische Methoden entwickelt werden (Saker et al., 2007).

Bedrohungen des Menschen durch cyanobakterielle Toxine

Cyanobakterien sind natürliche Bestandteile der Seen. Sie kommen mit der Eutrophierung der Gewässer zur Massenentfaltung (Cyanobakterien-Blüte). Ein Überschuss von Phosphat und bei nicht Stickstoff-fixierenden Arten von Stickstoff in gebundener Form (Nitrat, Ammoniak oder organischer Stickstoff) begünstigen die Entfaltung der Blüte, wobei die Bedingungen und der Zeitpunkt für die Massenentwicklung nur in selteneren Fällen voraussagbar sind. Starke Massenentfaltungen von Cyanobakterien entwickeln einen widerlichen Geschmack und Geruch, so dass man in einem solchen See kaum schwimmen wird. Da die Toxine in den Zellen bleiben, ist eine Vergiftungsgefahr in wenig von Cyanobakterien bewachsenen Seen gering oder gar auszuschließen. Cyanobakterien erzeugen möglicherweise Allergien durch die Toxine oder andere Substanzen. Die Toxine werden mit dem Absterben der Massenblüten freigesetzt und befinden sich dann besonders in Schäumen.

Ein eindeutig auf *Microcystis* zurückzuführender Vergiftungsfall hat sich im Februar 1996 in Caruaru in Brasilien ereignet (Azevedo et al., 2002). Von 131 Nieren-Dialyse Patienten entwickelten 100 ein akutes Leber-Versagen und 52 starben. Die Dialyse wurde mit Wasser von der städtischen Gewinnungsanlage durchgeführt. Das Wasser war mit einem Lastwagen angefahren worden, und der Fahrer hatte die Anweisung, dem Wasser in seinem Tank Chlor zuzusetzen, wenn die sichtbare Trübung des Wassers hoch war. Das Absterben der Cyanobakterien-Zellen im Tank hat offensichtlich zum Freisetzen der Toxine und damit zur Katastrophe geführt.

Eine Gefahr besteht darin, dass sich die Cyanobakterien-Toxine in manchen essbaren Tieren anreichern. Menschliche Todesfälle durch den Verzehr solcher Tiere werden vermutet, sind aber aufgrund der Nachweisproblematik bei

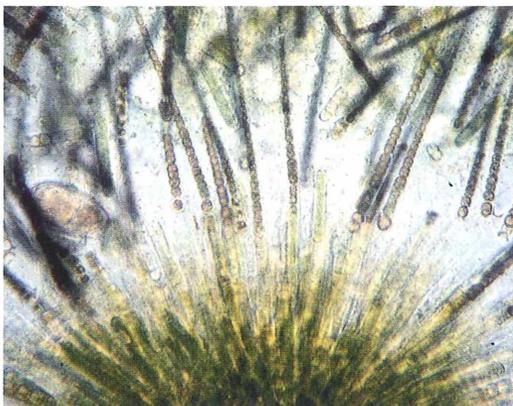


Abb. 4: *Gloeotrichia* bildet sternförmige Kolonien aus Fäden, die im Zentrum Heterocysten besitzen; Vergr. 100fach.

Menschen schwer zu beweisen (Azevedo et al., 2002).

Die Gattung *Spirulina* wird gern als Wunderheilmittel bei allerlei Krankheiten, als vorbeugendes, gesundheitsförderndes Naturprodukt oder als Appetitzügler verkauft (Schnepf, 2009). Kulturen von *Spirulina*, die im Feld und nicht unter definierten Laborbedingungen gewonnen werden, können mit anderen Cyanobakterien-Arten kontaminiert sein. Die Hersteller der Wunderpräparate verfügen schwerlich über die aufwendige Methodik, cyanobakterielle Toxine in ihren Produkten nachzuweisen. Mithin ist der Verkauf solcher Präparate nicht unkritisch (siehe dazu Wikipedia; Stichwort cyanobakterielle Toxine).

Manche menschlichen Todesfälle durch Aufnahme von cyanobakteriellen Toxinen liegen im Bereich des Spekulativen. Anreicherungen von cyanobakteriellen Toxinen in Muscheln, Krabben und Meeresfischen wurden beschrieben (Wiegand und Flugmacher, 2005), aber unbekannt ist, ab welcher Menge an verzehrten Meeresfrüchten die mit aufgenommenen cyanobakteriellen Toxine für den menschlichen Organismus kritisch werden. *Cylindrospermopsis* aus *Cylindrospermopsis raciborskii* soll eine Vergiftung von 140 Aborigines in Palm Island in Australien im Jahr 1979 verursacht haben (Preußel et al., 2006) und BMAA soll nicht nur die Einwohner von Guam, sondern auch andere Bewohner von Inseln des Pazifiks geschädigt haben (Jonasson et al., 2010). Die massive Blüte von toxischen *Microcystis*-Arten

in einem Frischwassersee in China führte im Mai 2007 dazu, dass zwei Millionen Personen eine Woche lang ohne Trinkwasser blieben (Qin et al., 2010).

Wie gesagt, höchste Konzentrationen an toxischen Cyanobakterien sind in eutrophierten Seen zu erwarten, und der Verschmutzungsgrad der Seen und damit die Cyanobakterien Blüten nehmen weltweit zu. Toxische Cyanobakterien müssen jedoch nicht auf eutrophierte Seen beschränkt sein, wie die eigene Erfahrung zeigt. Auf einer botanischen Wanderung bei Midsland aan Zee, Insel Terschelling, im Jahr 2003, habe ich den Studenten einen kleinen oligotrophen See gezeigt, der am Rand charakteristische Nährstoff-Armut anzeigende Pflanzen trug wie den Strandling (*Littorella uniflora*), Igelstrauch (*Baldellia ranunculoides*) oder Zwergflachs (*Radiola linoides*) und den in Symbiose mit N_2 -fixierenden Bakterien lebenden Gagelstrauch (*Myrica gale*) (Lüthje und Brogmus, 2011). Der See schien so klar und sauber zu sein, dass ich den Studenten sagte, angesichts der die extreme Nährstoffarmut anzeigenden Pflanzen müsste man das Wasser eigentlich unbedenklich trinken können. Bei näherem Hinsehen entdeckten wir im Wasser in großer Fülle blau-grüne, gerade noch mit dem Auge als Punkte sichtbare Kolonien, die sich mikroskopisch als *Gloeotrichia* bestimmen ließen. Viele Fäden dieses Cyanobakteriums bilden eine kunstvoll geformte Kolonie mit Heterocysten an der Basis (Abb. 4). *Gloeotrichia* soll vor allem in verschmutzten Gewässern vorkommen und kann dort einen N-Mangel durch die Stickstoff-Fixierung ausgleichen (Hudon et al., 2009). Dieses Cyanobakterium hat jedoch eine breite ökologische Amplitude von starker Verschmutzung durch Phosphate bis zur Nährstoffarmut der Seen. Für *Gloeotrichia* wurde die Microcystin-Bildung nachgewiesen (Carey et al., 2007), auch wenn die Gattung nicht im Zentrum der Toxinforschung von Cyanobakterien steht. Das Beispiel *Gloeotrichia* zeigt, wie segensreich es sein kann, wenn Studenten nicht immer ihrem Dozenten glauben.

Danksagung

Der Autor dankt Dr. Rolf Sievers, Bonn, Dr. Harald Bothe, München, und Prof. Gernot Wendler, Köln, für hilfreiche Kommentare und Verbesserungen.

Literaturhinweise

- Araoz, R., Molgo, J., Tandeau de Marsac, N.: Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon* 56, 813–828 (2010).
- Azevedo, S. M. F. O., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R., Eaglesham, G. K.: Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology* 181,441–446 (2002).
- Banack, S. A., Johnson, H. E., Cheng, R., Cox, P. A.: Production of the neurotoxin BMAA by a marine cyanobacterium. *Mar. Drugs* 5, 180–196 (2007).
- Bothe, H., Schmitz, O., Yates, M. G., Newton, W. E.: Nitrogen fixation and hydrogen metabolism by cyanobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 29–551 (2010).
- Carey, G., Haney, J. F., Cottingham, K. L.: First report of microcystin-LR in the cyanobacterium *Gloeotrichia echinulata*. *Environ. Toxicol.* 22, 337–339 (2007).
- Chiswell, R. K., Shaw, G. R., Eaglesham, G., Smith, M. J., Norris, R. L., Seawright, A. A., Moore, M. R.: Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environ. Toxicol.* 14, 155–161 (1999).
- Codd, G. A., Morrison, L. F., Metcalf J. C.: Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203, 264–272 (2005).
- Cox, P. A., Nanack, S. A., Murch, S. J.: Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proc. Nat. Acad. Sci. US* 100, 13380–13383 (2003).
- Dittmann, E., Börner, T.: Genetic contributions to risk assessment of microcystin in the environment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203, 192–200 (2005).
- Hoeger, S. J., Hitzfeld, B. C., Dietrich, D. R.: Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203, 231–242 (2005).
- Hudon, C., Cattaneo, A., Gagnon, P.: Epiphytic cyanobacterium *Gloeotrichia pismus* as an indicator of nitrogen depletion. *Aquatic Microb. Ecol.* 57, 191–202 (2009).
- Humbert, J. F., Quiblier, C., Gugger, M.: Molecular approaches for monitoring potentially toxic marine and freshwater phytoplankton species. *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 1723–1732 (2010).
- Jonasson, S., Eriksson, J., Berntzon, L., Spáčil, Z., Ilag, L. L., Ronnevi, L.-O., Rasmussen, U., Bergman, B.: Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure. *Proc. Nat. Acad. Sci. US* 107, 9252–9257 (2010).
- Kalaitzis, J. A., Chau, R., Kohli, G. S., Murray, S. A.: Biosynthesis of toxic naturally-occurring seafood contaminants. *Toxicon* 56, 244–258 (2010).
- Leao, P. N., Pereira, A. R., Liuc, W.-T., Ngd, J., Pevzner, P. A., Dorrestein, P. C., König, G. M., Vasconcelosa, V. M., Gerwick, W. H.: Synergistic allelochemicals from a freshwater cyanobacterium. *Proc. Nat. Acad. Sci. US* 107, 11183–11188 (2010).
- Lewis R. J., Poli, M.: Editorial: Toxins in seafood. *Toxicon* 56, 107–107 (2010).
- Lüthje, E., Brogmus, H.: *Myrica gale* – Vom Gold der Gabelkogge. *Mikrokosmos* 100, 19–23 (2011).
- McElhiney, J., Lawton, L. A.: Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203, 219–230 (2005).
- Méjean, A., Mann, S., Maldiney, T., Vassiliadis, G., Lequin, O., Ploux, O.: Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloid anatoxin-a and homoanatoxin-a in the cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506 occurs on a modular polyketide synthase initiated by L-proline. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 7512–7513 (2009).
- Mihali, T. K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K. D., Neilan, B. A.: Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 716–722 (2008).
- Murch, S. L., Cox, P. A., Banack, S. A.: A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam. *Proc. Nat. Acad. Sci. US* 101, 12228–12231 (2004).
- Preußel, K., Stüken, A., Wiedner, C., Chorus, I., Fastner, J.: First report on cylindrospermopsin producing *Aphanizomenon flos-aquae* (cyanobacteria) isolated from two German lakes. *Toxicon* 47, 156–162 (2006).
- Qin, B., Zhu, G., Gao, G., Zhang, Y., Li, W., Paerl, H. W., Carmichael, W. W.: A drinking water crisis in Lake Taihu, China: Linkage to climatic variability and lake management. *Environ. Managem.* 45, 105–112 (2010).
- Saker, M., Vale, M., Kramer, D., Vasconcelos, V. M.: Molecular techniques for the early warning of toxic cyanobacteria blooms in freshwater lakes and rivers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 441–449 (2007).
- Schnepf, E.: Mikroalgen in Massenkulturen. *Mikrokosmos* 98, 244–248 (2009).
- Schwabe, W., Weihe, A., Börner, T., Henning, M., Kohl, J.-G.: Plasmids in toxic and nontoxic strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Curr. Microbiol.* 17, 133–137 (1988).
- Stanier, R. Y., Cohen-Bazire, G.: Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 31, 225–274 (1977).
- Vareli, K., Piliadis, G., Mavrogiorgou, M.-C., Brasoulis, E., Sainis, I.: Molecular characterization of cyanobacterial diversity and yearly fluctuations of microcystin loads in a suburban Mediterranean lake. *J. Environ. Monit.* 11, 1506–1512 (2009).
- Wiegand, C., Flugmacher, S.: Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites: a short review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203, 201–218 (2005).

Verfasser: Prof. Dr. Hermann Bothe,
Botanisches Institut,
Universität zu Köln,
Zülpicherstraße 47b,
50923 Köln
E-Mail: Hermann.Bothe@uni-koeln.de

Anatomie und Biologie von Hydrozoa (Cnidaria)

Hydromedusen

Thomas Fromm

Sie sind oft nur wenige Millimeter groß, außerordentlich zerbrechlich und von erhabener Schönheit: Hydromedusen der Nesseltiere. Vertreter dieser Tiergruppe bilden, von wenigen im Süßwasser vorkommenden Arten einmal abgesehen, einen bedeutenden Bestandteil des Planktons der Meere und sind mit etwa 700 Arten auf unserem Planeten vertreten. Taxonomisch betrachtet gehören sie zu einer stammesgeschichtlich seit dem Präkambrium bekannten Tiergruppe, die durch den Besitz hoch spezialisierter Zellen gekennzeichnet ist, die dieser Gruppe auch ihren Namen gaben: Die Nesseltiere (Cnidaria) mit ihren Nesselzellen (Cnidocyten = Nematocyten). Und noch etwas ist dieser Gruppe eigen, nämlich dass ihre Vertreter in zwei Habitusformen vorkommen, als Polypen und als Medusen.

Zu den Nesseltieren werden nicht nur die kleinen Hydromedusen gezählt, sondern auch die entfernter verwandten, viel größeren Scheibenquallen, die man vom Urlaub an der Nord- und Ostsee oder vom Mittelmeer her kennt. Auch die Blumentiere, also Korallen und Seeanemonen, gehören zu den Nesseltieren. Und schließlich zählen auch die hochentwickelten und extrem toxischen Würfelquallen in diese Tiergruppe. Letztere kommen aber nur in tropischen Meeren vor, wie zum Beispiel die berühmte Seewespe

Chironex fleckeri an der Ostküste Australiens. Die Giftmenge einer einzigen Seewespe soll angeblich ausreichen, um 250 erwachsene Menschen zu töten.

Die Nesseltiere zerfallen demnach in vier Klassen: In die Scyphozoa (Scheibenquallen oder „echte Quallen“ mit ca. 130 Arten), in die Cubozoa (Würfelquallen mit ca. 20 Arten), in die Hydrozoa (mit ca. 2.600 Arten) und in die Anthozoa (Blumentiere mit ca. 4.900 Arten). Lediglich die Anthozoen sind nur auf das Polypenstadium beschränkt, in den anderen Klas-

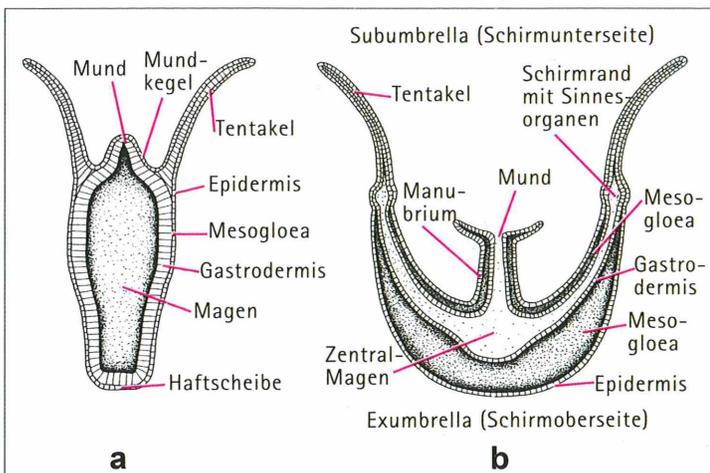


Abb. 1: Schematischer Bauplan von Polyp (a) und Meduse (b). Beim Vergleich beider Baupläne wird deutlich, dass die Meduse nur einen umgebildeten Polypen darstellt. Für die Anpassung an die freischwimmende Lebensweise wurde die Haftscheibe des Polypen überflüssig. Im Gegenzug war die Entwicklung von Sinnesorganen erforderlich, welche eine Raumorientierung sowie eine Hell-Dunkel-Differenzierung ermöglichen (aus Heeger, 1998).

sen werden auch Medusenformen gebildet. Nach der älteren Systematik (Kaestner, 1968) waren die Scyphozoen die ursprünglichsten Vertreter der Cnidaria, wofür vor allem der einfach gebaute Scyphopolyp sprach. Die Hydrozoa mit ihren oft kompliziert gebauten Polypen stellten innerhalb der medusenbildenden Cnidaria die höchste Entwicklungsstufe dar, und die Anthozoen waren innerhalb der Cnidaria die am höchsten entwickelte Gruppe, worauf auch mehrere verhaltensökologische Beobachtungen hinwiesen. Neuere Erkenntnisse – insbesondere die Einbeziehung molekular-phylogenetischer Daten und morphologisch-anatomischer Autapomorphien – führten zu einer veränderten Vorstellung der Stammesgeschichte. Nach heutigem Wissen sind die Anthozoa als basale Vertreter anzusehen, und die Schwestertaxa der Scyphozoa und Cubozoa sind am höchsten entwickelt (Jarms und Schäfer, 2007). Da die Systematik der Cnidaria kein Schwerpunkt dieses Artikels ist, wird hierauf nicht weiter eingegangen.

Es ist davon auszugehen, dass der Polyp die Grundform der Cnidarier darstellt und die Meduse lediglich ein umgeformter, abgelöster Polyp ist. Andererseits darf hier aber nicht verschwiegen werden, dass meist die Medusenform die Geschlechtsprodukte erzeugt und nicht der Polyp. Die Hydromedusen stellen neben dem Polypen einen Habitustyp in der Klasse der Hydrozoa dar.

Der Polyp

Wohl jedem Mikroskopiker sind sie vertraut: Die Süßwasserpolyphen. Tatsächlich stellen die einheimischen *Hydra*-Arten Polypen dar und geben auf Grund ihrer einfachen Bauweise wohl am besten den Grundbauplan eines Polypen wieder (Abb. 1). Die Polypen sind sackförmige, doppelwandige Schläuche, die aus zwei Zellschichten bestehen, einem äußeren Ektoderm und einem inneren Entoderm, welche durch eine Stützgallerte, die so genannte Mesogloea, getrennt sind. Diese gewinnt durch Einlagerung von Kollagen und Elastin eine skelettartige Bedeutung. Der Polyp selbst besteht aus einer Haft- oder Fußscheibe, mit der er sich am Substrat festklebt, einem stielartigen Rumpf (Hydrocaulus), einem „Köpfchen“ (Hydrant) sowie einem Mund (Hypostom). Das Köpfchen besitzt ein zentrales Mundrohr, welches zu einem „Magen“ erweitert sein kann. Weiterhin trägt der Hydrant ein- oder mehrreihige Tentakelkränze am Rande, die dem Beutefang dienen. Der Hydrant kann außerdem von einer abstehenden Hülle (Hydrothek) umgeben sein.

Ein Polyp ist meist nicht größer als 1–2 mm, und die meisten Arten besiedeln Tiefen des Meeres von 0–100 m. Grundsätzlich lassen sich bei den Polypen und – wie wir später sehen werden – auch bei den Medusen, zwei Möglichkeiten der Fortpflanzung unterscheiden,

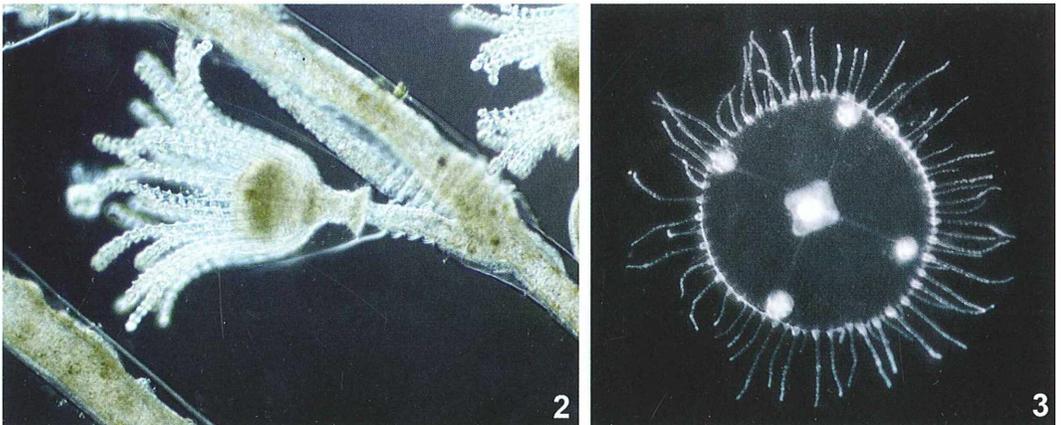


Abb. 2: *Obelia (Laomedea) dichotoma*, eine der drei *Obelia*-Polypenarten, welche Medusen erzeugen. Deutlich zu erkennen die Hülle (Theca) des Polypen, welche diesen als thecate Form ausweist. – **Abb. 3:** *Obelia spec.*, die dazugehörige Meduse. Zu erkennen sind die für Leptomedusen typischen Gonaden, die nicht am zentralen Mund liegen, sondern an den Radialkanälen. Bei *Obelia* ist das Velum vollständig zurückgebildet. Durchmesser circa 4 mm. Ganzjährig im Plankton bei Helgoland zu finden.

nämlich ungeschlechtliche und geschlechtliche Fortpflanzung. Die ungeschlechtliche Vermehrung erfolgt meist über Knospung von Medusen oder Polypen und die geschlechtliche Fortpflanzung durch Gametenbildung. Letzteres ist allerdings nur verwirklicht, wenn die Polypenart keine Medusengeneration erzeugt. Es ist nämlich längst nicht so, dass alle Hydropolypenarten Medusen ausbilden. Lediglich etwa ein Viertel aller Hydrozoen-Arten erzeugt Medusen. Besonders verwirrend ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass Polyp und Meduse unterschiedliche Namen tragen können, obwohl sie ein und derselben Art angehören. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass man anfangs nur die Meduse kannte und benannte und nicht den dazugehörigen Polypen beziehungsweise umgekehrt. In einigen Fällen kann man außerdem zwar phänotypisch die Polypen unterscheiden, nicht jedoch ihre Medusen (*Obelia*, Abb. 2 und 3). Neben der Knospung sind jedoch auch noch andere Formen der ungeschlechtlichen Fortpflanzung verbreitet. So können sich beispielsweise die Hydren auch durch Längs- und Querteilung vermehren. Darüber hinaus gibt es die Bildung von Frusteln, also die Entstehung von unbegeißelten, aus Entodermzellen bestehenden tentakellosen Zellwülsten, welche sich kriechend-kontrahierend fortbewegen, um auf einem geeigneten Substrat zu einem Polypen heranzuwachsen. Das kommt zum Beispiel beim Polypen der Süßwassermeduse *Craspedacusta sowerbyi* vor. Nur eine geringe Anzahl von Arten lebt als Einzelpolyp, der seine Knospen regelmäßig abstößt. Bei den meisten Arten bleiben die Knospen mit dem Muttertier verbunden, so dass

auch koloniale Formen (Stöcke) entstehen können. Bei diesen stehen die Einzelindividuen nicht nur untereinander über ihre Gastralräume in Verbindung, sondern sie sind auch nervös verschaltet. Bei den Staatsquallen (Siphonophora) sind die Stöcke stets freischwimmend. Innerhalb der Stöcke findet man häufig eine Arbeitsteilung der Polypen. So können einige Polypen ausschließlich der Medusenbildung dienen, andere der Gametenbildung und wiederum andere fungieren nur als Wehrpolypen und/oder haben eine spezielle Funktion bei der Nahrungsaufnahme. So ist es nicht verwunderlich, dass die Hydropolypen einer Art außerordentlich vielgestaltig sein können.

Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung können alternieren. So wird zum Beispiel bei *Hydra* durch bestimmte Umweltbedingungen festgelegt (Ernährung/Temperatur), wann Gameten erzeugt werden. Bei den Hydren ist übrigens die Bildung von planktischen Formen vollständig unterdrückt: Aus dem befruchteten Ei schlüpft direkt ein Polyp. Selbstverständlich ist auch die Knospung der Medusen ein temperaturabhängiger Vorgang. Die Abgabe der Gameten selbst kann, wie zum Beispiel bei *Hydractinia echinata*, durch Licht induziert werden.

Eine Reihe von Hydropolypen lebt symbiotisch mit Zoochlorellen (*Hydra*, *Myrionema*). Überhaupt ist die Symbiose mit Algen bei den Cnidariern weit verbreitet, wenn man nur einmal an die Korallen denkt. Die meisten Hydropolypen sind jedoch Räuber und ernähren sich vor allem von kleinen Krebstieren und Fischbrut, wobei auch unverhältnismäßig große Beute gelähmt und hineingeschlungen werden kann.

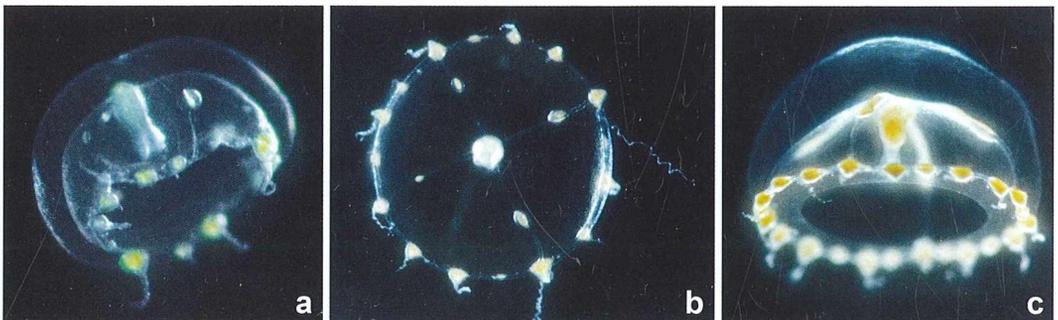


Abb. 4: Entwicklung der Leptomeduse *Phialidium hemisphaericum*, die im Juni bis Juli in oft großen Dichten Bestandteil des Planktons der Nordsee ist. **a** Frisch abgelöste Meduse. Die Gonaden sind bereits als knotenartige Verdickungen an den Radialkanälen zu erkennen. Durchmesser 1,2 mm. **b** Junge Meduse, Durchmesser 1,8 mm. **c** Junge Meduse mit deutlich erhöhter Tentakelzahl und ausgeprägtem Velum, Durchmesser 3,4 mm.

Die Lähmung der Beute erfolgt durch die Nesselkapseln, die bei den Hydrozoa am vielfältigsten entwickelt sind. So werden bei den Hydrozoa mindestens 20 Typen unterschieden. Manche Arten können stark nesseln, wie die ein Kalkskelett ausbildende Feuerkoralle *Millepora* oder die pelagische Portugiesische Galeere *Physalia physalis*. Die Fressreaktion selbst wird dann durch Aminosäuren des verletzten Beutetieres ausgelöst.

Die Hydromeduse

Normalerweise entwickelt sich bei den Cnidaria aus einem Ei eine bewimperte Planularlarve von 0,2–0,3 mm Größe. Die Planularlarve ist bereits radiärsymmetrisch angelegt und rotiert bei der Fortbewegung ständig um ihre Vorne-Hinten-Achse. Sie durchläuft in der Regel eine

pelagische Phase, bevor sie sich auf einem Substrat festsetzt und zu einem Polypen metamorphosiert. Bei *Hydractinia echinata* ist hierfür die Anwesenheit bestimmter Bakterien auf dem Substrat nötig. Der festsitzende, ungeschlechtliche Polyp erzeugt dann durch Knospung die planktischen, stets geschlechtlichen Medusengenerationen. Dieser Generationswechsel vom Polypenstadium zum Medusenstadium wird als Metagenese bezeichnet.

Obwohl das Polypenstadium durch die Existenz so genannter interstitieller Zellen über eine erstaunlich flexible Zellpotenz verfügt und in der Lage ist, nicht nur fehlende Körperteile zu ersetzen, sondern auch beliebig viele Kopien von sich selbst zu erzeugen, muss es doch irgendwann in der Evolution der Cnidaria von Vorteil gewesen sein, eine freischwimmende Medusengeneration hervorzubringen. Das auf der Hand liegende Argument der weiten Ver-

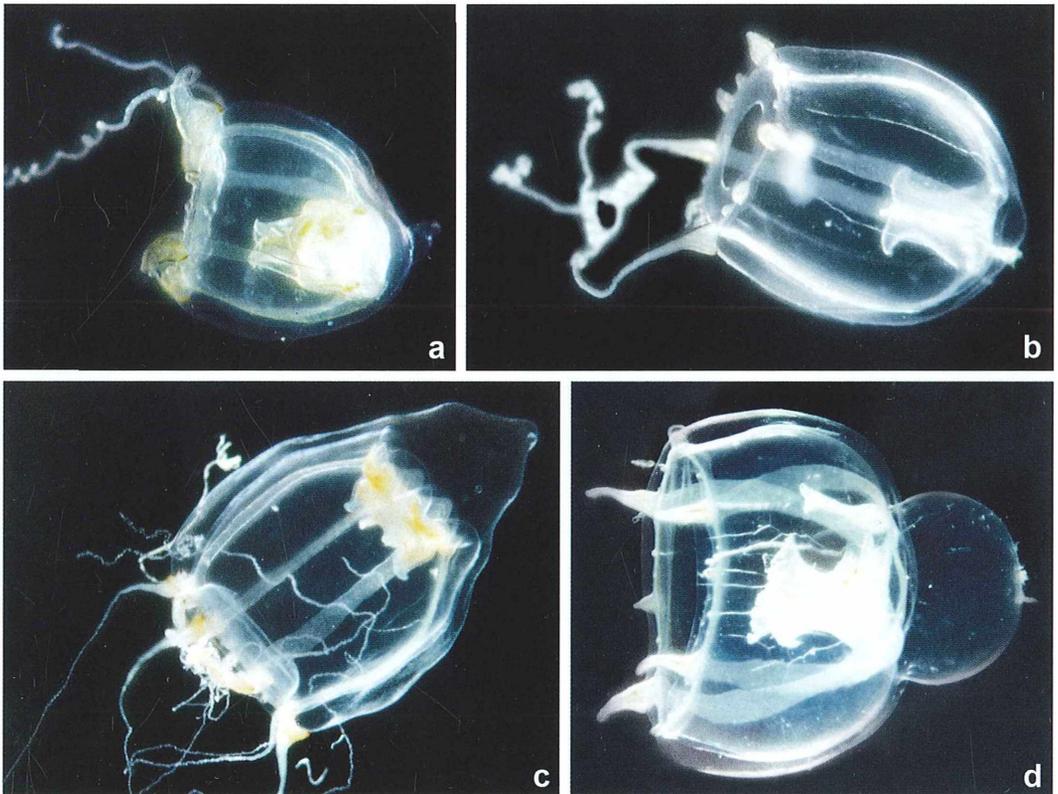


Abb. 5: Entwicklung der Anthomeduse *Leuckartiara octona*, die vereinzelt im Sommerplankton der Nordsee vorkommt. **a** Frisch abgelöste Meduse mit bereits acht Bulben (Name) aber nur zwei Schlepptentakeln, Höhe 1,3 mm. **b** Junge Meduse, Höhe 3,2 mm. **c** Meduse, Höhe 4,9 mm. **d** Meduse, Höhe 7,3 mm. Adulte Tiere können bis 2 cm Glockenhöhe aufweisen, wobei die Gonaden in Wülsten interradiell angelegt und häufig verästelt sind und die Magenwand bis auf die radialen Ecken abdecken. Das Mundrohr ist vierkantig.

breitung einer Art durch die Meduse ist nur zum Teil einleuchtend, denn bei den artenreichen Anthozoen überleben die Planularlarven mehrere Monate im Plankton und können so hinreichend weit verdriftet werden, bis sie sich jederzeit – wenn die äußeren Bedingungen geeignet sind – irgendwo festsetzen und metamorphosieren können. Auch das Argument des genetischen Austauschs durch sexuelle Fortpflanzung bei den Medusen wird durch die Existenz der Anthozoen abgeschwächt. Denn diese haben das Problem auch ohne Bildung einer Medusengeneration gelöst. Betrachtet man aber andererseits einmal die Nachteile der

Polypengeneration, nämlich die Exponiertheit der Tiere gegenüber Fressfeinden (Schnecken), Sedimentation und Überwachsung, so scheint für die winzigen Tiere die Ausbildung eines größeren, mobilen Medusenstadiums, welches einen völlig anderen Lebensraum besiedelt und sich dort auch fortpflanzt, letztlich doch von Vorteil gewesen zu sein.

Die Hydromedusen sind meist nur wenige mm bis cm groß und lassen sich ohne große Schwierigkeiten von der Polypenform durch Abplattung herleiten (Abb. 1). Dabei werden Fußscheibe und Rumpf des Polypen zur konvexen Schirmaußenwand (Exumbrella) und die

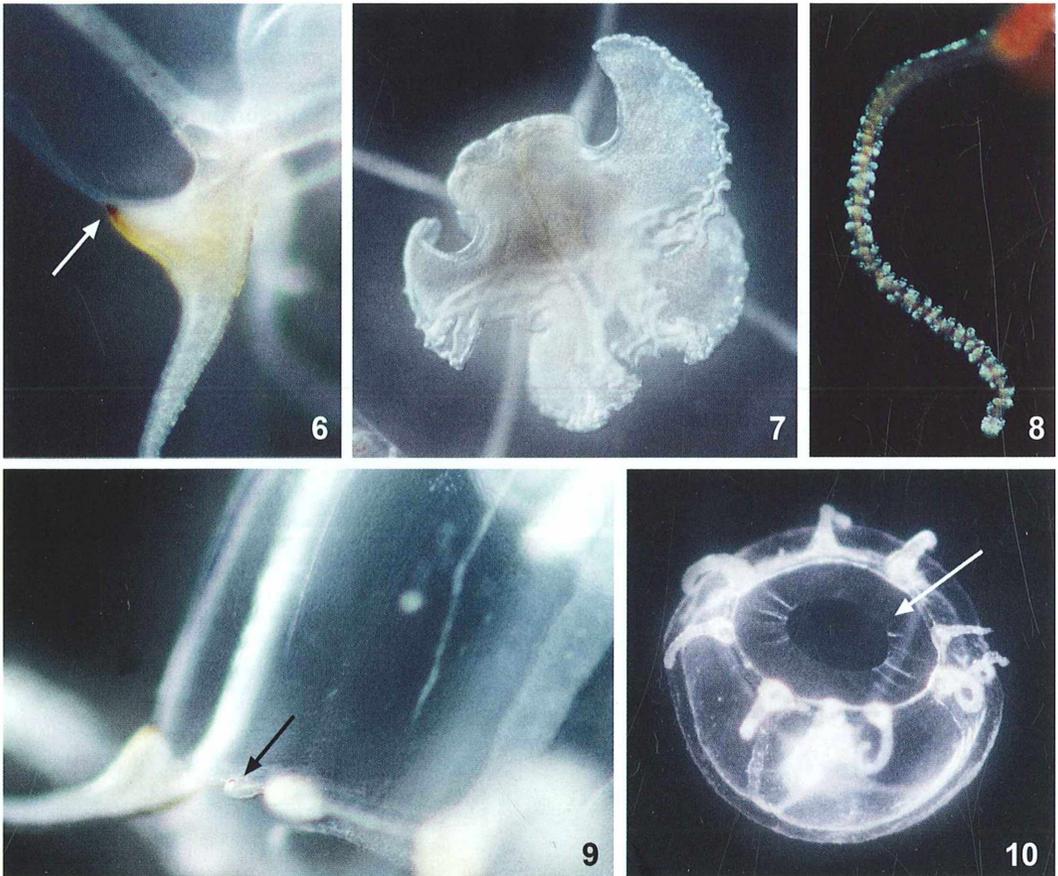


Abb. 6: Lichtsinnesorgan (Ocelle) von *Leuckartiara octona* auf der Basis der Tentakel (Pfeil). – **Abb. 7:** Die Münder der Hydromedusen können sehr vielgestaltig sein. Bei der hier gezeigten *Eutonina indicans* ist das Manubrium vierkantig und mit Mundlappen versehen. – **Abb. 8:** Die Tentakel der Hydromedusen können im entspannten Zustand ein Mehrfaches der Körperlänge der Tiere ausmachen. Bei dem hier gezeigten Tentakel von *Stauridosarsia producta*, welche vereinzelt im Frühjahrsplankton zu finden ist, sind die Nesselzellen zu Batterien zusammengefasst. – **Abb. 9:** Bläschenförmige Schweresinnesorgane zwischen den Tentakeln am Schirmrand (Pfeil). – **Abb. 10:** Als anatomische Besonderheit der Hydromedusen gilt das Velum (Pfeil), welches die Fortbewegung der Tiere optimiert. Juvenile *Melicertum octocostatum*, Durchmesser 1,5 mm.

Mundscheibe zur konkaven Schirminnenwand (Subumbrella). Das Mundrohr (Manubrium) bleibt erhalten und beherbergt den Magen (Gastralraum), dessen vier Radialkanäle sich zum Schirmrand hin fortsetzen und in einen peripheren Ringkanal münden, wodurch die Versorgung des Medusenkörpers mit Nahrung sichergestellt ist (Gastrovaskularsystem).

Die Stützgallerte (Mesogloea) ist bei den Medusen manchmal mächtig entwickelt und fungiert als Skelett. Dadurch kann die Schirmform stark variieren. So findet man verschiedene Ausprägungen der Glockenform über halbkugelig bis kugelig bis hin zu konischen und spitzkegeligen Formen. Die Fangarme (Tentakel) sind dicht mit Nesselzellen besetzt und entwickeln sich als Ausstülpungen des Schirmrandes (Abb. 4, 5, 8).

Die Jungmeduse ist meist nicht größer als 1 mm und besitzt meist vier Tentakel, deren Anzahl jedoch im Laufe des Wachstums meist zunimmt und so neben Größe, Form und Farbe der Tiere ein wichtiges Bestimmungsmerkmal darstellt (Abb. 4 und 5). Die Tentakel der adulten Formen können einzeln (z. B. *Phialidium hemis-*

phericum), verzweigt (z. B. *Cladonema radium*) oder zu Büscheln (z. B. *Bougainvillia britannica*) vereinigt sein.

Das Nervensystem der Hydromedusen ist wie das aller Medusen als diffuses Nervennetz in der Subumbrella angelegt und zwar so, dass zwei Ringkanäle über Schrittmacherneurone die Kontraktion der Subumbrella-Ringmuskeln steuern. Als Sinnesorgane verfügen die Medusen über einfach entwickelte Augen, die an der Basis der Tentakel positioniert sind (Abb. 6). Außerdem befinden sich am Schirmrand interradiär angelegte, ektodermale Schweressinnesorgane (Abb. 9). Daneben existieren auch Chemorezeptoren vor allem am Mund (Abb. 7).

Die Fortbewegung der Medusen erfolgt nach dem Rückstoßprinzip durch Kontraktion der Umbrella. Als anatomische Besonderheit verfügen die Hydromedusen über eine meist waagerechte, muskelhaltige Duplikatur der Sub- und Exumbrella, das Velum, welches quasi ringblendenförmig den austretenden Wasserstrahl verengt und bei der Kontraktion beschleunigt, so dass die Schwimgeschwindigkeit gesteigert wird (Abb. 10). Einige Arten sind sekundär

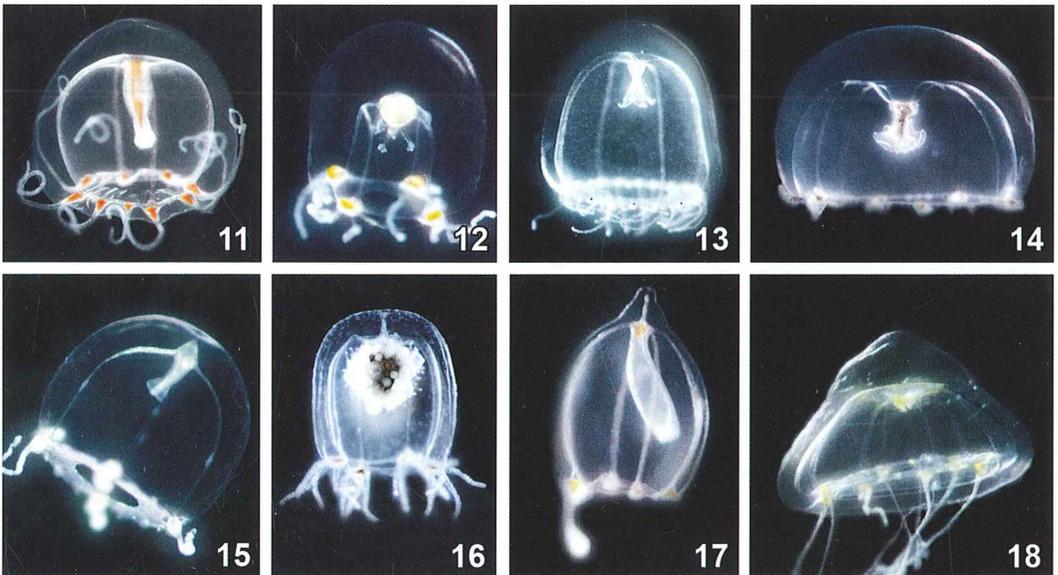


Abb. 11–18: In der Nordsee kommt es jedes Jahr zu einer Sukzession von Hydromedusen im Plankton, da die Knospung der einzelnen Arten temperaturspezifisch ist. – **Abb. 11:** Bei *Podocoryne carnea* sind die Bullen fleischfarben (Name), Höhe 2,1 mm, März. – **Abb. 12:** *Bougainvillia britannica* kommt von März bis Juni regelmäßig im Plankton bei Helgoland vor. Die Bullen sind orange gefärbt, Höhe 1,6 mm. – **Abb. 13:** Bei *Tiaropsis multicirrata* sind deutlich die Ocellen als schwarze Punkte zu erkennen, April, Höhe 1,6 mm. – **Abb. 14:** *Eutonnina indicans*, April bis Mai, Durchmesser 2,4 mm. – **Abb. 15:** *Phialella quadrata*, Juni bis Juli, Höhe 1,9 mm. – **Abb. 16:** *Margelopsis haeckeli* mit Tochtermedusen, Juli, Höhe 2 mm. – **Abb. 17:** *Corymorpha nutans*, Mai bis Juni, Höhe 1,3 mm. – **Abb. 18:** *Melicertum octocostatum*, Mai bis Juli, Höhe 2,4 mm.

wieder zur Boden bewohnenden Lebensweise übergegangen, indem sie mit ihren Tentakeln laufen (*Cladonema radiatum*).

Alle Arten sind gefräßige Räuber, die ihre Beute lediglich dadurch finden, dass sie beim Schwimmen mit dem Schirmrand oder den Tentakeln an sie anstoßen, wodurch sich die Nesselzellen entladen und die Beute lähmen. Einige Arten ernähren sich von anderen Hydromedusen, andere wiederum vor allem von Krebstieren und kleinen Fischen. Daneben dürfte jedoch auch die Aufnahme von im Wasser gelösten chemischen Substanzen wie Aminosäuren von Bedeutung sein.

Die Fortpflanzungsorgane der getrennt geschlechtlichen Medusen liegen entweder am Mundrohr (Athecata, Anthomedusen) oder an den Radialkanälen (Thecata, Leptomedusen). Die Geschlechtsprodukte reifen erst während des weiteren Wachstums der Medusen heran und werden von den Geschlechtspartnern zeitlich synchronisiert ins Wasser abgegeben, wobei wohl Licht den auslösenden Faktor darstellt. Einige Arten können ihr Geschlecht wechseln.

Waren die Fortpflanzungsverhältnisse bei den Hydropolypen schon recht kompliziert, so werden diese bei den Hydromedusen noch übertroffen. Prinzipiell kann auch hier die Fortpflanzung sexuell und asexuell erfolgen. So können Medusen durch Knospung Tochtermedusen erzeugen. Dies kann am Mundrohr erfolgen, wie bei *Rathkea octopunctata* und *Sarsia gemmifera*, oder am Schirmrand an den Tentakelansätzen, wie bei der auch in der Nordsee vorkommenden *Sarsia prolifera*.

Neben der asexuellen Vermehrung durch Medusenknospung ist teilweise bei derselben Art sexuelle Fortpflanzung obligatorisch. So erfolgt bei *Rathkea octopunctata* im kühleren März bis April die asexuelle Bildung von Medusen, während im Mai dann Gameten gebildet werden, welche nach Befruchtung zu Boden bewohnenden Polypen heranwachsen, die den

Winter überdauern können. Liegt die Wassertemperatur dann über 12–15 Grad, sterben die Medusen ab. Der Vorteil der Medusenknospung liegt hier eindeutig im zügigen Aufbau großer Populationen, die Nahrungsressourcen abschöpfen und in denen das Finden der Fortpflanzungspartner sichergestellt ist.

Einige Hochseemedusenarten überspringen das Polypenstadium, indem sie Eier hervorbringen, die sich über eine besonders gebaute Larve (*Actinula*) wieder direkt zu Medusen entwickeln können. Bei *Margelopsis haeckeli* existiert außerdem Parthenogenese, also die Entwicklung einer Eizelle zum fertigen Individuum ohne Befruchtung. Da bei den Hydrozoen die Knospung ein temperaturabhängiger Vorgang ist und jede Art quasi ein artspezifisches Temperaturoptimum für die Knospung besitzt, lässt sich in Nord- und Ostsee eine ausgeprägte Sukzession von Medusenarten beobachten (Abb. 11–18).

Literaturhinweise

- Heeger, Th.: Quallen – gefährliche Schönheiten. Wissenschaftliche Verlags-Gesellschaft, Stuttgart 1998.
- Holstein, T.: Cnidaria: Hydrozoa. In: Schwoerbel, J., Zwick, P. (Hrsg.): Süßwasserfauna von Mitteleuropa 1/2 + 3, S. 1–110. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1995.
- Jarms, G., Schäfer, W.: „Coelenterata“, Hohltiere. In: Westheide, W., Rieger, R. (Hrsg.): Spezielle Zoologie. Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere, 2. Auflage, S. 132–174. Spektrum Akademischer Verlag, München 2007.
- Kaestner, A.: Lehrbuch der speziellen Zoologie, Band I: Wirbellose. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1968.
- Russell, F. S.: The Medusae of the British Isles. Cambridge University Press, Cambridge 1953.

Der Insel Helgoland gewidmet.

Verfasser: Dipl.-Biol. Thomas Fromm, Carstennstraße 29a, 12205 Berlin, E-Mail: micrasterias@web.de

Mikrokosmos

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie u. mikroskopische Technik

Kurze Mitteilung

Kraftstoffe aus Mikroalgen

Der argentinische Algenzüchter Biocombustibles del Chubut (Bc) hat neue Technologien entwickelt, die helfen sollen, die Produktion von Algen für Biosprit nachhaltiger und effizienter zu gestalten (Abb. 1).

Die Europäische Kommission fordert in ihrer *Richtlinie über erneuerbare Energien*, dass Biokraftstoffe eine erhebliche Senkung der Treibhausgasemissionen bewirken müssen, und zu ihrem Anbau sollen keine Wälder, Feucht- und Naturschutzgebiete missbraucht werden. Biokraftstoffe werden wegen der möglichen Konkurrenz zwischen der Herstellung von Nahrungsmitteln und Energie kritisiert. Die Umwandlung von Brachflächen zum Anbau von Ölpflanzen könnte mehr CO₂ erzeugen als Biokraftstoff potentiell zu vermeiden in der Lage ist.

Vor diesem Hintergrund gelten Mikroalgen als viel versprechender Rohstoff für Biokraftstoffe, da bestimmte Arten von Algen hohe Mengen an Öl enthalten. Dieses Öl kann extrahiert und raffiniert werden. Seit vielen Jahren werden Algen auf kommerzieller Basis für Produkte wie Nahrungsmittelzusätze und Kosmetika gezüchtet, aber erst kürzlich haben sie sich als wich-

tige Quelle für alternative Kraftstoffe entpuppt. Mikroalgen vermehren sich schnell und liefern mindestens 30mal mehr organische Substanz (Biomasse) pro Anbaufläche als zum Beispiel Raps. Ihr Anbau steht nicht in Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion. Algen können auf unfruchtbaren Flächen und in nicht trinkbarem Wasser gezüchtet werden. Ihr größter Vorteil aber ist, dass sie große Mengen von CO₂ zum Wachsen brauchen.

Allerdings steht die Industrialisierung der Algenzucht für die Treibstoff-Produktion noch ganz am Anfang. Der Nachweis, dass die industrielle Produktion sowohl ökologisch als auch wirtschaftlich nachhaltig und effizient ist, muss noch erbracht werden.

Bc hat verschiedene Lösungen für einen nachhaltigen Anbau von Algen und eine Produktion von Biokraftstoffen entwickelt. Das Ziel ist, die Nutzung von landwirtschaftlichen Flächen oder Brachland zu vermeiden oder Wege zu finden, den Anbau von Algen mit anderen Kulturen wie Ölpflanzen oder Getreide zu kombinieren.

So hat Bc beispielsweise Gewächshäuser geschaffen, in denen Futterpflanzen und Algen



Abb. 1: Eine Routinekontrolle am Photobioreaktor. – **Abb. 2:** Ein Mitarbeiter von Biocombustibles del Chubut prüft den Fischbestand in einem offenen Algenbecken, in dem ungefähr sechs Tonnen speziell gezüchteter Fischarten leben (Fotos: Biocombustibles del Chubut).

zusammen in einem Etagen-System angebaut werden können. Wasser und Grundfläche, knappe Ressourcen, können somit für beide Kulturen genutzt werden. Dabei muss nur noch 30 Prozent der in der Natur benötigten Wassermenge gegossen werden.

Bc hat auch geschlossene Becken entwickelt, die den Anbau von Algen ohne Sonnenlicht ermöglichen. Solche Becken können unterhalb der Erdoberfläche oder in Gebäuden verwendet werden und erlauben eine Nutzung des Bodens für andere Kulturen. Die Konstruktion ist erdbebensicher und gegen Überschwemmungen geschützt. Solar- und Windenergie liefern die für die Betreibung der Anlage nötige Energie. In diesen Becken können Algenzüchter in 24 Stunden bis zu sechs Tageszyklen simulieren und so das Wachstum der Biomasse steigern.

Bc hat auch ein System erdnen, bei dem die Aufzucht von Fischen zusammen mit Algen in

offenen Becken möglich ist (Abb. 2). In diesem Konzept, bei dem Fische und Algen voneinander profitieren, liefern die Fische den notwendigen Dünger für die Algen. Marcelo Gonzales Machín stellt fest: *Diese Fische sind wahre „Aqua-Kühe“.* Das Ökosystem, einmal ins Gleichgewicht gekommen, bietet einen hohen Ertrag. Es beruht auf einer Mischung von zwölf Mikroalgen-Spezies in leicht gesalzenem Wasser. Die Fische haben sich über mehrere Generationen hinweg an niedrige Wassertemperaturen gewöhnt. Im Sommer toleriert das Ökosystem für ein paar Stunden pH-Werte von bis zu 10. Diese Lösung, die sowohl Treibstoff als auch Nahrungsmittelproduktion ermöglicht, ist für Länder wie Brasilien, Indien oder China geeignet.

Redaktion MIKROKOSMOS

Nachrichten



1986 – 2011
25-jähriges Bestehen
Wir gratulieren!

Redaktion MIKROKOSMOS

Berliner
Mikroskopische
Gesellschaft



**Carl Zeiss
feiert Wiedervereinigung mit „Tag der offenen Tür“
in Jena**

Am 1. Oktober 2011 öffnet Carl Zeiss seine Tore und lädt zum sechsten Tag der offenen Tür in Jena ein. Mit dieser Veranstaltung feiert Carl Zeiss gemeinsam mit der Öffentlichkeit den 20. Jahrestag der Wiedervereinigung des Unternehmens im Jahr 1991, das nach 1945 getrennt worden war. Die Besucher können spannende Einblicke in die Welt der Optik gewinnen – aber auch einen Eindruck von der einzigartigen Geschichte des Unternehmens. Mit zahlreichen Ereignisstationen stellen sich erstmalig alle sechs Unternehmensbereiche von Carl Zeiss in Deutschland vor: Medizintechnik, Halbleitertechnik, Markenoptik/Optronik, Industrielle Messtechnik,

Augenoptik und Mikroskopie. Experimentier- und Mitmachstationen bieten einmalige Gelegenheiten, mit optischen Technologien auf Tuchfühlung zu gehen. Für Kinder und Jugendliche wird es auch in diesem Jahr wieder spezielle Aktionen geben. Ein Rahmenprogramm mit Musik und mancher Überraschung, dazu Speisen und Getränke ergänzen die Präsentationen. Anlässlich des Jubiläums informiert das Unternehmen auf der Internetseite www.zeiss.de/20jahre über die Ereignisse rund um die Wiedervereinigung von Carl Zeiss und lässt Zeitzeugen zu Wort kommen.

Redaktion MIKROKOSMOS

Mikroskopische Beobachtungen an Wurzelknöllchen und ihren symbiontischen Bakterien

Siegfried Hoc

Die Knöllchen an den Wurzeln von bestimmten Pflanzen, vor allem von Hülsenfrüchtlern, werden von Luftstickstoff-bindenden Bakterien der Gattung *Rhizobium* gebildet. Diese Lebensgemeinschaft zum beiderseitigen Nutzen (Mutualismus) bietet dem Mikroskopiker anatomische und mikrobiologische Beobachtungen und Experimente. Auch ohne größeren präparativen Aufwand lassen sich Studien durchführen.

Eigentlich ist Stickstoff auf der Erde in riesigen Mengen vorhanden. Mit 78 Prozent stellt dieses Gas den größten Teil der Atmosphäre. Dennoch fehlt es den Pflanzen oft an diesem Element, das sie vor allem in Eiweiß und in die Erbsubstanz einbauen. Mit dem Luftstickstoff können sie nämlich nichts anfangen; sie benötigen wasserlösliche Stickstoffverbindungen wie Ammonium und Nitrate. Von diesem gebundenen Stickstoff gibt es im Boden oft zu wenig, sodass viele Pflanzen kümmern, wenn sie nicht gedüngt werden. Verschiedene Bodenbakterien jedoch verfügen über chemi-

sche Tricks, um den Luftstickstoff binden zu können. Mit ihnen haben sich vor allem Hülsenfrüchtler (Leguminosen) zusammengetan. Sie bilden für diese Nährstofflieferanten eigene Gewebe an den Wurzeln, die aussehen wie kleine Knöllchen (Abb. 1). Hier finden die Mikroben optimale Lebensbedingungen. Nur wenige andere Pflanzen gehen eine solche Bakterien-Wurzel-Symbiose ein. Dazu gehören Erle (*Alnus*), Sanddorn (*Hippophae rhamnoides*) und andere Ölweidengewächse (Elaeagnaceae), Gagelstrauch (*Myrica gale*) und Kreuzdorngewächse (Rhamnaceae).

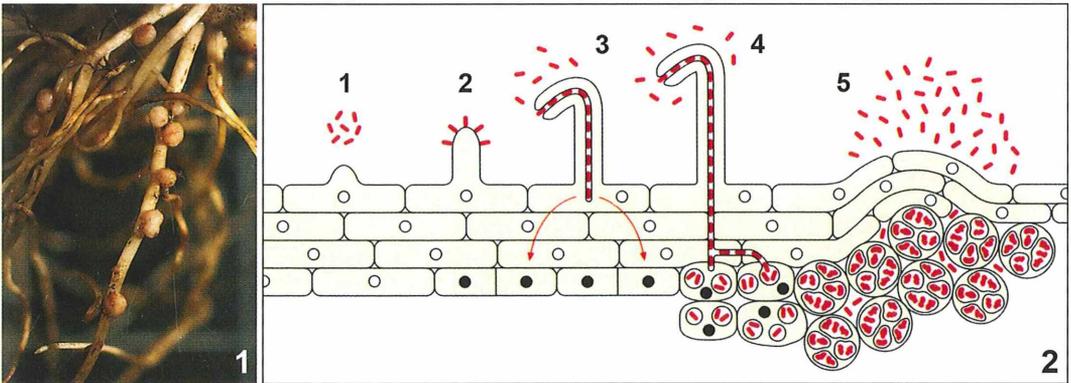


Abb. 1: Wurzeln der Lupine mit Knöllchen. – **Abb. 2:** Entwicklung der Knöllchen: **1** Bei Stickstoffmangel scheiden Lupinenwurzeln Flavonoide aus, welche bodenlebende, begeißelte Rhizobien (Bakterien) chemotaktisch anlocken. **2** Rhizobien heften sich am Wurzelhaar an. **3** Das Wurzelhaar krümmt sich unter dem Einfluss der Rhizobien und stülpt an der Spitze einen Infektionsschlauch nach innen, in den die Bakterien einwandern. Sie scheiden Stoffe aus (Pfeile), welche eine Teilung der Zellen des Rindenparenchyms induzieren (schwarze Zellkerne). **4** Der sich verzweigende Infektionsschlauch stimuliert das Wachstum des Rindengewebes. **5** Die Bakterien brechen aus dem Faden aus und werden von den Pflanzenzellen endocytisiert und somit von einer Membran umgeben. Das Knöllchen beginnt zu wachsen. Die eingeschlossenen Bakterien entwickeln sich unter massiver Volumenzunahme zu Stickstoff-fixierenden Bakterioiden, während das Knöllchen sich zur endgültigen Größe entwickelt (vgl. Abb. 1) (aus Bresinsky et al., 2008).

Die Leguminosen repräsentieren nach den Orchideen und Korbblütlern die drittgrößte Familie unter den Blütenpflanzen. Die meisten der rund 17.000 Arten besitzen Wurzelknöllchen. Die Symbiose mit den Bakterien soll im Tertiär, also vor etwa 60 Mio. Jahren zustande gekommen sein. Die Bodenbakterien der Gattung *Rhizobium* sind einfach gestaltete, leicht kultivierbare Prokaryoten, von denen heute zahlreiche Arten bekannt sind. Von den rund 90 Stämmen, die aus Leguminosen-Knöllchen isoliert werden konnten, weisen viele eine Wirtsspezifität auf.

In Kulturversuchen wurde erkannt, dass es offenbar zwei Gruppen von Rhizobien gibt, die sich physiologisch unterscheiden. Die eine Gruppe umfasst schnell wachsende Bakterien, die auf einem Hefe-Mannit-Nährboden Säure produzieren, die andere Gruppe ist langsam wachsend und bildet keine Säure. Diese ist vorwiegend mit tropischen Leguminosen assoziiert. Das Besondere ist: Die im Boden frei lebenden Rhizobien sind nicht in der Lage, Stickstoff zu fixieren. Erst in der symbiontischen Gemeinschaft sind sie dazu befähigt.

Infektion der Wurzelhaare

Vor dem Eindringen der Rhizobien in die Wurzelhaare der Pflanze muss es eine Erkennungsreaktion geben. Sie wird durch Lectine vermittelt. Das sind bestimmte Proteine, die Kohlenhydrate in spezifischer Weise binden können. Nach offen-

bar enzymatischer Auflösung der Zellwände der Wurzelhaar-Epidermis veranlassen die Bakterien die Pflanzenzelle einen Schlauch aus Zellulose zu bilden. In diesem Infektionsschlauch wandern die Mikroben in die primäre Rinde der Wurzel. Hier verzweigt sich der Infektionsschlauch, die Bakterien vermehren sich und schließlich entsteht ein Vesikel. Dieses platzt auf und die Bakterien werden endocytotisch in das Cytoplasma der Wirtszellen aufgenommen, werden also von einer Membran umgeben. Hier entsenden die Bakterien Substanzen in den Zellkern der Wirtszelle und bewirken durch Veränderung der genetischen Information die Synthese von bestimmten Proteinen, unter anderem von Leghämoglobin (Leguminosen-Hämoglobin) und einer Nitrogenase. Dabei vergrößert sich ihr Volumen bis zum 20fachen, und sie nehmen unterschiedliche Formen an. Die nun zu Endophyten gewordenen Bakterien bezeichnet man als Bakterioide. Dieser Gestaltwandel beruht vermutlich auf Abwehrmaßnahmen der Wirtspflanze. Die Rhizobien im Rindengewebe der Wurzel scheiden aber auch Wachstumsstoffe wie beta-Indolyllessigsäure aus, die das Wachstum eines Meristems (Bildungsgewebes) induzieren, dessen Zellen durch fortgesetzte Teilung schließlich die Knöllchen bilden (Abb. 2).

Erst nach ihrer morphologischen Veränderung und Knöllchenbildung sind die Rhizobien in der Lage, Luftstickstoff zu fixieren. Das in den Knöllchen vorhandene Leghämoglobin schützt jenes Enzymsystem der Bakterioide, das die Stickstoffverbindungen durch Reduktion atmo-

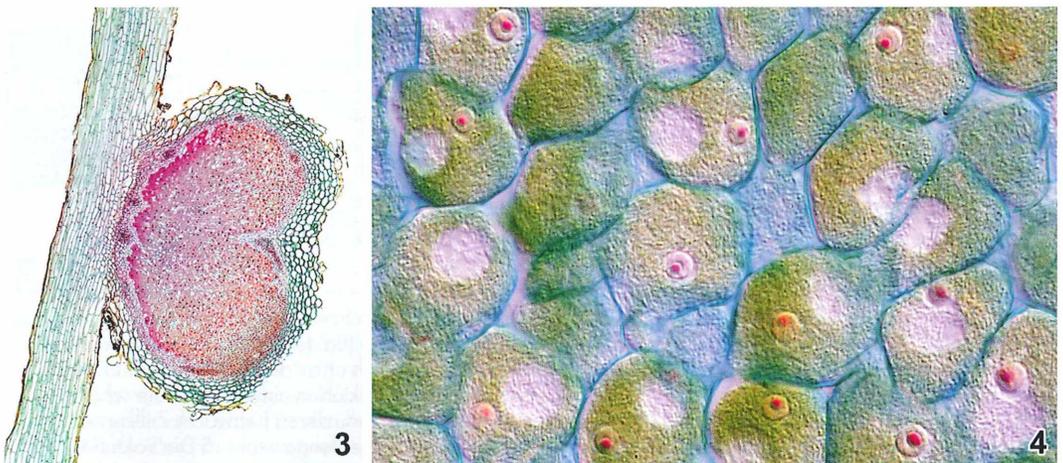


Abb. 3: Bakterioide in einem Schnitt durch ein Knöllchen der Saubohne *Vicia faba* in 20facher Vergrößerung. Alciangrün-Chrysoidin-Neofuchsin-Färbung. – **Abb. 4:** Mit Bakterioden angefüllte Wurzelknöllchenzellen der Lupine in 800facher Vergrößerung. Alciangrün-Chrysoidin-Neofuchsin-Färbung.

sphärischen Stickstoffs zu Ammoniak vollzieht. Das Leghämoglobin dient dabei auch der Sauerstoffversorgung der Mikroben. Diese erhalten nun von der Pflanze Kohlenhydrate und geben im Tausch dafür Ammoniak ab.

Allerdings kann in den meisten Fällen nur eine bestimmte Art von Rhizobien eine spezifische Leguminosen-Art infizieren. So wird die Sojabohne nur von *Rhizobium japonicum* noduliert, während Weißklee nur in Verbindung mit *R. trifolii* Knöllchen entwickelt. *R. leguminosarum* infiziert Erbse, Wicke, Linse und Platt-erbse, *R. phaseoli* die Buschbohne, *R. meliloti* Luzerne und Steinklee, *R. lupini* Lupine und den Vogelfuß.

Die Bakterioide aus den Knöllchen der Erbse sind X-, Y- oder T-förmig, die des Klees birnen- oder keulenförmig, die bei Luzerne und Steinklee lang und gebogen oder astförmig verzweigt. Die bakterioiden Formen fehlen aber in der Regel den Knöllchen der Lupine und Sojabohne. In sehr jungen Knöllchen liegen die Rhizobien meist noch überwiegend in Stäbchenform vor. Nach einer gewissen Zeit lösen sich die Bakterioide auf und die Knöllchen zerfallen. Die noch in Stäbchenform im Infektionsschlauch vorliegenden Bakterien gelangen in den Boden. Sie sind nun bereit, in die Wurzeln der alten oder von neuen Wirtspflanzen einzudringen und sich wieder als nützliche Symbionten einzunisten.

Gewinnung von Wurzelknöllchen

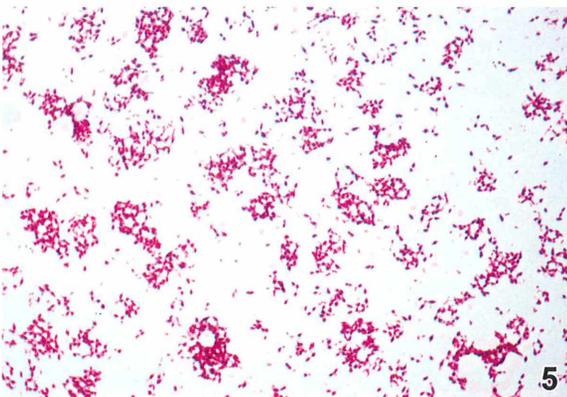
Um an die Wurzeln einheimischer Hülsenfrüchtler zu gelangen, gräbt man eine Pflanze

am besten zur Blütezeit aus und wäscht die Wurzeln von anhaftender Erde in Wasser ab. Die Knöllchen sind dann leicht zu erkennen. Bei Erbse, Bohne und Wicke sind sie etwa nierenförmig, bei Luzerne länglich, oft auch verzweigt, beim Klee klein und leicht oval, beim Hornklee kugelig, bei der Lupine verzweigt und am Wurzelhals konzentriert und bei der Sojabohne groß und kugelförmig. In einer Bodentiefe bis circa 15 cm ist ihre Zahl am größten.

Besonders groß sind die Wurzelknöllchen beispielsweise bei den Erlen (*Alnus glutinosa* und *A. incana*). Man gräbt um einen jungen Erlenstamm den Boden einen Spatenstich tief aus. Die zum Vorschein kommenden, waagrecht verlaufenden Wurzeln tragen erbsen- bis walnussgroße, fingerförmig verzweigte Knöllchen. Infolge ihrer Größe sind sie für Handschnitte zur mikroskopischen Untersuchung gut geeignet.

Mikroskopische Untersuchung

An einem durchgeschnittenen Knöllchen erkennt man die aktive Form an einer durch Leghämoglobin rosa gefärbten Schnittfläche. Ein einfacher Handschnitt von einem Wurzelknöllchen lässt den Aufbau erkennen, besonders gut, wenn man mit einer einfachen Färbung die Gewebe differenziert. Dazu eignet sich zum Beispiel Gentianaviolett nach Fixierung mit einem Gemisch aus 50 ml 1%iger Chromsäurelösung, 3 ml 40%igem Formaldehyd und 1 ml Essigsäure (Eisessig). Die Gentianaviolett-Lösung (500 mg Farbstoff in 50 ml dest. Wasser



5



6

Abb. 5: Reinkultur von *Rhizobium lupini* in 1.000facher Vergrößerung. – Abb. 6: Reinkultur in einer Petrischale.

durch Kochen auflösen, nach Erkalten filtrieren und nun 15 ml 96%iges Äthanol zufügen) lässt man 10 min einwirken. Danach in wässriger Essigsäure differenzieren. Nun erkennt man im Schnittpräparat bei 100facher Vergrößerung das Rindengewebe, darunter das Meristem mit den teilungsfähigen Zellen und im Zentrum das Parenchym mit den Bakterioiden (Abb. 3).

Um die Bakterioide besser darzustellen, streicht man aus dem Inneren eines unfixierten Knöllchens etwas Gewebe mit einem Skalpell auf einem Objektträger aus, gibt einen Tropfen Wasser hinzu und legt ein Deckglas auf. Im differentiellen Interferenzkontrast erkennt man bei höherer Vergrößerung die Massen von Bakterioiden (Abb. 4). Um einen gefärbten Ausstrich und ein Dauerpräparat anzufertigen, fixiert man einen lufttrockenen Ausstrich auf dem Objektträger für 5 min in einem Gemisch nach Bouin (15 ml gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung, 5 ml 40%iges Formaldehyd, 1 ml Eisessig). Dann durch Einlegen des Objektträgers in einer Schale mit Leitungswasser abspülen. Nun färbt man 10 min mit Karbol-fuchsin [500 mg basisches Fuchsin in 10 ml 96%igen Äthanol lösen und 50 ml 5%iges Karbolwasser hinzugeben (Karbolsäure = Phenol)]. Kurz in salzsaurem Alkohol differenzieren (70%iges Äthanol plus 1% HCl), mit dest. Wasser abspülen und trocknen. Nun kann man in Kunstharz einschließen. Das Präparat kann aber auch ohne Deckglas mit einem Ölimmersionsobjektiv mikroskopiert werden (Abb. 5).

Isolierung und Züchtung von Rhizobien

Um aus den Knöllchen die Rhizobien zu isolieren, werden zuerst die außen anhaftenden Mikroorganismen durch Einlegen der Knöllchen für etwa 5 min in eine 0,1%ige Quecksilbersublimat-Lösung abgetötet. Denn überträgt man die Knöllchen für eine Minute in 96%iges Äthanol und bringt sie schließlich mit Hilfe einer sterilen Pinzette (durch eine Flamme ziehen) in eine sterilisierte Petrischale. Sie werden nun mit einem sterilisierten Skalpell durchgeschnitten und mit Hilfe einer sterilisierten Präpariernadel wird Knöllchenmaterial auf einem sterilen Nährboden ausgestrichen. Als solcher eignet sich Mannit-Agar mit Bodenextrakt: 250 g Bodenextrakt + 2,5 g Mannit (Mannazucker) +

250 mg Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4) + 4,5 g Agar. Für den Bodenextrakt werden 1 kg Gartenerde in zwei Liter Wasser zwei Stunden gekocht. Nach dem Absetzen der festen Bestandteil den Überstand dekantieren, filtrieren und mit Wasser auf einen Liter auffüllen. Die Nährbodenlösung wird in einem Dampftopf 30 min lang sterilisiert und in sterile Petrischalen ausgegossen. Nach dem Erstarren des Mediums können die Platten beimpft werden. Nach Bebrüten bei etwa 30 °C im Dunkeln wachsen die Rhizobien nach fünf bis neun Tagen in Form von schleimigen, weißlichen Kolonien. Diese Reinkulturen können nun mikroskopiert werden (Abb. 6).

Literaturhinweise

- Becker, D. P.: Experimenteller Nachweis der biologischen Stickstoff-Fixierung. *Mikrokosmos* 66, 21–23 (1977).
- Bresinsky, A., Körner, Ch., Kadereit, J. W., Neuhaus, G., Sonnwald, U.: *Strasburger – Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*, 36. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 2008.
- Dawid, W.: Symbiotische Bakterien aus den Wurzelknöllchen von Hülsenfrüchtlern. *Mikrokosmos* 63, 97–103 (1974).
- Esau, K.: *Pflanzenanatomie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969.
- Gresshoff, P. H.: Luftstickstoff als Pflanzendünger. *Umschau* 81, 465–468 (1981).
- Höll, W.: Die Symbiose zwischen Leguminosen und Bakterien der Gattung *Rhizobium*. *Naturw. Rdsch.* 28, 281–288 (1975).
- Kassing, F.: Die Entwicklung von Wurzelknöllchen beim Klee. *Mikrokosmos* 75, 21–25 (1986).
- Raven, P. H., Evert, R. F., Curtis, H.: *Biologie der Pflanzen*. Verlag Walter de Gruyter, Berlin 1985.
- Schaede, R.: *Die pflanzlichen Symbiosen*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1962.
- Werner, D.: Symbiotische und semi-symbiotische Stickstoff-Fixierung. *Naturw. Rdsch.* 27, 177–182 (1974).

Die Schnittpräparate und alle Fotos fertigte an:
Michael Dillberger,
Blütenstraße 31, 82178 Puchheim,
E-Mail: familie.dillberger@t-online.de

Verfasser: Dipl. Biol. Siegfried Hoc,
Donaustraße 1a, 82140 Ölching,
E-Mail: Siegfried-Hoc@t-online.de

Guten Appetit! – Amöbe labt sich an Ciliaten

Wilhelm Foissner

Der oft bemühte Blick in den Wassertropfen ist nicht selten enttäuschend, weil die Organismen meist spärlich sind. Der Erfahrene konzentriert daher das Material mit dem Planktonnetz und/oder durch vorsichtige Zentrifugation. Erst dann sieht man das berühmte Gewimmel im Wassertropfen.

Eine andere Methode sind Roh- und Reinkulturen. In eine Petrischale mit Standortwasser und etwas Schlamm gibt man einige leicht zerdrückte Weizen- oder Reiskörner. Das führt zu einem starken Wachstum der Bakterien und nach einer Woche zu einer starken Vermehrung der heterotrophen Einzeller. Freilich nimmt die Diversität in solchen Kulturen meist stark ab, übrig bleiben in großer Anzahl die euryöken Arten. Aber manchmal hat man Glück und es kommt zur Vermehrung von seltenen und daher meist interessanten Arten.

Wimmeliges Gekrabbel

In solchen Rohkulturen krabbelt und wimmelt es, und man kann bequem die Lebensweise der Einzeller studieren. Bei allen Gruppen

der heterotrophen Einzeller gibt es Bakterienfresser, Algenfresser, Allesfresser und Räuber. Letztere sind oft in der Minderheit, bei den Amöben aber recht häufig. Das Bild verdanke ich einem glücklichen Zufall bei der Untersuchung einer Rohkultur aus dem Ausrinn des berühmten Simmelried Moores (Kreutz und Foissner, 2006). Am Boden der Petrischale entwickelten sich viele 100–150 µm große Amöben, die gierig verschiedene Ciliaten verschlangen. Nicht selten waren drei oder vier Ciliaten in den Nahrungsvakuolen und zwei bis drei in den Pseudopodien gefangen.

Die Amöbe erscheint in der Abbildung 1 vergleichsweise klein, weil sie sich durch den Fixierungsschock zusammengezogen hat. Nimmt man die Pseudopodien hinzu, kommt man aber auf 100 µm, was beträchtlich größer ist als die 50 µm große *Pelagothrix chlorelligera* und der

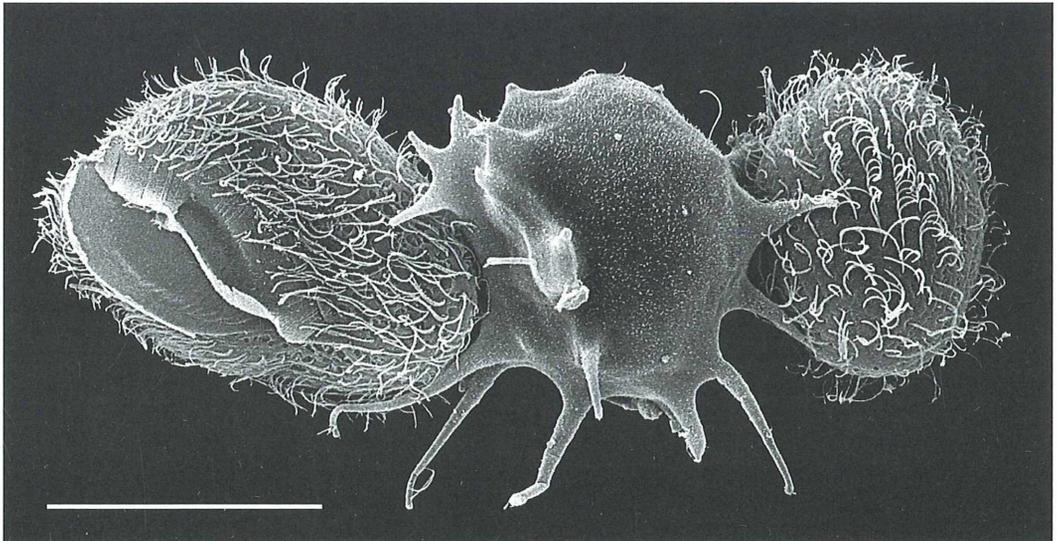


Abb. 1: Räuberische Amöbe beim gleichzeitigen Verschlingen zweier Wimpertiere, nämlich *Lembadion lucens* (links) und *Pelagothrix chlorelligera* (rechts). Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme, Messbalken = 50 µm.

70 µm große *Lembadion lucens*. Beide sind übrigens Räuber, besonders *Lembadion*, der mit seinem riesigen Mund mittelgroße Ciliaten und Flagellaten erbeutet. Wer mehr über sie wissen möchte, der lese in Foissner et al. (1994, 1999) nach.

Literaturhinweise

Kreutz, M., Foissner, W.: The *Sphagnum* ponds of Simmelried in Germany: a biodiversity hot-spot for microscopic organisms. Protozool. Monogr. 3, 1–267 (2006).

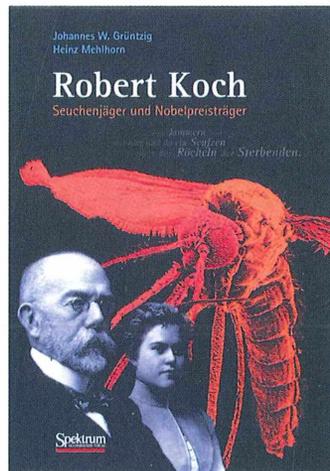
Foissner, W., Berger, H., Kohmann, F.: Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems – Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft 1/94, 1–548 (1994).

Foissner, W., Berger, H., Schaumburg, J.: Identification and ecology of limnetic plankton ciliates. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft 3/99, 1–793 (1999).

Verfasser: Univ. Prof. Dr. Wilhelm Foissner, FB Organismische Biologie, Universität Salzburg, Hellbrunnerstraße 34, A-5020 Salzburg, Austria, E-Mail: Wilhelm.Foissner@sbg.ac.at

Buchbesprechung

Grüntzig, J. W., Mehlhorn, H.: **Robert Koch – Seuchenjäger und Nobelpreisträger.** Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2010, 1087 Seiten, über 500 Abbildungen, gebunden, € 99,95, ISBN 978-3-8274-2710-6.



Der Untertitel *Kein Jammern hört man, nur hier und da ein Seufzen oder Röcheln der Sterbenden* ist wahrhaftig keine zum Lesen eines Buches einladende Feststellung. Oder gerade doch?! Denn das kennen wir nicht mehr unbedingt in unseren Tagen. Es sei denn, wir schauen im Moment nach Haiti, wo nach all dem durch Naturgewalten verursachten Elend nun auch noch Seuchen größeren Maßstabes auszubrechen drohen, Seuchen, die in früheren Zeiten Millionen von Menschen dahinflahten, die in unserer Zeit und in unserer Region allerdings auf Grund sehr effektiver Bekämpfungsmaßnahmen fast in Vergessenheit geraten sind.

Dieses Buch konzentriert sich auf das Werk eines Wissenschaftlers, der zu Recht als einer der Protagonisten in dem Erkennen der Erreger fürchterlicher Volkskrankheiten wie Cholera, Milzbrand, Tuberkulose, Pest, Malaria sowie Schlafkrankheit gilt, nämlich auf die Lebensleistung von Robert Koch.

In diesem Werk schlagen die Autoren zunächst in einer profunden Zusammenstellung den Bogen von den Pest-Epidemien des 14. Jahrhunderts bis hin zum Zeitalter der deutschen Kolonien, in dem Robert Koch die wissenschaftliche Bühne betritt. Seine Bahn brechenden Forschungen im heimischen Labor sowie seine gefährvollen Expeditionen nach Ägypten, Indien, Neuguinea und nach Ost- und Südafrika werden gleichermaßen mit lebendigen, inhaltsreichen Textquellen und zahlreichen Bildern dokumentiert.

So entsteht ein lebendiges Zeitzeugnis zum Leben und Wirken von Robert Koch, das auch die Reaktionen des bigotten gesellschaftlichen Milieus Berlins auf Kochs zweite Ehe mit einer deut-

lich jüngeren Frau beleuchtet, indem die Biographie von Hedwig Koch-Freiburg detailliert dargestellt wird, einer starken, emanzipierten Frau an der Seite Robert Kochs, die ihn gleichermaßen förderte wie forderte.

Die relativ späte Anerkennung Robert Kochs als *Wohltäter der Menschheit*, die Verleihung des Nobelpreises im Jahr 1905 sowie das heutige Wirken des Robert Koch-Instituts in Berlin würdigen nachhaltig sein Lebenswerk.

Johannes W. Grüntzig und Heinz Mehlhorn haben es in dem vorliegenden Werk über das Wirken Robert Kochs verstanden, eine spannende Biographie eines der bedeutendsten deutschen Wissenschaftler der Fachdisziplin Life Sciences, wie es wohl heutzutage genannt wird, zusammenzustellen, indem sie dessen wissenschaftliches Interesse an der Geschichte der Medizin, am Zeitalter der deutschen Kolonien, an der Ethnologie, an der Tropenmedizin sowie an den verheerenden Pandemien der Vorzeit und seiner Anstrengungen zur Bekämpfung dieser Geißeln der Menschheit darlegen.

Ist man interessiert an derartigen historischen Zusammenstellungen und Aufdeckungen von biologischen Zusammenhängen, kann man sich nur umgehend dieses großformatige mit über 1000 Seiten Umfang und knapp 3000 Gramm Gewicht wirklich eindrückliche Buch beschaffen.

Klaus Hausmann, Berlin

Weiterentwicklung einer Mikroblitzeinrichtung

Ralf Schmidt

Die im MIKROKOSMOS 99, Heft 6, 2010 von mir vorgestellte Mikroblitzeinrichtung mit der gabelartigen Halterung der Teilerplatte habe ich jetzt erweitert. Wenn man vorzugsweise die 100%ige Beobachtung nutzen möchte, muss der Doppelkollektor jedes Mal entfernt werden. Mit der Dauer kann dies lästig sein. Um nun wahlweise verschiedene Einstellungen zu verwirklichen, ohne den Ab- und Anbau des Doppelkollektors vorzunehmen, wird eine andere Anordnung der Halterung gewählt.

Die Gabelhalterung wird durch ein Schiebemodul ersetzt. Dieses wird aus einem Aluminium-Vollstab mit Ausfräsungen für die Aufnahme der Teilerplatte und einem Vorderflächen-Planspiegel mit drei Einstellungen hergestellt.

Einstellung 1:

100% Beobachtungslight, 0% Blitz

Einstellung 2:

50% Beobachtungslight, 50% Blitz

Einstellung 3:

0% Beobachtungslight, 100% Blitz

Einstellung 1 ist die Mittelstellung (Grundeinstellung). Sollen Aufnahmen von bewegten Objekten gemacht werden, wird die Einstellung 2 vorgenommen. Unter Beobachtung des Objektes kann die optimale Position abgewartet werden, um dann gleichzeitig die Blitzaufnahme zu machen. Bei Blitzaufnahmen von statischen Objekten oder sich wenig bewegenden Objekten kann mit der Einstellung 3 die volle Blitzleistung genutzt werden. Auch bei Objekten, die viel Licht benötigen, ist diese Einstellung nützlich, allerdings ohne gleichzeitiger visueller Beobachtung.

Mikroblitzeinrichtung im Modell

Zur besseren Übersicht wurden bei dem Modell das Schiebemodul in rot eingefärbt und die Rohre transparent dargestellt (Abb. 1–3). Beidseitig des Doppelkollektorrohrs werden Aluminium-Rohre mit einem Durchmesser von 35 mm und einer Wanddicke von 2 mm angeklebt. In diesen beiden Rohren wird ein kugelgela-

gertes Aluminium-Schiebemodul mit einem Durchmesser von 30 mm eingeführt. Alle Abmessungen mit Details wurden in die Konstruktionszeichnung für ein Mikroskop AXIOPLAN eingetragen (anforderbar beim Autor).

Anordnung der Teilerplatte und eines Vorderflächen-Spiegels im Schiebemodul

Die Teilerplatte und der Spiegel werden jeweils an den Seitenbacken auf Kontakt verlegt (Abb. 4). In den beiden Ecken unten werden Halteecken seitlich angeklebt. Die Teilerplatte und der Spiegel werden in die Ecktaschen eingeschoben. Bevor eine Verklebung vorgenommen wird, muss das Wendelbild kontrolliert und gegebenenfalls justiert werden (Abb. 5).

Nach der Justierung verklebt man unten an den Flanken und an den oberen Ecken. Auf den Lagerflächen der Teilerplatte und des Spiegels ist keine Verklebung vorgesehen.

Schritt 1: Justierung der Wendelabbildungen

Die Justierung der Halogenlampe aus der Mikroskopierleuchte mit Reflektor kann in Abbildung 5 nachvollzogen werden. Obwohl die Justierung in jeder Mikroskopanleitung nachlesbar ist, werden die grundlegenden Justierschritte hier der Vollständigkeit halber erläutert. Die Justierung der Lampe ist vorrangig, da die zweite Justierung von der ersten abhängig ist.

Justierung: Streuscheibe und gegebenenfalls Filter aus dem Lichtweg entfernen. Mikroskopier-

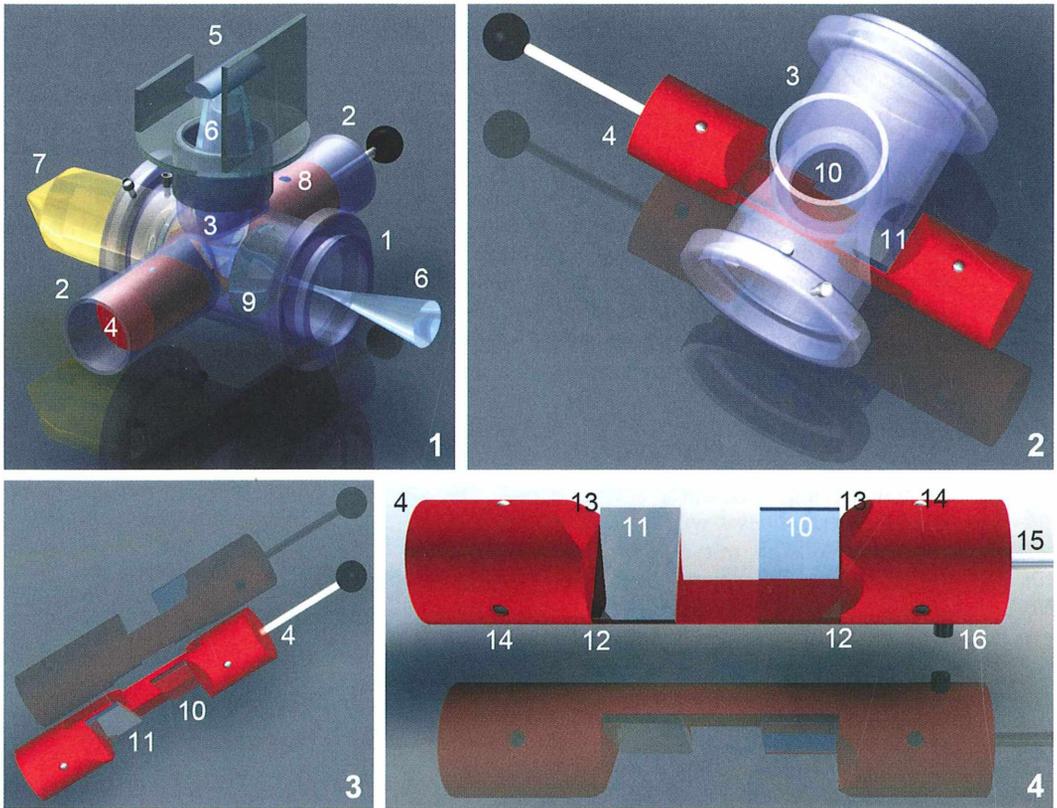


Abb. 1–3: Parallelperspektive Ansichten der Mikroblitzeinrichtung mit Schiebemodul. – **Abb. 4:** Teilerplatte und Vorderflächenspiegel im Schiebemodul. 1 Doppelkollektorrohr, 2 Röhre für das Schiebemodul, 3 Blitzkollektorrohr, 4 Schiebemodul, 5 Aufsatztisch für das Blitzgerät, 6 Strahlenbündel des Blitzlichtes, 7 Strahlenbündel des Halogenlichtes, 8 Rastereinstellung, Grundeinstellung des Schiebemoduls, 9 Linsensystem, 10 Teilerplatte 50%/50%, 11 Vorderflächen-Planspiegel, 12 Halteecken für die Teilerplatte und den Spiegel, 13 Verklebungszonen, 14 Kugellager mit Druckfedern, 15 Stange mit Griffkugel, 16 Führungs- und Arretierungsschraube.

leuchte ansetzen und Präparat mit Objektiv 40× oder stärker einstellen. Anschließend freie Objektstelle aufsuchen. Aperturblenne im Kondensator vollständig öffnen. Bei herausgenommene Okular beziehungsweise mit eingesetztem

Hilfsmikroskop im Tubus die Pupille mit Lampenwendel- und Reflektorbild beobachten. Objektbrennebene: Am Grunde des Tubus ist die Pupille mit dem Wendel- und Reflektorbild sichtbar. Befinden sich die beiden Bilder nicht im Zentrum, sondern beispielsweise etwas versetzt nach unten, wird dieses mit den Schrauben für Schärfe, Höhen und Seitenverschiebung korrigiert. Das Wendelbild wird so verschoben, dass es die Lücken des Reflektorbildes füllt (Abb. 5A).

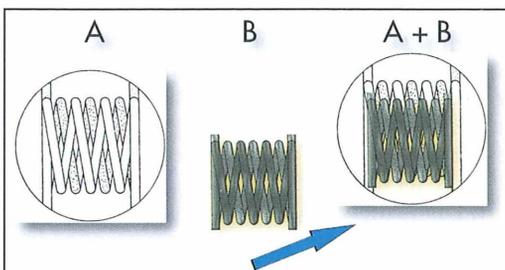


Abb. 5: Wendelabbildungen am Grunde des Tubus. A Wendelbild 1, B Wendelbild 2.

Schritt 2: Justierung der Lagerung für die Strahlenteilerplatte und den Spiegel

Dies ist nur einmal bei der Fertigung erforderlich. Die Mikroskopierleuchte mit dem Doppel-

Vergrößerung x-fach Maßbalken	ISO	ƒ H+ Speed	Hellfeld Belichtungszeiten in Sekunden 1/x	DIK	PH	Vergrößerung x-fach Maßbalken	ISO	ƒ H+ Speed	Hellfeld Belichtungszeiten in Sekunden 1/x	DIK	PH	
2,5 Objektiv (Übersicht)						20 Objektiv						
31,25 ⇒ 1	50	3 Blenden ⊕	800			320 ⇒ B2	50	3 Blenden ⊕	1000		125	
	100		1000				1250		160			
	50		800				1600		200			
	100		1000				2000		250			
40 ⇒ 2	50	⊕	800				200	⊕	2500	125	320	
	100		1000				3200		160	400		
50 ⇒ 3	50	⊕	800				250	⊕	4000	200	500	
	100		1000				5000		250	640		
62,5 ⇒ 4	50	⊕	800				320	⊕	5000	250	640	
	100		1000				6400		320	800		
	50		800				8000		400	1000		
	100		1000				10000		500	1250		
10 Objektiv						40 Objektiv						
125 ⇒ A1	50	3 Blenden ⊕	5000	320	800	400 ⇒ B3	50	3 Blenden ⊕	800			
	100		6400	400	1000		100		1000	125		
	125		8000	500	1250		125		1250	160		
	160			640	1600		160		1600	200		
	200			800	2000		200		2000	250		
	250			1000	2500		250		2500	320		
160 ⇒ A2	50	3 Blenden ⊕	3200	250	640		250	⊕	2500	125	320	
	100		4000	320	800		320		3200	160	400	
	125		5000	400	1000		400		4000	200	500	
	160		6400	500	1250		500		5000	250	640	
	200		8000	640	1600		640		6400	320	800	
	250			800	2000		800		8000	400	1000	
200 ⇒ A3	50	3 Blenden ⊕	2000	200	500	800	⊕	8000	400	1000		
	100		2500	250	640	1000		10000	500	1250		
	125		3200	320	800	1250		12500	640	1600		
	160		4000	400	1000	1600		16000	800	2000		
	200		5000	500	1250	2000		20000	1000	2500		
	250		6400	640	1600	2500		25000	1250	3200		
20 Objektiv						500 ⇒ B4 C1						
250 ⇒ A4 B1	50	3 Blenden ⊕	1250		160	500 ⇒ B4 C1	50	3 Blenden ⊕	800			
	100		1600		200		100		1000			
	125		2000		250		125		1250	125		
	160		2500	125	320		160		1600	160		
	200		3200	160	400		200		2000	200		
	250		4000	200	500		250		2500	250		
	320		5000	250	640		320		3200	125	320	
	400		6400	320	800		400		4000	160	400	
	500		8000	400	1000		500		5000	200	500	
	640			500	1250		640		6400	250	640	
	800			640	1600		800		8000	320	800	
	1000			800	2000		1000		10000	400	1000	
1250		1000	2500	1250	12500	500	1250					

Abb. 6: Liste mit Zusammenstellung der ermittelten Belichtungszeiten; Teilerplatte 50%/50%.

kollektor wird angesetzt. Einstellung 2 vornehmen (50% Beobachtungslcht, 50% Blitz). Durch die Strahlenteilerplatte erscheinen zwei Wendelbilder. Das erste ist um 0,8 mm nach oben versetzt sichtbar, ein zweites Wendelbild erscheint etwas nach unten versetzt, bedingt durch die Brennpunktverschiebung der Kollektorlinse (Abb. 5). Dieses Wendelbild 2 soll nun mit dem Wendelbild 1 zur Deckung gebracht werden. Dazu wird das Wendelbild 2 etwas nach unten versetzt justiert, gegenüber dem Wendelbild 1 der Mikroskopierleuchte ohne den Doppelkollektor (planparallele Platte). Hierdurch wird es möglich, eine genaue Justierung der Teilerplatte beziehungsweise des Spiegels vorzunehmen.

Anschließend erfolgt eine Ausrichtung auf die 45°-Lagerfläche. Die Zentren der Teilerplatte/

des Spiegels müssen sich mit dem Nebenachsensystem decken. Diese liegen nun genau parallel über der Längsachse (Hauptachse) des Doppelkollektors und parallel neben der Vertikalachse (Hauptachse) des Blitzkollektors (siehe Konstruktionszeichnung).

Beim Spiegel ist die Justierung schwieriger. Am Einfachsten ist es, die sich ergebende Korrektur der Teilerplatte auf den Spiegel zu übertragen. Anschließend kann dies wie folgt kontrolliert werden: Den Reflektor des Blitzgeräts auf Weitwinkel stellen. Nun werden die Umriss des Reflektors hinter der Frontscheibe sichtbar. Mit einer Taschenlampenbirne, die in das Blitzkollektorrohr oberhalb der Sammellinse eingeführt wird, den Bereich beleuchten. Die Umriss des Reflektors müssen jetzt mittig, auf der Hauptachse liegend, gespiegelt werden. Nach

der Justierung wird die Streuscheibe wieder in den Lichtweg gebracht.

Eingespiegelter Blitzlichtstrahl

Durch die Einfügung der Strahlenteilerplatte treten keine störenden Effekte bei der Beobachtung auf. Der planparallele Versatz der Halogenbeleuchtung verschiebt den Brennpunkt um 0,9 mm auf der Längsachse und ist für die Beobachtung unbedeutend. Die Lagerfläche für die Teilerplatte im Schiebemodul liegt im strahlenbündelfreien Raum (Ausfräsung im Vollstab). Eine Beeinträchtigung des Beobachtungslichtes tritt nicht auf.

Mikroaufnahmen

Bei der Kamera *Bild – Stil* auf *neutral* einstellen, wenn nachträglich eine Bildbearbeitung vorgenommen werden soll. Um ein Farbgleichgewicht herzustellen, eine Weißabgleich-Korrektur vornehmen. Mit der Pipette (Photoshop, Lightroom) auf einen neutralen Bereich des Objektträgers zeigen. Die Bearbeitung erfolgt grundsätzlich im RAW-Format. Bei Aufnahmen im Differentiellen Interferenzkontrast (DIK) wird je nach Einstellung die Homogenität der Ausleuchtung über die Diagonale mehr oder weniger im Bildfeld gestört. Es treten schattenförmige Verdunklungen auf. Diese Bereiche zeigen die Lage der DIK-Prismen im Objektrevolver an. Mit einer *Masken*-Bearbeitung in Photoshop kann dieser Bereich korrigiert werden, oder durch den vorsichtigen Gebrauch des *Bereichsreparatur-Pinsel-Werkzeugs*.

Wird eine Canon-Kamera eingesetzt, kann die Kamera mit der vom Hersteller mitgelieferten Software *EOS Utility* mit dem Computer verbunden werden. Die Scharfeinstellung kann auf

dem PC-Monitor überprüft und die Mikroskop-Abbildungen können direkt auf der Festplatte im PC gespeichert werden. Andere Kamerahersteller dürften über ähnliche Software verfügen.

Beim Mikroskop kann dann am Fototubus die Okularsicht auf 0% umgestellt werden.

Da die Schärfenebene bei Mikroaufnahmen sehr gering ist, kann bei statischen Objekten eine Serie von Ebenen-Aufnahmen erstellt werden (Feintriebknopf), die mit einer Stacking-Software wie beispielsweise *Helicon Focus* zu einem fast dreidimensionalen Bild führt.

Belichtungszeiten

Die Belichtungszeiten wurden bei Einschaltung der Teilerplatte 50%/50% ermittelt (Abb. 6). Beim 20x Objektiv mit Optovar, ISO 250, Blitzeinstellung $\frac{1}{4}H + 3$ Blenden ergaben sich folgende Belichtungszeiten: Bei Hellfeld 1/3200 s, bei DIK 1/160 s, bei Phasenkontrast 1/400 s. In jedem Falle sollte eine Testreihe vorgenommen werden. Zur Kontrolle wäre es sinnvoll, die Belichtungszeiten in einer Liste einzutragen.

Bezug von Baumaterialien

Optische Komponenten und andere Materialien: Firma Linos in Göttingen (www.linos.de bzw. www.qioptiq.com); Druckfedern: Firma Febrotec (www.febrotec.de); Stahlkugeln: Kugellager-Shop (www.kugellager-shopberlin.de). Die Konstruktionszeichnung im DIN A3-Format kann gegen einen geringen Unkostenbeitrag vom Autor per E-Mail bezogen werden.

Verfasser: Ralf Schmidt,
Klopstockstraße 4, 40822 Mettmann,
E-Mail: schralf@t-online.de



Kurze Mitteilung

Der schnellste „Film“ der Welt

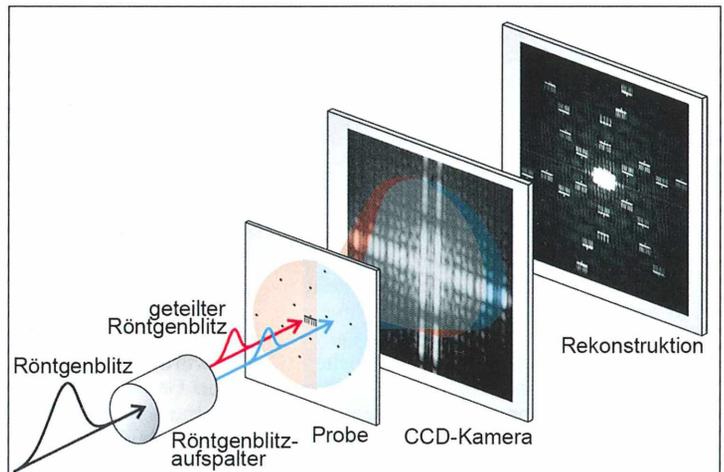
Unsere Augen haben nicht nur eine Auflösungsbeschränkung für die Größe von Strukturen, sondern auch für den zeitlichen Ablauf. Wir können nur 60–70 Bilder pro Sekunde wahrnehmen. Sehr schnelle Vorgänge wie zum Beispiel das Hervorschnellen der Froschzunge beim Fliegenfang können wir daher nicht richtig verfolgen. Abhilfe schaffen hier Zeitlupenaufnahmen, die Bilder in sehr kurzen Zeitabständen registrieren und die Bildabfolge verlangsamt wiedergeben. Nun haben Wissenschaftler ein Verfahren entwickelt, mit dem man Bilder im unglaublich kurzen Zeitabstand von 50 Femtosekunden aufnehmen kann. Eine Femtosekunde ist der billardste Teil einer Sekunde (10^{-15} sec), in Dezimalzahlschreibweise ausgedrückt der unvorstellbar kleine 0,000.000.000.000.001. Teil einer Sekunde.

Forschern der TU Berlin, des Helmholtz-Zentrums Berlin für Materialien und Energie und der Universität Münster unter Leitung von TU-Professor Dr. Stefan Eisebitt ist es gelungen, eine solche ultraschnelle Bildsequenz mit Röntgenstrahlung zu erfassen. Das Verfahren, welches die Wissenschaftler in der Online-Ausgabe der Zeitschrift „Nature Photonics“ (<http://dx.doi.org/10.1038/NPHOTON.2010.287>) darstellen, erlaubt erstmals, mikro- und nanometerkleine Objekte zu zwei extrem kurz aufeinanderfolgenden Zeiten abzubilden. Dazu

wird ein spezielles holografisches Abbildungsverfahren für kurzwellige Röntgenstrahlen angewendet, das die Abbildung kleinster Strukturen ermöglicht. Zwei extrem kurze Röntgenpulse werden zur Bildgebung benutzt. Ein Wechsel des Films oder des Detektors wäre in einer solch kurzen Zeit nicht möglich. Daher wurde ein besonderer Versuchsaufbau erarbeitet (Abb. 1). Die Pulse aus dem Röntgenlaser „FLASH“ bei DESY in Hamburg werden dabei mit Hilfe eines Spiegels, der halb in den Strahl ragt, in zwei Teile zerschnitten. Die eine Hälfte des Strahls kann ungehindert weiterrasen, während die zweite über insgesamt vier Spiegel gelenkt wird, bevor sie auf die Probe trifft. Dadurch treffen die beiden Strahlhälften dann um 50 Femtosekunden zeitlich versetzt auf das abzubildende Objekt – in diesem Demonstrationsfall auf eine Metallfolie, in die das Brandenburger Tor im Mikroformat geätzt wurde. Eine spezielle holografische Abbildung erlaubt es nun, die von beiden Pulsen erzeugten Bilder überlagert aufzunehmen und anschließend den verschiedenen Aufnahmezeiten zuzuordnen. Zur Datenspeicherung dient eine für Röntgenstrahlen optimierte CCD-Kamera.

Das Verfahren macht also ultraschnelle Prozesse sichtbar und dies auch von besonders kleinen Objekten. Das langfristige Ziel, das die Forscher verfolgen, ist in der Zukunft beispiels-

Abb. 1: Versuchsaufbau zur Spaltung eines Röntgenblitzes zur ultraschnellen Abbildung von winzigen Strukturen in einem extrem kurzen Zeitabstand. Ein Röntgenblitz wird durch einen Spiegel geteilt. Die daraus resultierenden zwei Blitze treffen in einem extrem kurzen Zeitabstand auf die Probe und geben dadurch deren Zustand in zwei kurz aufeinandergefolgten Phasen wieder. Eine spezielle CCD-Kamera zeichnet diese Signale auf; aus den Intensitäten der Röntgenstrahlung in den Bildpunkten werden Einzelbilder rekonstruiert (Stefan Eisebitt, TU Berlin).



weise schnelle Veränderungen und Bewegungen von Molekülstrukturen während chemischer Reaktionen aufzuzeigen. Prof. Dr. Stefan Eisebitt von der TU Berlin formuliert die Erwartungen wie folgt: *Unsere Methode ist ein wichtiger Schritt hin zum ‚molekularen Film‘, der uns hilft, die fundamentalen Vorgänge bei physikalischen und chemischen Prozessen zu sehen und zu verstehen. Beispiele sind Änderungen der Form von Enzymen während der chemischen Reaktion oder ultraschnelle Magnetisierungsänderungen in neuartigen Datenspeichern.*

Bei zwei Bildern von einem Film zu sprechen, klingt vielleicht zunächst etwas gewagt. Aber in

Zukunft ist es durchaus denkbar, auch mehr Bilder festzuhalten. Die Hologrammtechnik erlaubt zurzeit circa zehn Aufnahmen; doch reicht bisher die Intensität des Röntgen-Lichtblitzes nicht für so viele Aufspaltungen aus. In vielen Fällen genügt aber für eine wissenschaftliche Auswertung molekularer Vorgänge bereits der Vorher-Nachher-Vergleich eines extrem schnellen Ablaufs und damit die Information von zwei in einer unvorstellbar kurzen Zeitdifferenz aufgenommenen Bildern.

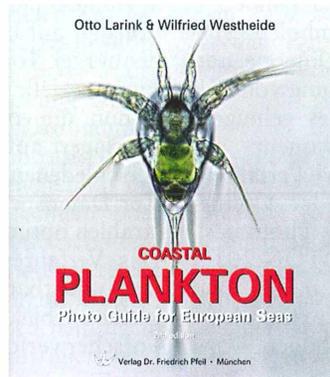
Renate Radek, Berlin

Buchbesprechung

Larink, O., Westheide, W.:
Coastal plankton – Photo guide
for European seas, 2nd edition.
 Verlag Dr. Friedrich Pfeil,
 München 2011, 191 Seiten,
 83 Farbtafeln mit 929 Einzel-
 abbildungen, kartoniert,
 24 × 21 cm, € 38,00,
 ISBN 978-3-89937-127-7.

Als 2006 die erste Auflage dieses Plankton-Führers auf dem Markt erschien, hat Renate Radek in einer Besprechung im MIKRO-KOSMOS festgestellt, dass nunmehr eine Marktlücke gefüllt wurde. Nun ist mit dem Wechsel zum Jahr 2011 die zweite Auflage dieses erfolgreichen Bestimmungs-Bilderbuchs erschienen, um rund ein Drittel des bisherigen Umfangs erweitert.

Nach der Durchsicht der Neuauflage kann es als gesichert gelten, was seinerzeit zur ersten Auflage als Resümee hoffend vorhergesagt wurde: *Diese schöne Übersicht wird zu einem unverzichtbaren Standardwerk werden.* Mehr noch, die Hinzunahme neuer Abbildungen und die intensive textliche Überarbeitung aller Organismen-



gruppen, angefangen bei den Einzellern bis hin zu den planktischen Stadien der Knochenfische bestätigt den ersten Eindruck: Hervorragend illustriert, fundiert und kenntnisreich kommentiert. Es waren eben wieder einmal die bekannten Kenner der Materie am Werk!

Die Bibliographie ist umfangmäßig moderat angewachsen, wohingegen die Verweise auf digitale Quellen mindestens um das Doppelte erweitert wurden. Das spiegelt mit einiger Gewissheit den aktuellen Trend weg vom gedruckten Buch hin zur digital abrufbaren Information wider. Ob

diese Informationsquellen auf Dauer – und hier reden wir von mindestens in Dekaden gemessenen Zeiträumen – verfügbar sein werden, sei dahingestellt. Wenn es so sein wird, ist es wunderbar. Wenn aber nicht – und hier kann zurzeit niemand eine zuverlässige Prognose abgeben –, dann haben wir Pech gehabt.

Dieser Gesichtspunkt hat allerdings hinsichtlich des neu erschienenen Buchs keine Relevanz. Denn hier haben wir ein konventionelles Buch vor uns liegen, bei dem es nicht zuletzt seiner hohen Bildqualität wegen Freude bereitet, darin herumzublättern, um beispielsweise herauszufinden, um welchen Organismus es sich handelt, den man soeben unter der Linse liegen hat.

Angesichts des moderaten Preises des Buchs sowie seines kompetenten Inhalts sollten die am marinen Plankton interessierten Leser unserer Zeitschrift keinen Augenblick lang zögern, sich dieses Werk umgehend anzuschaffen, selbst wenn schon die erste Auflage ein Bestandteil der heimischen Privatbibliothek sein sollte.

Klaus Hausmann, Berlin

Natriumchlorid: Konventionell kristallin gegittert, aber auch quasi explosiv und schließlich gar amorph

Klaus Hausmann

Kochsalz – NaCl: Das streut man sich aufs Frühstücksei, das verhilft dem Erdapfel zum Status der Salzkartoffel, das ist beim Genuss einer Tomate kaum wegzudenken, das gehört schlichtweg unzertrennbar zu unserer Esskultur. Von daher gesehen könnte man es schon als angemessen erachten, diese chemische Verbindung einmal einer genaueren mikroskopischen Analyse zu unterziehen.

Die Initialzündung zu diesem Bericht war allerdings ganz anderer Natur. In der Redaktion des MIKROKOSMOS traf nämlich wieder einmal eine Anfrage einer Studentin der Berliner Universität der Künste (UDK) ein, ob man weiterhelfen könne. Man bräuchte nämlich, um die kommende *Nacht der*

Wissenschaften der Berliner Forschungseinrichtungen auch seitens der Künstler-Universität attraktiv zu gestalten, eindrucklich flächige Strukturen für die Erstellung entsprechend großformatiger Werbeplakate. Der E-Mail-Anfrage waren zwei Bilder beigefügt, um zu zeigen, wonach man suchte.

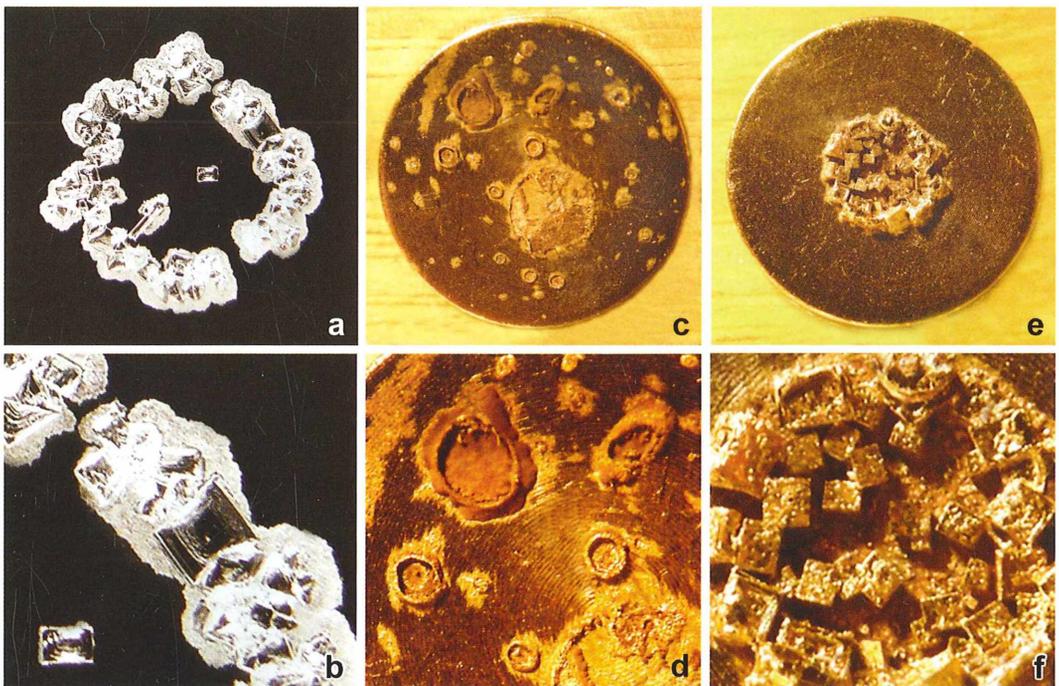


Abb. 1: Natriumchloridkristalle in Lupenvergrößerung. **a** und **b** Eintrocknete NaCl-Lösung im Dunkelfeld. Rechteckige Kristalle sind erkennbar. **c** und **d** Im Vakuum zerspritzter Salzlösungstropfen. **e** und **f** Bei Zimmertemperatur langsam getrocknete Salzlösung. Die Präparate **c-f** wurden für rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen mit einer hauchdünnen Goldschicht versehen, was deren Färbung erklärt.

Bei den mitgesandten Bildern handelte es sich zweifelsfrei um mikroskopische Fotos von Kristallen. Da sollten wir wohl helfen können. Also wurde die Studentin zu einem Foto-Shooting in mikroskopischer Dimension eingeladen.

Saloppe Vorbereitung

Nun war mir überhaupt nicht klar, aus welcher chemischen Verbindung die Kristalle stammten, die auf den zugesandten Bildern zu sehen waren. So musste improvisiert werden. Ich erinnerte mich daran, vor vielen Jahren einmal aus eingetrocknetem Meerwasser entstandene Kristalle – vermutlich aus Natriumchlorid bestehend – mikroskopiert zu haben. Also habe ich ein paar Tropfen aus einem Meerwasser-aquarium unseres Instituts auf einen Objektträger gegeben und eintrocknen lassen, ohne mir das Ergebnis mit einem Mikroskop anzusehen. Das sollte meiner Meinung nach an Vorbereitung genügen, was, wie sich schließlich herausstellte, fatal war.

Als wir nämlich mit einem hochgerüsteten Forschungslichtmikroskop die Proben betrachteten, hielt sich die Begeisterung der Studentin sehr in Grenzen. Die Strukturen, die sie zu Gesicht bekam, waren ihr alle zu unscharf, irgendwie konturlos (Abb. 1a und b). Den Eindruck konnte ich selbst auch nur bestätigen, ohne zunächst dafür eine Erklärung gehabt zu haben.

Dann dämmerte es mir langsam: Wasser aus einem Meeresaquarium beinhaltet ja nicht nur Natriumchlorid, sondern eine ganze Menge

weiterer Salze, aber auch organische, aus dem Stoffwechsel der Aquarienbewohner stammende Endprodukte. Diese hatten sich offenbar wie ein Film über die durch Eintrocknung entstandenen Kristallstrukturen gelegt und ließen keine klaren Konturen erkennen. Die von mir vorbereiteten Präparate waren also zur Bearbeitung der vorgegebenen Fragestellung überhaupt nicht geeignet.

Eine spritzige Idee

Was macht man nun in einer solchen Situation? Irgendwie musste es ja nun weitergehen. Ich kam auf die Idee, hochreines Natriumchlorid unserer Chemikaliensammlung in Aqua bidest. zu lösen und daraus dann entsprechende Präparate anzufertigen.

Das war schnell gemacht, stellte sich dann aber doch als etwas zeitintensiv heraus. Denn selbst ein kleiner Wassertropfen verdunstet nicht im Handumdrehen bei Zimmertemperatur. Nun war es aber eigentlich nicht angesagt, gar nichts zu tun, außer die Zeit abzuwarten. So dachte ich mir, dass man die noch wässrigen Proben ins Vakuum der Sputteranlage einbringen könnte, ein Gerät, das anschließend ohnehin für die notwendige Goldbeschichtung der von mir geplanten rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen der Präparate eingesetzt werden musste. Infolge des hohen Vakuums in der Apparatur würde ja das Wasser im Handumdrehen aus der Lösung entfernt werden und die gewünschten Natriumchloridkristalle zügig auskristallisieren, dachte ich mir.

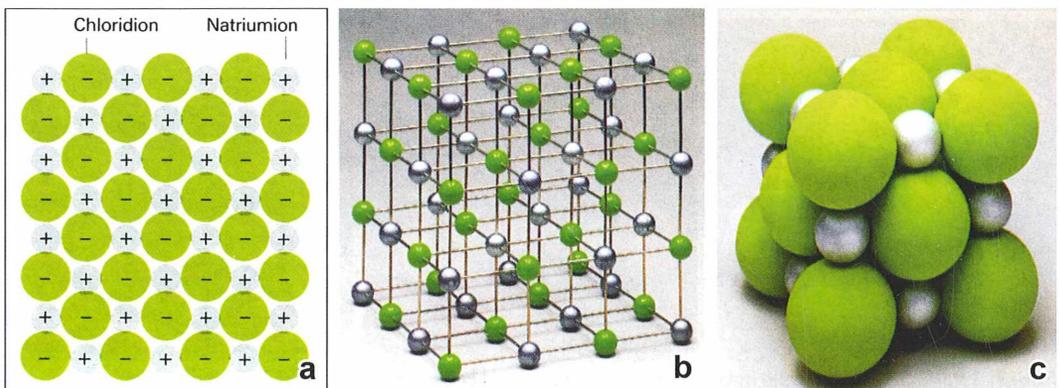


Abb. 2: Modelldarstellung des Natriumchloridgitters. **a** Ionenverband von NaCl. **b** 3D-Modell des Ionengitters von NaCl. **c** Raumerfüllung im Natriumchloridgitter (aus Eisner et al., 1995).

Bei der Lupen-Inspektion der für das Rasterelektronenmikroskop (REM) vorbereiteten – also getrockneten und mit einer hauchdünnen Goldschicht versehenen – Präparate zeigte sich dann aber ein ganz unerwartetes Bild. Es waren nämlich nicht schön geformte Kristalle zu erkennen, sondern es hatte den Anschein, als sei der Wassertropfen in zahllose kleinere Tropfen zerspritzt. Die Präparate sahen bei einer schwachen Lupenvergrößerung nicht unbedingt ästhetisch-attraktiv, aber doch irgendwie interessant aus (Abb. 1c und d).

Literaturstudium tut Not

Spätestens zu diesem Zeitpunkt wurde uns klar, dass wir einen etwas genaueren theoretischen Hintergrund benötigten, um zu wissen, wie die Präparate unter Normalbedingungen auszusehen haben. Bevor wir uns an das vermutlich einen gewissen Zeitraum beanspruchende Literaturstudium heranmachten, brachten wir noch auf eine Reihe von Objektträgern jeweils einen Tropfen einer NaCl-Lösung auf, der langsam an der normalen Luft trocknen sollte.

Aus der zu Rate gezogenen Chemie-Literatur (beispielsweise Eisner et al., 1995) sowie aus dem Internet erfuhren wir, dass wir bei Natriumchlorid mehr oder minder perfekt würfelförmige Kristalle zu erwarten hatten. Eine rasche Kontrolle der neuen, unterdessen langsam an der Luft trocknenden Salzlösung bestätigte dieses. Wir sahen ohne Probleme die würfel- bis quaderförmigen Kristalle (Abb. 1e und f, Abb. 3).

Wie kommen nun derartige Kristalle zustande? Das Schlüsselwort heißt Natriumchloridgitter. Dazu muss man wissen, dass ein Natriumion und ein Chloridion sich gegenseitig anziehen. Da die Ladungen nach allen Richtungen im Raum wirken, können von einem positiv geladenen Natriumion mehrere benachbarte, negativ geladene Chloridionen angezogen werden. Ebenso kann ein Chloridion mehrere benachbarte Natriumionen anziehen. Ionen mit gleichartiger Ladung stoßen sich dahingegen ab.

Das bedeutet in der Praxis, dass bei der Reaktion von Natrium mit Chlor zunächst eine riesige Anzahl von Natrium- und Chloridionen entsteht. Diese gruppieren sich dann derartig, dass sich eine größtmögliche Anziehung und eine geringstmögliche Abstoßung ergeben. Es bildet sich ein Ionenverband, in dem die Ionen

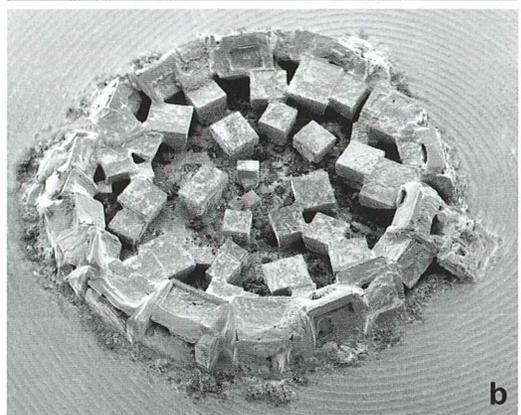
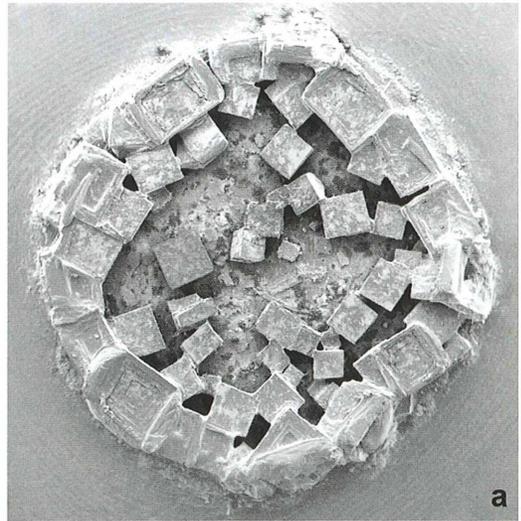


Abb. 3a-c: Unter verschiedenen Blickwinkeln dargestellte, aus jeweils einem kleinen (\varnothing ca. 3 mm) Tropfen einer Natriumchloridlösung resultierende Kristalle in rasterelektronenmikroskopischen Bildern (REM).

regelmäßig angeordnet sind (Abb. 2a). Dieser Verband ist nicht nur zweidimensional verwirklicht, sondern auch in der dritten Dimension ausgebildet (Abb. 2b). Es ist also so, dass ein Natriumion von sechs Chloridionen umgeben wird und um jedes Chloridion sich sechs Natriumionen gruppieren. Somit hat jedes Ion sechs nächste Nachbarn. Daher ist die Anzahl

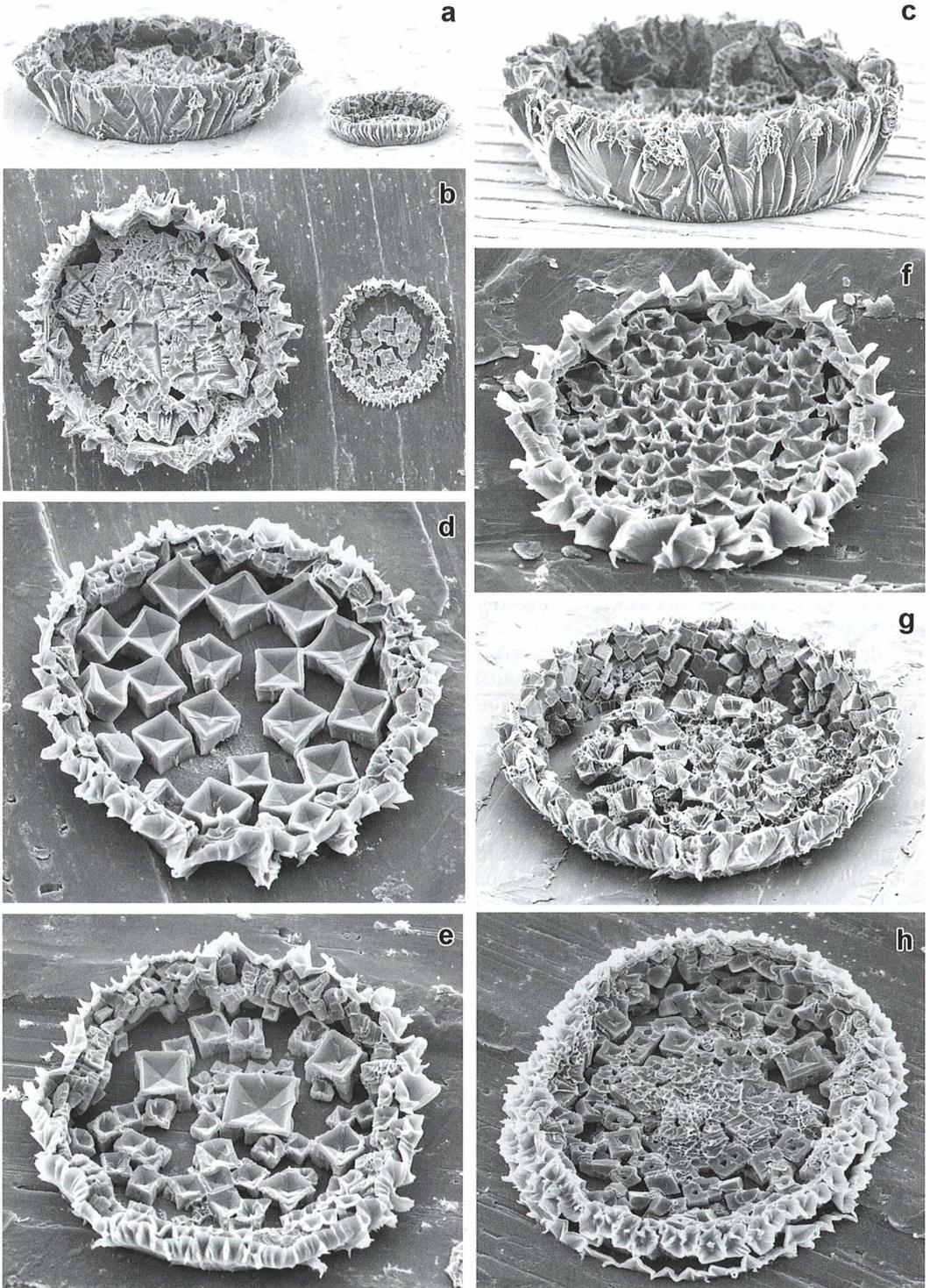


Abb. 4a–h: Schüsselförmige Salzgebilde mit unterschiedlich strukturiertem Inhalt (REM).

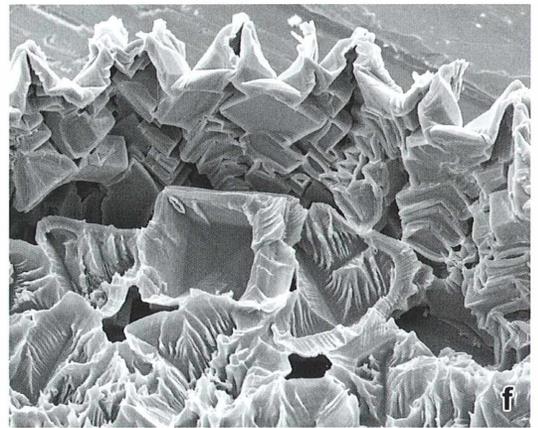
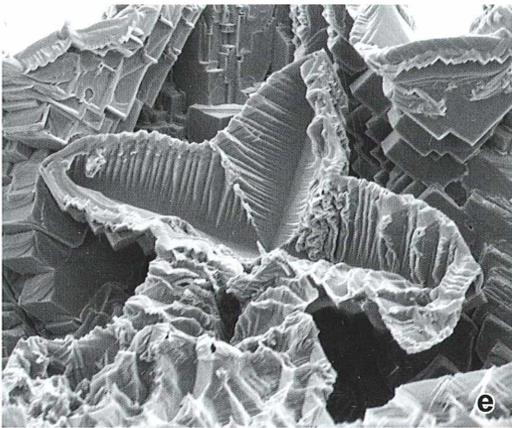
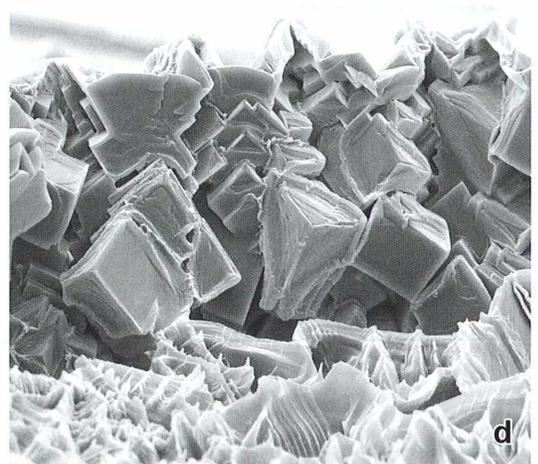
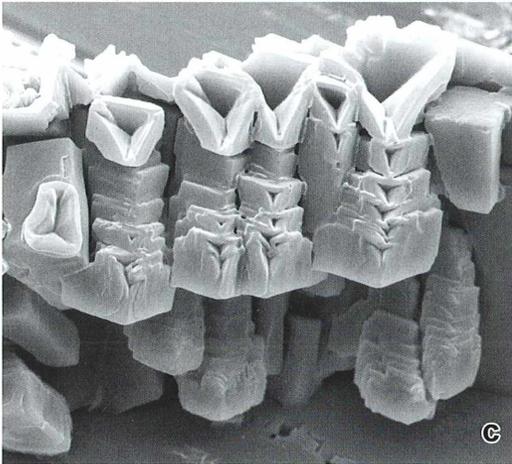
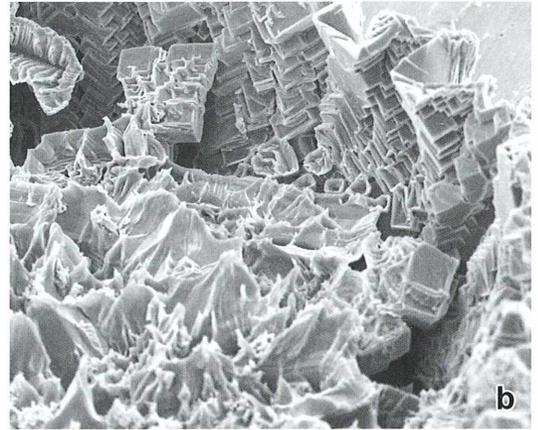
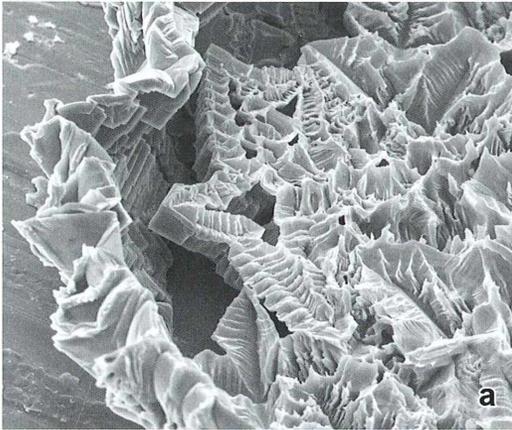


Abb. 5a-f: Unterschiedlich geformte NaCl-Kristallisationselemente ergeben einen wellenförmigen Schüsselrand (REM).

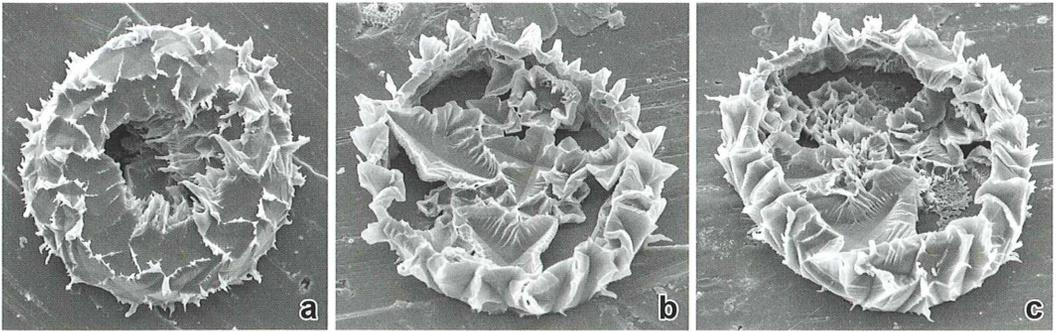


Abb. 6a–c: Mögliche Entfaltung eines massiven Salzkranzes zu einer Schüsselstruktur (REM).

der Natriumionen in einem großen Ionenverband gleich der Anzahl der Chloridionen.

Die regelmäßige Anordnung von Ionen in einem Ionenverband nennt man Ionengitter (Abb. 2b). Dieses Modell lässt erkennen, dass die Ionen an den Ecken von Würfeln positioniert sind, die durch die Verbindungslinien zwischen den Mittelpunkten der Ionen gebildet werden.

Berücksichtigt man nun noch, dass die Natriumionen nur etwa den halben Durchmesser der Chloridionen aufweisen, und beachtet man außerdem die tatsächlichen Abstände zwischen den Ionen, resultiert daraus ein dreidimensionales Raummodell (Abb. 2c). Es ergeben sich Begrenzungsflächen, die miteinander rechte Winkel bilden, wie sie dann tatsächlich bei den aus der langsam verdunsteten Natriumchloridlösung entstanden Kristalle zu sehen sind (Abb. 1e und f, Abb. 3).

Die Kristalle sind offenbar würfel- oder quaderförmig. Die Würfel zeigen eine Kantenlänge von rund 265 μm ; die hauptsächlich in der Peripherie des ehemaligen Flüssigkeitstropfens gelegenen Quader sind mit circa 550 \times 400 μm deutlich größer (Abb. 3).

Das war es dann aber auch schon. Wir konnten den konventionell hergestellten Kristallen keine weiteren interessanten Aspekte abgewinnen.

Wäre nicht die unkonventionelle Vakuumtrocknung vorgenommen worden, hätte der Artikel an dieser Stelle sein Ende gefunden.

Verblüffende Beobachtungen

Was hatte es nun mit den „spritzgetrockneten“ Präparaten auf sich? Bei Lupenvergrößerung waren zahlreiche, rundlich kraterförmige Strukturen unterschiedlichen Durchmessers zu erkennen. Kristalle konnte man nicht entdecken.

Im REM tat sich eine verblüffende Situation auf. Die Krater waren nämlich in der Seitenansicht wie kreisrunde Teller oder Schalen geformt (Abb. 4a und b). Sie erinnerten etwas an Pappeller, von denen man bei sommerlichen Outdoor-Aktivitäten gerne sein Grillgut isst. Offenbar gab es diese Teller in unterschiedlichen Größen.

Ein Blick in diese Schalen ließ einen manchmal im Umriss unregelmäßigen, vom inneren Aufbau her aber irgendwie regelmäßig strukturierten Inhalt erkennen (Abb. 4b, d–h). Teilweise erinnerte der Schaleninhalt an Weihnachtsg Gebäck, speziell an Dominosteine gleicher und unterschiedlicher Größe (Abb. 4d und e). Teils waren die Konturen nicht so scharf umrissen

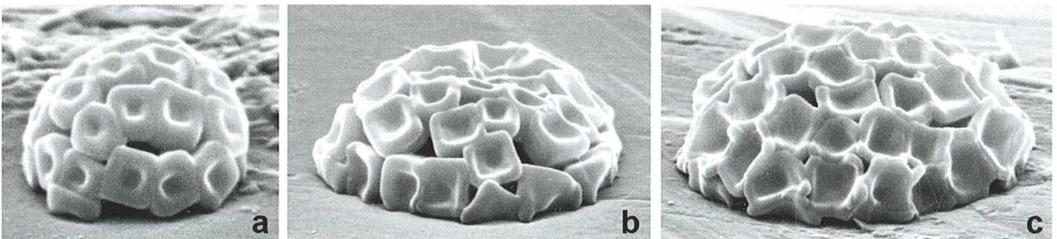


Abb. 7: Salzwürfel zu winzigen Anhäufungen zusammengefügt, die an Eskimo-Igloo erinnern (REM).

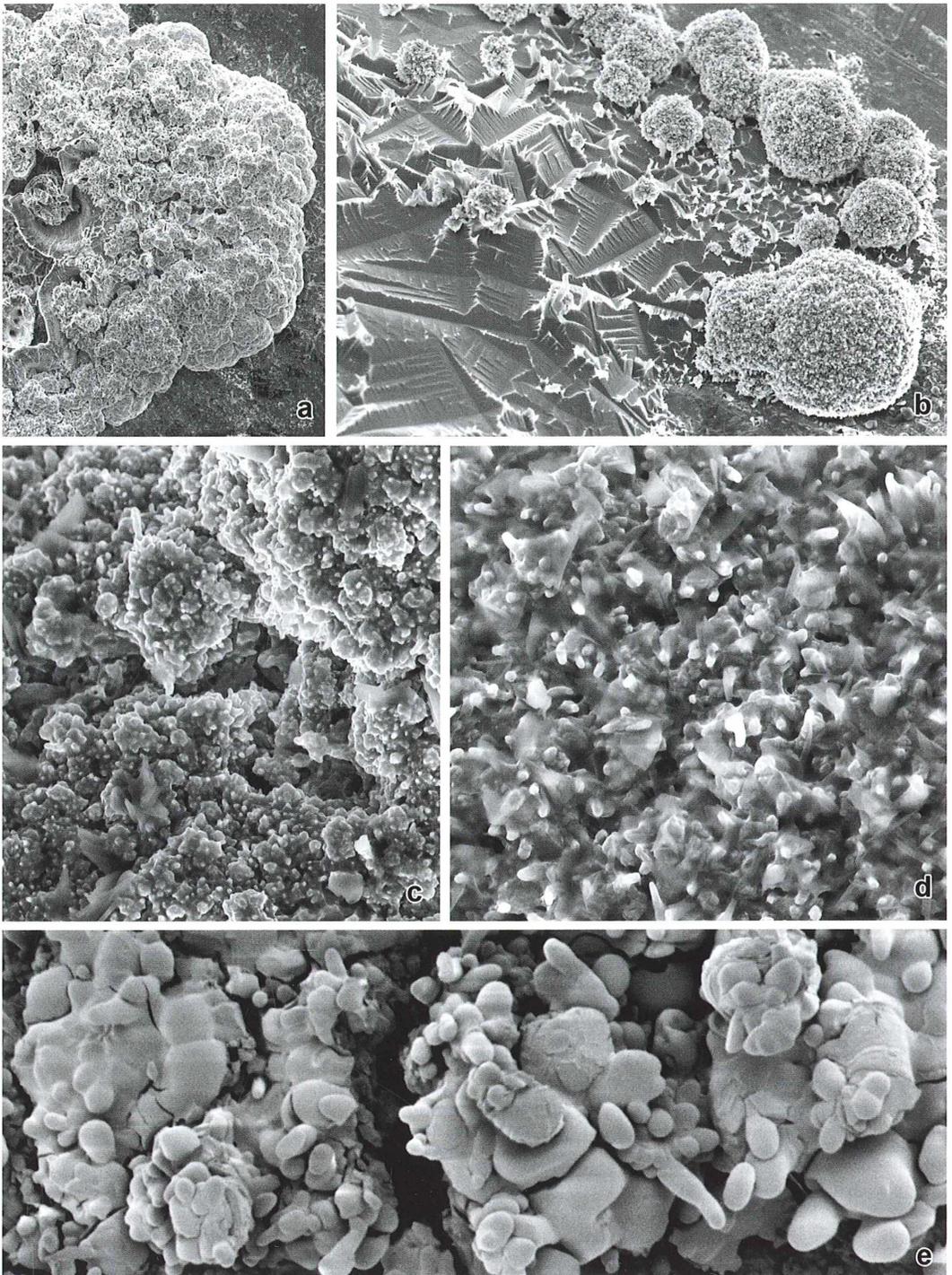


Abb. 8: Amorphe Salzbildungen, die kein auf Anrieb erkennbares Ordnungsprinzip zeigen (REM).

(Abb. 4f und g), hin und wieder mit unstrukturierten Anteilen vermischt (Abb. 4h).

Die Würfel, welche natürlich an die eingangs gezeigten Salzkristalle erinnerten (Abb. 3), waren allerdings mit einer Kantenlänge von durchschnittlich 10 µm um Größenordnungen kleiner als die bisweilen mit bloßem Auge erkennbaren Salzkristalle. Nicht nur das: Sie erschienen nicht wirklich kompakt. Es sah so aus, als ob sie keinen Inhalt besäßen und deshalb eingefallene Außenflächen zeigten. Aber auch in diesem Zustand war immer noch eine hohe Regelmäßigkeit zu erkennen.

Der Rand der papptellerartigen Schüsseln erschien meist regelmäßig gewellt (Abb. 4). Bei etwas stärkerer Vergrößerung waren zwischen chaotisch erscheinenden Bereichen immer wieder regelmäßiger geformte Areale zu erkennen (Abb. 5). Auch hier tauchten oft im Ansatz quadratische und dazu noch vielfach geschichtete Elemente auf. Man hatte den Eindruck, als ob für ein regelmäßiges Auskristallisieren – möglicherweise infolge der rasch erfolgten Vakuumtrocknung – nicht genügend Zeit zur Verfügung gestanden hatte. Auf jeden Fall waren die visuellen Eindrücke der REM-Bilder vielfältig und regten die Fantasie an. Die Studentin war begeistert. Ich auch!

Besonderheiten im Detail

Bei sorgfältiger Durchmusterung der Präparate fielen insbesondere bei etwas höherer Vergrößerung auch kreisförmige Strukturen auf, die keine Schalen-, sondern eher eine Kranzform aufwiesen (Abb. 6). Beim Betrachten verschiedener dieser Gebilde kam der Eindruck auf, als ob sie sich noch nicht oder nur andeutungsweise zu einer Schüssel hatten entfalten können.

Ein intensive Analyse der Präparate bei recht hoher Vergrößerung zeigte schließlich kleine kuppelartige Anhäufungen von in der Fläche eingefallenen Würfeln, die etwas an Iglus, also an die Schneehütten der Eskimos erinnerten (Abb. 7).

Salz amorph

Irritierend und in ihrer Entstehung zumindest für uns unerklärlich blieben Randbereiche der Salzsüsseln, die bei schwacher Vergrößerung

zunächst keine erkennbare Struktur oder Ordnung erkennen ließen. Sie erinnerten etwas an Kuchenteig, der, wie die meisten wohl wissen, beim Backen speziell aus einer nicht ganz dichten Springform austritt (Abb. 8a). Zuweilen war diese Salzvariante kugelig ausgebildet und stand scheinbar mit relativ regelmäßigen, flachen Bereichen in unmittelbarer Verbindung (Abb. 8b). Stärkere Vergrößerungen zeigten wohl eine gewisse Oberflächenskulpturierung, die auch gelegentlich scharfe Konturen, aber dann doch kein irgendwie geartetes Ordnungsprinzip erahnen ließ (Abb. 8c und d).

In den Salzsüsseln gab es schließlich – beispielsweise neben den oben beschriebenen Dominosteinen – Bereiche, die mit einer dichten Lage kleiner Strukturelemente gefüllt waren, welche durch unregelmäßig abgerundete Begrenzungen gekennzeichnet waren (Abb. 8e). Die Entstehung dieser Gebilde lässt sich nun überhaupt nicht mehr durch das eingangs beschriebene Natriumchloridgitter erklären.

Unverhofft kommt oft

Wer hätte eine derartige Vielgestaltigkeit und Vielschichtigkeit der Materie erwartet, als es darum ging, einmal ganz schnell ein paar Salzkristalle zu fotografieren? Es ist kaum vorstellbar, dass man gezielt zu derartigen Ansichten von Kochsalz gelangen kann, wenn man nicht weiß, durch welchen Zufall die hier dokumentierten Gebilde entstanden sind. So waren es wieder einmal die Vorgehensweise und das Glück der Unbedarften, welche diese wahrscheinlich seltenen Beobachtungen ermöglichen.

Literaturhinweis

Eisner, W., Gietz, P., Justus, A., Schierle, W., Sternberg, M.: Elemente Chemie. Ernst Klett Verlag, Stuttgart 1995.

Verfasser: Prof. Dr. Klaus Hausmann,
Redaktion MIKROKOSMOS,
Freie Universität Berlin,
Institut für Biologie/Zoologie,
Königin-Luise-Straße 1–3, 14195 Berlin,
E-Mail: hausmann@zedat.fu-berlin.de

Kristalline Welt – Es darf auch mal Hellfeld sein

Bernd Walz

Mikroskopische Kristallformationen sind beliebte Objekte für die Mikrofotografie. Meist werden die Kristallstrukturen im polarisierten Licht fotografiert, weil sie im Polarisationsmikroskop mit spektakulärer Farbigkeit begeistern. Hier wird gezeigt, dass auch Aufnahmen im Hellfeld geeignet sind, die Schönheit kristalliner Strukturen mikrofotografisch darzustellen.

Kristalle üben auf den Menschen seit jeher eine große Faszination aus. Klare, als ästhetisch empfundene Formen, Flächen, Linien und Kanten harmonisieren mit charakteristischer Farbigkeit und Transparenz. Im richtigen Licht in Szene gesetzt, funkeln Kristalle, strahlen in herrlicher Klarheit. Kristalle natürlicher Mineralien werden deshalb seit Menschengedenken zu beliebten Schmuckstücken verarbeitet.

Anorganische und organische Salzlösungen hinterlassen nach dem Eintrocknen auf den Objektträgern flächige Kristallrasen und -krusten. Auch nach der Schmelze bilden sich im Verlauf der Abkühlung charakteristische Kristallformationen. Derartige einfache Präparate sind den meisten Mikroskopikern bekannt und beliebte Präparate für die Mikrofotografie. Im Polarisationsmikroskop – zwischen gekreuztem Polarisator und Analysator – leuchten derartige Kristallpräparate nach der Einfügung einer Verzögerungsfolie in den Strahlengang in spektakulären Farben. Aus diesem Grund sind die meisten, vielleicht sogar die Mehrzahl der Mikrofotos anorganischer und organischer Kristalle Farbaufnahmen, die mit Hilfe eines Polarisationsmikroskops entstanden sind.

Es darf auch mal Hellfeld sein

Die bunte Farbigkeit von Kristallpräparaten im Polarisationsmikroskop ist rein physikalischen Ursprungs, das Ergebnis der Interferenz senkrecht zueinander schwingender Teilstrahlen, die in die Durchlassrichtung des Analysators gedreht werden. In der Farbigkeit steckt keinerlei Information über die chemische Natur oder die Kristallstruktur der kristallisierten Sub-

stanz. Farbkontrast und rein ästhetische Aspekte sind in den meisten Fällen Motivation für die Verwendung der Polarisationsmikroskopie.

Kristalle bestechen jedoch auch aufgrund farbunabhängiger Merkmale: Form, Muster der Kristallflächen und -kanten. Dieser Umstand hat den Autor bewogen, die einfache, klassische Hellfeldmikroskopie zur Mikrofotografie von Kristallpräparaten einzusetzen. Beschränkung auf die Schwarzweiß-Technik sollte den Reiz der Kristallstrukturen schnörkellos dokumentieren. Die Abbildungen 1–3 zeigen, dass schwarzweiße Mikrofotos, die im Hellfeld aufgenommen wurden, Kristallkrusten in grafisch ansprechenden Mustern und Strukturen darstellen. Abbildung 1 belegt außerdem, dass es sich lohnt, Grundregeln der Bildgestaltung zu beachten. So wurde in der spiralig auskristallisierten Kruste bei der Aufnahme das Zentrum der Spirale ungefähr in den „goldenen Schnitt“ gelegt.

Mit der schwarzweißen Mikrofotografie von Kristallen im Hellfeld verfolgt der Autor noch eine weitere Absicht. Ziel des Projekts ist es, einfache Kristalle in minimalistischen Mikrofotos darzustellen und die im Schwarzweiß-Prozess möglichen, feinsten Graustufen für eine Darstellung zu nutzen, die eine ganz eigene Ästhetik entfalten. Die einfachen Bilder sollen den Betrachter innehalten und zur Ruhe kommen lassen. Eine Auswahl derartiger Mikrofotos zeigen die Abbildungen 4–7. Diese Abbildungen belegen auch, dass in einem Mikrofoto nicht alle Strukturdetails scharf abgebildet sein müssen. Gerade bei höheren Abbildungsmaßstäben ist, wie man weiß, die Tiefenschärfe im Mikroskop bei geöffneter Aperturblende sehr gering. Viele Mikroskopiker nutzen deshalb die

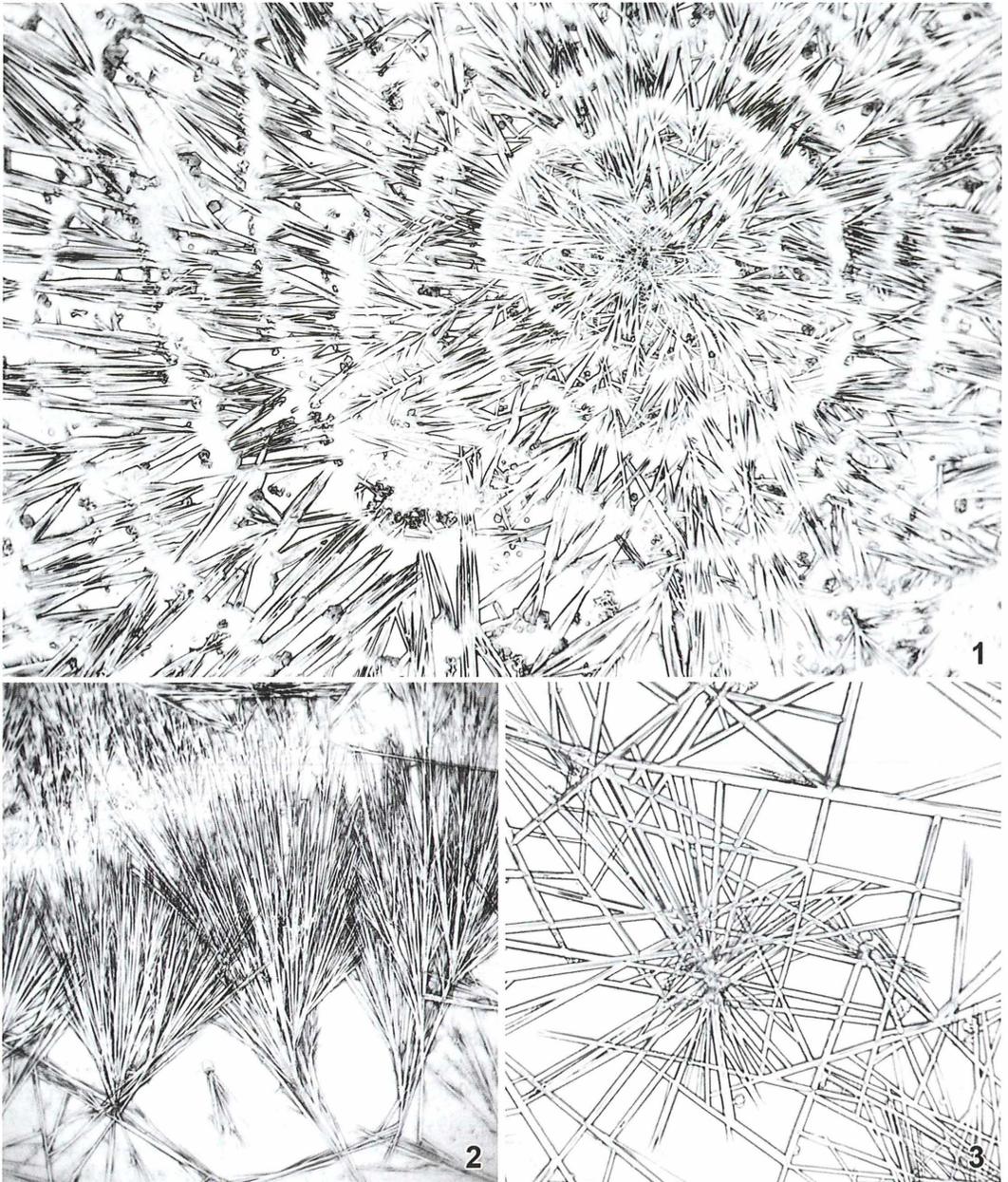
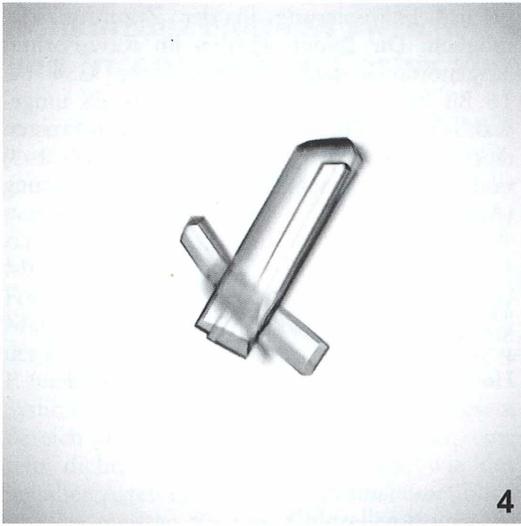


Abb. 1–3: Durch Verdunstung einer Koffeinlösung entstandene Kristallkruste, in der Koffeinkristalle in spiralförmiger Anordnung auskristallisiert sind (Abb. 1). Bei höherer Vergrößerung werden in manchen Bereichen pinselartige Kristallformationen (Abb. 2) oder polygonale Kristallnetzwerke sichtbar (Abb. 3).

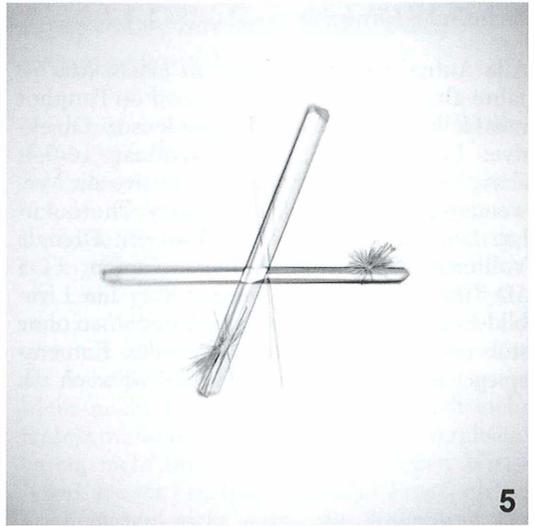
Möglichkeiten der digitalen Bildverarbeitung, rekonstruieren aus Fokusserien durchgängig scharfe Mikrofotos und erweitern auf diese Weise die knappe Tiefenschärfe. Auch auf diese methodische Möglichkeit hat der Autor be-

wusst verzichtet, weil eine leichte Unschärfe dazu beiträgt, die Räumlichkeit der abgebildeten Mikrokristalle zu betonen.

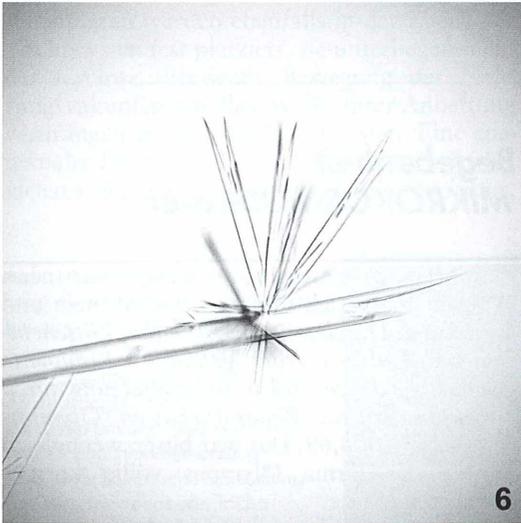
Vielleicht fällt einigen Lesern auch auf, dass die in den Abbildungen 4–7 dargestellten Kristall-



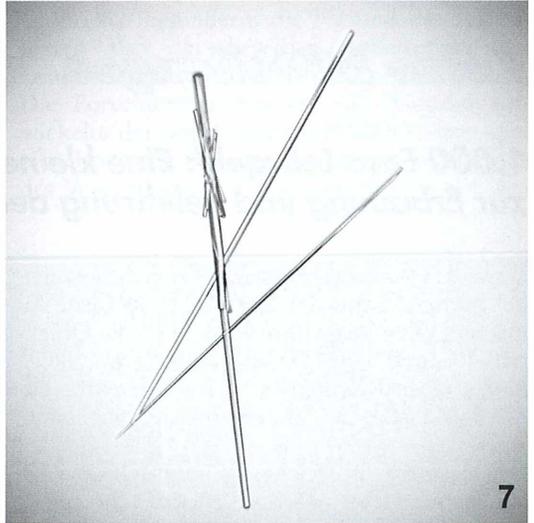
4



5



6



7

Abb. 4–7: Mikroskopische Kristallformationen und Einzelkristalle, die durch Eintrocknung einer Glucuronsäurelösung auskristallisiert sind. Bei diesen Mikrofotos wurde aus stilistischen Gründen die Vignettierung nachträglich (in Photoshop) in die Bilder eingefügt. Der Vergleich mit den Abbildungen 1–3 zeigt, dass die Aufnahmen selbst vignettierungsfrei erfolgten.

formationen nicht wie in einem Bestimmungsbuch, wo die Druckfläche meist knapp bemessen ist, beengt im Bildformat präsentiert werden. Hinreichend Raum um das Hauptmotiv erhöht seine ästhetische Wirkung und bringt Ruhe ins Bild, die durch eine mittige Anordnung im quadratischen Bildformat noch verstärkt wird.

Insgesamt sollen die Mikrofotos dieses Artikels belegen, dass die Motivation für die Mikrofotografie durchaus über eine spröde wissenschaftliche Dokumentation mikroskopischer Strukturen und Organismen hinausgehen kann, dass die Mikrofotografie auch einen rein ästhetischen und künstlerischen Anspruch entwickeln kann.

Technische Hinweise

Alle Aufnahmen entstanden an einem (ca. 50 Jahre alten) Leitz Universalmikroskop Panphot mit Hellfeld-Doppelblendenkondensator. Objektive: Leitz 10/0,25; Zeiss Neofluar 16/0,4; Zeiss Neofluar 40/0,75; alle Objektive zur Verwendung ohne Deckglas korrigiert. Photookular: Leitz Periplan 10× WF. Kamera: Digitale Vollformat-Spiegelreflexkamera Canon EOS 5D MkII. Diese Kamera verfügt über eine Livebild-Funktion, aus der heraus Aufnahmen ohne störende Erschütterungen durch den Kameraspiegel möglich sind. Im Livebild ist auch die

präzise Fokussierung in der Zoomfunktion möglich. Die Bilder wurden im Raw-Format aufgenommen und mit Photoshop CS4 bei 16 Bit bearbeitet und in Schwarzweiß umgewandelt. Als Präparate dienten Kristallkrusten einer eingetrockneten Koffeinlösung (Abb. 1–3) und einer eingetrockneten Glucuronsäurelösung (Abb. 4–7).

Verfasser: Prof. Dr. Bernd Walz,
Siedlungsweg 3, 14469 Potsdam,
E-Mail: walz@uni-potsdam.de,
Homepage: <http://www.bernd-gundula-walz.de>

Kurze Mitteilungen

1.000 Euro Lehrgeld: Eine kleine Begebenheit zur Erbauung und Belehrung der MIKROKOSMOS-Leser

Wenn ein Mikroskopobjektiv zum Scherzartikel mutiert, kann der Spaß teuer werden. An meinem Olympus-Mikroskop sehen die Objektive 40× und 100× Öl sehr ähnlich aus. Beide haben einen Ring, das eine zur Korrektur der Deckglasdicke, das andere für die eingebaute Blende.

Im Dämmerlicht, welches im unmittelbaren Arbeitsbereich des Mikroskops herrschen soll, habe ich beide Objektive wiederholt verwechselt. Jedes Mal musste ich das Vierziger ausschrauben und reinigen. Bei einer solchen Panne präsentierte das Objektiv einen überraschenden Gag: Der Verschlussdeckel am Hinterende sprang ab, und die Feder folgte beschwingt hinterdrein. Zwar konnte ich die Optik wieder zusammensetzen, aber das Bild war unscharf und eine Reparatur unumgänglich.

Auf telefonische Anfrage bei Olympus (Hamburg) sollte ich das schadhafte Objektiv zur Begutachtung und Erstellung eines Kostenvorschlages einsenden. Man befand im Schreiben der Firma: *Fehler laut Kunde: Oberer Ring gelöst, Feder herausgesprungen, unscharfes Bild. Fehler laut Techniker: Dejustiert, unscharfes Bild.*

Daraufhin wurde die Firma tätig. Nach neun Wochen erhielt ich Objektiv, Lieferschein und Rechnung: *Durchgeführte Arbeiten: Linseneinheit und -tubus wurden getauscht. Komplette Neujustage durchgeführt. Instandsetzung durch Olympus Tokyo. Reparaturkosten Olympus Tokyo: € 1006,69.* Das war bitter, wenngleich seitens der Firma Olympus völlig korrekt durchgeführt.

Es gab ein bemerkenswertes Nachspiel: Als ich einige Zeit später mehrere Phako-Objektive aus ihren Revolver entnahm, um für die Beleuchtung mit Auflicht freie Bahn zu schaffen, schienen mir zwei von ihnen beim Hinstellen auf den Arbeitstisch ein ungewöhnliches Geräusch zu machen. Ich überprüfte den oberen Ring – und tatsächlich: Beide Ringe saßen lose. Diese Objektive hatte ich zuvor kaum einmal ausgetauscht.

Fazit: Man überprüfe lieber einmal mehr als zuwenig den festen Sitz dieses Ringes.

Hat ein MIKROKOSMOS-Leser schon einmal ähnliche Erfahrungen gemacht?

Erich Lüthje, Kiel

Konkurrenzsituation zwischen endosymbiotischen Chlorellen und Trichocysten im Cortex von *Paramecium bursaria*

In einer früheren Ausgabe des MIKROKOSMOS wurde über den Weg der zur Endosymbiose fähigen Chlorellen von den Nahrungsvakuolen in die perialgalen Vakuolen (PV) in *Paramecium bursaria* berichtet (Bettighofer, 2010). Die vorliegende Mitteilung beschäftigt sich mit den jüngsten Forschungsergebnissen von Yuuki Kodama und Masahiro Fujishima bezüglich der Vorgänge bei der Platzierung der PV im corticalen Bereich von *P. bursaria* (Kodama und Fujishima, 2010).

Symbiontenfreie *P. bursaria* haben in diesem Bereich (dicht unterhalb der Zellmembran) eine sehr dichte Lage von Trichocysten, wie das bei allen Arten der Gattung *Paramecium* üblich ist. Die meisten PV von Chlorellen-tragenden Exemplaren werden ebenfalls in der Ebene der Trichocysten fest platziert, sie unterliegen nicht der Cyclose (kreisende Bewegung der Nahrungsvakuolen) im Plasma. Bei ihrer Anheftung verdrängen sie also die Trichocysten. Eine cortexnahe Fixierung der Endosymbionten ist bei vielen Ciliatenarten üblich (z.B. *Coleps hirtus*,

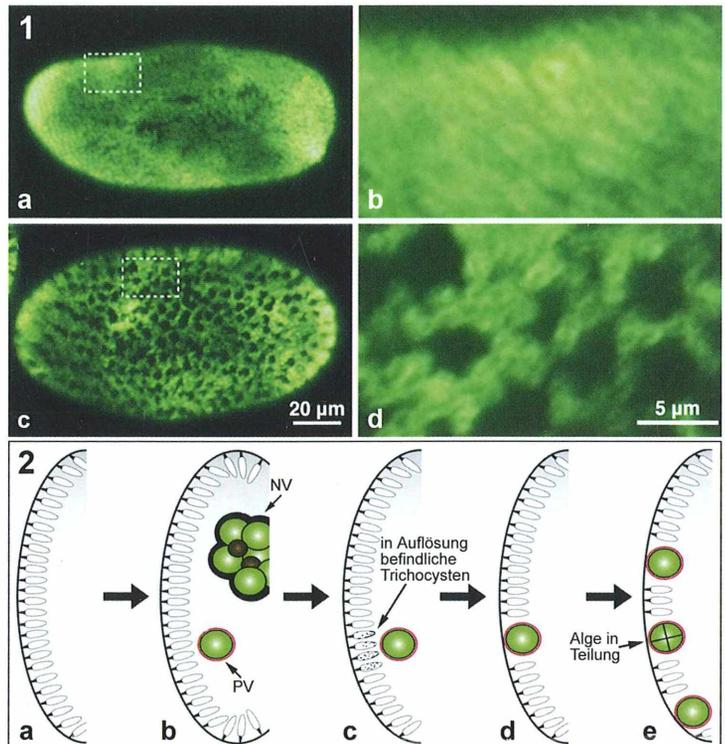
Frontonia leucas, *Euplotes daidaleos*, *Stentor polymorphus*).

Zunächst wurde überprüft, ob die Trichocysten bei der Anheftung der Algen eine unterstützende Rolle spielen. Die Trichocysten wurden bei symbiontenfreien *P. bursaria*-Kulturen mittels einer geeigneten Konzentration von Lysozym im Kulturmedium entfernt. Nach Reinfektion mit Chlorellen war zu beobachten, dass die Anheftung der PV nicht beeinträchtigt war. Mehr noch: Es konnten sich wesentlich mehr Endosymbionten anheften als in vergleichbaren, nicht mit Lysozym behandelten Wirtszellen. Dieses Ergebnis führte zur Frage, ob die Trichocysten nicht sogar die Anheftung der Chlorellen behindern, die PV und die Trichocysten also um dieselben Anheftungsstellen konkurrieren.

Die Forschungsgruppe um die Autoren entwickelte daraufhin einen für Trichocysten spezifischen monoklonalen Antikörper, um Details des Verdrängens der Trichocysten und der An-

Abb. 1: Indirekte Immunfluoreszenz zeigt die Verteilung der Trichocysten bei algenfreien (a, b) und algen-tragenden (c, d) *Paramecium bursaria*-Stämmen. Die kreisförmigen Aussparungen in c und d werden durch die um den Platz konkurrierenden Zoochlorellen erzeugt. –

Abb. 2: Schematische Darstellung des Verschwindens von Trichocysten, verursacht durch Endosymbionten. **a** Chlorellenfreies *P. bursaria* mit zahlreichen Trichocysten im Cortex. **b** Circa 30 Minuten nach Mischung mit Algen beginnen einige davon, aus der sauren Phosphatase-positiven Nahrungsvakuole (NV, schwarz umrandet) mittels Knospung in eine perialgale Vakuole (PV) zu wandern. **c** Rund 3 h nach Mischung mit Algen werden Trichocysten nach Fusion mit Lysosomen verdaut. **d** PV bewegen sich in Richtung des Cortex zu den Trichocysten-freien Bereichen hin. **e** 24 h später beginnen sich die Endosymbionten zu teilen und weitere Trichocysten zu verdrängen.



heftung der PV im Fluoreszenzmikroskop sichtbar zu machen. Sie nutzten dazu die Methode der indirekten Immunfluoreszenz, bei der ein Fluoreszenzfarbstoff an sekundäre Antikörper gebunden wird und so die Verteilung der primären monoklonalen Antikörper in den beobachteten Zellen sichtbar macht. Zusätzlich wurden die symbiontenträgenden Ciliaten im Elektronenmikroskop untersucht, um cytologische Details des Verdrängungsprozesses der Trichocysten während der Besiedlung durch die Endosymbionten in Erfahrung zu bringen.

Die Immunfluoreszenz-Untersuchung zeigte eindeutig, dass die PV und die Trichocysten um die Plätze unter der Zellmembran konkurrieren (Abb. 1). Dies führt insbesondere dazu, dass chlorellenhaltige Ciliaten deutlich weniger Trichocysten haben als symbiontenfreie. Wurde mittels Zugabe von Cycloheximid in das Kulturmedium die Verdauung der Endosymbionten induziert, so vermehrten sich die Trichocysten in den nunmehr algenfreien Ciliatenzellen beträchtlich und nahmen spätestens neun Tage nach der Behandlung alle frei gewordenen Räume im Cortex ein.

Zur Untersuchung der Veränderungen, welche die Trichocysten während der Infektion der Wirtszellen mit Symbionten erfahren, wurden Proben von Ciliaten während dieses Prozesses

separiert, fixiert und für die Beobachtung im Transmissions-Elektronenmikroskop vorbereitet. Das Ziel dieser Beobachtung war die Lokalisierung lysosomaler Aktivität (saure Phosphatase = AcPase). Es zeigte sich, dass im Verlauf der Etablierung symbiontischer Chlorellen die Lysosomen nicht nur (wie üblich) mit den Nahrungsvakuolen fusionierten, sondern auch an Trichocystenvakuolen, in deren Nähe sich PV befinden. Dies erklärt das Verschwinden der Trichocysten an jenen Stellen, an denen die Chlorellen in ihren aus Nahrungsvakuolen hervorgegangenen PV an der Zellmembran andocken (Abb. 2).

Literaturhinweise

- Bettghofer, W.: Algen als Symbiosepartner. *Mikrokosmos* 99, 108–109 (2010).
- Kodama, Y., Fujishima, M.: Endosymbiosis of *Chlorella* species to the ciliate *Paramecium bursaria* alters the distribution of the host's trichocysts beneath the host cell cortex. *Protoplasma* DOI: 10.1007/s00709-010-0175-z (2010).
- Kodama, Y., Fujishima, M.: Localization of perialgal vacuoles beneath the host cell surface is not a prerequisite phenomenon for protection from the host's lysosomal fusion in the ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist* 160, 319–329 (2009).

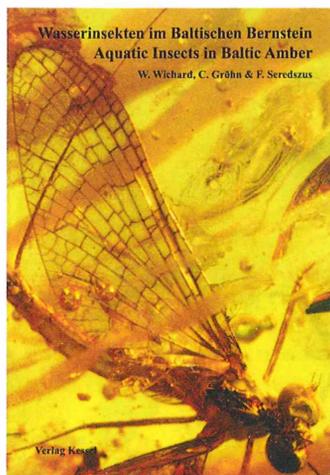
Wolfgang Bettghofer, Kiel

Buchbesprechungen

Wichard, W., Gröhn, C., Seredzsus, F.: *Wasserinsekten im Baltischen Bernstein – Aquatic insects in Baltic amber.*

Verlag Kessel, Remagen-Oberwinter 2009, 335 Seiten, zahlreiche Farb-illustrationen und Schwarz-Weiß-Zeichnungen, gebunden, € 38,00, ISBN 978-3-941300-10-1.

Liest man den Titel, mag man zunächst etwas irritiert sein. Passt das zusammen, im Wasser lebende Insekten eingeschlossen in fossile Harz von ausgestorbenen Bäumen? Bei genauerem Hinschauen wird schnell klar, dass es sich in dieser Zusammenstellung um amphibisch lebende, meist flugunfähige Insekten handelt, die sich als



erwachsene Tiere oft an Land aufhielten, aber zumindest als Larven aquatische Lebensräume besiedelten. Das von einem Autorenteam

zusammengestellt Werk ist – wie die vorangegangenen Bücher des Seniorautors Wilfried Wichard – von einem fundierten Wissen und einer daraus resultierenden soliden Bearbeitung des Themas geprägt. Von seiner Machart her ist das Buch insofern außergewöhnlich, als dass es bilingual verfasst ist und zwar in der Art, dass der doppel-spaltig angeordnete Text auf jeder Seite links in Englisch und rechts in Deutsch gesetzt ist (mit einigen wenigen Ausnahmen, in denen nur englischer Text vorliegt). Damit öffnet sich das Buch einem internationalen Interessentenkreis.

Die solide Ausstattung des Buches sowie sein moderater Preis sind gute Voraussetzungen dafür, dass das Werk eine ihm gebührende weite Verbreitung erfährt.

Thomas Gross, Heidelberg

1. Der MIKROKOSMOS veröffentlicht Aufsätze, Übersichtsbeiträge, Kurzmittelungen, Hinweise auf interessante neue Arbeitsverfahren oder Präparationsanleitungen sowie technische Innovationen aus allen Teilbereichen der Mikroskopie.

2. Die Redaktion bittet, Manuskripte auf fortlaufend nummerierten DIN A4-Bögen einzureichen. Zugunsten der Themenvielfalt in einem Heft können keine überlangen Artikel berücksichtigt werden. Ein Manuskript darf bei 1,5-fachem Zeilenabstand und einer 12-Punkt-Schriftgröße einschließlich der Literaturhinweise und Bildlegenden nicht länger als 10 Seiten sein; der Abbildungsanteil darf insgesamt vier Druckseiten nicht überschreiten (Platzbedarf der Abbildungen gemäß der vorgegebenen Bildgrößen berechnen). Der Text wird durch Zwischenüberschriften untergliedert. Am Ende des Manuskriptes steht die vollständige Autorenadresse. Soweit möglich, sollten die Manuskripte zusätzlich zur Hardcopy auf einer CD als Word-Dokument ohne spezielle Formatierung eingereicht werden (Arial 12 pt). Bitte keine Trennungen einfügen.

3. Tabellen und Bildlegenden (beide jeweils fortlaufend nummerieren) nicht in den Haupttext einbauen, sondern als Anhang auf eigene Manuskriptseiten schreiben. Alle Abbildungen fortlaufend im Text zitieren, aber nicht in den laufenden Text einfügen, sondern gesondert beilegen.

4. Als Bildvorlagen sind Farbdias, Schwarzweiß- oder Farbfotos sowie druckfertige Strichzeichnungen und Graphiken geeignet. Alle Materialien namentlich kennzeichnen. Auf den Originalabbildungen keine Beschriftungen vornehmen, sondern nur auf Kopien. Elektronische Abbildungen nur als Tiff-Dateien (300 dpi bei 14 cm Bildbreite) auf CD-R einreichen. Bei digitalen Bildern unbedingt auch eine unbeschriftete Version einreichen. Wenn Beschriftung in digitalen Vorlagen vorgenommen wird, bitte Arial 10 pt normal verwenden; die Nummerierung der Abbildungen in Arial 12 pt fett einfügen. Die Abbildungen so abspeichern, dass die Beschriftung nachträglich verändert werden kann (z. B. in Photoshop die Ebenen nicht vereinen, sondern getrennt belassen).

Die Bilder werden in drei verschiedenen Breiten reproduziert: 7 cm (1-spaltig), 9,5 cm (1,5-spaltig) und 14 cm (2-spaltig = seitenbreit). Es können mehrere Bilder zu Tafeln kombiniert werden. Vergrößerungen sollten erst anhand der Bildandrucke berechnet werden, die vor Drucklegung zusammen mit den Korrekturandruken der Artikel den Autoren zugeschickt werden. Anstelle

einer Vergrößerungsangabe können auch Maßstriche in die Abbildungen eingefügt werden.

5. Alle Bildvorlagen bleiben Eigentum des Autors.

6. Literaturzitate bitte in alphabetischer Reihenfolge anordnen und nach folgendem Schema anfertigen:

Zitate von Zeitschriftenbeiträgen:

Schnepf, E.: Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie. Teil 1: Mechanismen und Substrate der Fluochromierung. *Mikrokosmos* 94, 175–180 (2005).

Kudryavtsev, A., Smirnov, A.: *Cochliopodium gallicum* n. sp. (Himatismenida), an amoeba bearing unique scales, from cyanobacterial mats in the Camargue (France). *Europ. J. Protistol.* 42, 3–7 (2006).

Buchzitate:

Larink, O., Westheide, W.: Coastal plankton. Photo guide for European seas. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München 2006.

Zitate von Buchbeiträgen:

Hausmann, K., Hülsmann, N., Radek, R.: „Einzellige Eukaryota“, Einzeller. In: Westheide, W., Rieger, R. (Hrsg.): *Einzeller und Wirbellose Tiere*, 2. Auflage, S. 1–65. Elsevier Verlag, München 2007.

7. Jeder Autor erhält von seinem Beitrag vor dem Druck einen Andruck zum Gegenlesen. Korrekturen müssen sich auf Satzfehler beschränken. Umfangreiche Textnachträge oder Umstellungen sind aus Kostengründen nicht möglich.

8. Jeder Autor erhält von seiner im MIKROKOSMOS veröffentlichten Arbeit kostenlos 25 Sonderdrucke oder ein PDF. Zusätzliche Sonderdrucke können auf Nachfrage vom Verlag auf eigene Kosten bezogen werden.

9. Der Verlag honoriert jede Druckseite mit € 30,00, ein Foto, das auf der Titelseite erscheint, mit € 60,00 und ein Foto, das auf der Rückseite erscheint, mit € 45,00.

10. Manuskripte bitte einsenden an:

Prof. Dr. Klaus Hausmann
Redaktion MIKROKOSMOS
Institut für Biologie/Zoologie
Freie Universität Berlin
Königin-Luise-Straße 1–3
14195 Berlin

Das letzte Bild

Das umseitige Bild zeigt aus der Schmelze kristallisierten Harnstoff; Vergr. 70fach.

Präparationstechnik: Harnstoffkristalle werden auf einem Objektträger mit Deckglas geschmolzen und sofort rasch abgekühlt. Mikroskopiertechnik: Polarisation mit Lambda-Plättchen.

Foto: Dr. Klaus Herrmann, Neuhausen-Hamberg; E-Mail: Klausbigi.herrmann@t-online.de

Vorschläge für *Das letzte Bild* bitte Herrn Wolfgang Bettighofer, Rutkamp 64, 24111 Kiel, zusenden. Bitte nur Hochformate für die Endgröße 14 × 20 cm einreichen. Elektronische Vorlagen nur als Tiff-Dateien (300 dpi bezogen auf die Bildendgröße) vorbereiten. E-Mail: wolfgang.bettighofer@gmx.de.

Die Redaktion behält sich vor, die Bilder, wenn es nötig erscheint, zu beschneiden.

510543
Bibliothek des OÖ.
Landesmuseums
Postfach 91

Museumstraße 14
4010 Linz

300229



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie](#)

Jahr/Year: 2011

Band/Volume: [100_3](#)

Autor(en)/Author(s):

Artikel/Article: [Mikrokosmos 100_3 1](#)