II 90372/95,5

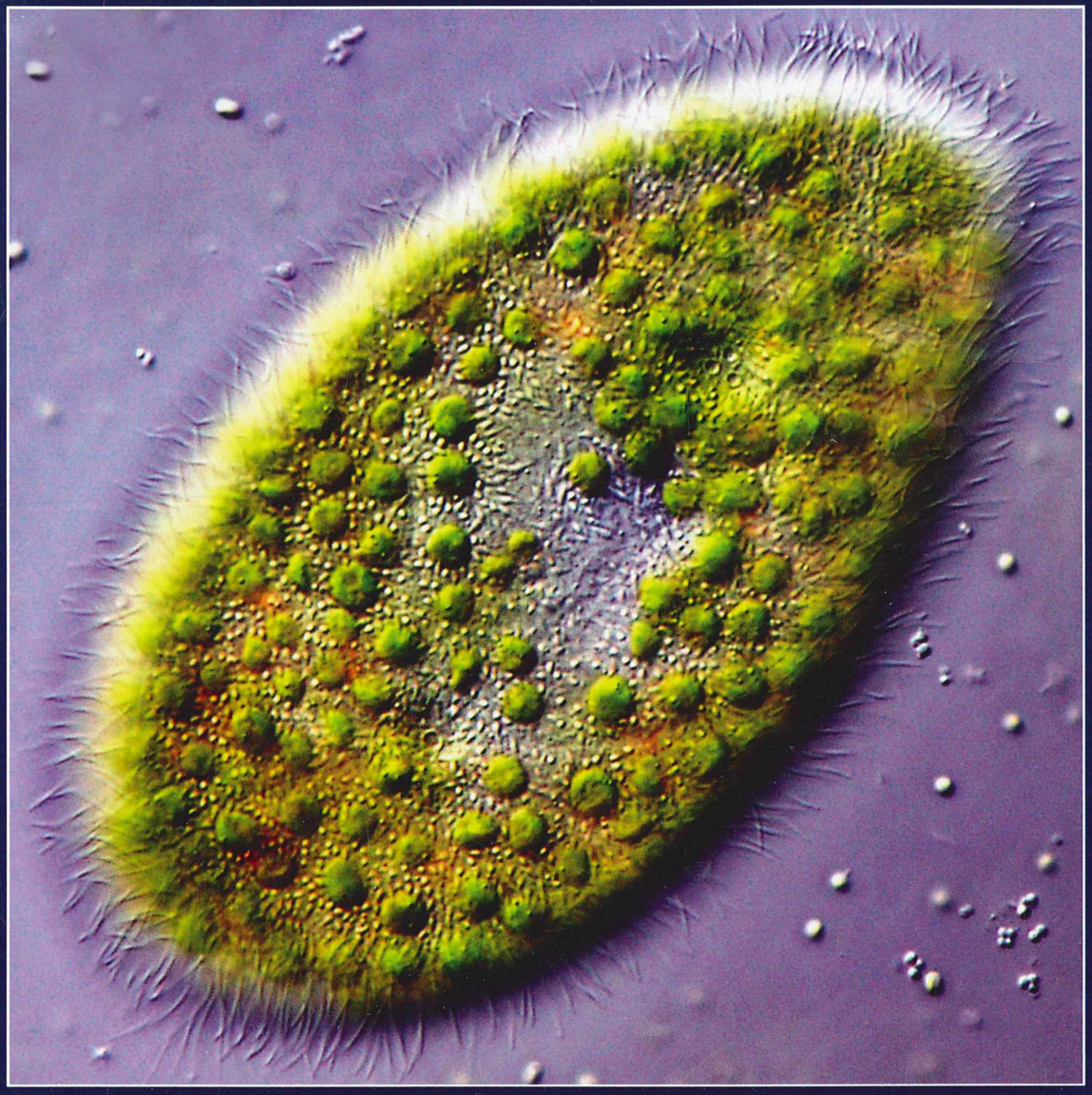
ELSEVIER
URBAN & FISCHER

MIKROKOSMOS

Heft 5
95. Jahrgang
September 2006

www.elsevier.de/mikrokosmos

ISSN 0026-3680



MIKROKOSMOS Zeitschrift für Mikroskopie

Herausgegeben von Klaus Hausmann (Berlin) v.i.S.d.P.
Redaktionsassistentin: Renate Radek (Berlin)

Mitteilungsorgan für den Arbeitskreis Mikroskopie im Freundeskreis Botanischer Garten Köln, Arbeitskreis Mikroskopie im Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen, Berliner Mikroskopische Gesellschaft e.V., Deutsche Mikrobiologische Gesellschaft Stuttgart, 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

257 Mikroskopische Studien am Tracheensystem von Insekten
Siegfried Hoc

265 Variabilität der Expulsionsporenanzahl bei *Paramecium bursaria*
Gerd Günther

270 Spaltöffnungen, die Ventile der Blätter
Teil 1: Die Stomata und ihre Amylochloroplasten
Eberhard Schnepf

277 Das Tee-Ei als Protozoenfalle – Anreicherung von Benthosorganismen am Gewässerboden
Danielle Kaufmann und Norbert Hülsmann

283 Ultraharte Materialien durch hohe Drücke
Joachim Eiding

287 Ein Nachlass von Th. Mortensen aus den Pionierjahren der Meiobenthologie – Eine mit der ersten Meiofaunadredge gefangene unbekannte *Richtersia*-Art
Gunnar Gad

298 Plankton der Meere – Einzellige Kostbarkeiten aus ozeanischem Oberflächenwasser
Teil 1: Diatomeen, Dinoflagellaten, Foraminiferen, Ciliaten
Klaus Hausmann

305 Vom Ei zum Adulttier – Mikroskopische Dokumentation der Keimes- und Jugendentwicklung bei ausgewählten Grillenarten
Robert Sturm

310 Ein einfaches Mikroskopiesystem für Zeitrafferaufnahmen lebender Zellen
Morten Motzfeldt Laane

Rubriken

262, 280, 281
Nachrichten

285
Kurze Mitteilungen

286, 297, 317, 318
Buchbesprechungen

318
Aus den Arbeitsgemeinschaften

319
Mikro-Markt

Im elektronischen MIKROKOSMOS-ARCHIV **www.elsevier.de/mikrokosmos**
werden mit Erscheinen dieses Heftes drei Artikel über Bärtierchen (Tardigrada)
aus den Bänden 1 (1907), 20 (1926/27) und 34 (1940/41) wiedergegeben.

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: Poren der kontraktilen Vakuolen von *Paramecium bursaria* im differentiellen Interferenzkontrast. Siehe Artikel von G. Günther, S. 265–269.

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Mikroskopische Studien am Tracheensystem von Insekten

Siegfried Hoc

Tracheen im Sinne der Insektenanatomie sind röhrenförmige Einstülpungen der Körperdecke (des Integumentes), durch deren Wandung der Gasaustausch erfolgt. Das Tracheensystem ist das Atemsystem der meisten Arthropoden (Gliederfüßer) und somit auch der Insekten. Im folgenden Text wird es eingehend dargestellt, und es sollen Präparationsmethoden aufgezeigt werden, um einfache Untersuchungen durchführen zu können.

Die Insekten oder Hexapoda (Sechsfüßer) werden von den Zoologen zusammen mit den Tausendfüßern (Myriapoden) in der Gruppe der Eutracheata zusammengefasst. Als nächste Verwandte zählen die Protracheata, die wegen der beiden Klauen an den stummelartigen Gliedmaßen Onychophora genannt werden. Beide systematische Gruppen besitzen Tracheen, die jedoch bei den Protracheata nicht so gut entwickelt sind wie bei den Eutracheata.

Die Tracheen beginnen an der Körperoberfläche mit den Atemöffnungen, die Stigmen genannt werden (Abb. 1 und 2). Im Grundschema werden bei den heute lebenden Insekten zehn Stigmenpaare angelegt: Je ein Paar in den Brustabschnitten (Thorax), zwei und drei und acht Paare an den vorderen Segmenten des Hinterleibes (Abdomen). Hier liegen die Stigmen immer in den weichen Flankenhäuten (Pleura). An der Kopfkapsel werden überhaupt keine Stigmen ausgebildet und am ersten Brustabschnitt sind Stigmenanlagen nur bei wenigen primitiven Formen in der Embryonalentwicklung zu beobachten. Manche Vertreter aus der Ordnung Diplura (Doppelschwänze) bilden elf Stigmenpaare aus. Bei einigen Insekten werden mehrere oder alle Stigmen zwar angelegt, aber später wieder verschlossen. Dies ist der Fall bei den meisten Larven und Puppen der Holometa-

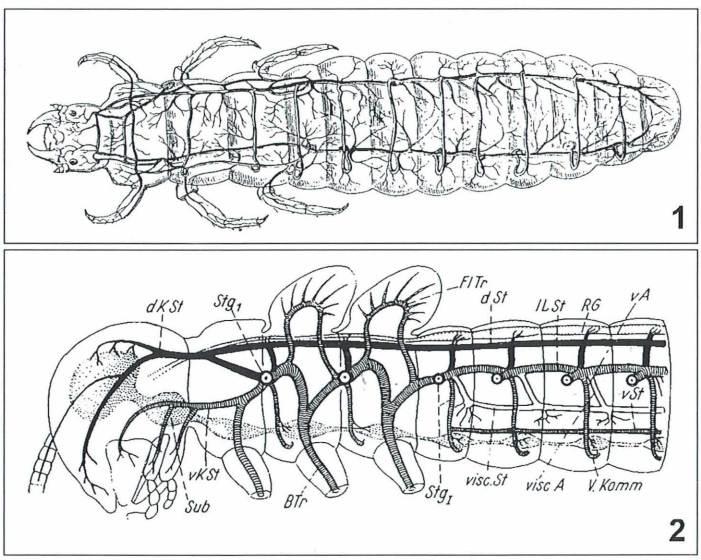


Abb. 1: Tracheensystem einer Käferlarve (aus Kükenthal, 1927). – Abb. 2: Schema des Tracheensystems eines geflügelten Insektes (Pterygota). Alle eingezeichneten Tracheenäste sind paarig. Zentralnervensystem mit Bauchmark und Rückengefäß (Herz) sind ebenfalls eingezeichnet. BTr Beintrachee, dKSt dorsaler Kopf-Tracheenstamm, dSt dorsaler Längsstamm, FITr Flügeltracheen, ILSt lateraler Längsstamm, RG Rückengefäß (Herz); Stg1 1. thorakales Stigma; StgI I. Stigma des Abdomens; Sub Unterschlundganglion; vA ventraler Ast; vKomm ventrale Kommisur; vSt ventraler Kopfstamm; vSt ventraler Längsstamm; visc A visceraler Ast; vice St visceraler Längsstamm (aus Kaestner, 1972).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

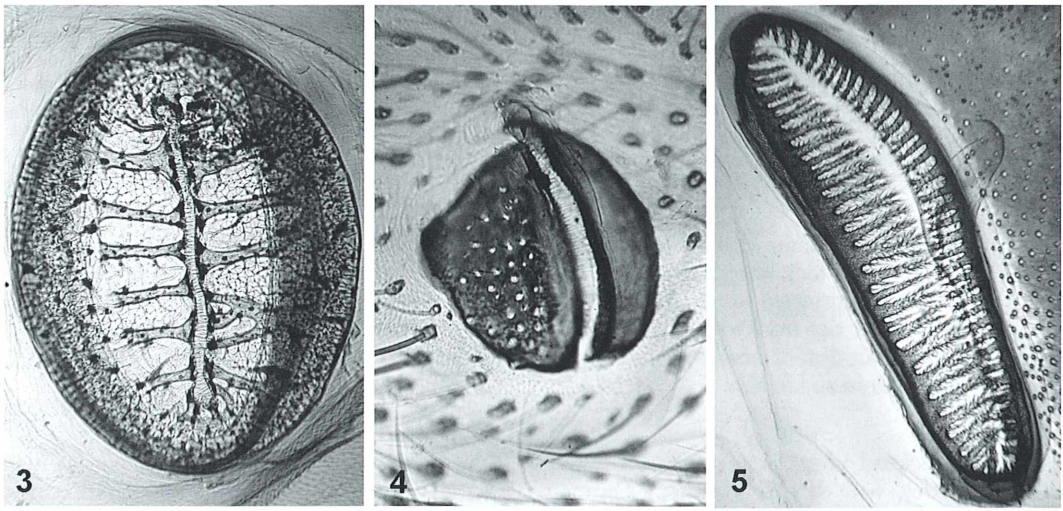


Abb. 3: Stigma mit Reusenapparat des Maikäfers *(Melolontha vulgaris)*. Vergr. 100fach. – Abb. 4: Stigma einer Feldgrille *(Grillus campestris)*. Vergr. 100fach. – Abb. 5: Stigma eines Gelbrandkäfers (*Dytiscus* spec.). Vergr. 50fach.

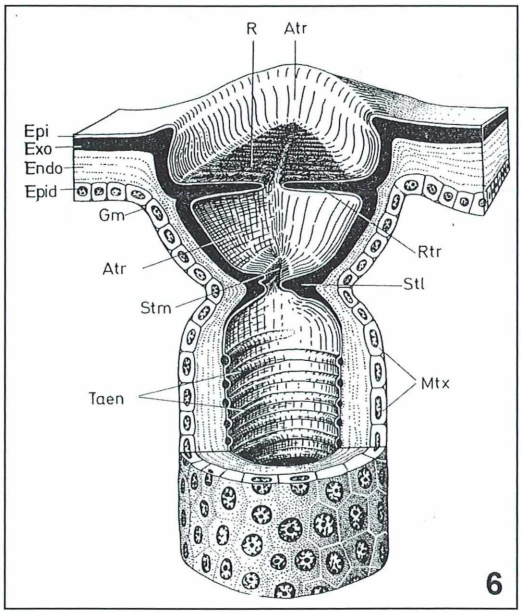


Abb. 6: Schematischer Längsschnitt durch ein Stigma und den Anfang einer Trachee. Atr Atrium, Endo Endokutikula, Epi Epikutikula, Epid Epidermis, Exo Exokutikula, Gm Basalmembran, Mtx Matrix (Epidermis) der Trachee, R und Rtr unechte Haare, die eine Reuse bilden; Stl Stigmenlippe, Stm Stigmenmund, Taen Taenidium, spiralig verlaufende Exokutikula der Tracheenauskleidung (aus Kaestner, 1972).

bolen (Tiere mit vollständiger Verwandlung). Bei der Stechmückenlarve ist nur das letzte Hinterleibsstigma funktionsfähig; man findet es am Ende des röhrenförmigen Sipho.

Für den Fan von Fachausdrücken bieten die eben geschilderten Verhältnisse reiches Betätigungsfeld: Holopneustier sind alle Arten, die dem Grundschema entsprechen; Hyperpneustier haben elf Stigmenpaare; Hemipneustier legen zwar Stigmen an, verschließen sie aber wieder, so wie die Holometabolen-Larven; Hypopneustier (die meisten Käfer sowie Blattläuse) reduzieren während der Embryonalphase oder während der Metamorphose die Zahl der Stigmen, so dass beispielsweise Vertreter der Springschwänze (Collembola) nur noch ein einziges Stigma am Vorderrand des ersten Brustsegmentes entwickeln. Die Metapneustier tragen Stigmen nur am Ende des Hinterleibes, die Branchipneustier atmen durch Tracheenkiemen (Libellenlarven) und den Apneustiern fehlen Stigmen und Tracheen überhaupt; sie atmen nur durch die Körperoberfläche.

Stigmentypen

Das Stigma ist stammesgeschichtlich als einfache, seitliche Körperöffnung entstanden und besitzt zunächst weder Schutzeinrichtungen noch Verschlussmechanismen. Die Stigmen der

Onychophoren mögen den ursprünglichen Verhältnissen am nächsten kommen.
Nur selten ist der Umriss des Stigmas kreisrund, häufiger ist er elliptisch bis schlitzförmig (Abb. 3–5). Fast immer ist es in der Pleura eingesenkt. Auf diese Weise entsteht ein kegelförmiger Vorhof (Atrium), in den häufig ein Reusenapparat das Eindringen von Fremdkörpern verhindert (Abb. 6). Am inneren Ende des Atriums befindet sich der Stigmenmund. An ihm können besondere Vorrichtungen einen vorübergehenden, mehr oder weniger vollständigen Verschluss der Öffnung herbeiführen. Im einfachsten Fall besorgt diesen Verschluss ein Muskel im Bereich des Stigmenmundes. Häufiger jedoch sind beide Ränder des Mundspaltes ungleich gebaut: Der eine ist unbeweglich und wird Bügel genannt, der andere ist beweglich und wird Band genannt. Durch Kontraktion des Schließmuskels wird das Band dem Bügel genähert und der Stigmenmund geschlossen.

Tracheensystem

Im Anschluss an den Stigmenmund beginnt das Tracheensystem (Abb. 7 und 8). Es wird angenommen, dass ursprünglich jedes Rumpfsegment sein eigenes Tracheensystem mit einem Stigmenpaar hatte. Diese Verhältnisse finden sich noch beim Steinläufer (*Lithobius*), bei den Felsenspringern (*Machilis* spec.), die zum Verwandtschaftskreis der Springschwänze (Collembola) gehören, und bei einigen anderen Urinsekten (Apterygota). Bei diesem einfachen Tracheensystem geht von jedem Stigma zunächst ein kurzer Stigmenast horizontal ins Körperinnere. Dieser teilt sich in einen dorsalen (rückwärts gerichteten) Ast, der das Rückengefäß (Herz) und die dorsale Muskulatur versorgt, einen viszeralen Ast, der den Verdauungstrakt, die Geschlechtsorgane und weitere innere Organe versorgt, und einen ventralen Ast, der Bauchmark (Zentralnervensystem) und ventrale Muskulatur versorgt. Diese kurzen Äste sind weder untereinander noch mit den Tracheen der Nachbarsegmente verbunden. Nur im mittleren Brustabschnitt findet eine weitere Verzweigung insofern statt, als durch den dorsalen und ventralen Kopfstamm auch dieser Körperteil an das Atmungssystem angeschlossen wird.
Bei allen anderen Insekten ist das Tracheensystem komplizierter aufgebaut: Die Tracheen aller Segmente bilden Quer- und Längsverbindungen, so genannte Anastomosen. So wird eine anatomische und funktionelle Einheit des Atmungssystems geschaffen. Neben dorsalen und ventralen Längsstämmen werden auch laterale und viszerale Längsstämme gebildet. Zusätzlich werden bei den geflügelten Insekten (Pterygota) auch Flügeltracheen ausgebildet, die von den Beintracheen des zweiten und dritten Brustabschnittes abzweigen.
Vor allem bei guten Fliegern, ist dieses System am weitesten ausgebaut. Es kann zur Verdoppelung oder Vervierfachung von Tracheenästen kommen. Verbreitet sind Tracheensäcke. Das sind Ausstülpungen der Hauptäste, die wie beim Maikäfer in großer Zahl vorhanden sind. Oder es entstehen durch Verschmelzung kleinerer Luftsäcke wenige große, wie es bei der Honigbiene der Fall ist.

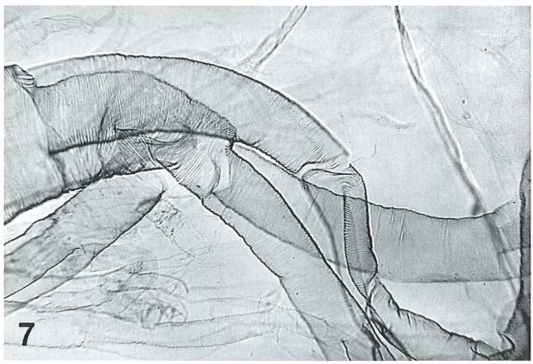


Abb. 7: Tracheen einer Schabe (*Bloberus* spec.). Vergr. 100fach. – Abb. 8: Tracheen und Tracheolen einer Schabe (*Bloberus* spec.) Vergr. 100fach.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

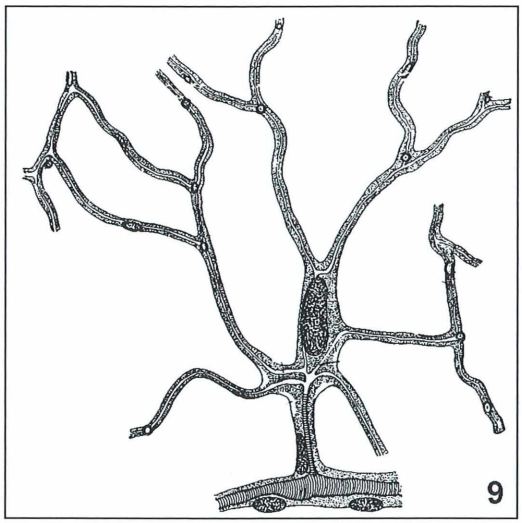


Abb. 9: Schema einer Tracheenendzelle mit Tracheolen (aus Kükenthal, 1927).

Die Tracheensäcke (Trachenblasen) werden auch als Ventilationstracheen bezeichnet. Sie werden durch Bewegungen der Körpermuskulatur zusammengedrückt und dehnen sich infolge der Elastizität des Chitinskelettes nach Erschlaffen der Muskulatur wieder aus. Auf diese Weise werden sie vor einem Flug mit Luft gefüllt (Pumpen der Maikäfer).
Ausgesteift sind die Tracheen durch einen Spiralfaden aus Chitin, der Taenidium genannt wird. Daneben kommen auch einzelne Ringe, gitter- und leiterartige Strukturen, manchmal auch gegabelte Spiralfäden vor. In den großen Luftsäcken sind dagegen nur selten Wandversteifungen ausgebildet.
Nach mehreren Verzweigungen wird die Trachee immer dünner und endet bei einem Durchmesser von 5 bis 2 µm in einer Tracheenendzelle (Abb. 9). Diese ist eine umgewandelte Matrixzelle und hat eine sternförmige Gestalt. Mit fingerartigen Fortsätzen können viele Endzellen in Verbindung stehen und auf diese Weise ein Netz um benachbarte Organe und Gewebe bilden. In den fingerförmigen Fortsätzen verjüngen sich die Tracheen auf weniger als 1 µm Durchmesser: Es entstehen die Tracheenkapillaren oder Tracheolen.
Bei vielen Insektenarten sind die blinden Enden der Tracheolen schon bei einem Durchmesser von etwa 0,3 µm mit Flüssigkeit gefüllt. Diese gelangt durch Kapillarkraft aus den benachbarten Geweben in die Tracheolen. Bei Sauerstoffmangel erhöht sich in ihrer Umgebung der osmotische Druck. Dadurch wird die Flüssigkeit aus den Tracheolen absorbiert und Luft in die feinsten Äste des Tracheensystems gesaugt. Durch Oxidation und Entfernung der für die Druckerhöhung verantwortlichen Stoffwechselprodukte wird der osmotische Druck wieder gesenkt und Flüssigkeit kann in die Tracheolen eindringen. Auf diese Weise wird durch Veränderung des Flüssigkeitsgehaltes sauerstoffhaltige Luft in die Tracheolen gesaugt. In der Flüssigkeit der Tracheolen-Endigungen löst sich ein Teil des bei Stoffwechselprozessen entstandenen Kohlendioxids und gelangt von hier in den lufterfüllten Raum der Tracheolen. Aus diesen verlässt das CO_2 das Tracheensystem, soweit es nicht durch die Körperwand diffundiert.
Die Ventilation der großen Tracheen und der Tracheensäcke erfolgt auf andere Weise: Wie beim Maikäfer wird die Rückendecke des Abdomens durch Muskelkontraktionen gesenkt und infolge der Elastizität des Chitinskelettes nach Erschlaffen der Muskulatur wieder erweitert. Die Hautflügler (Hymenoptera) erweitern den Hinderleib durch teleskopartige Verlängerung und verengen ihn durch Verkürzung. Bei der Erweiterung strömt Luft in die Tracheen ein, es wird eingeatmet. Bei der Verengung wird bei offenen Stigmen die Luft aus den Tracheen gepresst, es wird ausgeatmet. Bei geschlossenen Stigmen bewirkt die Verengung des Abdomens, dass die Luft in den Tracheen weiter in das System hineingepresst wird.

Tracheen- und Darmkiemen

Besondere Verhältnisse zeigen die im Wasser lebenden Insektenlarven. Sie besitzen, wie zum Beispiel manche Libellenlarven (Zygoptera), blattförmige Tracheenkiemen am Hinterleibsende. Andere haben so genannte Darmkiemen, die als drei oder sechs Falten in das Lumen des Enddarms ragen, so wie bei den Larven der Libellen-Unterordnung Anisoptera mit ihren großen Arten. Tracheenkiemen besitzen auch die Larven der Eintagsfliegen (Ephemeroptera), Steinfliegen (Uferfliegen = Plecoptera), Köcherfliegen (Trichoptera) und viele andere.
Die im Wasser lebenden Larven der Zuckmücken (Chironomidae) atmen durch dünnwandige Hautausstülpungen, die stark durchblutet sind. Hier handelt es sich bereits um echte Kie-

men. Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, dass manche kleine Insekten und andere Arthropoden wie Milben, einzelne Tausendfüßer und die meisten Springschwänze überhaupt keine Atmungsorgane besitzen; sie atmen durch die gesamte Körperoberfläche (Hautatmung).

Präparation

Um das Tracheensystem kleiner Arthropoden sichtbar zu machen, wirft man die lebenden Tiere in eine gesättigte Lösung von Sudan III in dünnflüssigem Pflanzenöl und lässt sie drei bis vier Stunden darin. Nicht länger, da ansonsten die Farblösung in den Darm eindringt und das Bild unübersichtlich wird. Danach können die Objekte in Pflanzenöl mikroskopiert werden. Geeignete Insekten sind beispielsweise annähernd transparente Blattläuse.

Um Dauerpräparate herzustellen, gibt man die Insekten aus der Pflanzenöl-Farblösung zum Abspülen kurz in 90%igen Isopropylalkohol und überführt sie dann in 4%iges Formalin. Danach bringt man sie in ein Glyzerin-Wasser-Gemisch (1:10), lässt das Wasser unter Staubschutz (Abdeckung aus Filtrierpapier) verdunsten und schließt die Tiere schließlich in reinem Glyzerin ein.

Größere Insekten oder andere Arthropoden werden zuerst chloroformiert und dann in die Farblösung gelegt. Nach einem Tag Aufenthalt darin sind die Tracheen und Tracheolen vollständig injiziert. Nun können die Tiere seziert und die Gewebe mit den Tracheen wie oben in Glyzerin eingeschlossen werden.

Um Tracheen von größeren Insekten zu studieren, setzt man ein großes Insekt (Stabheuschrecke oder Schabe) in einen Glaszylinder und betäubt das Tier durch Einleiten von Kohlendioxid – Herstellung aus $CaCO_3$ und HCl nach der Gleichung:

$$CaCO_3 + 2\,HCl \rightarrow CaCl_2 + H_2O + CO_2. \qquad (1)$$

Dem Tier injiziert man nun an mehreren Körperstellen so viel gesättigte Kupfersulfat-Lösung, dass sich das Abdomen leicht aufbläht. Es soll aber keine Lösung an den Stigmen austreten. Danach setzt man es in ein Glasgefäß, in das man Schwefelwasserstoff einleitet – Herstellung aus FeS und HCl nach der Gleichung:

$$FeS + 2\,HCl \rightarrow FeCl_2 + H_2S. \qquad (2)$$

Vorsicht: Schwefelwasserstoff ist giftig.

Das Insekt bleibt etwa eine halbe Stunde in der H_2S-Atmosphäre. Es bildet sich im Körper Kupfersulfid, das in den Tracheen ausfällt und diese gut sichtbar macht. Seziert man das Tier nun, so fallen die goldgelb gefärbten Tracheen sofort auf.

Für ein mikroskopisches Präparat entnimmt man zum Beispiel ein Stück Darmwand, fixiert es in Äthanol-Eisessig (3:1) etwa 15 Minuten, überführt es in 96%iges Äthanol (zweimal wechseln), bringt das Objekt dann in 100%igen Isopropylalkohol und schließlich in Xylol. Daraus wird es in Kanadabalsam oder einem Einschlussmittel aus Kunstharz eingeschlossen. Im Präparat erscheinen die Tracheen und ihre chitinigen Aussteifungen dunkelbraun gefärbt.

Literaturhinweise

Hertwig, R.: Lehrbuch der Zoologie. Gustav Fischer Verlag, Jena 1919.
Kükenthal, W.: Handbuch der Zoologie, Band 4. Walter de Gruyter Verlag, Berlin/Leipzig 1927.
Vogel, G., Angermann, H.: Dtv-Atlas zur Biologie. Dtv-Verlag, München 1968.
Henning, W.: Die Stammesgeschichte der Insekten. Verlag Waldemar Kramer, Franfurt 1969.
Seifert, G.: Entomologisches Praktikum. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970.
Kaestner, A.: Lehrbuch der Speziellen Zoologie, Band 1 Wirbellose, 3. Teil A und B: Insecta. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1973.
Klausnitzer, B.: Insekten. Edition Leipzig 1987.

Verfasser: Dipl.-Biol. Siegfried Hoc, Mikrobiologische Vereinigung München e.V., Donaustraße 1a, D-82140 Olching.

Die Mikrofotografien fertigte Josef Häckl, Brucker Straße 16A, aus D-82275 Emmering

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Nachricht

4. Berliner Mikroskopierwoche vom 15.–21. Mai 2006

Die Berliner Mikroskopische Gesellschaft (BMG) feierte ihr zwanzigjähriges Jubiläum mit einer Woche der Mikroskopie. 19 Teilnehmer aus Deutschland, der Schweiz und Dänemark arbeiteten und wohnten im Hotel Christophorus-Haus des Evangelischen Johannesstifts, Berlin-Spandau. Die Firma Zeiss stellte für jeden Teilnehmer ein Mikroskop zur Verfügung. Die Okulare waren für Brillenträger geeignet; es war also nicht notwendig, die Brille auf und ab zu setzen, wenn man zunächst ins Mikroskop und dann woanders hin sah – sehr bequem.

Die erste Überraschung war ein Waldspaziergang in der Nähe des Hotels unter der Leitung von Rudolf Drews (BMG) (Abb. 1). Wir entdeckten zahlreiche interessante Pflanzen und Tiere. Libellen schwärmten um uns herum und paarten sich. Es gab Seen, Teiche, Kanäle und Bäche. Wir sammelten Wasserproben, die wir später mikroskopierten. Es war erstaunlich, eine solch vielfältige Natur in der Großstadt Berlin zu finden.

Professor Dr. Klaus Hausmann (BMG und Freie Universität Berlin) besprach gründlich die aktuellen Vorstellungen zur Taxonomie der Protisten. Die Taxonomen haben sicherlich immer gewusst, dass die Gruppierung der vielen verschiedenen Organismen schwierig und voller Widersprüche ist. Zum Beispiel können einige Flagellaten als Pflanzen mit Chloroplasten Photosynthese betreiben, während deren nahe Verwandten ohne Chloroplasten heterotroph als Tiere leben. Wir wissen jetzt, dass bestimmte Amöben mehrere Typen von Pseudopodien ausbilden können, was sehr misslich ist, weil man früher diese Pseudopodienformen als Merkmale für taxonomische Gruppierungen genutzt hat. Die neue Taxonomie zieht Merkmale mit in die Betrachtung, die man früher nicht kannte, beispielsweise Strukturen, die man nur mit dem Elektronmikroskop studieren kann, oder Erkenntnisse aus der Molekularbiologie. Trotzdem ist die aktuell vorgeschlagene Taxonomie nicht ganz befriedigend, denn die Organismen sind vielfältig und durch viele Übergangsformen miteinander verbunden. Das Elektronmikroskop zeigt, dass man die Einzeller nicht als primitiv bezeichnen sollte, weil viele von ihnen hoch entwickelte Baupläne und Lebenskreisläufe aufweisen.

Dr. Erich Lüthje (Kiel) brachte uns Blattstiele und Luftwurzeln mit, deren Bau wir an selbst hergestellten und gefärbten Schnitten studierten. Die Luftwurzeln der Orchidee *Phalaenopsis* saugen Wasser aus Regen und Tau auf; die äußeren Gewebe sind speziell dafür gebaut. Die Färbungen zeigten, wie das Wasser zum Inneren der Wurzel transportiert wird.

Die Entwicklung der Taufliegenlarven wurde von Professor Dr. Horst Kreß (Freie Universität Berlin) beschrieben (Abb. 2). Die Entwicklung vom Ei über den Embryo bis zur Larve erfolgt sehr schnell. Zum Beispiel besteht der Embryo bereits 2,5 bis 3 Stunden nach der Eiablage aus etwa 5500 Zellen. Die Zellteilungen verlaufen zur gleichen Zeit, also synchron, und die 5500 Zellen sind durch nur 12–13 Zellteilungen entstanden. Es ist möglich, Gene in das Ge-

Abb. 1: Waldexkursion in Berlin-Spandau unter der Leitung von Rudolf Drews (2. von rechts) (Fotos: Sascha Buchczik, Berlin).

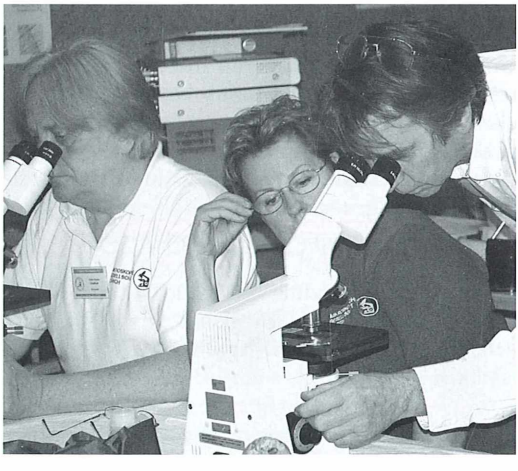


Abb. 2: Prof. Kreß erläutert ein *Drosophila*-Präparat.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

nom des Eies einzuführen. Einige der Gene arretieren die Entwicklung in einer bestimmten Stufe. Die Aktivität dieser Gene kann durch spezielle Färbungen sichtbar gemacht werden. Dadurch sieht man, wo diese Gene wirksam sind und welche Prozesse sie steuern, zum Beispiel die Differenzierung des Körpers in Kopf und Rumpf oder die Segmentierung. Durch diese Versuche lernt man die Gesetzmäßigkeiten der Entwicklung des Embryos zu verstehen. Herr Kreß hatte derartige Präparate mitgebracht, die wir dann selbst mikroskopieren konnten.

Professor Dr. Rupert Mutzel und sein Doktorand Jens Baumgardt (beide Freie Universität Berlin) berichteten uns von den Eigenschaften der Bakterien und wie man sie bestimmen kann. Die Bakterien sind sehr veränderlich, weil sie Gene mit anderen Bakterienarten austauschen können. Das macht eine auf die Beständigkeit der Arten gegründete Taxonomie schwierig, wenn nicht gar unmöglich. Andererseits ist es für die Bakterien von Vorteil, sich schnell an neue Umweltbedingungen anpassen zu können. Wir lernten die Gram-Färbung durchzuführen und studierten Bakterien aus verschiedenen Laborkulturen.

Die Aktivitäten der Speicheldrüsen der Fliegen, Schaben und Säugetiere werden von Serotonin und Dopamin gesteuert. Diese chemischen Verbindungen werden auch als Transmitterstoffe im Gehirn verwendet. Durch genaue Dosierung dieser Stoffe wird der Gehalt von Wasser, Mucinen und Enzymen im Speichel bestimmt. Professor Dr. Bernhard Walz (Universität Potsdam) erläuterte den Bau und die Funktion der Speicheldrüsen im Detail (Abb. 3) und stellte uns mikroskopische Präparate zur Verfügung, um die mikroskopische Anatomie dieser Organe kennen zu lernen.

Ein Biofilm ist ein Überzug von lebenden Organismen auf Oberflächen, zum Beispiel auf Steinen und Blättern, in Wasserrohren und auf den Zähnen in unserem Mund. Objektträger überziehen sich mit einem Biofilm, wenn man sie in Freilandgewässer inkubiert. Professor Dr. Ulrich Szewczyk (Technische Universität Berlin) brachte uns Objektträger mit Biofilmen aus verschiedenen Biotopen zur Untersuchung mit. Es fanden sich Bakterien, Choanoflagellaten, Ciliaten (z. B. Suctorien) und zahlreiche andere, auch vielzellige Organismen. Selbst in Trinkwasserrohren wachsen Biofilme; es gibt offenbar immer Bakterien im Trinkwasser. Das überraschte viele von uns.

Jörg Frädrich (Fa. Gajek, Berlin) berichtete über seinen Alltag als Kammerjäger. Er hatte von einigen wichtigen Hausparasiten Schaukästen mit deren Lebenszyklen mitgebracht (Abb. 4). Der Vortragende wurde mit zahllosen Fragen zur Schädlingsbekämpfung bombardiert, denn unser Interesse war groß.

Ein Tagesausflug führte uns zum Neuruppiner See, leider hauptsächlich im Regen. Aber das Schiffsdeck war überdacht und warm, und wir hatten viel Gelegenheit miteinander zu sprechen.

Ein einem Vormittag besuchten wir in Berlin Dahlem das Institut für Biologie/Zoologie der Freien Universität, wo Klaus Hausmann uns das Raster-Elektronenmikroskop seiner Arbeitsgruppe erklärte. Er demonstrierte unter anderem Radiolarien. Das Raster-Elektronenmikroskop hat eine so große Tiefenschärfe, dass es möglich ist, beispielsweise ganze Radiolarien oder Insektenköpfe scharf abzubilden. Dadurch versteht man ihren dreidimensionalen Bau viel besser.

Der Imker des Instituts, Dr. Benedikt Polaczek, zeigte uns Honigbienen, Hummeln, Hornissen und anderes. Wir sahen den Bau ihrer Nester. Während wir die Insekten beobachteten, flog eine Kohlmeise zu den Bienenstöcken, ergriff eine Biene, setzte sich auf einen Ast, tötete die Biene und verspeiste sie.

Dr. Albrecht Manegold (Senckenberg Museum, Frankfurt) berichtete über die Entstehung von Speiballen der Vögel. Wir zerteilten Speiballen von Eulen und ordneten die Knochen, Schädel und Zähne der Beutetiere mit Hilfe von Zeichnungen bestimmten

Abb. 3: Prof. Walz (hinten rechts) erklärt Speicheldrüsenpräparate.

Abb. 4: Die Entwicklungskreisläufe einiger Parasiten werden an Hand von Schaukästen studiert.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Abb. 5: Dr. Radek (2. von links) bei der Demonstration von Pflanzengallen.

Tieren zu. Speiballen bestehen hauptsächlich aus Haaren und Knochen von Mäusen, welche die Eulen am Stück herunter schlingen. Im Magen werden die unverdaulichen und verdaulichen Bestandteile voneinander getrennt. Die Eulen würgen die unverdaulichen Bestandteile als Speiballen aus. Durch die Untersuchung von Speiballen sieht man, was und wie viel Eulen fressen, und man versteht ihren Platz im Ökosystem besser.

Dr. Renate Radek (BMG und Freie Universität Berlin) (Abb. 5) hatte im Vorfeld einige Zeit damit verbracht, in der freien Natur verschiedenstes pflanzliches Material mit unterschiedlichsten Gallen zu sammeln. Wir öffneten die Gallen und sahen ihre Bewohner (z.B. Insekten und Milben) und den Bau der Gallen. Die Tiere bewirken durch ihre Fraß- oder Saugaktivitäten die Bildung artcharakteristischer Wucherungen oder Blatteinrollungen. Die Galle schützt den Bewohner und ernährt ihn. Die Gallen schaden normalerweise den Pflanzen kaum.

Wir hatten viel Freude bei der Mikroprojektionsdemonstration von Dr. Gerhard Teichert (BMG). Er brachte ein etwa 70 Jahre altes Projektionsmikroskop mit Kohlenbogenbeleuchtung sowie 100 bis 150 Jahre alte Mikropräparate mit.

Hauptsächlich in den Abendstunden sahen wir verschiedene Filme aus dem Mikrobereich. Leider sind Filme von Mikroorganismen durch die sehr geringe Tiefenschärfe des Mikroskops geprägt. Deshalb muss man viel Erfahrung mit der Mikroskopie haben, um die Bilder zu verstehen. Inzwischen wird ein Teil der Probleme durch Computertechnik, Hochgeschwindigkeitskinematographie und optimale Beleuchtungseinrichtungen gelöst. Ein Film zeigte die symbiontischen Flagellaten aus der Gärkammer von Termiten. Die Darstellung der Bewegungen, der Flagellen und der Organellen war außerordentlich eindrucksvoll. Ein Film zur Cilienbewegung war ebenso gut. Ein Film über Schleimpilze zeigte deren Leben als Amöbe, als wanderndes Plasmodium und schließlich als Sporen bildendes Stadium.

Zahlreiche Dänen haben die Jahrhunderte hindurch Inspiration, Wissen und Freunde in Deutschland gesucht, und viele machen es noch heute so. Ich reiste aus diesen Gründen nach Berlin, und ich bekam, was ich wünschte. In Dänemark gibt es leider keine mikroskopische Gesellschaft, aber wir drängen danach. In Berlin bekam ich ein gutes Vorbild dafür.

Es war ein Vergnügen, den vielen guten Vorträgen zu folgen. Sie waren von hoher Qualität und leicht verständlich, auch für Leute ohne große Vorbildung. Bemerkenswert war, dass jeder Vortragende den richtigen Gebrauch von Power-Point als Medium der Illustration verstand.

Die Teilnehmer der Mikroskopierwoche waren sehr zufrieden. Meine herzlichsten Glückwünsche zum 20-jährigen Jubiläum und alles Gutes für die Zukunft.

Eigil Holm, Gedved, Dänemark

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Variabilität der Expulsionsporenanzahl bei Paramecium bursaria

Gerd Günther

Über die Funktion und den Aufbau kontraktiler Vakuolen wurde im MIKROKOSMOS bereits mehrfach berichtet. Dieser Bericht dokumentiert eine Variabilität in der Anzahl der Expulsionsporen.

Die kontraktilen Vakuolen der Einzeller dienen der Osmoregulation. Im Lebensraum Wasser, insbesondere im Süßwasser, besteht vielfach ein Konzentrationsgradient zwischen den Zellen und dem Außenmedium. Wasser strömt entlang des Konzentrationsgradienten durch biologische Membranen in die Zellen. Diesen Vorgang bezeichnet man als Osmose. Pflanzliche Einzeller wirken dem ungehinderten Einstrom von Wasser sozusagen passiv durch eine feste Zellwand entgegen. Tierische Einzeller haben für den Abtransport überschüssigen Wassers spezielle Organellen entwickelt, die als Kontraktile-Vakuolen-Komplex bezeichnet werden. Im MIKROKOSMOS erschienen bereits mehrere Artikel zur Funktion und zur Ultrastruktur dieser Organellen (Hauck, 1993; Hausmann, 1977, 1998; Hausmann und Patterson, 1981).
Den Anstoß zur genaueren Beobachtung speziell von *P. bursaria* gab ein Beitrag mit Mikrofoto im englischsprachigen Mikro-Forum: (http://photomacrography.net/forum/viewtopic.php?t=1644). Charles Krebs, der Autor des Beitrages, beobachtete und fotografierte *P. bursaria* Exemplare mit zwei Poren je pulsierender Vakuole. Das Phänomen mehrerer Poren pro pulsierender Vakuole ist zwar bekannt, jedoch finden sich nur wenig konkrete Literaturangaben. Fotografische Dokumentationen sind eher selten.

Material und Fundstelle

Die Fundstelle für die hier vorgestellten Exemplare von *Paramecium bursaria* ist ein 60 Liter Maurerkübel, der als Bewässerungsbehälter für ein Hochbeet genutzt wurde. Nach der Verrohrung war der Behälter überflüssig und wird bis heute als Freilandaquarium genutzt. Der Behälter bleibt weitgehend sich selbst überlassen. Die Eingriffe beschränkten sich auf das Einbringen einer 10 cm hohen Bodenschicht aus Sand als Puffer sowie auf gelegentliches Entfernen von überschüssigem Laub im Herbst. Der pH-Wert liegt bei 6,8. Neben *P. bursaria* treten jahreszeitlich schwankend *Closterium*- und *Oedogonium*-Arten häufiger auf.

Methoden

Im Frühjahr 2005 wurden über mehrere Wochen Wasserproben aus diesem Lebensraum entnommen und jeweils direkt als Frischpräparat beobachtet. Gegen Ende der Probennahmeperiode erfolgte zusätzlich eine Konzentration der Parameciен durch Zentrifugieren, da die Populationsdichte deutlich abnahm. Die Präparate wurden vorwiegend im differentiellen Interferenzkontrast mikroskopiert und dokumentiert. Die fotografische Dokumentation erfolgte mit digitaler Fototechnik unter Verwendung eines Elektronenblitzes (Titelbild).
Dabei zeigten sich die Tiere durchweg sehr kooperativ (Abb. 1–5). Im Gegensatz zu *P. caudatum* mit seinen sehr schnellen und andauernden Schwimmbewegungen verharren die Individuen von *P. bursaria* nach kurzer Zeit unter dem Deckglas ruhig an einem Ort. Die Wimpern strudeln unablässig weiter, aber die Tiere bewegen sich kaum vom Fleck. Oftmals führen sie nur kurze Drehungen aus, ohne das Gesichtsfeld zu verlassen. Dies gestaltet die Beobachtung sogar mit dem 100fach Objektiv als recht problemlos. Selbst der Schlag des Kameraverschlusses und das damit verbundene Auslösen des Blitzes bringen die Tiere kaum aus der Ruhe (Abb. 1).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

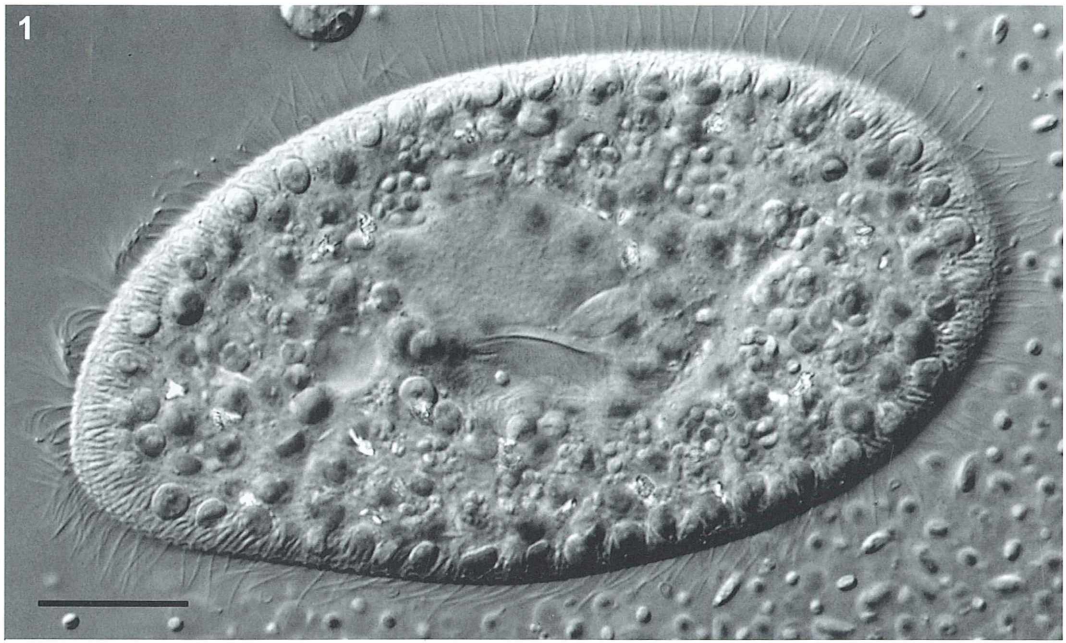


Abb. 1 und 1a: Habitus von *Paramecium bursaria*.
KV kontraktile Vakuole, MN Makronucleus, NV Nahrungsvakuolen, SK Sammelkanal der kontraktilen Vakuole, TC Trichocysten, ZC Zoochlorellen, ZM Zellmund. Maßstrich 20 µm.

Ergebnisse

Die Individuen, die in den vielen Frischpräparaten untersucht wurden, besaßen fast immer mindestens eine kontraktile Vakuole mit zwei Expulsionsporen (Abb. 2). Als normale Exemplare von *P. bursaria* erwartete Exemplare mit je einer Pore pro pulsierender Vakuole (Abb. 3) waren eher selten. Vereinzelt konnte man sogar Tiere mit drei Expulsionsporen beobachten (Abb. 5).
Insgesamt wurden etwa 200 Individuen genauer untersucht und die Anzahl der Poren registriert. Dabei wurden rund 550 Fotos geschossen. Die fotografische Dokumentation beschränkte sich nicht nur auf die an der Zelloberfläche liegenden Poren. Für die Zuordnung zu den jeweiligen Kontraktile-Vakuolen-Komplexen wurden auch optische Schnitte aus tiefer im Zellinneren gelegenen Bereichen dokumentiert. Dabei treten weitere Organellen der Paramecien wie Makronucleus und Trichocysten deutlich hervor (Abb. 1).

Auswertung

Die Auswertung der Porenzählung stellt sich wie folgt dar: Bei 60% der Tiere hatte die eine der beiden kontraktilen Vakuole einen einzigen Expulsionsporus und die andere eine Doppelpore (Abb. 2). 20% der Tiere zeigten Doppel-

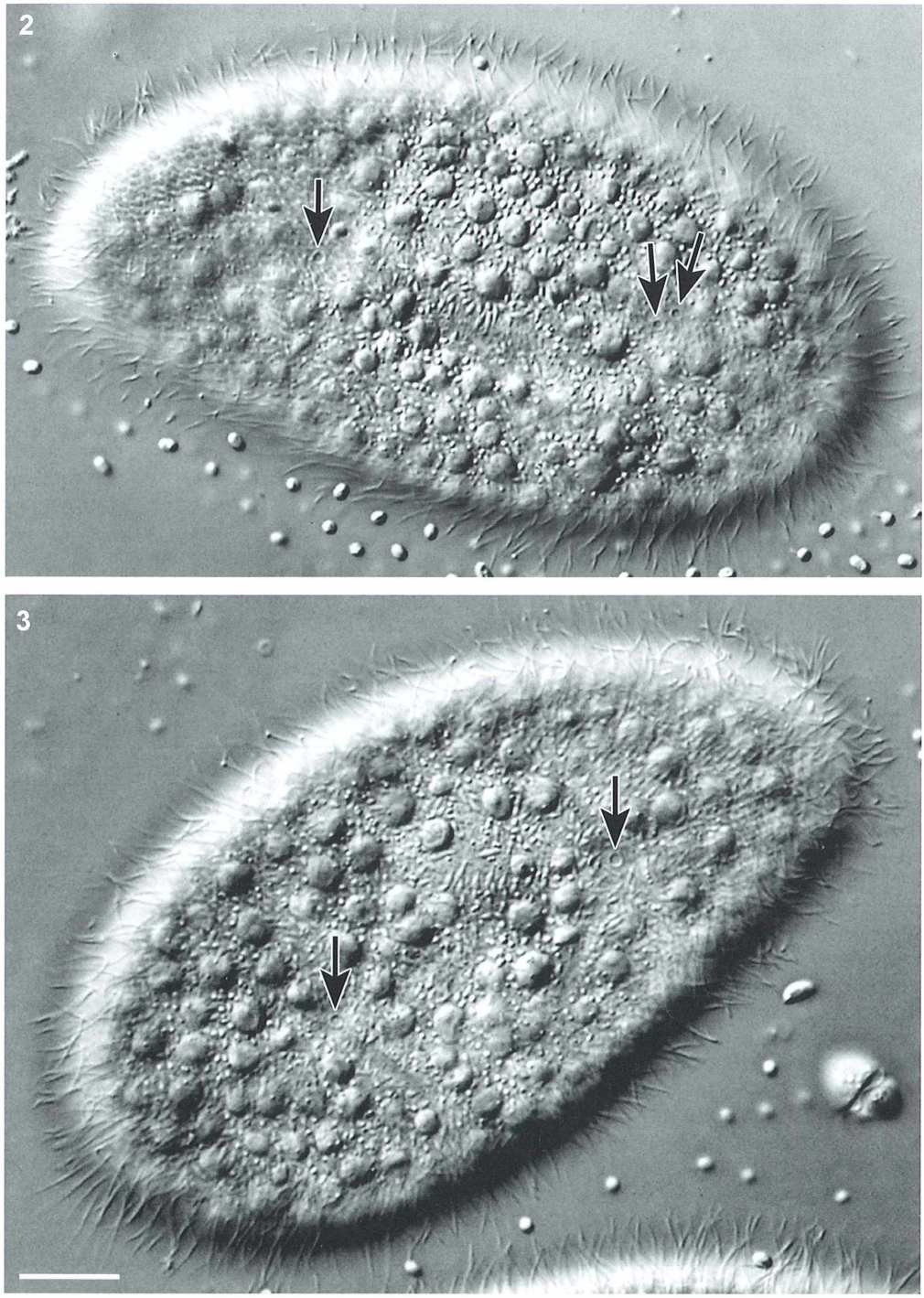
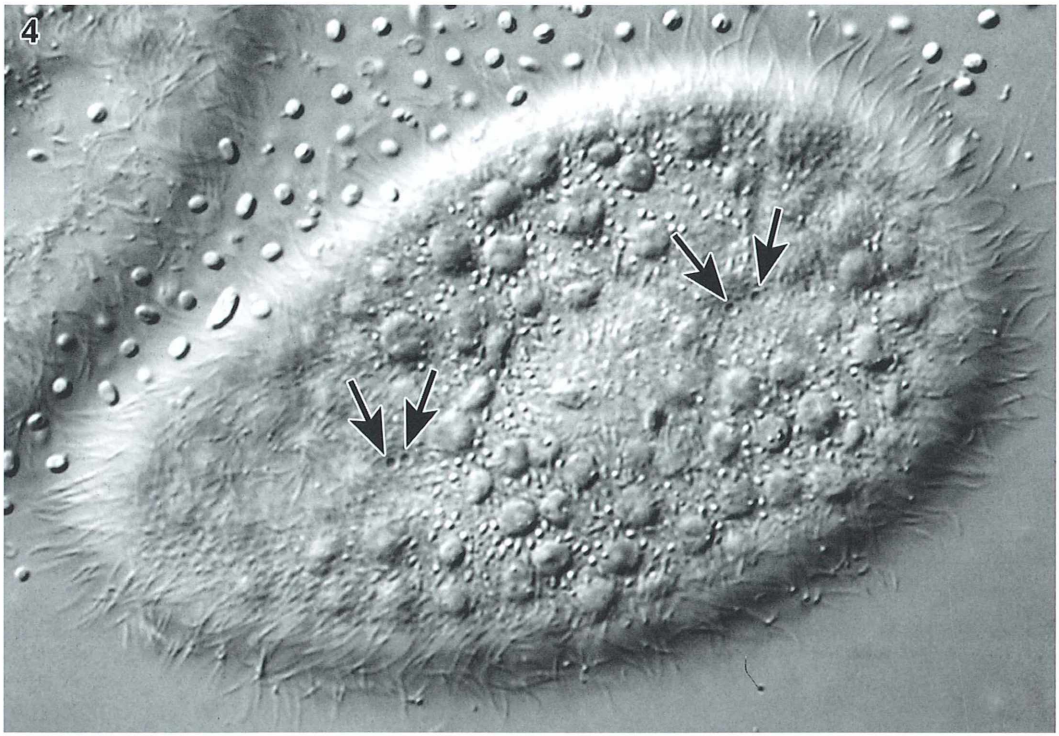


Abb. 2: Kontraktile Vakuolen von *P. bursaria* mit einer Einfachpore (links, Pfeil) und einer Doppelpore (rechts, Pfeile). – **Abb. 3:** Kontraktile Vakuolen von *P. bursaria* mit je einer Pore (Pfeile). Maßstrich 20 µm.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/



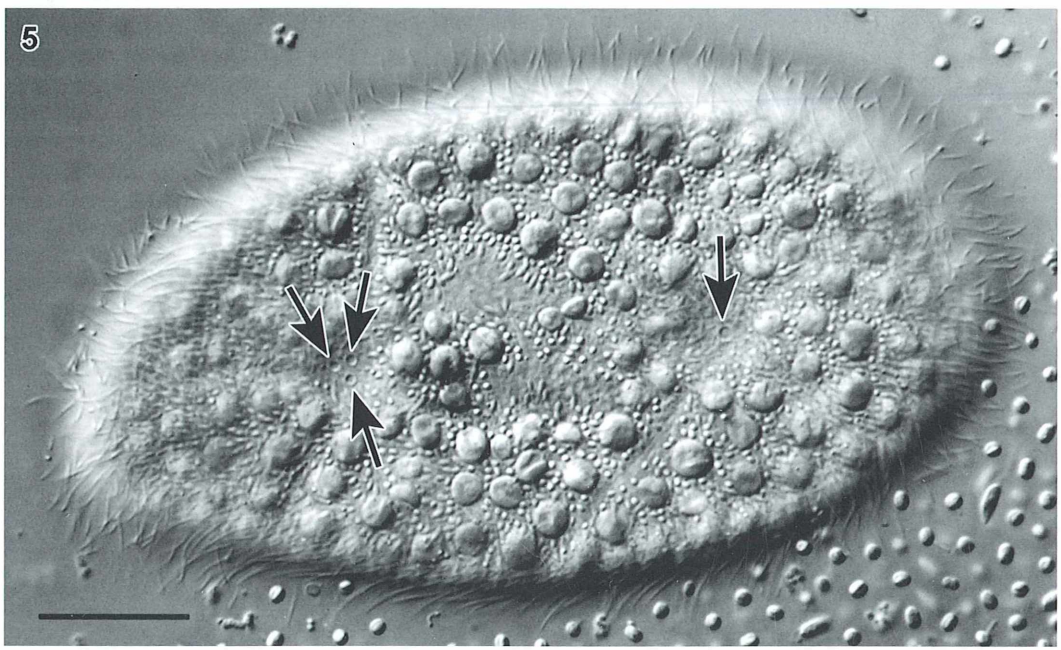


Abb. 4: Kontraktile Vakuolen von *P. bursaria* mit je einer Doppelpore (Pfeile). – Abb. 5: Kontraktile Vakuolen von *P. bursaria* mit einer Dreifachpore (links, Pfeile) und einer Einfachpore (rechts, Pfeil). Maßstrich 20 µm.

poren bei beiden kontraktilen Vakuolen (Abb. 4). 18% der Tiere verfügten über eine Einfachpore pro kontraktiler Vakuole (Abb. 3). 2% der Tiere schließlich wiesen kontraktile Vakuolen mit einer Dreifachpore und einer Einfachpore auf (Abb. 5).

Diskussion

Über die Ursachen und Auswirkungen dieser morphologischen Ausprägung des Kontraktilen-Vakuolen-Komplexes kann der Autor hier nur vage Vermutungen anstellen. Möglicherweise können durch höhere Porenzahl die lebensraumspezifischen osmotischen Bedingungen besser kompensiert werden. Bei konstanter Pulsationsfrequenz könnte entsprechend mehr Flüssigkeit durch den dann verdoppelten oder verdreifachten Porenquerschnitt abgegeben werden.

Man könnte natürlich auch in Erwägung ziehen, dass die Variation der Porenanzahl irgendwie mit dem Zellteilungsgeschehen von *P. bursaria* in Zusammenhang steht. Denn die Kontraktile-Vakuolen-Komplexe – und damit auch die Porenanzahl – verdoppeln sich vor der eigentlichen Zellteilung (Hausmann und Bradbury, 1996). In den bislang dokumentierten Fällen sind dann aber die neuen Poren in deutlicher Entfernung von den alten positioniert, was in den hier gezeigten Beispielen nicht zu beobachten ist.

Literaturhinweise

Görtz, H.-D. (ed.): *Paramecium*. Springer Verlag, Berlin 1988.

Hauck, A.: Einzeller als hochorganisierte Lebewesen – Der Kontraktile-Vakuolen-Komplex beim Pantoffeltier. Mikrokosmos *82*, 365–368 (1993).

Hausmann, K.: Osmoregulation bei Protozoen – Die pulsierende Vakuole des Pantoffeltieres. Mikrokosmos *66*, 326–330 (1977).

Hausmann, K.: Die kontraktilen Vakuolen der Einzeller damals und heute. Mikrokosmos *87*, 233–238 (1998).

Hausmann, K., Bradbury, P. C. (eds.): Ciliates: Cells as organisms. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.

Hausmann, K., Hülsmann, N., Radek, R.: Protistology, 3rd ed. Schweizerbart´sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 2003.

Krebs, C.: Do you think these are contractile vacuole pores? Forumsbeitrag in: http://photomacrography.net/forum/viewtopic.php?t=1644

Patterson, D. J., Hausmann, K.: *Paramecium bursaria*: Ein Wimpertier mit Zoochlorellen. Mikrokosmos *70*, 62–63 (1981).

Patterson, D. J., Hedley, S.: Free-living freshwater protozoa – A colour guide. Wolfe Publishing Ltd., London 1992.

van Wagtendonk, W. J.: *Paramecium* – A current survey. Elsevier, Amsterdam 1974.

Wichterman, R.: The biology of *Paramecium*. The Blakiston Company, New York 1953.

Wichterman, R.: The biology of *Paramecium*, 2nd ed. Plenum Press, New York 1986.

Verfasser: Gerd Günther, Knittkuhler Straße 61, D-40629 Düsseldorf, E-Mail: gerd.guenther@rp-plus.de. Mitglied im Arbeitskreis Mikroskopie im Freundeskreis Botanischer Garten Köln und Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft der Naturwissenschaftlichen Vereinigung Hagen e.V.

Damit die Alzheimer-Krankheit ihre Schrecken verliert

Für eine gesunde Zukunft!

Wir klären auf und fördern Erfolg versprechende Forschungsprojekte für Früherkennung, Linderung und Heilung der Alzheimer-Krankheit.

Nützliche Ratgeber und wichtige Informationen zur Alzheimer-Krankheit liegen kostenlos für Sie bereit.

Alzheimer Forschung Initiative e.V.

Alzheimer Forschung Initiative e.V.
Grabenstraße 5 · 40213 Düsseldorf
Telefon (kostenlos): 0 800 / 200 400 1
www.alzheimer-forschung.de

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Spaltöffnungen, die Ventile der Blätter
Teil 1: Die Stomata und ihre Amylochloroplasten

Eberhard Schnepf

Spaltöffnungen (Stomata) sind Ventile, die den höheren Landpflanzen helfen, einen Weg aus dem Dilemma zwischen Vertrocknen (Transpiration der Blätter) und Verhungern (Kohlendioxyd-Einlass zur Photosynthese im Blatt) zu gehen. Die Pflanzen reagieren durch sie im Minuten- und Stundenbereich durch Öffnen und Schließen des Spaltes auf externe Signale wie Licht, Wasserversorgung, Kohlendioxyd-Konzentration im Blatt, Temperatur, sogar auf die Schwefeldioxyd-Konzentration in der Luft (bei Vulkanausbrüchen), aber auch auf interne Signale wie endogene Rhythmen und Hormone. Durch Vermehrung oder Verminderung der Zahl der Stomata reagieren die Pflanzen auf globale Veränderungen des Kohlendioxydgehaltes der Luft, bei der Individualentwicklung bis zu paläontologischen Zeiträumen. Sie sind so Zeiger für Klimaveränderungen. Spaltöffnungen gibt es seit 400 Millionen Jahren (Zeiger, 1983; Hetherington und Woodward, 2003).

Kürzlich hat Maidhof (2006) im MIKROKOSMOS verschiedene Struktur- und Funktionstypen von Spaltöffnungen und Spaltöffnungsapparaten (= Schließzellen und Nebenzellen) beschrieben und Hinweise für ihre Präparation und Färbung gegeben. Seine Publikation endet mit: *Es eröffnet sich hier eine Fundgrube für mikroskopische Beobachtungen.* Diese Fundgrube soll durch zwei Artikel weiter erschlossen werden. Der erste behandelt den Bau der Stomata und die Methoden zu ihrer Untersuchung, der zweite ihre Entwicklung und ihre Reaktionen. Dabei werden die Amylochloroplasten und die Stärke in den Schließzellen jeweils besonders berücksichtigt.

Präparation

Schon Maidhof (2006) hat darauf hingewiesen, dass viele Beobachtungen an Flachschnitten durch Blätter oder – besser noch, aber nicht immer möglich – an Epidermen gemacht werden können, die mit einer spitzen Pinzette abgezogen worden sind. Er hat außerdem verschiedene Färbungen empfohlen. Hier sollen weitere Untersuchungsmethoden vorgestellt werden, wobei oft eine Tradescantie verwendet wurde, bei der es sich wahrscheinlich um *Tradescantia viridis* handelt. Hinzuweisen ist noch darauf, dass Mischungen zwischen Hellfeld-Polarisations- und Differentialinterferenzkontrast-Mikroskopie die Abbildungsqualität oft verbessern. Es werden, ergänzend zu Maidhof (2006), nur Methoden detailliert beschrieben, die ohne großen technischen Aufwand leicht nachzumachen sind. Weitere Verfahren werden kurz erwähnt.

Abdrücke

Thormann (2002) hat – ebenfalls im MIKROKOSMOS – erwähnt, dass das Spaltöffnungsmuster in der Blattepidermis und die Oberfläche der Stomata gut durch Lackabdrücke dargestellt werden kann, ohne dabei auf die Einzelheiten der Technik einzugehen. Eigene Experimente mit verschiedenen Abdruckverfahren haben die besten Ergebnisse mit „UHU hart" ergeben (Abb. 1 und 2). Geeignet, aber schwieriger zu beziehen, ist auch eine Kollodium-Lösung (Gerlach, 1977). „UHU hart" wird auf die gesäuberte, trockene Blattfläche aufgetragen, ist in wenigen Minuten ausgehärtet und trocken und kann dann mit einer Pinzette abgezogen werden. Man mikroskopiert die Abdrücke am besten in Luft.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

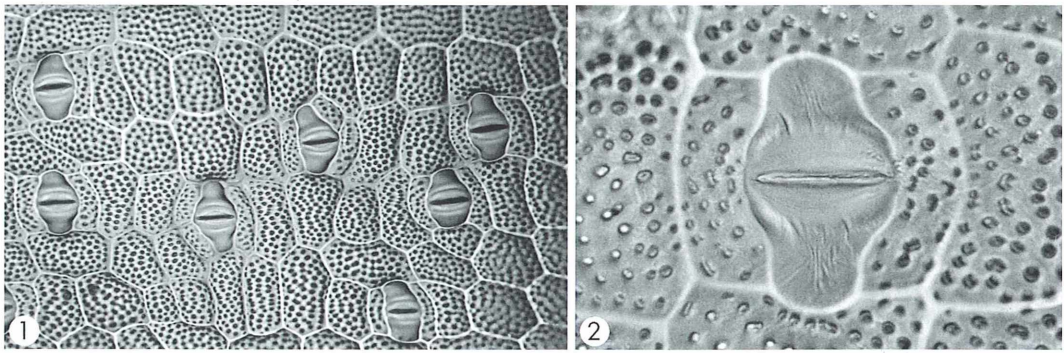


Abb. 1: ***Tradescantia viridis*****, Blattunterseite. Verteilungsmuster der Stomata. Abdruck. Vergr. 135fach. – Abb. 2:** ***Tradescantia viridis*****, Blattunterseite. Spaltöffnung mit Schließzellen und Nebenzellen. Die Schließzellen und die lateralen Nebenzellen haben keine Wandwarzen. Abdruck. Vergr. 415fach.**

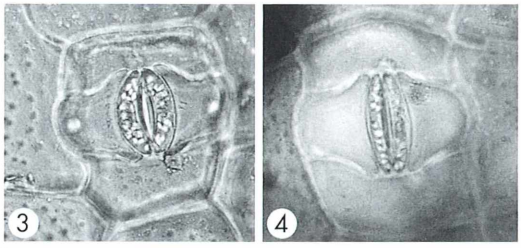


Abb. 3: ***Tradescantia viridis*****. Offene Spaltöffnung eines frischen Blattes. Alkoholfixierung. Vergr. 290fach. – Abb. 4:** ***Tradescantia viridis*****. Geschlossene Spaltöffnung nach 4 Stunden Trockenstress. Alkoholfixierung. Vergr. 290fach.**

In der Übersichtsaufnahme (Abb. 1) sieht man das Verteilungsmuster der mehr oder weniger parallel ausgerichteten Stomata auf der Blattunterseite von *Tradescantia viridis*, die beiden Schließzellen mit ihren lateralen und polaren Nebenzellpaaren (tetracytischer Typ, vergl. Maidhof, 2006), sowie die normalen Epidermiszellen. Die normalen Epidermiszellen und die polaren Nebenzellen haben die für diese *Tradescantia*-Art typische warzige Oberfläche. Bei den beiden Schließzellen und den beiden lateralen Nebenzellen fehlen die Wärzchen (Abb. 2). Besonders diese beiden Zellpaare bewirken das Öffnen und Schließen des Spaltes. Wenn sich der Turgor in den Schließzellen erhöht und/oder in den lateralen Nebenzellen erniedrigt, wölben sich die beiden Schließzellen in die Nebenzellen hinein und der Spalt öffnet sich (*Amaryllis*-Typ). Dazu dürfen die Außenwände dieser Zellen nicht starr sein.

Porenweite

Zur Messung der Porenweite sind diese Abdrücke nur bedingt brauchbar, weil die Tiefe des Spaltes nicht immer ausreichend erschlossen wird, und weil sich die Porenweite beim Aushärten der Abdruckpaste verändern könnte. Porometermessungen, bei denen die Durchströmungskapazität bestimmt wird, sind da genauer, wie Raschke (1965) betont, der damit auch gezeigt hat, dass die Öffnungsweite in den verschiedenen Arealen eines Blattes sehr unterschiedlich sein kann.
Für mikroskopische Analysen empfiehlt es sich, Flachschnitte in absolutem Alkohol zu fixieren und zu betrachten (Kümmler, 1922). Dabei ist zu beachten, dass sich die Weite des Spaltes beim Fokussieren ändert, denn seine Umgrenzung ist nicht gradlinig. Abbildung 3 zeigt eine geöffnete, Abbildung 4 eine geschlossene Spaltöffnung eines frischen beziehungsweise eines unter Trockenstress stehenden *Tradescantia*-Blattes. Die Abbildungen zeigen deutlich, wie sehr sich die Volumina der Schließzellen ändern. Bei den Schließzellen der Saubohne *Vicia faba* reduziert es sich beim Schließen fast auf die Hälfte (Weiler, 2002).

Zellulosetextur

Die Ausrichtung der Zellulose in der Außenwand des Spaltöffnungsapparates und die Stärke der Zelluloseschicht lassen sich polarisationsmikroskopisch analysieren (Palevitz und Hepler, 1976). Die Außenwand der Schließ-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

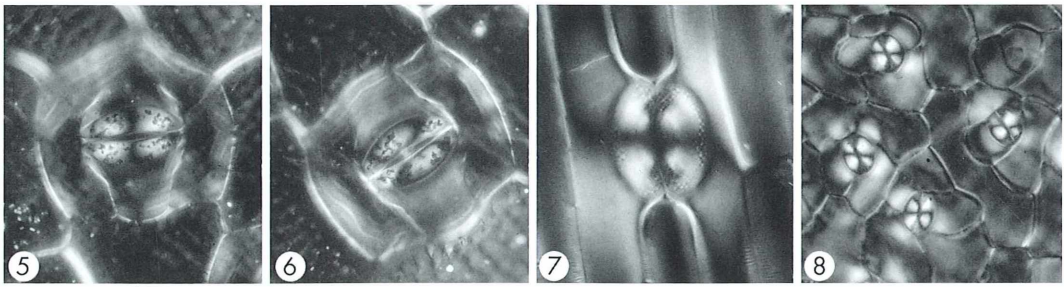


Abb. 5 und 6: *Tradescantia viridis*. Spaltöffnungsapparat im Polarisationsmikroskop. – Abb. 5: Orthogonal orientiert. Vergr. 290fach. – Abb. 6: Diagonal orientiert. Vergr. 290fach. – Abb. 7: *Clivia minima*. Spaltöffnungsapparat im Polarisationsmikroskop. Vergr. 290fach. – Abb. 8: *Brassica oleracea* „White Pigeon". Spaltöffnungsapparate im Polarisationsmikroskop. Vergr. 290fach.

zellen ist bei der *Tradescantia*-Art wie bei vielen anderen Pflanzen viel stärker doppelbrechend als die der Nebenzellen und der übrigen Epidermiszellen. Sie ist also relativ dick. Bei geeigneter Orientierung erkennt man im Schließzellpaar ein Sphäritenkreuz (Abb. 5 und 6). Mit einem Hilfsobjekt (Gips Rot I) lässt sich zeigen, dass die Zellulosefibrillen in der Außenwand der Schließzellen radial-fächerförmig vom Spalt zur lateralen Nebenzelle in verlaufen (Abb. 9). In der Außenwand dieser Nebenzellen ist die Zelluloseschicht nicht nur dünner, sondern die Fibrillen verlaufen bogenförmig, stehen senkrecht zu den Fibrillen in den Schließzellen. Die Abbildungen 8-31A im *Strasburger – Lehrbuch der Botanik für Hochschulen* (Weiler, 2002) zeigt das nicht exakt. Sie ist zu stark schematisiert. Es ist aber wichtig, den genauen Fibrillenverlauf zu kennen, um die Bewegung zu verstehen.

Bei Tradescantien werden wegen der Zellulosetextur und der Wanddicke die Schließzellen bei einer Turgorerhöhung kaum länger und dicker, sondern sie wölben sich in die lateralen Nebenzellen hinein. Das wird durch deren Wandstruktur erleichtert. Quer zu den Fibrillen sind Dehnungen und Kompressionen gut möglich, längs dazu nur schlecht. Bei der *Tradescantia viridis* kommt die besondere Struktur der Cuticula hinzu. Viele andere Pflanzen haben eine ähnliche Zellulosetextur im Spaltöffnungsapparat, so Clivien (Abb. 7) und Kohl (Abb. 8), und eine ähnliche Bewegungsform.

Bei Wasserpflanzen mit Schwimmblättern, bei denen die Stomata in der Epidermis der Blattoberseite sitzen, und mehr noch bei Wasserpflanzen mit untergetauchten Blättern (manche haben Spaltöffnungen!) spielt die Regulierung

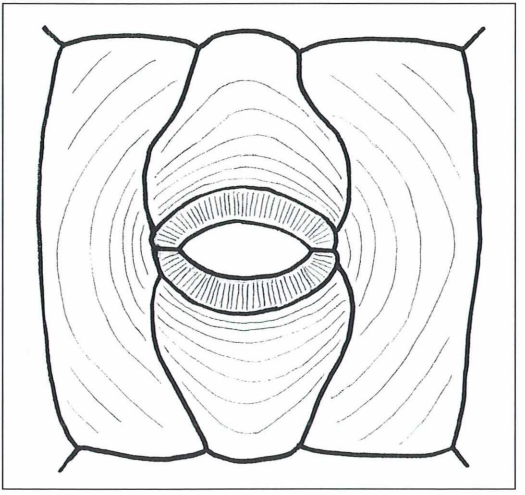


Abb. 9: Verlauf der Zellulosemikrofibrillen im Spaltöffnungsapparat von Tradescantien.

der Öffnungsweite keine kritische Rolle. Bei ihnen ist die Außenwand der Schließzellen nur schwach doppelbrechend, was Abbildung 10 von der Aquariumspflanze *Echinodorus*, dem Igelschlauch zeigt. Das bedeutet, dass sie nur wenige gut orientierte Zellulosefibrillen enthält.

Bei vielen Hydathoden tritt das Wasser durch Wasserspalten aus. Das sind modifizierte Spaltöffnungen. Sie können meist die Spaltbreite nicht regulieren (Eschrich, 1995). Wie zu erwarten ist, sind die Außenwände der Wasserspalten des Pfennigbaumes (*Crassula portulacea*, eine „ewig lebende" Topfpflanze mit dicken Blättern) nur sehr schwach doppelbrechend (Abb. 11), im Gegensatz zu den „richtigen" Stomata (Abb. 12).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

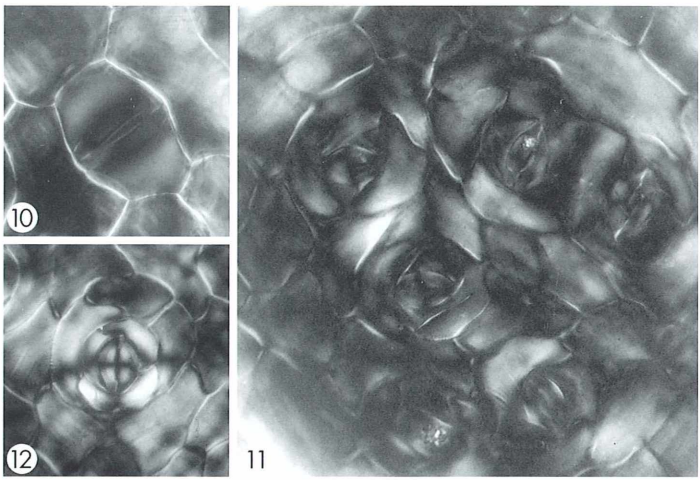


Abb. 10: *Echinodorus majus.* Spaltöffnungsapparat im Polarisationsmikroskop. Die Außenwände der Schließzellen sind fast nicht doppelbrechend. Vergr. 410fach. – Abb. 11: *Crassula portulacea.* Wasserspalten einer Hydathode im Polarisationsmikroskop. Die Außenwände der „Schließzellen" sind nur sehr schwach doppelbrechend. Vergr. 410fach. – Abb. 12: *Crassula portulacea.* Spaltöffnungsapparate im Polarisationsmikroskop. Starke Doppelbrechung der Außenwände von Schließzellen und Nebenzellen. Vergr. 270fach.

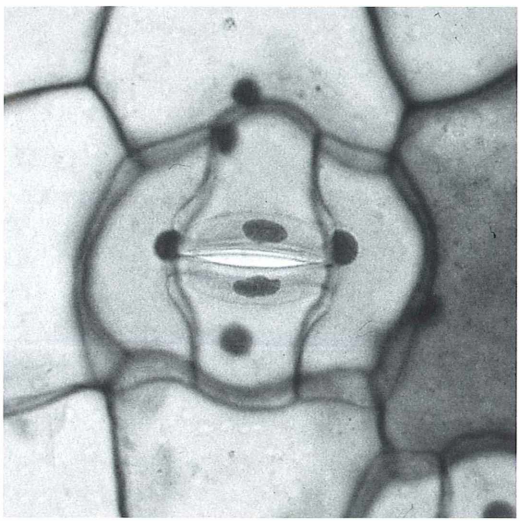


Abb. 13: *Tradescantia viridis.* Position der Zellkerne im Spaltöffnungsapparat. Karminessigsäure/Phenol. Vergr. 450fach.

Zellkerne

Für die Färbung der Zellkerne eignet sich gut Karminessigsäure; es empfiehlt sich, die Präparate dann mit Phenol oder mit Chloralhydrat aufzuhellen (Schnepf, 2000). Im Spaltöffnungsapparat von Tradescantien haben die Kerne typische Positionen (Abb. 13). In den Schließzellen liegen sie recht exakt in der Zellmitte, oft etwas näher an der Unter- als an der Oberseite. In den polaren Nebenzellen befinden sie sich fast immer in der Nähe der Wand zwischen den beiden Schließzellen. In den lateralen Nebenzellen haben sie oft eine zentrale Position; diese ist aber weniger stark festgelegt. Andere Pflanzen mit anderen Nebenzellkonfigurationen oder ganz ohne besondere Nebenzellen haben andere Kernpositionen (Küster, 1907; Bünning und Sagromsky, 1948). Der Schließzellkern liegt immer zentral.

Amylochloroplasten und Stärke

Die Stärkekörner lassen sich gut mit Lugol-Lösung (Jod-Jodkali) färben. Dann sollte man mit Phenol aufhellen (Schnepf, 2004). Es kann dabei allerdings zu Verklumpungen kommen.
Bei *Tradescantia*-Blättern sind, wie bei den meisten Pflanzen, die normalen Epidermiszellen weitgehend stärkefrei oder wenigstens stärkearm. Die Plastiden liegen um den Zellkern der Epidermiszelle herum. Die Schließzellen enthalten hingegen immer viel Stärke. Diese ist bei Tradescantien ziemlich gleichmäßig über das ganze Zelllumen verteilt (Abb. 14) und fehlt nur in der Zellmitte, da wo der Zellkern liegt. Ähnlich ist es beispielsweise bei *Clivia* (Abb. 15). Es gibt aber auch viele Pflanzen, bei denen sie nur entlang der Rückenwand liegt (Abb. 21). Beim Mais wie bei anderen Pflanzen mit Spaltöffnungen des Gramineen-Typs (vergl. Maidhof 2006) befindet sie sich nur in den ampullenartig erweiterten Enden der Schließzellen (Abb. 16).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

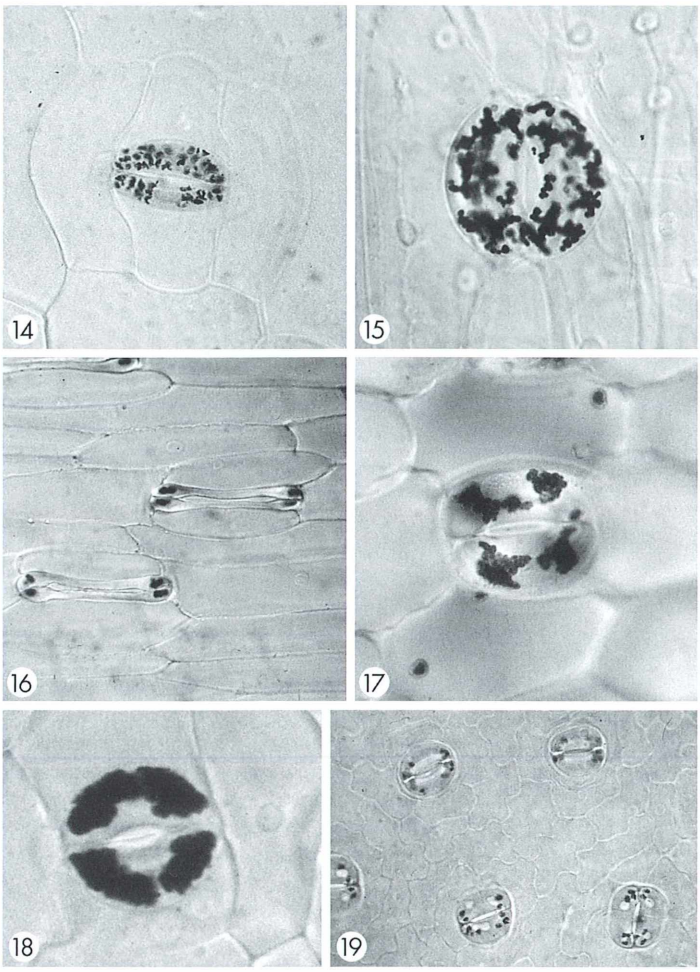


Abb. 14–16: Stärke in den Amylochloroplasten der Schließzellen. Lugol/Phenol. – Abb. 14: *Tradescantia viridis*. Vergr. 340fach. – Abb. 15: *Clivia minima*. Vergr. 410fach. – Abb. 16: *Zea mays*. Vergr. 350fach. – Abb. 17: *Paphiopedilum insigne*. Stärke in den Leukoplasten der Schließzellen. Lugol/Phenol. Vergr. 420fach. – Abb. 18: *Anthurium ferrierane*, rote Spatha. Stärke in den Amylochloroplasten der Schließzellen. Lugol/Phenol. Vergr. 570fach. – Abb. 19: *Hedera helix* „Ingrid". Stärke in den Amylochloroplasten der Schließzellen eines weißen Blattes. Lugol/Phenol. Vergr. 270fach.

Die Schließzellstärke wird fast ausnahmslos (siehe aber unten) in grünen Plastiden, also Amylochloroplasten gebildet. Die Plastiden der Nebenzellen und der anderen Epidermiszellen sind bei *Tradescantia* und vielen anderen Pflanzen farblose Leukoplasten (siehe auch Maidhof, 2006). Das Chlorophyll lässt sich nicht immer leicht im Hellfeld-Mikroskop erkennen. Seine Menge ist oft nur sehr gering. Sicherer ist eine fluoreszenzmikroskopische Identifizierung. Aber auch diese gelingt nicht immer. – Bei günstigen Objekten kann man das Chlorophyll in isolierten Schließzellplastiden bestimmen (Ritte und Raschke, 2003).

Transmissionselektronenmikroskopisch lässt sich sicher feststellen, ob die Plastiden der Schließzellen Thylakoidstapel enthalten, was ein klarer Beweis für die Anwesenheit von Chlorophyll ist. So gelang es auch, endgültig zu klären, dass die Schließzellplastiden der *Paphiopedilum*- (Zimmerfrauenschuh-) Arten chlorophyllfrei sind (D'Amelio und Zeiger, 1988), obwohl sie sehr viel Stärke enthalten (Abb. 17). Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen hatten das wahrscheinlich gemacht (Nelson und Mayo, 1975). Die anderen Orchideen haben Amylochloroplasten in den Schließzellen ihrer Blätter.

Welcher Art sind die Plastiden in den Schließzellen der Stomata von weißen (oder andersfarbigen, aber nicht-grünen) Blütenblättern, Hochblättern und in den weißen Zonen panaschierter Blätter? Blütenblätter haben, sofern sie Spaltöffnungen besitzen, immer Amylo-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

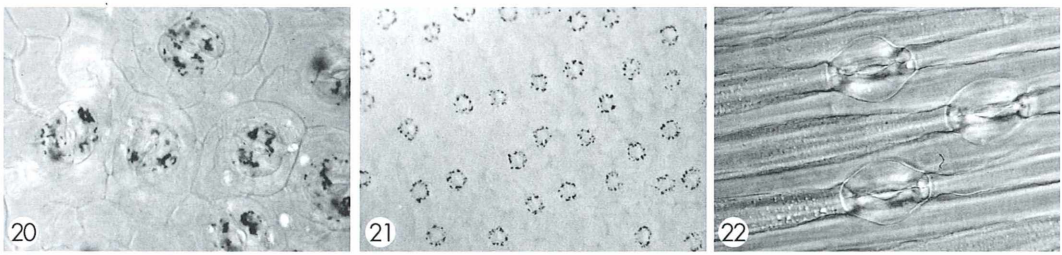


Abb. 20: ***Crassula arborescens.*** **Stärke in den Wasserspalten-„Schließzellen" einer Hydathode. Lugol/Phenol. Vergr. 210fach. – Abb. 21:** ***Nymphoides humboldtianum.*** **Stärke in den Schließzellen eines Schwimmblattes. Lugol/Phenol. Vergr. 160fach. – Abb. 22:** ***Allium cepa.*** **Die Chloroplasten der Schließzellen sind stärkefrei. Lugol/Phenol. Vergr. 315fach.**

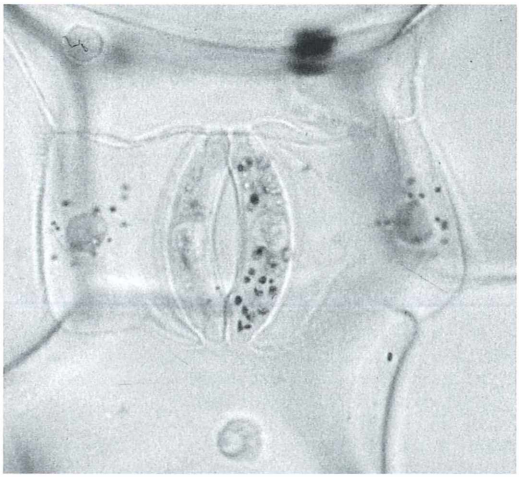


Abb. 23: ***Tradescantia zebrina.*** **Die beiden Schließzellen einer Spaltöffnung unterscheiden sich stark im Stärkegehalt. Lugol/Phenol. Vergr. 540fach.**

chloroplasten in den Schließzellen. Eine ausführliche Übersicht gibt Chester (1897). Das gilt auch für die Hochblätter (Spatha) von Aronstabgewächsen. Bei *Spathiphyllum* überrascht das nicht. *Spathiphyllum* ist eine Zierpflanze, die in Mode gekommen ist, weil sie fast im Dunklen noch wächst. Hier ergrünt das Mesophyll der Spatha, wenn die Blütezeit beendet ist, und beginnt mit der Photosynthese. Im Mesophyll wird dann Stärke gefunden. Auch die Zimmer-Calla (*Zantedeschia aethiopica*) hat Amylochloroplasten in den Stomata. Hier ist die Basis der sonst weißen Spatha grünlich. In der tiefroten Spatha von *Anthurien* (Flamingoblumen) haben die Schließzellen ebenfalls Amylochloroplasten (Abb. 18).

In panaschierten Blättern sind die Schließzellplastiden fast immer grün, auch in rein weißen Bereichen, und enthalten Stärke (Kümmler, 1922). Ausnahmen findet man bei einigen wenigen Blattchimären von *Pelargonium zonale* (Jamieson und Willmer, 1984; Couot-Gastelier und Louguet, 1987). Abbildung 19 zeigt Stomata von weißen Blättern der Efeu-Sorte Ingrid. Die schwach grünen Amylochloroplasten der Schließzellen enthalten Stärke, die aber sicherlich nicht ausschließlich durch eigene Photosynthese gebildet worden ist. Sie werden wohl mit Zucker versorgt, der in grünen Teilen der Pflanze synthetisiert wurde. Das Mesophyll von weißen Blättern enthält keine Stärke.

Auch in den Wasserspalten von Hydathoden (Abb. 20: *Crassula arborescens*) und den Schließzellen von Wasserpflanzen (Abb. 21: Schwimmblatt der Seekanne *Nymphoides humboldtianum*) gibt es Stärke. Allerdings ist bei den Pflanzen, bei denen sie ihre Verschlussfähigkeit mehr oder weniger eingebüßt haben, der Stärkegehalt oft nur gering, wie bei der Krebsschere *Stratiotes aloides* (Diannelidis, 1950).

Als Regel gilt also: Schließzellen haben Amylochloroplasten. Aber keine Regel ohne Ausnahmen. Auf die Amyloleukoplasten in *Paphiopedilum* wurde schon oben hingewiesen. Eine andere Ausnahme bilden die *Allium*-Arten (Abb. 22). Die Chloroplasten in den Stomata von Küchenzwiebeln, Knoblauch und Porree bilden keine Stärke (Schnabl und Raschke, 1988). *Allium*-Arten haben die Fähigkeit zur Stärkesynthese verloren. Sie haben auch in der Wurzelhaube keine Stärkestatolithen (Eschrich, 1995).

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Plasmodesmen

Die Entwicklung der Schließzellen, ihr Schicksal beim Altern des Blattes und die Einflüsse von Licht, Dunkelheit, Trockenheit und Kälte auf das Öffnen und Verschließen des Spaltes und auf den Stärkegehalt der Schließzellen werden im folgenden Artikel geschildert. Hier soll nur noch kurz erwähnt werden, dass, wie die Elektronenmikroskopie geklärt hat, die Schließzellen untereinander und mit den Nebenzellen nur zu Beginn der Entwicklung miteinander durch Plasmodesmen verbunden sind. Sie werden unterbrochen, wenn der Spalt entsteht (Willmer und Sexton, 1979). Damit scheren die Schließzellen aus dem Symplasten aus, wie auch Palevitz und Hepler (1985) durch die Mikroinjektion des Fluoreszenzfarbstoffes Lucifer Yellow gezeigt haben. Immer wieder kann man auch beobachten, dass sich die beiden Schließzellen eines Paares stark im Stärkegehalt unterscheiden (Abb. 23). Das zeigt ebenfalls, dass sie voneinander physiologisch isoliert sind.

Danksagung

Ich danke Prof. Dr. K. Raschke, Göttingen, für Literaturhinweise.

Literaturhinweise

Bünning, E., Sagromsky, H.: Die Bildung des Spaltöffnungsapparates in der Blattepidermis. Z. Naturforsch. *3b*, 203–216 (1948).

Chester, G. D.: Bau und Funktion der Spaltöffnungen auf Blumenblättern und Antheren. Ber. Dtsch. Bot. Ges. *15*, 420–431 (1897).

Couot-Gastelier, J., Louguet, P.: Étude comparée de la structure foliaire et de l'ultrastructure des stomates chez deux cultivars de *Pelargonium* x *hortorum*, l'un chlorophyllien et l'autre mutant à feuilles blanches, vertes ou panachées. Canad. J. Bot. 65, 340–347 (1987).

D'Amelio, E. D., Zeiger, E.: Diversity in guard cell plastids of the Orchidaceae: a structural and functional study. Canad. J. Bot. *66*, 257–271 (1988).

Diannelidis, Th.: Zellphysiologische Beobachtungen an den Schließzellen von *Stratiotes aloides*. Protoplasma *39*, 441–449 (1950).

Eschrich, W.: Funktionelle Pflanzenanatomie. Springer, Berlin 1995.

Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik, 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart 1977.

Hetherington, A. M., Woodward, F. I.: The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature *424*, 901–908 (2003).

Jamieson, A. P., Willmer, C. M.: Functional stomata in a variegated leaf chimaera of *Pelargonium zonale* L. without guard cell chloroplasts. J. exp. Bot. *35*, 1053–1059 (1984).

Kümmler, A.: Über die Funktion der Spaltöffnungen weißbunter Blätter. Jb. Wiss. Bot. *61*, 610–669 (1922).

Küster, E.: Über die Beziehung der Lage des Zellkernes zu Zellwachstum und Membranbildung. Flora *97*, 1–23 (1907).

Maidhof, A.: Die Blattepidermis und ihre Spaltöffnungen. Vergleichende mikroskopische Beobachtungen. Mikrokosmos *95*, 76–84 (2006).

Nelson, S. D., Mayo, J. M.: The occurrence of functional nonchlorophyllous guard cells in *Paphiopedilum spp.* Canad. J. Bot. *53*, 1–7 (1975).

Palevitz, B. A., Hepler, P. K.: Cellulose microfibril orientation and cell shaping in developing guard cells of *Allium*. The role of microtubules and ion accumulation. Planta *132*, 71–93 (1976).

Palevitz, B. A., Hepler, P. K.: Changes in dye coupling of stomatal cells of *Allium* and *Commelina* demonstrated by microinjection of Lucifer Yellow. Planta *164*, 473–479 (1985).

Raschke, K.: Das Seifenblasenporometer (zur Messung der Stomaweite an amphistomatischen Blättern). Planta 66, 113–120 (1965).

Ritte, G., Raschke, K.: Metabolite export of isolated guard cell chloroplasts of *Vicia faba*. New Phytol. *159*, 195–202 (2003).

Schnabl, H., Raschke, K.: Potassium chloride as stomatal osmoticum in *Allium cepa*, a species devoid of starch in guard cells. Plant Physiol. *65*, 88–93 (1980).

Schnepf, E.: Chromosomenfärbung – Was man von der Kernteilung wissen sollte und was man von ihr problemlos sichtbar machen kann. Mikrokosmos *89*, 249–254 (2000).

Schnepf, E.: Position und Funktion von Plastiden. – Teil 1. Das Kranzsyndrom und die Stärkebildung bei C4-Pflanzen. Mikrokosmos *93*, 65–73 (2004).

Thormann, F.: *Zea mais* – Der Mais. Mikrokosmos *91*, 41–45 (2002).

Weiler, E. W.: Physiologie. In: Sitte, P., Weiler, E. W., Kadereit, J. W., Bresinsky, A., Körner, C. (Hrsg.): Strasburger – Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, 35. Auflage, S. 119–517. Spektrum Verlag, Heidelberg 2002.

Willmer, C., Sexton, R.: Stomata and plasmodesmata. Protoplasma *100*, 113–124 (1979).

Zeiger, E.: The biology of stomatal guard cells. Annu. Rev. Plant Physiol. *34*, 441–475 (1983).

Verfasser: Prof. Dr. Eberhard Schnepf, Dürerweg 11, D-69158 Wiesloch

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Das Tee-Ei als Protozoenfalle – Anreicherung von Benthosorganismen am Gewässerboden

Danielle Kaufmann und Norbert Hülsmann

Im Folgenden wird eine Reihe von Methoden beschrieben, die es ermöglichen, ohne großen technischen Aufwand und vor allem ohne verschmutztes Schuhwerk und Wathosen an biologisches Untersuchungsmaterial zu gelangen, das sich in äußerst unzugänglichen und mitunter auch vergleichsweise unappetitlichen Habitaten befindet: Dem durchlüfteten Benthos sowie dem Faulschlamm von Gewässern. Die Methodik der Isolation wurde an verschiedenen natürlichen und künstlichen Gewässern im Raum Berlin im Verlaufe eines Jahreszeitengangs vom Sommer 2005 bis zum Frühling 2006 getestet.

Sediment von gut und weniger gut durchlüfteten schlammigen Gewässerböden lässt sich zwar recht einfach mit Bodengreifern aufnehmen und in Transportgefäße überführen. Die Erfahrung zeigt jedoch, dass bei solchen Schöpfproben häufig eine Vielzahl von Beprobungen nötig ist, um die Lebewelt des Bodenschlamms voll oder zumindest annähernd zu erfassen. Zugleich besteht fast immer ein quantitatives Ungleichgewicht zwischen den zu untersuchenden Objekten und den störenden unbelebten Elementen des Bodensatzes. Sandkörner und partikuläre Elemente des schlammigen Detritus verstellen viel zu oft den Blick auf die Objekte der Wissbegierde. Dieser Umstand verleidet häufig das Interesse an der Untersuchung von benthischem Material, das auch die selektive Vermehrung der interessierenden Organismen im Labor nicht immer auszugleichen vermag. Es bietet sich daher an, die Faunenelemente bereits vor Entnahme der Probe vor Ort im Mikrohabitat sich anreichern zu lassen, um auf diese Weise das Verhältnis zwischen Organismen und störendem Hintergrund entscheidend zu verbessern.

Unsere Methode folgt dem Prinzip des Fallenstellens. Ausgehend von dem Ziel, das plötzliche und überraschend dichte Auftreten einer unbeschriebenen riesigen Süßwasser-Foraminifere aus der Familie der Reticulomyxidae in einem See bei Berlin im Sommer 2005 zu erfassen, und deren bevorzugten Aufenthaltsort zu ermitteln, entstand die Idee, die Nahrungspräferenzen dieser Foraminiferen für Weizenkeimflocken auszunutzen. Sie sollten bereits in ihrem Habitat so angereichert werden, dass ihr Nachweis leichter gelingen möge. Zu diesem Zweck wurden handelsübliche Tee-Eier mit Wattebäuschchen und Weizenkeimflocken gefüllt, verschlossen und an Angelschnüren befestigt an verschiedenen Stellen im See versenkt. Das freie Ende der Angelschnüre wurde an leicht zugänglichen Stellen im Uferbereich gesichert, so dass jederzeit eine leichte Entnahme gewährleistet war. Diese Methode erwies sich zwar als wenig befriedigend für den Nachweis von Reticulomyxiden (die, wie später ermittelt wurde, an der Oberfläche von untergetauchten Schilfblättern leben und von dort nur gelegentlich ins Benthal verdriftet werden), doch zeigte sich, dass eine Vielzahl bodenbürtiger Organismen auf diese Weise angelockt und vor Ort zur Vermehrung gebracht werden konnte. Nach Ablauf verschiedener Zeitspannen wurden sie einfach zur Oberfläche gehievt und praktisch ohne Verluste zur weiteren Untersuchung ins Labor verbracht.

Im Folgenden beschreiben wir unsere Erfahrungen, die wir im Zusammenhang mit den diversen Beprobungen gemacht haben.

Materialien

Bei der Suche nach geeigneten Tee-Eiern erwiesen sich die aufklappbaren Tee-Siebe (Tee-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

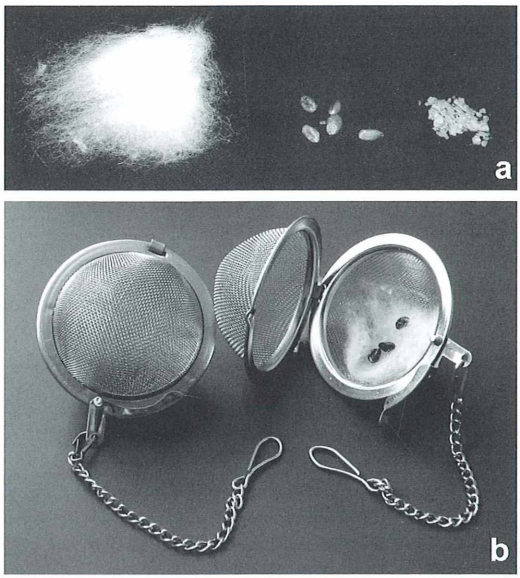


Abb. 1: a Das Füllmaterial zur Anlockung von Benthos-Protozoen (Watte, Weizenkörner und Weizenkeimflocken). b Zwei Tee-Eier (Ø 50 mm), links im geschlossenen Zustand und rechts aufgeklappt mit eingebrachter Füllung.

Abb. 2: Geschlossene Tee-Eier in Polypropylen-Dosen mit Schraubverschluss.

Bälle) mit Außendurchmessern von 4,5 cm und 5,0 cm und Preisen zwischen 1,60 und 2,40 € pro Stück als die günstigsten und für unsere Zwecke am besten geeigneten Käfige (Vertrieb: siehe Link unter Bezugsquelle). Sie bestehen aus Edelstahl und bleiben auch nach längerem Verweilen im Wasser und nach mehrmaligem Gebrauch unkorrodiert (Abb. 1). Die Maschenweite der beiden halbkugeligen Siebflächen liegt bei etwa 0,5 mm. Die dünnen Gliederkettchen der Tee-Eier werden vor dem Ausbringen mit entsprechend langen Angelschnüren verbunden.

Die Größe der Tee-Eier richtet sich nach den zur Verfügung stehenden Polypropylen-Bechern, deren Innendurchmesser entsprechend etwas weniger als 45 mm oder 50 mm betragen sollten, damit die Tee-Eier leicht darin festgeklemmt werden können. Diese mit Fundortwasser gefüllten Schraubdosen (Abb. 2) dienen zum Transport der Tee-Eier nach Entnahme aus dem Untersuchungsgewässer, vor allem aber auch zur Aufnahme der versenkten Tee-Eier, wenn Wasser- und damit Tierverluste beim Heraushieven minimiert werden sollen.

Füllung der Tee-Eier

Um eine große Oberfläche und gleichzeitig Versteckmöglichkeiten für Mikroorganismen zu erhalten, vor allem aber auch, um die als Lockmittel eingesetzten Substanzen am Verdriften zu hindern, werden die beiden Hälften eines geöffneten Tee-Eis mit 1–2 cm großen, zerzupften Bäuschchen kosmetischer Watte ausgelegt. Auf die Oberseite der Watte werden etwa 20 Weizenkeimflocken (normale Handelsware), 4–5 abgekochte Weizenkörner, ein erbsengroßes Stück frischer Bäckerhefe oder etwas zerzupftes tierisches Gewebe (Kalbsleber, *Tubifex* usw.) oder handelsübliches Zierfischfutter gegeben. Anschließend wird das Tee-Ei geschlossen und somit die beiden Wattebäuschchen mitsamt Inhalt nach Art eines Sandwichs zusammengeklappt. Sie bilden nunmehr eine mehr oder weniger geschlossene Umhüllung der Lockmittel.

Ausbringen und Bergen

Wir haben die Versenkung von Tee-Eiern bislang nur im relativ flachen Uferbereich von Teichen und Seen, und hier zumeist in Schilfgürteln erprobt. Die Verweilzeiten lagen hier zwischen vier Tagen und drei Wochen. Besonders einfach gestaltet sich das Ausbringen, wenn Stege oder Brücken den indirekten Zugang zu tieferen Bereichen des Wasserkörpers ermöglichen. Allerdings ist hierbei die Verlustrate (durch mutwilliges Entfernen der Fallen durch neugierige Zeitgenossen und vor allem Angler) recht hoch. Es empfiehlt sich daher die Verwendung möglichst dünnen und unscheinbaren

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.

Schnurmaterials und dessen unauffällige Anbringung (zum Beispiel mit Heftzwecken an der Unterseite von hölzernen Stegträgern). Bei der Beprobung von schwer zugänglichen Uferbereichen mit Pflanzenbewuchs können sich die Schnüre beim Hineinwerfen der Tee-Eier ins Gewässer leicht verheddern. Hier bietet sich die Verwendung von langen Stäben an, die zur Führung der Schnüre am Ende gegabelt sein sollten. Die Stäbe werden wie ein Kranausleger über das Wasser gehalten und erlauben das senkrechte Ablassen der Fallen in den Wasserkörper. Bewährt haben sich hier Teleskopstangen mit Obstpflückern, wie sie in den Gartenfachmärkten angeboten werden (zum Beispiel: # 3712 – Gardena combisystem-Teleskopstiel, 210–390 cm lang). Die Schnüre können zwischen die Zinken des Pflückkörbchens gelegt werden. Nach dem Ausbringen der Fallen sollte man die Schnüre in der Ufervegetation verbergen und gegen zufälliges Verdriften am Ufer befestigen. Es empfiehlt sich dringend – insbesondere beim Ausbringen von mehreren Fallen – die Position der Befestigungspunkte genau zu protokollieren, da sich die Geländeoberfläche im Verlauf einiger Wochen mindestens so stark ändern kann wie die persönliche Erinnerungsfähigkeit, wodurch das Wiederauffinden der Schnüre mitunter etwas problematisch werden kann.

Das Bergen der Fallen gestaltet sich gelegentlich schwierig, da sich die Tee-Siebe wie kleine Anker verhalten und sich beim Heraushieven im Substrat oder an Wasserpflanzen verhaken können. Auch hier erleichtert eine Teleskopstange das Herausziehen durch Anwendung unterschiedlicher Anstellwinkel. Da unter Umständen mechanische Widerstände auftreten, ist die Verwendung von relativ reißfester Angelschnur zu empfehlen, die Belastungen bis 10 kg verkraftet.

Die vorläufigen Ergebnisse

Welche Ergebnisse konnten nun mit dieser Methodik erzielt werden? Wir verweisen zunächst auf das häufige Auffinden der „Riesenamöbe" *Pelomyxa palustris*, die überraschenderweise in fast allen Proben an Seeufern, Teichen, Tümpeln und langsam fließenden Gewässern (Kanälen) auftrat, zumindest – und wie zu erwarten – während der wärmeren Jahreszeit (Juli bis Oktober). Sie ließ sich vorwiegend in denjenigen Fallen nachweisen, die mit Weizenprodukten (Körnern und Weizenkeimflocken) beimpft waren. Auch in Biotopen, die nicht dem Typ Falllaub-Tümpel oder der Faulschlammzone eines hyper- oder eutrophen Sees entsprechen, sondern auch auf kiesig-sandigen Böden von Seen mit einer geringen Trophiestufe traten diese Amöben auf, allerdings in geringerer Anzahl.

Verglichen mit der Methode, die von Hülsmann (1995) mitgeteilt wurde, ist die Ausbeute bei den Tee-Ei-Fallen deutlich ergiebiger. Aus einem Liter Untersuchungsflüssigkeit mit verschlammten Erlenblättern eines beprobten Lebensraums ließen sich bislang – nach Verteilen des Materials auf fünf große, flache Petri-Schalen (∅ 25 cm) und manuelles Absammeln mit einer Pipette – bestenfalls 40–60 Exemplare dieser bis 3 mm großen Amöben-Spezies innerhalb von ein bis zwei Tagen gewinnen. Mit der Tee-Ei-Methode lässt sich eine vergleichbare Anzahl von Exemplaren aus etwa 40 ml Flüssigkeit und Watte und damit aus einer einzigen 10-cm-Perischale binnen weniger Minuten isolieren. Allerdings müssen hierzu Verweilzeiten der Tee-Eier von bis zu zwei Wochen im Biotop in Kauf genommen werden.

Wurden die Tee-Eier in Dosen eingeklemmt zu Wasser gelassen und bis zum Boden abgesenkt, ist die Ausbeute an *Pelomyxa*-Individuen mitunter etwas geringer, da die Organismen nur von einer Seite (und im schlechtesten Fall nur von oben) in die Falle eindringen können. Um diese Unwägbarkeiten auszugleichen, wurden stets vier Tee-Eier versenkt. Im Schnitt wiesen jeweils zwei von ihnen einen deutlich erkennbaren Besatz mit den Amöben auf. Da beim Hieven das faulige und sauerstoffuntersättigte Wasser in den Dosen verbleibt, kommen die mikroaerophilen Organismen von *Pelomyxa* nicht in nennenswerten Maße mit dem für sie toxischen Sauerstoff in Berührung. Es fällt auf, dass die auf diese Weise isolierten Tiere ungewöhnlich gut kultivierbar sind und mehr als drei Monate im vitalen Zustand verbleiben und erst danach die Bildung von Dauerzysten einleiteten. Die Tee-Ei-Dosen-Methode empfiehlt sich demzufolge besonders für Organismen, die im Faulschlamm leben und schonend isoliert werden müssen.

Parallel zu den Individuen von *Pelomyxa* ließen sich auch mehrere Arten von großen Schalenamöben der Gattung *Difflugia* isolieren, vor allem die Arten *D. claviformis, D. oblonga* und

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

auch *D. corona*, die offensichtlich als seltene Bewohner unserer Gewässer gilt (Netzel, 1971). Es kommt nicht selten vor, dass mehrere Dutzend Individuen in einer Probe enthalten sind.
Die spirotrichen Ciliaten *Spirostomum ambiguum* und *Spirostomum teres* sind weitere große Formen, die sich fast immer anlocken und isolieren lassen. Auch für diese Arten können hohe Ausbeuten an Individuen registriert werden (bis zu rund 400 Organismen pro Isolation).
Die zu den haptoriden Ciliaten gehörenden Gattungen *Supraspathidium, Spathidium* und *Trachelius ovum* sind gleichfalls oft in den Isolaten anzutreffen. Das gleiche gilt für *Bursaria truncatella*, die häufiger in Massen aufgefunden wurde. Werden tierische Gewebsbestandteile als Lockmittel verwendet, lassen sich gewöhnlich auch histophage Ciliaten, wie zum Beispiel *Ophryoglena atra*, sowie Vertreter der Gattungen *Lembadion* und *Coleps* in größeren Mengen nachweisen.

Resümee

Die Tee-Ei-Methode eignet sich gut für die Isolation von Einzellern und anderen Organismen des Gewässerbodens. Sie besticht durch ihre einfache Anwendbarkeit. Es ist zu erwarten, dass bei konsequenter Anwendung auch quantitative Daten über den benthischen Lebensraum erhoben werden können.

Literaturhinweise

Hülsmann, N.: Freilebende nackte Rhizopoda. In: Röttger, R. (Hrsg.): Praktikum der Protozoologie, S. 80–88. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1995.
Netzel, H.: Form und Bewegung beschalter Amöben (Testacea). Film C 1060, IWF, Göttingen 1971.

Bezugsquelle:
http://www.venalicia.com/de/catalogue/t000136.php

Verfasser: Danielle Kaufmann und Dr. Norbert Hülsmann, Institut für Biologie / Zoologie, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 1–3, 14195 Berlin

Nachrichten

Freunde der Natur und des Roten Meeres

Wir möchten unsere Leser auf eine Institution hinweisen, die speziell Exkursionen zum Roten Meer durchführt, aber auch andere Veranstaltungen zum Thema Natur anbietet, das Red Sea Environmental Centre (RSEC). Das Programm umfasst Vorträge, Veranstaltungen, Kurse, Seminare, Bildungsreisen, Tauchsafaris, Exkursionen und Expeditionen. In der Juli-Ausgabe des monatlich erscheinenden RSEC-Newsletters (http://www.fnz.at/fnz/newsletter/archiv/RSEC_Newsletter_2006_07_06.htm), herausgegeben vom Team des RSEC und des Forums für Natur und Zukunft (fnz), werden beispielsweise folgende Aktivitäten genauer vorgestellt:

- Neues von der RSEC-Feldstation in Dahab/Sinai
- Spannende Exkursionen, Reisen, Kurse in den kommenden Monaten
- Jetzt buchen: Viel Rotes Meer für wenig Geld
- Spannende Vorträge nach der Sommerpause
- Wir freuen uns über wichtige neue Kooperationspartner
- Der Seychellenspezialist in Sachen Natur: Auf den Spuren der Walhaie
- fnz-News: Auf den Spuren der Wildtiere in die Slowakei
- Spannendes von unseren Webseiten

Beispiel für einen Kurs: Einführungskurs Korallenriff-Ökologie, 01.–14. September 2006. Speziell für Studenten der Biologie bietet das RSEC vom 01.– 14. September 2006 eine 2-wöchige Einführung in die Ökologie des Korallenriffs an. Der Kurs behandelt die wichtigsten Aspekte der Ökologie der Riffe und beinhaltet unter anderem das Kennenlernen verschiedener Untersuchungsmethoden sowie Bestimmungsübungen an Steinkorallen. Für Schnorchler schon ab 279 € und für Taucher ab 399 €.
Bei Interesse bitte bei Dipl.-Biol. Christian Alter melden: christian.alter@redsea-ec.org
Detailinformationen und weitere Veranstaltungen (z.B. Meeresbiologiekurse für Sporttaucher sowie Studenten) unter
www.redsea-ec.org und www.fnz.at.

Redaktion MIKROKOSMOS

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

14. Mikroskopier-Treffen auf dem Wohldenberg

Bei dem zum 14. Mal von Karl Brügmann durchgeführten Mikroskopier-Treffen auf dem Wohldenberg trafen sich in der letzten Aprilwoche dieses Jahres 25 engagierte Mikroskopiker zu gemeinsamen Arbeiten und mikroskopischen Aktivitäten. Die Teilnehmer kamen aus Holland, Österreich, Deutschland und Schweden.

Der Ablauf des Programms wurde wieder im Wesentlichen von der Herstellung zahlreicher Dauerpräparate bestimmt, für die Karl Brügmann reichlich Paraffinschnitte von pflanzlichen sowie tierischen und menschlichen Geweben mitgebracht hatte, die dann nach der Entparaffinierung über verschiedene Färbemethoden fertig gestellt wurden. Auf die einzelnen Färbungen und Arbeitsschritte soll hier nun nicht mehr im Einzelnen eingegangen werden, da in den vergangenen MIKROKOSMOS-Jahrgängen ausführlich darüber berichtet wurde. Es sei jedoch vermerkt, dass die Präparate mit menschlichen Geweben besonders wertvoll sind, da die meisten Hobby-Mikroskopiker normalerweise keinen Zugang zu solchem Material haben.

Beachtenswert ist es, die Aktivitäten der Teilnehmer zu beleuchten, die einer solchen Gemeinschaft erst einen erweiterten Horizont der eigenen – teilweise einseitigen – Beschäftigung mit dem Mikroskop bescheren. So hatten Adolf Lohr und Erwin Heiser einen Granit vorbereitet, der mit verschiedenen Körnungen von Silizium-Karbid auf circa 30 µm Dicke geschliffen wurde, was, abgesehen von dem erklärenden Aufbau des Granits, im polarisierten Licht sehr schöne Farbspiele ergibt. Hermann Hochmeier brachte einen Kalkstein zum Schleifen mit, der Fusulinen (Großforaminiferen; auch wichtig als Leitfossilien) enthielt – eine neue interessante Erfahrung in dieser Runde. Günther Zahrt aus Berlin zeigte die Präparation der Fassettenaugen von Bienen und Fliegen einschließlich der anschließenden Färbung in Direkttiefschwarz. Claudia Külling, unsere Pilzsachverständige, hatte Wurzeln mitgebracht, in welchen nach einiger Quetscharbeit die Hyphen eines endotrophen Pilzes sichtbar wurden. Man kann dann den Besiedlungsgrad der Pflanzen in der Mykorrhiza ermitteln, ein Beitrag zum Verständnis des Zusammenlebens von Pilz und Pflanze. Eberhard Raap hatte gleich mehrere Präparate dabei: Einen Stängelquerschnitt von einem 2-jährigen Pfeifenstrauch (Osterluzei, *Aristolochia*) und eine Kiefernadel, die mit Safranin-Alizarincyanin 2 R (heute nicht mehr gebräuchlich) gefärbt wurden. Ein Schnitt vom 1-jährigen Pfeifenstrauch wurde mit Astrablau-Chrysoidin gefärbt. Dann hatte er noch Kiefernpollen dabei, die nach dem Acetolyse-Verfahren aufbereitet worden waren.

Alle diese Aktivitäten wurden in den Abendstunden noch durch kurze Bildvorträge (Schliffe von F. Thormann), diverse Filme von Einzellern (Günther Zahrt) und Erläuterungen zur Digitalfotografie (Michael Fuchs) ergänzt.

Die diesjährige Exkursion führte zum Laser Zentrum Hannover (LZH). Dort wurden wir von Herrn Botts in Empfang genommen, der auch einen einführenden Vortrag hielt und uns anschließend in die Versuchswerkstatt führte. Das LZH wurde 1986 gegründet und beschäftigt etwa 200 Mitarbeiter. Die Schwerpunkte liegen in der Forschung, Entwicklung, Beratung und Weiterbildung. Der Tätigkeitsbereich dieses Unternehmens liegt hauptsächlich in der Metallbearbeitung (Schweißen, Bohren, Härten). Dr. F. Will hielt einen Vortrag über das Schneiden mit dem Laser in der lebenden Zelle und die so genannte optische Pinzette. All das vermittelte einen Einblick in eine Technik, welche die Teilnehmer bisher kaum kannten und die faszinierende Aussichten für die Zukunft der Zellforschung bietet.

Matthias Ernst von der Firma Olympus stellte dankenswerterweise wieder ein Videomikroskop für die

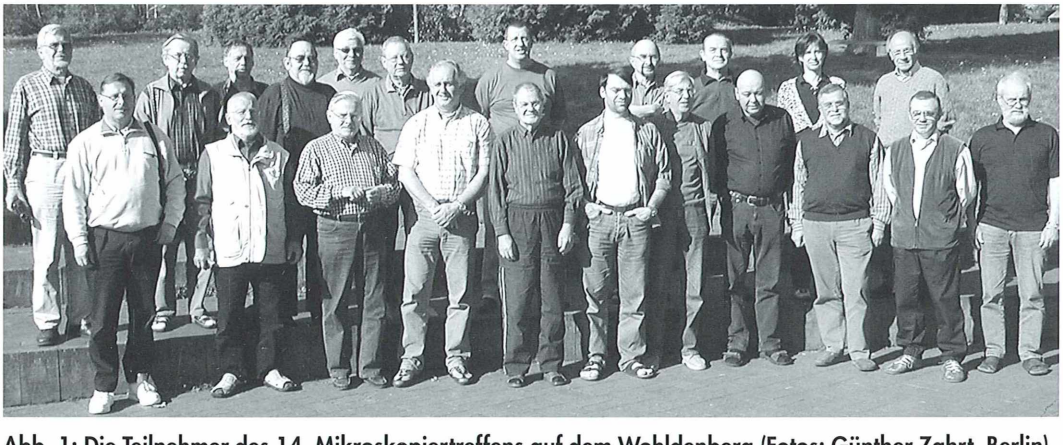


Abb. 1: Die Teilnehmer des 14. Mikroskopiertreffens auf dem Wohldenberg (Fotos: Günther Zahrt, Berlin).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

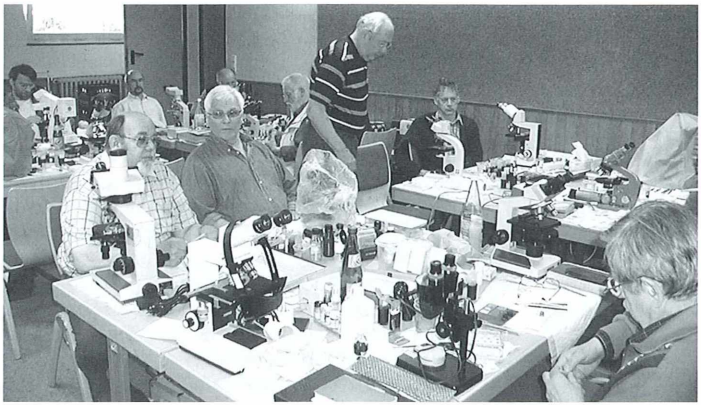


Abb. 2: Aktivitäten im dicht gedrängten Mikroskopiersaal.

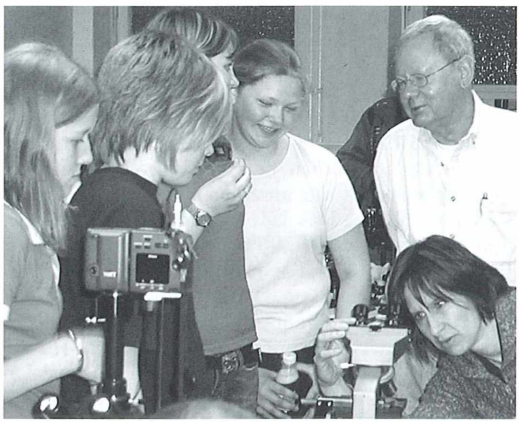


Abb. 3: Karl Brügmann umringt von wissensdurstigen Mädchen einer Chorgruppe, die zur gleichen Zeit wie die Mikroskopiker im Haus Wohldenberg ein Treffen hatte.

Diskussion der Präparate zur Verfügung; außerdem hatte er viele Gebrauchtteile im Gepäck, die großen Zuspruch fanden. Richard Jähner brachte für das leibliche Wohl bayrischen Leberkäse und Weizenbier mit, und am Freitag fand der traditionelle Grillabend bei schönem Wetter auf der Terrasse mit Maibockbier wieder einmal mehr großen Anklang.

Ein Spaziergang am Samstagvormittag rund um das Derneburger Schloß (Lavesweg) mit seinen vielen Fischteichen kündigte das nahe Ende dieser ereignisreichen Woche an. Doch vorher wurde es nochmals fachlich spannend mit einem Vortrag von Prof. Dr. Andreas Gebert, der uns mit verständlichen Worten in die Technik der modernen 2-Photonen-Mikroskopie einführte.

Ein kleiner Test und die allgemeine Aussprache am Sonntagmorgen verbunden mit dem Dank an Herrn Brügmann für die umfangreiche Planung und die vielen Präparate beendeten das diesjährige Treffen. Dem Wunsch aller Teilnehmer entsprechend ist für das Jahr 2007 das 15. Mikroskopier-Treffen auf dem Wohldenberg in Aussicht gestellt worden.

Friedrich Thormann, Sulzbach

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Ultraharte Materialien durch hohe Drücke

Joachim Eiding

Physiker haben in den Vereinigten Staaten einen neuen Weg gefunden, harte Festkörper unter hohen Drücken herzustellen. Sie haben ihre Ergebnisse sowohl durch eine Computersimulation als auch durch Experimente bestätigt. Eines Tages könnten solche Materialien vielfältige Anwendungen finden, zum Beispiel in der Automobilindustrie und der Raumfahrt.

Metallische Stoffe sind fester Bestandteil unseres Lebens. Auf den zweiten Blick bestehen sie aus kleinen Körnern, die von den so genannten Korngrenzen umgeben sind. Sind diese weniger als 100 Nanometer groß, bezeichnen Forscher diesen Werkstoff als nanokristallin. Seine Festigkeit erhöht sich umso mehr, je kleiner die einzelnen Körnchen sind. Dieser Zusammenhang ist als Hall-Petch-Effekt bekannt. Bei kleineren Kristalliten wachsen die gesamten Korngrenzflächen und damit der Widerstand gegen Verformung durch die Versetzungen. Dadurch wird das Material gehärtet.

Unterschreitet die Korngröße jedoch einen kritischen Wert, beginnen die einzelnen Kristallite entlang der Korngrenzen abzugleiten. Materialforscher sprechen bei Werkstoffen mit Kristallitgrößen im Mikrometerbereich, bei denen dieses Korngrenzgleiten bewusst für die Umformung ausgenutzt wird und sehr große Dehnungen auftreten können, von der Superplastizität. Der Kristall wird weich und dehnbar. *Es fühlt sich an, als würden Sie in Sand treten*, bestätigt Bruce Remington, Laserspezialist und Mitglied der Arbeitsgruppe des Werkstoffforschers Eduardo M. Bringa vom Lawrence Livermore National Laboratory in Livermore, Kalifornien, USA.

Grund genug, nach Wegen zu suchen, diesen Effekt zu hemmen. Daher schickte das Team eine Stoßwelle von nur wenigen Nanosekunden durch eine Probe von nanokristallinem Nickel und Kupfer. Ihre Ergebnisse publizierten die Forscher im Magazin *Science* (Bringa et al., 2005). Zunächst versuchten sie über eine aufwändige Computersimulation, an welcher bis zu 4.000 Prozessoren im Hause beteiligt waren, zu Resultaten zu kommen. Die gewünschte Erschütterung gewährte im Modell ein Laser mit sehr intensivem Licht. Schneller als der Schall durchstreifte die Stoßwelle den Festkörper und bewirkte einen Druck, fast eine Million Mal größer als der in der Atmosphäre.

Hoher Druck hemmt die Bewegung

Die Rechnung deutete darauf hin, dass der Stoß in der Probe die Korngrenzen zusätzlich verzerrte (Abb. 1 und 2). Die Forscher deuteten das Resultat derart, dass die Welle die getroffenen Stellen verbog und buchstäblich in ihrer Bewegung einfror. Dies verhinderte somit die reguläre Verformung. Hier hatte sich die Härte

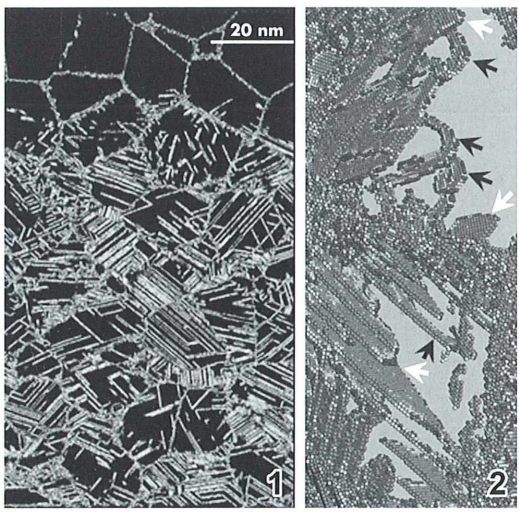


Abb. 1: Ergebnis der Simulation: Eine Stoßwelle schoss durch nanokristallines Kupfer und erzeugte zusätzliche Verzerrungen (Abb. 1–3 von Eduardo M. Bringa). – Abb. 2: In dieser Simulation wanderte eine Stoßwelle unter hohem Druck durch einen Nanokristall. Die Pfeile geben die Bewegungen im Nanokristall wieder.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

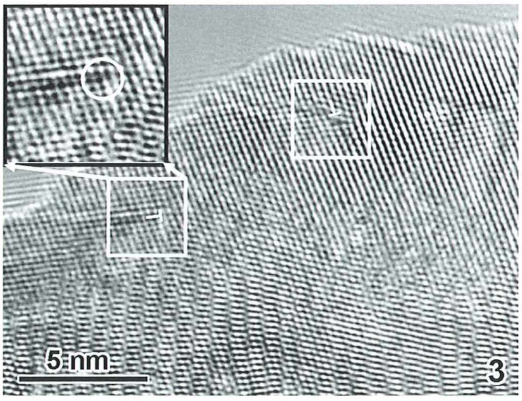


Abb. 3: TEM-Aufnahme: Nach einer Stoßwelle zeigt nanokristalliner Nickel weitere Verzerrungen.

des Materials nach dem Prozess verdoppelt. Ein Experiment mit einem starken Laser zeigte den gleichen Trend. Wie Aufnahmen mit dem Transmissionselektronenmikroskop (Abb. 3) belegten, waren im nanokristallinen Nickel zusätzliche Stellen durch verschiedene Gitterbaufehler stark verzerrt. *Dieser hohe Druck erhöht die Reibung zwischen den Körnern und hemmt die Verschiebungen*, meint Bringa. Allerdings scheint noch unklar, was sich während des Stoßes im Vielkristall abspielt.

Dies ist das erste Mal, dass jemand in der Lage war, Stoßexperimente und zur gleichen Zeit numerische Simulationen am Supercomputer durchzuführen, um die Ergebnisse zu interpretieren, freut sich der Materialforscher. Sein Kollege Remington warnt jedoch, die Forschung stecke derzeit noch im Anfangsstadium. Sie haben gerade erst damit begonnen, noch härtere Werkstoffe herzustellen. Ausgehend von diesem ersten Schritt wollen sie weltweit mit Experten auf diesem Gebiet zusammenarbeiten.

Diese sehr harten Materialien eignen sich für eine Vielzahl von Anwendungen. Beispielsweise könnten sie als Schutzschicht für Raumfahrzeuge dienen, um zu verhindern, dass diese durch interplanetarische Staubpartikel beschädigt werden. Ebenso ist es denkbar, für Automobile sichere und robuste Stoßdämpfer zu entwickeln. Auch als Materialien für Sensoren eignen sich harte nanokristalline Werkstoffe. Die spezifischen Anforderungen, die an solche Materialien gestellt werden – hohe Stabilität, Sensitivität, bestimmte Teilchengeometrie und auch eine möglichst große innere Grenzfläche –, erfüllen diese Werkstoffe in geeigneter Weise.

Danksagung

Mein Dank gilt der Unterstützung von Prof. Eduard M. Bringa und seiner Gruppe bei diesem Projekt.

Literaturhinweis

Bringa E. M., Caro, A., Wang, Y., Victoria, M., McNaney, J. M., Remington, B. A., Smith, R. F., Torralva, B. R., Van Swygenhoven, H.: Ultrahigh strength in nanocrystalline materials under shock loading. Science *309*, 1838 (2005).

Verfasser: Dr. Joachim Eiding, Redaktionsbüro, Hirschbergstraße 24, 80634 München, Tel.: 089/167 91 42, E-Mail: joachim-eiding@gmx.de

euromex
MICROSCOPES HOLLAND

Mikroskope
Stereomikroskope
Mikrotome
Kaltlichtbeleuchtung
Refraktometer

- neueste Technologien
- hochwertige Optik
- präzise Metallverarbeitung
- sorgfältige Montage
- relativ niedrige Preise

STEREOMIKROSKOP E-REIHE

MIKROSKOP F-REIHE

Fordern Sie unseren Prospekt an

euromex microscopen b.v.
Papenkamp 20, 6836 BD Arnheim, Niederlande
Tel.: +31.26.323.4473, Fax +31.26.323.2833
email: euromex@tref.nl, web: http:/www.euromex.nl

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Kurze Mitteilung

Phytolithe

Phytolithe (Pflanzensteine ist die wörtliche Übersetzung) sind mikroskopisch kleine, aus mineralischem Silikat bestehende Gebilde, die sich im Innern von bestimmten Zellen in zahlreichen Pflanzenarten bilden. Das Silikat wird mit dem Bodenwasser über die Wurzeln aufgenommen und als Monosilikatsäure in speziellen Zellen als opalines Silikat abgesetzt. Die Kieselsäure (Silizium, Silikat) ist das zweithäufigste Element (das häufigste ist Sauerstoff) in der Erdkruste. Phytolithen kommen in 28 Familien mit 115 Gattungen bei den monokotylen (einkeimblätt-

Schematische Zeichnungen	ICPN-Bezeichnungen
	Bilobate short cell
	Trapeziform short cell
	Cylindrical polylobate
	Trapeziform polylobate
	Trapeziform sinuate
	Elongate echinate long cell
	Cuneiform bulliform cell
	Parallelepipedal bulliform cell
	Acicular hair cell
	Unciform hair cell
	Globular granulate
	Globular echinate
	Cylindric sulcate tracheid
❶	

Schematische Zeichnungen	ICPN-Bezeichnungen
	acicular
	carinate
	clavate
	conical
	cubic
	cuneiform
	cylindric
	globular
	parallelepipedal
	pyramidal
	reniform
	scutiform
	stellate
	tabular
❷	trapeziform

Abb. 1. Liste der wichtigsten Phytolithen-Typen sowie der bislang gebräuchlichen Trivialnamen, festgelegt durch den International Code for Phytolith Nomenclature (ICPN) (nach Madella et al., 2005). – Abb. 2. Zusammenstellung der Formen von Phytolithen, wie sie zur Beschreibung verwendet werden sollten. Die Begriffe haben griechische oder lateinische Wurzeln, damit eine Übersetzung in andere Sprachen erleichtert werden soll. Außerdem werden spezielle Begriffe für die einheitliche Benennung von Textur und Ornamentierung angegeben (nach Madella et al., 2005).

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

rigen) Pflanzen vor, wobei die Familie der Gräser, die sehr häufig Phytolithen hat, außer Betracht gelassen ist. Auch in 103 Familien mit 225 Gattungen der dikotylen (zweikeimblättrigen) Pflanzen findet man Phytolithen.
Die Phytolithen sind sehr formenreich (Abb. 1) und dauerhaft. Beim Absterben der Pflanzengewebe bleiben sie oft unverändert erhalten und können sich in den Sedimenten anhäufen. Viele Phytolithen sind für bestimmte Pflanzengruppen kennzeichnende Mikrofossilien, sodass sie in günstigen Fällen für die Archäologen und Paläoökologen wichtige Indikatoren sind. Diese an Phytolithen interessierten Forscher haben sich im Jahr 2000 in Brüssel getroffen und die Society for Phytolith Research (SPR) gebildet. Sie haben auch beschlossen, eine Harmonisierung und Standardisierung der Beschreibung und Namengebung der Phytolithen durchzuführen, um die Kommunikation zu erleichtern. Die Zahl der an Phytolithen interessierten Forscher nimmt stetig zu, sodass ein Standardprotokoll für die Beschreibung und Identifizierung wünschenswert erschien. Dieses Protokoll erfordert: Beschreibung der Form (Abb. 2), der Textur und der Ornamentierung, Angaben über Größe und Symmetrie, wobei für die morphometrischen Daten statistische Angaben notwendig sind. Und schließlich sollte eine mikrofotografische Abbildung und/oder eine Zeichnung des Phytolithen (mit Größenangaben) und eine Angabe über den Typ der Zelle, in welcher der Phytolith beobachtet wurde (Haar, Papille, Schließzelle, Epidermiszelle usw.), mitgeliefert werden.
So ergibt sich eine Anzahl Phytolithtypen (Abb. 1), für die durch die SPR Namen festgelegt worden sind, welche dem International Code for Phytolith Nomenclature (ICPN) als Richtschnur dient.

Literaturhinweise

Madella, M., Alexandre, A., Ball, T.: International code for phytolith nomenclature 1,0. Annals of Botany 96, 253–260 (2005).
Runge, F., unter Mitarbeit von Niggemann, I.: Bibliographie der Phytolithkunde. Materialbände des Faches Geographie der Universität Paderborn, 2. Auflage. 1996.

H. F. Linskens, Nijmegen

Buchbesprechung

Dörband, B., Müller, H.: Ernst Abbe – das unbekannte Genie. Spurensuche in Jena, Eisenach, Göttingen und Frankfurt am Main. 478 Seiten, 214 SW-Abbildungen, gebunden, € 24,90, Verlag Dr. Bussert & Stadeler, Jena 2005, ISBN 3-932906-67-5.

Den Mikroskopikern muss Ernst Abbe kaum vorgestellt werden. Er wird den meisten als herausragende Persönlichkeit im Bereich der Mikroskopoptik bekannt sein. Ungeheurer Fleiß, überragende Intelligenz und ein gradliniger Charakter zeichnen Abbes Arbeit und wissenschaftliches Streben aus.
Die Autoren folgen in diesem Buch historischen und gegenwärtigen Spuren Ernst Abbes auf Spaziergängen durch die im Titel genannten Städte. Sie zeigen den Lebensweg des Unternehmers, Wissenschaftlers und Sozialreformers anhand der noch vorhandenen Wirkungsstätten und Gebäude auf. Mittels einer Vielzahl von historischen und neuen Fotos, Abbildungen und Zeichnungen kann der Leser die Spuren von Ernst Abbe zurückverfolgen.
Das von den Autoren mit Liebe zum Detail zusammengestellte Buch wird jeden faszinieren, der an den historischen Aspekten der Mikroskopie interessiert ist.

Klaus Hausmann, Berlin

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Ein Nachlass von Th. Mortensen aus den Pionierjahren der Meiobenthologie – Eine mit der ersten Meiofaunadredge gefangene unbekannte Richtersia-Art

Gunnar Gad

Manch kleines Detail, das ein Archäologe mühsam ans Tageslicht holt und einer breiten Öffentlichkeit präsentiert, kann, wenn man es historisch einzuordnen versteht, eine weit gefächerte und spannende Geschichte erzählen. Auch in der Biologie kommt das manchmal vor, hat sie doch ihre Wurzeln in der naturhistorischen Betrachtung und streift deswegen vielfach Grenzbereiche der Geisteswissenschaften. Die Entdeckung der marinen Meiofauna ist eine Geschichte, die angefüllt ist mit Anekdoten über das Aufspüren bizarrer bis dato unbekannter Lebensformen und gewürzt mit Pioniergeist, der von den Stränden der Nord- und Ostsee bis in die Tiefsee der Ozeane führte.

Die hier erzählte Geschichte verdankt ihren Anstoß der Entdeckung von zehn alten mikroskopischen Präparaten, die in der Sammlung des Zoologischen Museums in Kopenhagen deponiert waren. Während eines mehrmonatigen Forschungsaufenthaltes dort wurde die Sammlung dieser mikroskopischen Präparate durchgesehen. Dabei fielen zehn verstaubte Präparate mit vergilbten Etiketten auf. Sie trugen Aufkleber mit handschriftlichen Angaben in Skriptol: am 28.07.1924 hergestellt, gesammelt von Thomas Mortensen im Store Belt (Großer Belt, Ostsee) in 11 m Wassertiefe. Mit Bleistift war der Vermerk hinzugefügt: *enthält Richtersia spec.* Handelte es sich um eine unbestimmte oder gar unbekannte *Richtersia*-Art? Nematoden-Arten der Gattung *Richtersia* werden nicht häufig erwähnt. Eine Überprüfung der zehn Museumsexemplare ergab, dass es sich tatsächlich um eine neue Art handelte. Diese Tatsache war anfangs nicht besonders aufregend, denn die Mehrzahl mariner Nematoden oder Fadenwürmer ist bis heute unbekannt und neue Arten werden fast täglich gefunden. Interessant waren die Angaben wegen der Jahreszahl und der Person, welche die *Richtersia*-Arten in der Ostsee gesammelt hatte, denn Th. Mortensen hat seinen festen Platz in der Geschichte der zoologischen Forschung Dänemarks und ist kein Unbekannter.

Von Beginn bis Mitte des 20. Jahrhunderts lebten viele Koryphäen der Zoologie, deren akademisches Arbeiten bis heute nachwirkt. In der Regel waren es Männer, Spezialisten in ihrem Fach, die zusätzlich in der Lage waren, die Zoologie in ihrer ganzen Vielfalt zu überblicken. Der Erkenntniszuwachs in der Zoologie wie in der gesamten Biologie ist seither so immens, dass zu diesem Überblick heute niemand mehr in der Lage ist.

In Deutschland war Adolf Remane (1898–1976) eine solche Kapazität deren breites und umfassendes Wissen auch in Randbereiche der Biowissenschaften ausstrahlte. Eine seiner Entdeckungen betraf die marine Meiofauna. Er stellte um 1930 fest, dass der Sand an Meeresstränden mit seinem Lückensystem (Interstitium) einen bis dahin unbekannten Lebensraum darstellt (Remane, 1952). Dieser Lebensraum erwies sich als sehr artenreich. Innerhalb kurzer Zeit wurden Hunderte neuer Arten entdeckt. Um im Sandlückensystem leben zu können, mussten diese Organismen ganz eigene Anpassungen entwickeln (Giere, 1993). Ihnen allen gemeinsam ist ein sehr beweglicher Körper, gute Haftorgane und vor allem eine geringe Größe. Das letzte Charakteristikum führte – in Abgrenzung zur der Makrofauna (Tiere über 1 mm Körperlänge) – zu der Bezeichnung Meiofauna (Tiere unter 1 mm bis 36 µm Körper-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

größe; meion = kleiner, Fauna = Tierwelt). Von fast allen marinen wirbellosen Tiergruppen, welche die Ozeane besiedeln, gibt es auch Vertreter in der Meiofauna. Adolf Remane entdeckte in seinen Pionierjahren, dass es Tiergruppen gibt, die ausschließlich zur marinen Meiofauna gehören.

Thomas Mortensen – Ein Leben für die Zoologie, eine Liebe zu den Echinodermaten und ein Pionier der Meiobenthologie

Als der dänische Zoologe Dr. Thomas Mortensen im hohem Alter von 84 Jahren am 3. April 1952 starb, verlor die Zoologie nicht nur einen ihrer prominentesten, sondern auch einen ihrer ungewöhnlichsten Vertreter. Geboren am 22. Februar 1864 als Sohn eines Schulmeisters in Harløse, begann er 1885 ein Theologiestudium an der Universität von Kopenhagen. Nach intensiver Lektüre von Charles Darwins Abhandlungen änderte sich seine Weltanschauung, und er wechselte das Studienfach und wurde Zoologe. Seine Assistentenzeit verbrachte er in Deutschland am Zoologischen Institut in Gießen, während derer er sich dem Studium von Meeresplankton widmete. Nach seiner Doktorarbeit im Jahre 1897 kehrte er nach Kopenhagen zurück und wurde für viele Jahre Chef-Kurator des Zoologischen Museums (Abb. 1a). Sein Spezialgebiet und seine Passion waren die Stachelhäuter oder Echinodermaten (echinus = Stachel, derma = Haut), deren bekannteste Vertreter Seesterne, Seeigel und Seegurken sind. Bereits während seines Studiums erlag er der Faszination, die von den planktischen Larven der Echinodermaten und ihrer Metamorphose zu den erwachsenen Tieren ausging. Damals begannen die Industrienationen Forschungsschiffe auszurüsten, die mit großer wissenschaftlicher Besatzung und Tonnen von Spezialgerät an Bord aufbrachen, um die unbekannten Tiefen der Ozeane zu erforschen. Th. Mortensen war insofern eine Ausnahme, als er sich zu den meisten seiner Endeckungsfahrten allein und ohne große Logistik begab (Wolff, 1967). Seine einnehmende Persönlichkeit öffnete ihm bei seinen zahlreichen Expeditionen die Türen und Tore lokaler Institutionen oder Regierungen, die anderen die Unterstützung verweigerten.

Wie beschäftigt er auch immer war und wie einfach die Bedingungen waren, unter denen er an Bord von den Schiffen, mit denen er reiste, arbeiten musste, er versäumte es nie, detaillierte Aufzeichnungen über Wassertiefe, Beschaffenheit des Sedimentes, Wetter, Strömungen und Zusammensetzung der Fauna zu machen. Als sorgfältigem Taxonom war ihm klar, dass es für seine Arbeit am besten war, wenn er von jeder Art eine große Anzahl gut konservierter Individuen in seinen Händen hielt. Diese Tiere selbst zu sammeln, garantierte deren gute Fixierung und hatte den Vorteil, dass sie lebend studiert und die Entwicklung ihrer Larven verfolgt werden konnte.

Seine erste große Expedition unternahm er mit 35 Jahren nach Thailand von 1899–1900. Ohne die Fahrt des Schiffes zu verlangsamen, nahm er Planktonproben und sammelte in den seichten Gewässern rund um die Insel Koh Chang wirbellose Tiere mit einer Dredge. Fünf Jahre später war er nach Westindien (Dänisch West Indien) unterwegs. Die dortigen Gewässer waren so artenreich und bescherten ihm so viele fantastische Entdeckungen, dass er in den kommenden Jahren oft versuchte, dort eine meeresbiologische Station unter dänischer Hoheit zu errichten. Th. Mortensens längste Reise erfolgte in den Jahren 1913–1916, in denen er mit vielen verschiedenen Handels- und Forschungsschiffen weiträumig den Pazifik bereiste. Das Foto (Abb. 1b) stammt von Bord eines japanischen Vermessungsschiffes, auf dem er als Gast mitfuhr. Zu seinen Füßen stapeln sich die Gläser mit den vielen von ihm gesammelten und bereits konservierten Stachelhäutern. Auf diese und ähnliche Weise trug er ein enormes Material zusammen und war so in der Lage, selbst während des ersten Weltkrieges die Bestände des Zoologischen Museums in Kopenhagen aufzufüllen. Im Jahre 1921 segelte er mit der Ost Asien Kompanie nach Java und weiter in indonesische und nordaustralische Gewässer. Die Idee einer meeresbiologischen Station in Westindien hatte er aufgegeben und suchte nun hier nach einem geeigneten Platz. Sieben Jahre später kehrte er 1929 nach Indonesien zurück und sammelte zusätzlich rund um Südafrika, Madagaskar und Mauritius. Auf diesen Fahrten hatte er ein neues Gerät dabei: Seine Meiofauna-Dredge. Viele der Tiere, die er auf diesen Reisen gesammelt hatte, wurden von Kollegen im In- und Ausland bearbeitet. Die Ergebnisse erschienen in der Monographienreihe *Collected Papers from Dr. Th. Mortensen's Pacific Expedition 1914–16*, deren

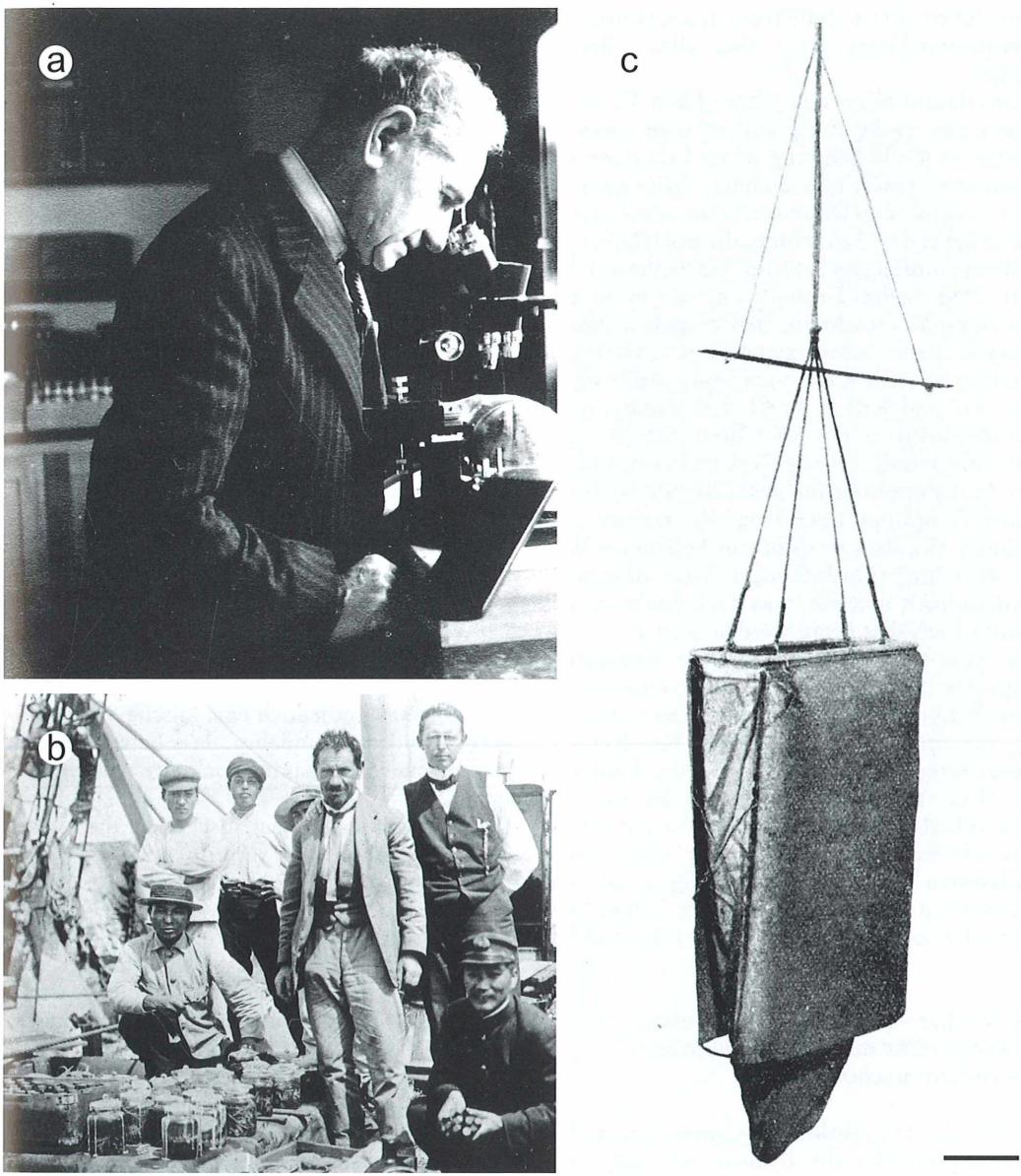


Abb. 1: a Dr. Th. Mortensen beim Studieren eines Seeigelskelettes. b Dr. Th. Mortensen (Mitte) an Bord des japanischen Vermessungsschiffes *Hyatori Maru* im Sommer 1914 mit gefangenen und konservierten Stachelhäutern zu seinen Füßen. Die Aufnahme stammt von seiner Pazifik-Expedition in den Jahren 1913–1916. c Das Original von Mortensens Meiofauna-Dredge aus dem Jahre 1924; Maßstrich 10 cm (Quelle: Archiv des Zoologischen Museum der Universität Kopenhagen).

Druck von der Carlsberg-Foundation (der Stiftung der berühmten Kopenhagener Brauerei) finanziert wurde, und die auch die Ergebnisse späterer Expeditionen umfasste. Über die Jahre wurden in dieser Reihe mehr als 100 Monographien veröffentlicht, die rund 6.000 Seiten umfassten. Das Meiste stammte aus Th. Mortensens eigener Feder. Noch mit siebzig Jahren unternahm er eine letzte große Expedition, die ihn zu einer biologischen Station am Roten

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Meer führte. Dort studierte er noch einmal die Larvalentwicklung seiner über alles geliebten Seeigel.

In den darauf folgenden Jahren blieb Th. Mortensen nur wenig Zeit, weil er seine gesamte Energie in die Vollendung seines Lebenswerkes investierte, einer umfassenden Monographie über *Seeigel der Weltmeere*. Die Basis dafür war seine eigene Sammlung, die noch heute die weltweit umfangreichste für Stachelhäuter ist. Von allen Seeigel-Exemplaren, die er in der Monographie beschrieb, ließ er neben Zeichnungen auch Schwarzweißfotos exzellenter Qualität herstellen, die noch heute überzeugen. Den 16. und letzten Band der Monographie veröffentlichte er mit 84 Jahren kurz vor seinem Lebensende. Dieses Werk stellt noch heute den Ausgangspunkt für jeden dar, der sich mit dieser Tiergruppe beschäftig. Es zeichnet sich dadurch aus, dass es nicht nur bekanntes Wissen und neue Entdeckungen zusammenfasst, sondern auch umreißt, was nach Meinung des Autors noch alles getan werden müsste.

Wie viele große Zoologen seiner Generation zeigte Th. Mortensen stets großes Interesse an allen technischen und methodischen Neuerungen in seinem Fach und deren Randgebiete. Dieses Interesse, verbunden mit der Fähigkeit die Neuerungen auch umsetzen zu können, trug sicherlich zu seiner akademischen Größe und seinem Erfolg bei. So war eines seiner wichtigsten Arbeitsgeräte die Dredge, mit der er aus allen Wassertiefen und von jedem Substrat oder Sediment Stachelhäuter erbeutete.

Die Dredge – Erfolgsgeschichte eines Arbeitsgerätes aus den Pionierjahren der Tiefseeforschung

Anfang des 19. Jahrhunderts entwickelten Naturwissenschaftler die Dredge, ein festes und massives Grundnetz, mit dem es erstmals möglich war, Steine, Geröll, Sediment und die darin lebenden oder daran haftenden Tiere vom Meeresgrund heraufzuholen. Damit verblassten die Mythen und Legenden von Sagentieren auf dem Meeresboden und auch der Glaube, dass die Tiefen der Ozeane unbelebt seien. Einer der Pioniere war der Ire Edward Forbes (1815–1854), geboren auf der Isle of Man. Er war anfangs erfolgloser Künstler, Philosoph und Dichter, der aus Leidenschaft für Naturgeschichte das auf elterlichen Druck begonnene Medizinstudium abgebrochen hatte. Anstatt sich in Edinburgh in medizinische Bücher zu vertiefen, unternahm er 1833 eine botanische Exkursion nach Norwegen und begann endgültig Naturgeschichte in Paris zu studieren, bevor er nach Algerien reiste, um sich mit Süßwasser- und Landschnecken zu beschäftigen. Mit 24 Jahren war er zwar als Künstler gescheitert und als Naturforscher noch wenig erfolgreich, aber im Umgang mit der Dredge war er ein Perfektionist. Diesen Ruf setzte er ein, um die *Britische Gesellschaft für die Förderung der Wissenschaften* zu bewegen, einen Dredgen-Ausschuss zu gründen, dem zu Beginn faktisch nur er allein angehörte. Nun stellten sich auch die ersehnten beruflichen Erfolge ein, und er wurde zeitweise Wissenschaftsoffizier an Bord von Schiffen der englischen Marine, so auch der *H.M.S. Beacon*, die 1841 den Auftrag hatte, die Ägäis zu vermessen. Edward Forbes benutzte eine kleine Dredge mit dreieckigem Metallrahmen und grobem Netz aus Leder. Während der Expedition im Mittelmeer setzte er sie über hundertmal ein, wobei er in Tiefen von 2–420 m viele verschiedene Tierarten sammelte. Aus dem Ergebnis seiner Fänge zog er jedoch eine falsche Schlussfolgerung, indem er annahm, dass Lebewesen mit zunehmender Tiefe immer seltener würden und unter 550 m eine azoische Zone ohne jegliches Leben begänne. Zu seinem Pech ist die Tiefsee der Ägäis faunistisch verarmt und somit kein repräsentatives Beprobungsgebiet. Außerdem hatte Forbes kleine Dredge vermutlich zu große Maschen und eine zu weite Öffnung, um die Tiere aus großer Tiefe, die häufig kleiner sind als ihre Verwandten in flacheren Gewässern (Herring, 2002), sicher nach oben zu bringen. Erst 1869 an Bord des bekannten Kanonenbootes *Porcupine*, das später als Forschungsschiff umgebaut 1872 die historische *Challenger-Expedition* unternahm, wurde der Irrtum von E. Forbes azoischer Zone korrigiert. Aus 4.388 m Tiefe wurden im Juli 1869 Vertreter fast aller Gruppen makroskopischer mariner Wirbelloser heraufgeholt. Allerdings stellte man während der ersten Probennahmen fest, dass die Konstruktion einer Dredge über deren Erfolg oder Misserfolg entscheidet. Anfänglich bestand die eingesetzte Dredge aus einem grobmaschigen Sack mit einem Zentimeter Maschenweite, der an einen Metallrahmen mit den Maßen 1,35 × 0,15 m befestigt war. Während des Einsatzes dieser Dredge entwich das meiste Sediment durch die Maschen, und Tiere ließen sich damit

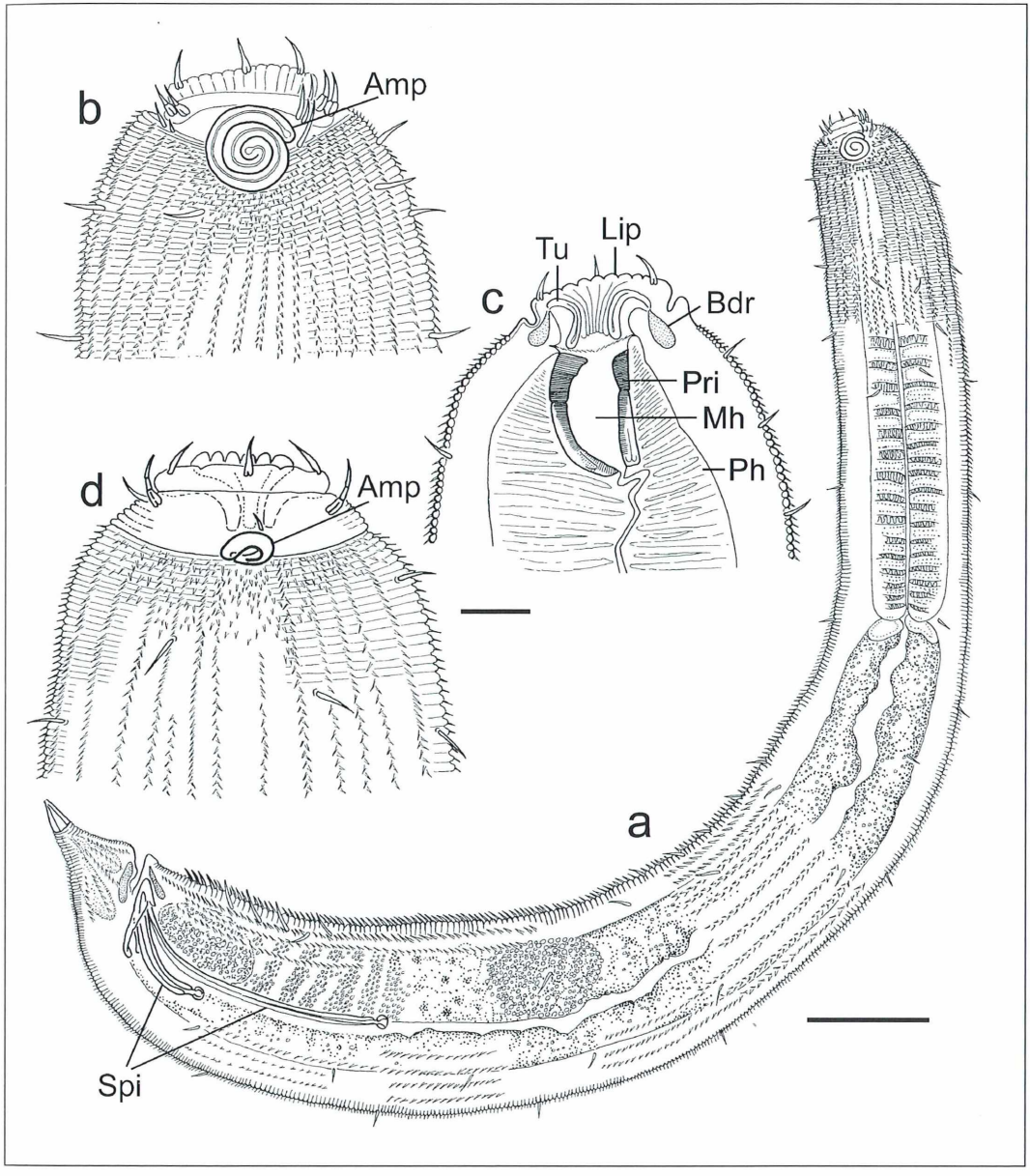


Abb. 2: *Richtersia* spec., Lateralansichten, Zeichnungen von Museumspräparaten. Das Material wurde im Jahre 1924 mit Mortensens Meiofauna-Dredge im Großen Belt (Ostsee) gesammelt. a Habitus eines Männchens mit unterschiedlich ausgebildeten Spicula (Spi), Maßstriche 50 µm. b Kopfende eines Männchens mit großen spiraligen Amphiden (Amp), Maßstrich 25 µm. c Mundhöhle (Mh) eines Männchens mit Buccaldrüsen (Bdr), Lippen (Lip), Pharynx (Ph), Prismen (Pri) und Tubulus (Tu), Maßstrich 25 µm. d Kopfende eines Weibchens mit kleinen schlaufenförmigen Amphiden (Amp), Maßstrich 25 µm.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

auch kaum fangen. Dafür waren etliche der angelandeten Tiere außen an dem Netz festgeheftet. Die Lösung des Problems bestand in groben Hanfknäueln, die an Bord als Scheuerlappen dienten und außen an der Dredge angebracht wurden. Mit ihnen wurde der Meeresboden geradezu geputzt, denn in ihnen verfing sich alles, was rau und beweglich war. Vor dem Konstruktionsproblem einer Dredge stand übrigens auch Mortensen, als er ein Gerät für das Fangen von Meiofauna entwickeln wollte.

Mortensens Meiofauna-Dredge

Thomas Mortensen hatte von Remanes Entdeckungen und Arbeiten über die Meiofauna gehört. Aufgrund seiner Erfahrung mit Echinodermaten verfolgte er die Studien dänischer Kollegen über die Rolle von Detritus (feine organische Partikel) in der Meeresökologie. Es war ihm aus eigener Beobachtung bekannt, dass viele Stachelhäuter – beispielsweise Seegurken und Seeigel – Detritus-Fresser sind. Er war außerdem der Meinung, dass sich auch die Tiere der marinen Meiofauna hauptsächlich von Detritus ernähren. Diese Ansicht galt es nun zu untermauern. Während sich die Strand- oder Ufergrabung als einfache Methode zur Gewinnung von Meiofauna schnell durchsetzte, grübelte Mortensen über ein anderes Problem nach: Wie ließe sich Meiofauna nicht nur vom Strand aus, sondern auch von Schiffen aus in größeren Wassertiefen sammeln?
Da er erfahren im Einsatz von Dredgen zum Fangen von Makrofauna, speziell von Stachelhäutern war, entschloss er sich eine Dredge für Meiofauna zu bauen. Die Entwicklung dieser Dredge, die ersten Versuche damit, anschließende Verbesserungen sowie ihren Einsatz an unterschiedlichen Orten beschrieb Mortensen 1925 in einem Aufsatz für die museumseigene Zeitschriftenreihe *Videnskabelinge Meddelelser*. Eigentlich waren die Aufsätze in dieser Zeitschrift in Dänisch; damit aber seine Kollegen im Ausland auch davon Notiz nahmen, erschien der Aufsatz in englischer Sprache mit dem Titel *An apparatus for catching the microfauna of the sea-bottom*. Das Problem mit anderen damals eingesetzten Probenahmegeräten wie Greifern war, dass die oberen Schichten des Sediments samt Detritus beim Bergen davon gespült wurden. Mortensen war überzeugt, dass deswegen die meisten Tiere der Meiofauna verloren gingen, denn sie lebten dort inmitten ihrer Nahrung. Die Methode von Petersen, mit einem Backengreifer die oberen Sedimentschichten fast ungestört an Bord zu holen und sie dann abzuziehen, war damals für quantitative Studien unübertroffen. Das war auch Mortensen bewusst, doch er fand diese Methode wegen der geringen Ausbeute an Tieren unbefriedigend. Viele Tiere der Meiofauna kommen in so geringen Dichten vor, dass es größerer Sedimentmengen bedarf, um mehr als vereinzelte Exemplare zu fangen. In dieser Hinsicht dachte Mortensen in erster Linie wie ein Taxonom. Was nützte es, interessante neue Tiergruppen oder Tierarten zu finden, wenn man nicht genügend Exemplare zum Vergleichen hatte. Es musste also ein Gerät geben, das in der Lage war, über eine längere Stecke nur die oberste Bodenschicht komplett aufzunehmen.
Um 1920 begann Mortensen intensive Untersuchungen der Meiofauna von Sandstränden entlang dänischer Küsten. Seine Beobachtungen veröffentlichte er ebenfalls in den *Videnskabelinge Meddelelser* unter dem Titel *Biologiske Studier over Sandstrandfaunaen, saerlig ved de danske Kyster*. Dabei begnügte er sich nicht mit den klassischen Ufergrabungen von Chappusius (1942), sondern schabte die oberste Bodenschicht von Wattflächen ab, die vor Wellengang und Strömungen geschützt waren. Die Ergebnisse übertrafen seine Erwartungen und bestärkten ihn in seinem Entschluss, ein Gerät nach seinen Vorstellungen zu bauen (Abb. 1c). Das wichtigste Problem bestand darin, dass das Gerät nicht zu tief ins Sediment einsinken durfte, sondern nur die oberste Schicht abschaben und einsammeln sollte. Er nahm ein feinmaschiges Netz, wie es zum Fangen von Plankton verwendet wurde, und nähte daraus einen trichterförmigen Sack, der an einem rechteckigen Metallrahmen befestigt wurde. Auf diese Weise hatte er ein kleines Schleppnetz hergestellt. Die nicht zu feine Maschenweite Nr. 10 (100 µm) wurde gewählt, damit das Wasser gut durch die Netzmaschen dringen konnte und das Gerät nicht eine Bugwelle vor sich her schob, welche das Sediment weggedrückt hätte, statt es einzusammeln. Dass die Netzmaschen größer waren als die meisten Meiofauna-Tiere, war grundsätzlich nicht entscheidend, da das Netz in der Regel so schnell verstopfte, dass die Tiere in ihm hängen blieben. Außerdem nahm Mortensen zwei Zinkbleche, die er an den Kanten abrundete und auf beiden Seiten des Netzes

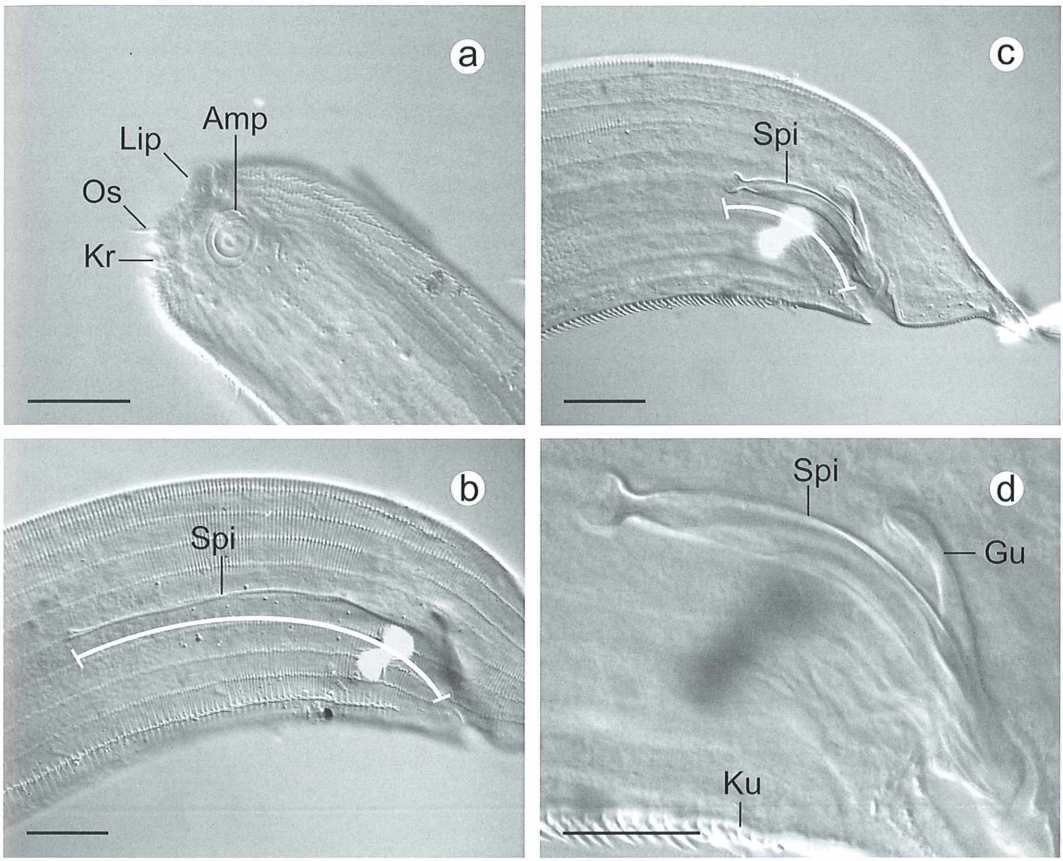


Abb. 3: *Richtersia* spec., Männchen, Lateralansicht, Fotos von einem Museumspräparat. a Kopfende eines Männchens mit großen spiraligen Amphiden (Amp), Kr Kragen, Lip Lippenregion, Os Oralsensillen; Maßstrich 25 µm. b Langes und borstenförmig dünn ausgebildetes rechtes Spiculum (Spi), Maßstrich 25 µm. c Kurzes und massiv ausgebildetes linkes Spiculum (Spi) oder Begattungsstachel, Maßstrich 25 µm. d Details des Gubernaculums (Gu), das als Führung die Spitze des linken Spiculums (Spi) umfasst, Ku Kutikula, Maßstrich 10 µm. Alle Fotos differentieller Interferenzkontrast (DIK).

anbrachte. Am vorderen Rahmen waren die Bleche fester, an den Seiten lockerer miteinander verbunden. Die Bleche wirkten wie ein Schlitten und verhinderten das Einsinken der Meiofauna-Dredge in weiches Sediment. Sie waren so angebracht, dass es keine Rolle spielte, mit welcher Seite die Meiofauna-Dredge auf den Boden auftraf; sie war auf jeden Fall beidseitig funktionsfähig. Die Bleche schützten zusätzlich das feine Netz, während es über den Meeresboden geschleift wurde und dabei auf scharfen Sand, Felsen, Muschelschalen oder Wrackteile traf. Für den Fall, dass die Meiofauna-Dredge auf härterem Grund wie Sandböden eingesetzt werden sollte, wurde ein Eisenstab in einiger Entfernung quer vor ihrer Öffnung angebracht. Der Eisenstab schleifte über den Sandboden und wirbelte die oberste Bodenschicht auf. Die Entfernung des Eisenstabs vor der Öffnung konnte so variiert werden, dass im Idealfall die schweren Sandkörner schon wieder auf den Boden gesunken waren, bevor Detritusflocken samt Meiofauna das Netz erreichten und eingesammelt wurden. Die erste Meiofauna-Dredge war klein; die Bleche, die auf der Abbildung 1c zu erkennen sind, hatten eine Länge von 50 cm und waren 35 cm breit. Die flexible aber feste Verbindung der Bleche erlaubte es, die gesamte Dredge zu einer handlichen Größe zusammenzufalten.

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Meiofauna-Dredgen dieses Typs haben sich bis heute nicht wesentlich verändert. Robert P. Higgins setzte auf Island eine Dredge ein, die aus einer massiveren, kastenförmigen Stahlöffnung bestand. Der lange Beutel aus feinem Netz wurde anstelle von zwei Blechen auf beiden Seiten von zwei Gummimatten geschützt. Eine Weiterentwicklung der Meiofauna-Dredge stellt der Meiofauna-Schlitten dar. Einen solchen beschreibt Higgins 1964 in einer seiner Publikationen. Abbildung 5 zeigt ein Gerät, dass sich noch besser bei höherer Geschwindigkeit über den Untergrund schleppen lässt. Einer der größten Nachteile von Meiofauna-Dredgen ist, dass sie nur langsam gefahren werden dürfen, weil sie sich zu schnell mit Sediment füllen und dann an dem Gewicht zu zerreißen oder gar ganz abzureißen drohen.

Mortensen schreibt in seinem Artikel, dass er im Sommer 1924 an Bord des Forschungskutters *Japetus Steenstrup* der Biologischen Station seine Meiofauna-Dredge intensiv in dänischen Gewässern testet, unter anderem im Großen Belt und im Limfjord. Die Resultate begeisterten ihn, so dass er beschloss, seine Erfahrungen mit der Meiofauna-Dredge zu publizieren. In den folgenden Jahren setzte er die Dredge erfolgreich auf all seinen Expeditionen ein. Die Präparate mit der unbekannten *Richtersia*-Art stammten vom Großen Belt und wurden im Jahre 1924 hergestellt. Das stimmt mit Mortensens ersten Tests mit seiner neu angefertigten Meiofauna-Dredge überein.

Nematoden der Gattung Richtersia

Über die meisten frei lebenden marinen Nematoden ist nicht viel bekannt, so auch über die Nematoden der Gattung *Richtersia*, die von G. Steiner errichtet wurde (Steiner, 1916). Zur Begründung für die Benennung dieser Gattung schreibt er: *Ich erlaube mir, dieses neue Genus nach dem vor kurzem verstorbenen Herrn Prof. Dr. Richters in Frankfurt a. M. zu benennen. Er wurde auf die interessante Form aufmerksam, als er die Spülproben nach Tardigraden (Bärtierchen) durchsuchte, und hat mir ein erstes Exemplar übersandt.* Rund 21 Arten sind inzwischen bekannt. Davon sind jedoch nur 13 Arten gut beschrieben. Von den restlichen acht Arten gibt es als Belege nur vereinzelte, unzureichend bearbeitete Exemplare. Dennoch gibt es etliche Besonderheiten zu berichten. Alle *Richtersia*-Arten haben einen plumpen, nahezu zylindrischen Körper, der dicht mit charakteristischen Längsreihen borstiger Stacheln bedeckt ist. Dieses Merkmal macht sie unverwechselbar, denn sie erinnern an kleine Flaschenbürsten. Die fein geringelte Kutikula der äußeren Körperwand ist oft gelblich oder rötlich gefärbt und in der Schicht darunter befinden sich manchmal braunrote Einschlüsse öligen Inhalts (Abb. 4b). Einige Arten wie *R. bathyalis* haben eine Körperlänge von nur 300 µm und gehören damit zu den kleinsten bekannten marinen Nematoden (Soetaert und Vincx, 1987). Eine nicht beschriebene Art von der Großen Meteorbank (Atlantik) hat sogar nur eine Körperlänge von 148 µm. Bei so kurzen Körpern wird der Schlundmuskel, der Pharynx, im Verhältnis zur Körperlänge sehr lang. Er erreicht in den kurzen *Richtersia*-Arten über ein Drittel der Körperlänge und lässt nur wenig Raum für den Darm. Der Grund dafür ist die funktionelle Notwendigkeit, Nahrung in den Darm zu pressen, der bei allen Nematoden unter starkem hydrostatischen Druck in der Leibeshöhle steht. Diese Aufgabe kann der Pharynx anscheinend nur bis zu einer bestimmten Länge erfüllen, die nicht unterschritten werden darf. Die untere Grenze dafür scheint bei den *Richtersia*-Arten erreicht zu sein. Die Verkürzung des Körpers hat auch entscheidende Folgen für die Fortbewegung (Roggen, 1971). So bemerkte Riemann (1966), dass diese kleinen Nematoden nur ganz langsame Körperkrümmungen durchführen und somit im Vergleich mit anderen Nematoden des gleichen Lebensraumes sehr träge erscheinen.

Eine weitere Besonderheit ist, dass die Männchen von sieben Arten unterschiedlich ausgebildete Begattungsstacheln (Spicula) haben. Bei männlichen Nematoden befindet sich das Paar Begattungsstacheln in einer Ausbuchtung des Darms vor dem After und wird während der Begattung in die Vagina des Weibchens eingeführt, die sich in der Körpermitte befindet. Zum Beispiel sind bei *Richtersia inaequalis*, wie der Artname (inaequalis heißt ungleich) schon andeutet, die Spicula von unterschiedlicher Länge und Struktur (Riemann, 1966). Auch bei der unbekannten Art aus dem Kopenhagener Museum ist ein Spiculum kurz (Abb. 3c), steif und kräftig sowie stark sklerotisiert, während das andere (Abb. 3b) sehr dünn, flexibel, borstenförmig dünn und mehr als dreimal so lang ist. Der Grund für diese Spezialisierung

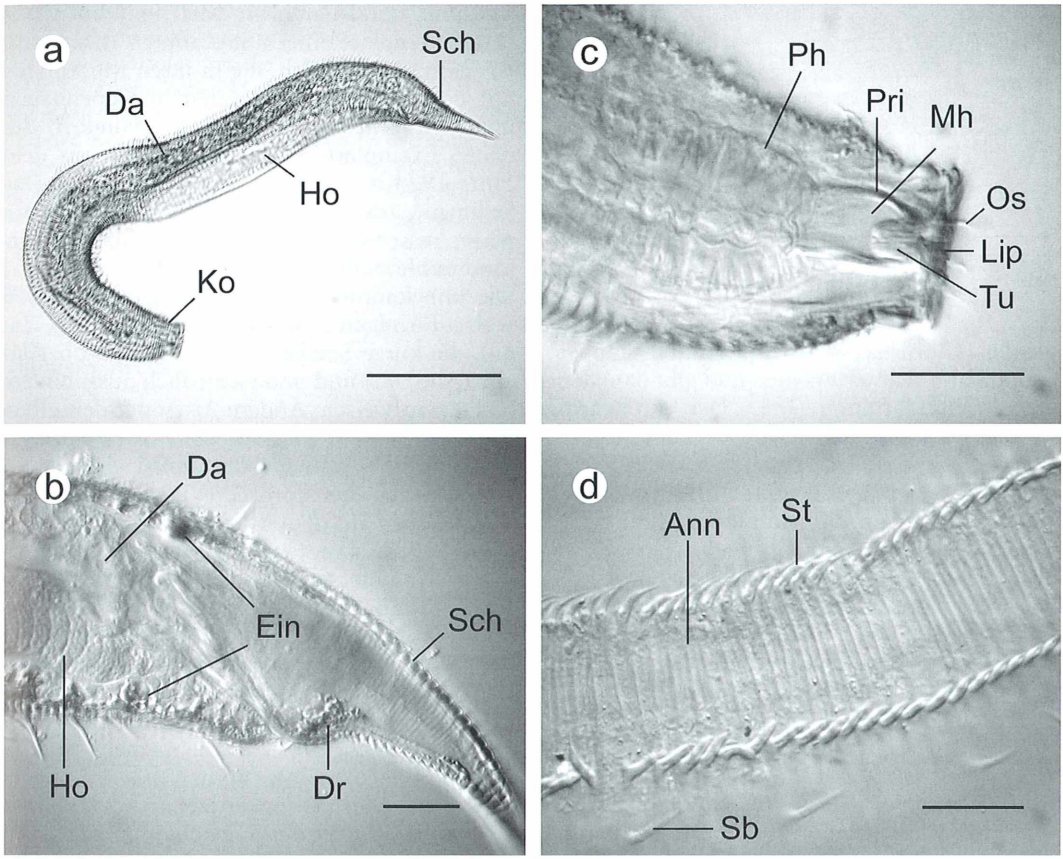


Abb. 4: *Richtersia* spec., Männchen, Lateralansicht, Fotos von einem Exemplar der gleichen Art, das 2003 in der Ostsee ebenfalls in der Nähe des Großen Belts im Sandboden entdeckt wurde. a Habitus, Da Darm, Ho Hoden, Ko Kopfende, Sch Schwanz, Maßstrich 100 µm. b Hinterende mit Hoden (Ho) und dunkelroten Einschlüssen (Ein) unter der Kutikula, Da Darm, Dr Drüse, Sch Schwanz, Maßstrich 25 µm. c Mundhöhle (Mh) und Beginn des Pharynx (Ph), Lip Lippen, Os Oralsensillen, Pri Prismen oder kutikulare Balken, Tu Tubulus, Maßstrich 25 µm. d Körperoberfläche mit engen Annuli (Ann) und Längsreihen kleiner Stacheln (St) sowie Sinnesborsten (Sb), Maßstrich 10 µm (DIK).

der Spicula ist nicht bekannt, und es erscheint seltsam, dass diese Dualität nur bei einigen und nicht bei allen Arten vorkommt. Es wäre denkbar, dass das kräftige und kurze Spiculum dazu dient, eine noch besser Verankerung in der Vagina des Weibchens gewährleisten, während das lange Spiculum tief eindringt und dabei die Spermien überträgt.

Die Gattung *Richtersia* gehört zu der großen Gruppe der Chromadorida, deren Vertretern eine kräftige, helmartige Kopfkapsel mit dicken Wänden fehlt. Bei den *Richtersia*-Arten sind außerdem die teils großen und spiraligen Seitensinnesorgane oder Amphiden (Abb. 2b) auf einer engen Kragenregion oder einem ringförmigen Wulst angeordnet, dem sich eine sehr weite und flexible Lippenregion anschließt.

Die immense Vielfalt in der äußeren Gestalt mariner Nematoden geht einher mit einer ebenso großen Variation des Nahrungsaufnahmeapparates. Die Mundhöhlen können mit kutikularen Strukturen wie Zähnchen, Stiletten, Raspeln und Plättchen ausgestattet sein. Auf diese Weise lässt sich jede verfügbare Nahrungsquelle nutzen. *Richtersia*-Arten haben eine weite Mundhöhle (Soetaert und Vincx, 1987), deren Wände von 12 langen kutikularen Längsbalken, so genannten Prismen, gebildet

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

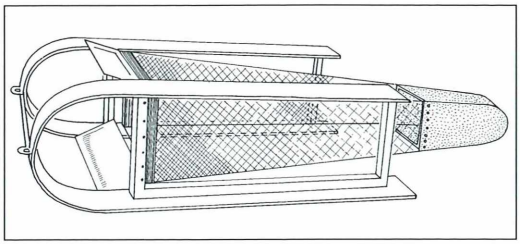


Abb. 5: Meiofauna-Schlitten nach Higgins (1964).

werden (Abb. 2c, 4b). Die flexible Lippenregion kann sich weit öffnen und gibt dann eine große Mundöffnung frei. Der Lippenring schließt 12 kurze und feste Röhrchen (Tuben) ein, die nach weit außen gebogen werden können und so die Lippen öffnen und gleichzeitig stützen. Rund um die Mundhöhle sind gelbliche Drüsenpakete angeordnet, deren Sekrete über die 12 Lippentuben nach außen abgegeben werden können. *Richtersia*-Arten leben in sandigen Sedimenten und kommen in fast allen Weltmeeren vor (Soetaert und Vincx, 1987). Der Gehalt an feinem Detritus spielt für ihr Vorkommen anscheinend eine untergeordnete Rolle, denn sie werden im groben nährstoffarmen Kalksand ebenso wie im feinen nährstoffreichen Quarzsand gefunden (Soetaert und Vincx, 1987; Riemann, 1966). Die Gestaltung der Mundhöhle deutet daraufhin, dass sie sich sowohl von organischem Material als auch von hartenschaligen Kieselalgen ernähren können. Die 12 kutikularen Prismen der Mundhöhle erlauben ein Aufbrechen harter Nahrung, die weiten Lippen das Abweiden organischer Beläge.

Die Exemplare aus der Kopenhagener Sammlung

Obwohl die 10 Kopenhagener Museumsexemplare der unbekannten *Richtersia*-Art über 80 Jahre alt sind, sind sechs davon noch gut erhalten. Über die Jahre sind die Nematoden unter dem Gewicht der Deckgläschen zwar stark gequetscht worden und im Einbettungsmedium, Kanadabalsam, haben sich etliche kleine Bündel nadelförmiger Kristalle gebildet. Dennoch lassen sich die entscheidenden Details gut erkennen (Abb. 3). Erfreulich ist, dass während einer Ausfahrt in die Ostsee mit dem Forschungskutter *Littorina* des Instituts für Meereskunde der Universität Kiel im Jahre 2002 neue Exemplare einer unbekannten *Richtersia*-Art gefunden wurden, die in ihren Merkmalen mit den Museumsexemplaren in Kopenhagen übereinstimmen (Abb. 4). Der Fundort der neuen Exemplare ist der gleiche wie aus dem Jahre 1924 in der Nähe des Großen Belts. Das Sediment, aus dem die neuen *Richtersia*-Exemplare aussortiert wurden, war feiner Quarzsand mit hohem Detritusanteil.

Die unbekannte *Richtersia*-Art gehört zu den walzenförmigen Arten der Gattung (Abb. 2a, 4a), die kurze Stacheln auf der Körperoberfläche (Abb. 4d) und unterschiedlich ausgebildete Spicula aufweisen. Andere Arten mit denselben Merkmalen sind beispielsweise *R. inaequalis* aus dem Elbe-Aestuar (Riemann, 1966), *R. deconincki* aus der Nordsee (Vincx, 1981) oder *R. coomansi* aus dem Mittelmeer (Soetaert und Vincx, 1987). Die neue von Mortensen konservierte Art unterscheidet sich von den anderen schon bekannten Arten dadurch, dass sie relativ kurz ist, die großen spiraligen Amphiden der Männchen vergleichsweise wenige Windungen aufweisen (Abb. 2b) und die Stachelreihen der Körperoberfläche eine spezifische Struktur haben. Die kurzen Stacheln sind in den Längsreihen abschnittsweise in einem Zick-Zack-Muster angeordnet (Abb. 2a), wie es noch deutlicher bei *R. coomansi* vorkommt (Soetaert und Vincx, 1987). Außer in den Gonaden zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Geschlechtern in der Struktur der Amphiden, die beim Weibchen nicht groß und spiralig, sondern klein und schlaufenförmig sind (Abb. 2d). Die neuen Exemplare aus dem Jahre 2002 zeigen außerdem noch Merkmale, die bei den Museumsexemplaren durch die damalige Fixierung und die lange Lagerung heute nicht mehr erkennbar sind. So ist die Kutikula von einer kräftigen gelblichen Färbung und die zahlreichen rotbraunen Einschlüsse im Bereich des Pharynx und des Hinterendes (Abb. 4c) sind gut zu erkennen. Die unbekannte Art wird neu zu beschreiben und zu Ehren von Th. Mortensen in Anerkennung seiner Verdienste für die Meiobenthologie zu benennen sein.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt den Kollegen und Mitarbeitern des Zoologischen Museums in Kopenhagen, vor allem Dr. Thorben Wolff, Prof. Dr. R. M. Kris-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

tensen und Iben Heiner. Der Abdruck der Fotos von Dr. Th. Mortensen und seiner Meiofauna-Dredge (Abb. 1a–c) erfolgt mit der freundlichen Genehmigung des Zoologischen Museums der Universität Kopenhagen. Ich möchte außerdem Herrn Prof. Dr. Gerhard Kortum vom Institut für Meereskunde der Universität Kiel und der Besatzung des Forschungskutters *Littorina*, besonders Kapitän Ohl, für die Möglichkeit danken, Proben in der Ostsee zu nehmen. Für die hilfreichen Anmerkungen zum Manuskript danke ich Herrn Prof. Dr. H. K. Schminke und Ole Riemann.

Literaturhinweise

Chappuis, P. A.: Eine neue Methode zur Untersuchung der Grundwasserfauna. Acta Universitatis Lundensis. Medica mathematica scientiae rerum naturalium *6*, 3–7 (1942).

Giere, O.: Meiobenthology: The microscopic fauna in aquatic sediments. Springer Verlag, Berlin 1993.

Herring, P.: The biology of the deep ocean. Oxford University Press Inc., New York 2002.

Higgins, R. P.: Three new kinorhynchs from the North Carolina Coast. Bulletin of Marine Science of the Gulf and Caribbean *14*, 479–493 (1964).

Kunzig, R.: Der unsichtbare Kontinent – die Entdeckung der Meerestiefen. Marebuchverlag, Hamburg 2002.

Mortensen, Th.: An apparatus for catching the micro-fauna of the sea-bottom. Videnskabelige meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i Kjøbenhavn *80*, 445–541 (1925).

Remane, A.: Die Besiedlung des Sandbodens im Meere und die Bedeutung der Lebensformtypen für die Ökologie. Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft 1951, Zoologischer Anzeiger (Suppl.) *16*, 327–359 (1952).

Riemann, F.: Die interstitielle Fauna im Elbe-Aestuar: Verbreitung und Systematik. Archiv für Hydrobiologie *31* (Suppl.), 1–279 (1966).

Roggen, D. R.: Functional aspects of the lower size-limit of nematodes. Nematologica *16*, 532–536 (1971).

Steiner, G.: Freilebende Nematoden aus der Barentsee. Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik *39*, 511–676 (1916).

Soetaert, K., Vincx, M.: Six new *Richtersia* species (Nematoda, Selachinematidae) from the Mediterranean Sea. Zoologica Scripta *16*, 125–142 (1987).

Vincx, M.: New and little known nematodes from the North Sea. Cahiers de Biologie Marine *22*, 431–451 (1981).

Wolff, T.: Danske ekspeditioner på verdenshavene – Danish expeditions on the seven seas. Rhodos International Science and Art Publishers, Copenhagen 1967.

Verfasser: Dr. Gunnar Gad, Fakultät V (Mathematik und Naturwissenschaften), Institut für Biologie & Umweltwissenschaften, AG Zoosystematik und Morphologie, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, D-26111 Oldenburg,
E-Mail: gunnar.gad@uni-oldenburg.de

Buchbesprechung

Starke, D. H. K.: Erste Anfänge der Naturwissenschaften – Eine geschichtliche Betrachtung, 2. Auflage. 437 Seiten, kartoniert, € 29,80, Verlag Harri Deutsch, Frankfurt am Main 2006, ISBN 3-8171-1775-2.

Die Geschichte der Naturwissenschaften kann man in die antike, die arabisch-islamische, die klassische und die moderne Periode unterteilen. Das vorliegende Buch konzentriert sich auf die erste Periode.

Aus der Sicht eines Physikers behandelt der Autor die giechisch-naturphilosophische Ideenwelt und stellt deren Auswirkung auf die spätere Zeit dar, wobei die Vorsokratiker und die Bedeutung des philosophischen Dreigestirns Sokrates-Platon-Aristoteles besonders gewürdigt werden. Ergänzungen in Form von Anmerkungen zum jeweiligen Thema erhöhen das Verständnis und verdeutlichen den Bezug zum Mittelalter und zur Jetztzeit.

Eine willkommene Zusammenstellung für jeden, der an der Historie der Naturwissenschaften Gefallen findet!

Thomas Groß, Heidelberg

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Plankton der Meere – Einzellige Kostbarkeiten aus ozeanischem Oberflächenwasser

Teil 1: Diatomeen, Dinoflagellaten, Foraminiferen, Ciliaten

Klaus Hausmann

Im Verlaufe einer mehrwöchigen Expedition im Südatlantik mit dem deutschen Forschungsschiff METEOR (Abb. 1) im Frühjahr 2005, welche der Erforschung der Tiefseefauna gewidmet war, gab es naturgemäß Wartezeiten. Diese entstanden dadurch, dass die Probenahmegeräte Zeiträume von mehreren Stunden benötigen, um auf den rund 5.000 Meter tief gelegenen Meeresboden zu gelangen, die gewünschten Proben zu nehmen und wieder an Bord gebracht zu werden. Während dieser Zeit wurde primär die im Probengang davor genommene Ausbeute gesichtet und für den Transport in die heimischen Institute vorbereitet. Neben diesen Tätigkeiten stand aber auch immer wieder etwas Zeit zur Verfügung, um ein konventionelles Planktonnetz einzusetzen und Proben aus den rund ersten zehn Metern des Meeresoberflächenwassers zu nehmen (Abb. 2).

Die Arbeitsgruppe Protozoologie, bestehend aus Forschern der Freien Universität Berlin und der Universität zu Köln, deren wissenschaftliches Interesse sich speziell auf heterotrophe Nanoflagellaten (sich tierisch ernährende Geißeltierchen) konzentrierte, hatte an Bord beste, mit Videoanlagen ausgerüstete Lichtmikroskope zur Verfügung (Abb. 3). Primär dienten diese Geräte der unmittelbaren Lebenduntersuchung der Tiefseeproben. Mit ihnen konnte man allerdings auch hervorragend Planktonproben aus dem Oberflächenwasser durchmustern, dokumentieren und bestimmen (Hofrichter, 2001, 2003; Larink und Westheide, 2006; Riedel, 1983; Tomas, 1997).

Es war eine Freude, unmittelbar nach Probennahme an Bord frisches, lebendes Planktonmaterial zu Gesicht zu bekommen. Neben den vielzelligen, dabei aber vielfach durchaus mikroskopisch kleinen Organismen interessierten natürlich speziell die einzelligen Lebewesen. Und nur davon soll in diesem Bericht die Rede sein.

Im Verlaufe der Zeit kamen Vertreter aus verschiedenen Einzellergruppen unter die Objektive: Kieselalgen (Diatomeen), Panzergeißler (Dinoflagellaten), Kämmerlinge (Foraminiferen), Wimpertiere (Ciliaten) und natürlich insbesondere die für die Meere so typischen Strahlentiere (Radiolarien). Letztere sind Gegenstand des zweiten Teils dieses Berichtes.

Abb. 1: Das rund 100 Meter lange Forschungsschiff METEOR.

Abb. 2: Planktonnahme bei etwas rauer See.

Kieselalgen (Diatomeen)

Kieselalgen gehören zu den bedeutendsten Primärproduzenten in den küstennahen Gebieten der Weltmeere. Das heißt, dass diese Einzeller durch ihre Photosyntheseaktivität den für die Bewohner der Erdatmosphäre – unter anderen also auch für uns Menschen – so wichtigen Sauerstoff produzieren und dabei zusätzlich Lichtenergie (Sonnenlicht) in chemische Energie (z. B. Zucker) umsetzen.
Kieselalgen (Diatomeen, Bacillariophyceen) dürften jedem Tümpler geläufig sein. Seit Beginn seines Bestehens bis heute wird im MIKROKOSMOS immer wieder über diese „Organismen im Glashaus" berichtet, photosynthetisch aktive Einzeller, die von einer zweiteiligen Kieselsäureschale umgeben sind. Man weiß zwei große Gruppen zu unterscheiden, nämlich die länglichen Pennaten und die runden Zentralen (Kalbe, 1980; Krammer, 1986). Während die pennaten Formen hauptsächlich benthisch, also substratgebunden leben, finden sich die Zentralen oft im Plankton der Meere.
So nimmt es nicht Wunder, dass man in der Netzprobe schnell genau auf diese Einzeller trifft. Allerdings sind sie sehr oft zu Fäden mit langen Fortsätzen zusammengefügt, die nicht unbedingt auf Anhieb eine schnelle Zuordnung zu den zentralen Diatomeen ermöglichen (Abb. 4). Aber wenn man einmal dieses Bauprinzip, welches natürlich das Schweben im Wasser unterstützen soll, erfasst hat, und wenn man die Gelegenheit hatte, Einzelzellen in Aufsicht zu sehen (Abb. 5), kann man die vorgefundenen Fadenformationen zumindest entsprechenden Gattungen zuordnen. Die Bestimmung bis auf die Art ist in der Regel nicht so einfach vorzunehmen und sollte deshalb zunächst hintanstehen.

Panzergeißler (Dinoflagellaten)

Diese Einzeller gehören ebenfalls zu den wichtigsten Primärproduzenten der Meere. Auf den ersten Blick sehen sie recht bizarr aus. Lange, oft hornförmige Schwebefortsätze sind typisch

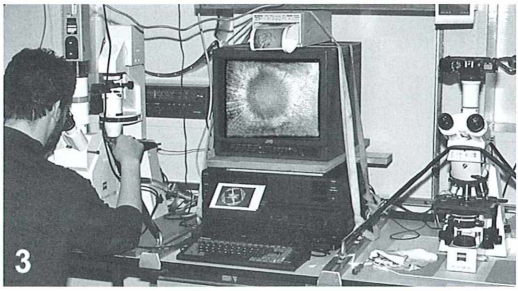
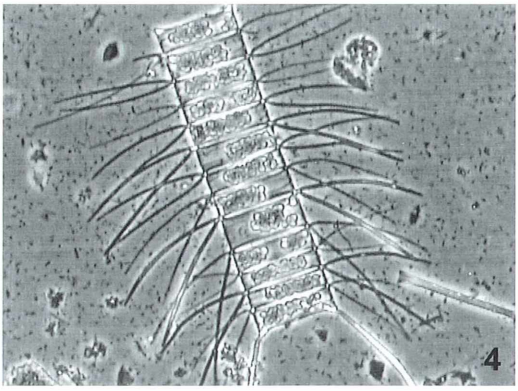


Abb. 3: Die mit Videoanlagen ausgerüsteten Lichtmikroskope im Labor der Protozoologen sind mit Spanngurten gegen die Auswirkungen unerwarteter Schiffsbewegungen gut gesichert.



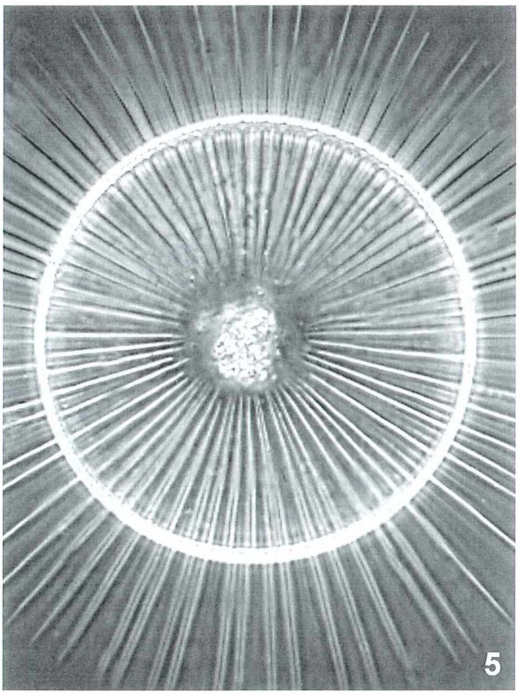


Abb. 4 und 5: Zentrische Diatomeen in Fadenformation (Abb. 4) und in Aufsicht einer einzigen Zelle (Abb. 5).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

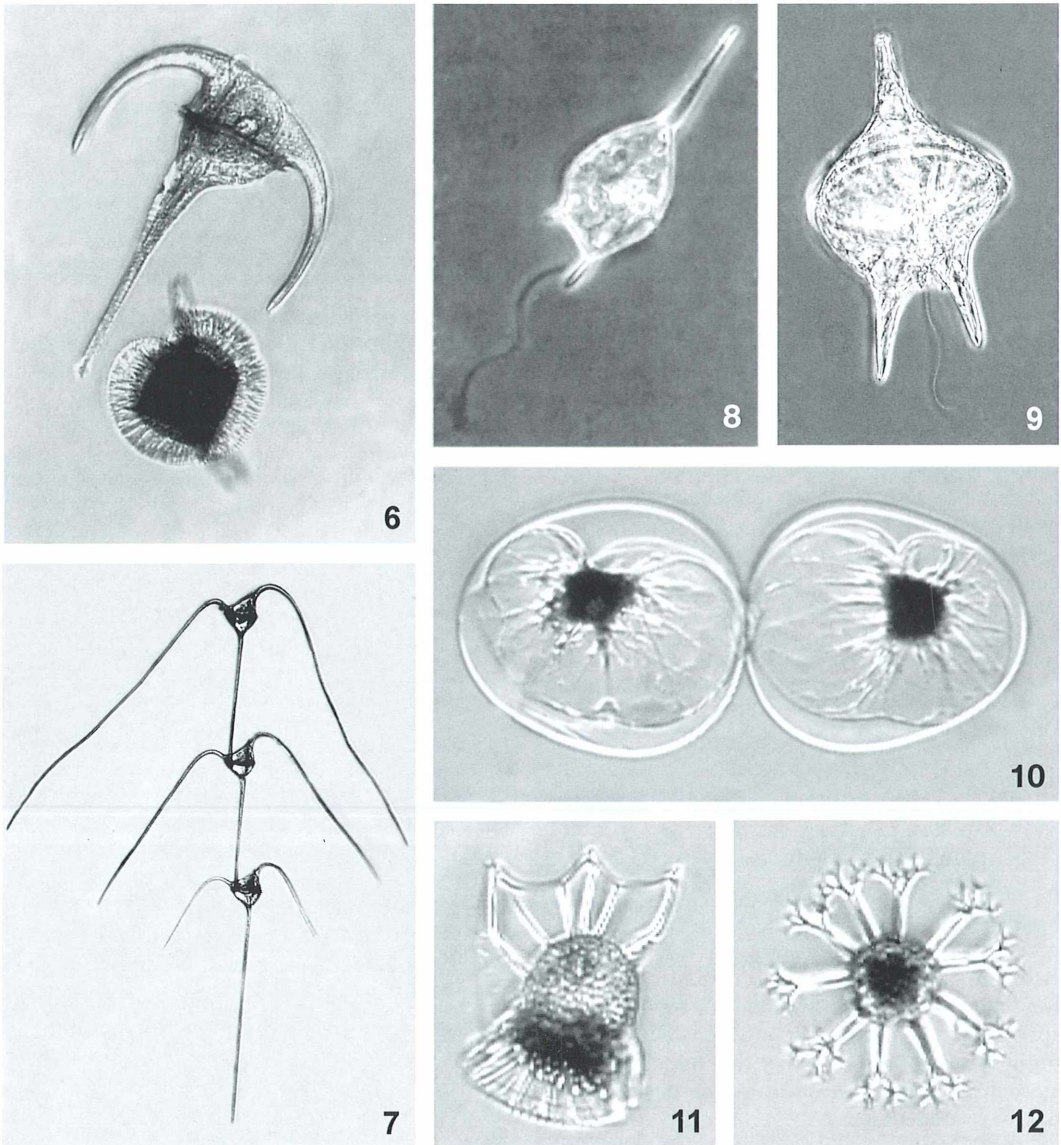


Abb. 6–12: Dinoflagellaten. *Ceratium* mit hornförmigen Fortsätzen (Abb. 6, oben) und in Kettenformation (Abb. 7). Längsflagellum, gut sichtbar im Phasenkontrast, bei *Ceratium* (Abb. 8) und *Peridinium* (Abb. 9). *Pyrocystis* in Teilung (Abb. 10). *Ornithocercus* mit bizarren Körperauswüchsen (Abb. 6, unten, und Abb. 11). Dinoflagellatencyste (Abb. 12).

(Abb. 6 und 7). Auch hier beobachtet man eine das Schweben im Wasser unterstützende Kettenbildung (Abb. 7), aber bei weitem nicht so oft und nicht so ausgeprägt wie bei den Diatomeen.

Dinoflagellaten vermitteln zunächst einen etwas statischen Eindruck, bis man dann beobachtet, wie eine lange Geißel ausgefahren wird, die den Organismus vorantreibt (Abb. 8 und 9). Außer der Längsgeißel findet sich typischerweise eine Quergeißel, die in einer ringförmigen Furche die Zelle umzieht (Abb. 9). Diese Art der Begeißelung ist es übrigens, die zur Bezeichnung Dinoflagellaten geführt hat. Das

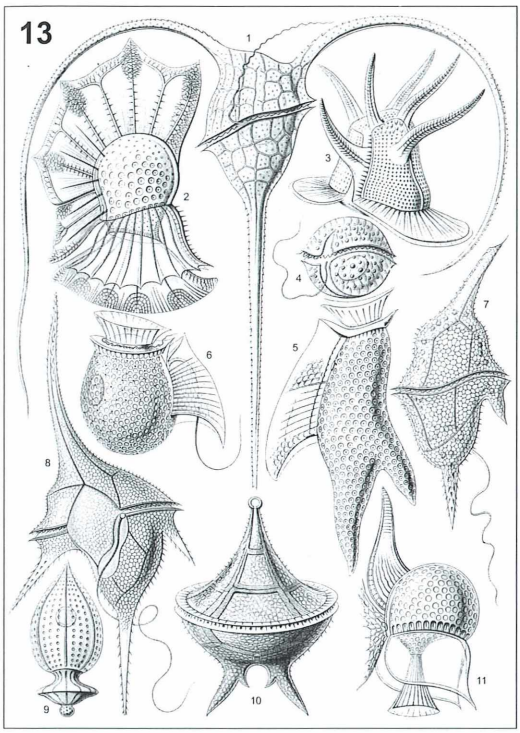


Abb. 13: Ausgefallene Zellformen von Dinoflagellaten: 1 *Ceratium tripos*, 2 *Ornithocercus magnificus*, 3 *Ceratocorys horrida*, 4 *Goniodoma acuminatum*, 5 *Dinophysis homunculus*, 6 *Dinophysis sphaerica*, 7 *Ceratium cornutum*, 8 *Ceratium macroceros*, 9 *Pyrgidium pyriforme*, 10 *Peridinium divergens*, 11 *Histioneis remora* (Tafel 14 aus Ernst Haeckel: Kunstformen der Natur, 1899–1904).

Verb dinein stammt nämlich aus dem Griechischen und bedeutet soviel wie herumwirbeln. Und das ist typisch für viele Dinoflagellaten, dass sie um die eigene Körperachse kreiselnd, vielfach etwas torkelnd umher schwimmen.

Die deutsche Bezeichnung Panzergeißler hat ihren Ursprung in den Panzerplatten aus Zellulose, die sich innerhalb der Zelle, unmittelbar unter der Plasmamembran in abgeflachten Vakuolen, den so genannten Amphiesmata finden. Es liegt also eine intrazelluläre Panzerung vor, nicht etwa eine feste Außenhülle. Wenn von ungepanzerten Dinoflagellaten die Rede ist, dann bedeutet dieses, dass diese Formen zwar unter der Plasmamembran die typischen Amphiesmata (= Alveolen) besitzen. Diese beinhalten dann aber keine Celluloseplatten, sondern sind optisch leer, wohl nur mit klarer Flüssigkeit gefüllt. *Noctiluca scintillans*, der Erreger des Meeresleuchtens, gehört übrigens zu den ungepanzerten Panzergeißlern.

Teilungsfiguren bestimmter Arten (Abb. 10) lassen zunächst etwas zögern, die gefundenen Organismen den Panzergeißlern zuzuordnen. Aber bei genauerer mikroskopischer Analyse und einigem Literaturstudium wird man sich schnell davon überzeugen können, dass es sich auch hierbei um Dinoflagellaten handelt.

Vielfach kann man auch flächige Schwebefortsätze beobachten, die je nach Lage der Zelle auf dem Objektträger die Organismen recht unterschiedlich aussehen lassen (Abb. 6 und 11). Eine wunderschöne Tafel von Ernst Haeckel zu diesem Thema in seinen *Kunstformen der*

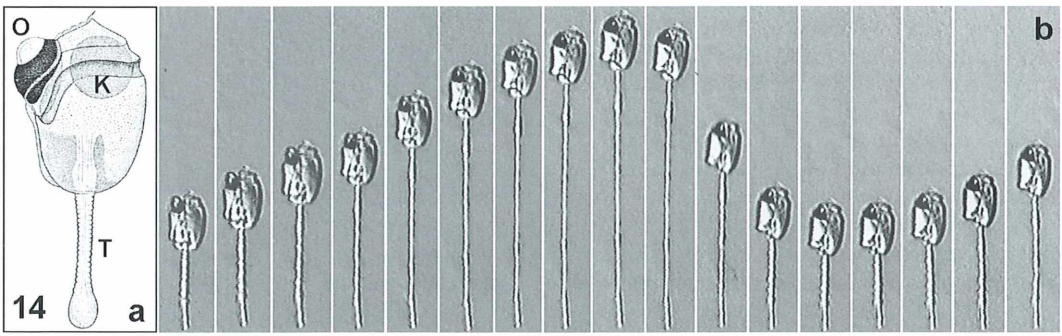


Abb. 14: Habitus des Dinoflagellaten *Erythropsis* (a) mit Kern (K), Ocelloid (O) und Tentakel (T). Dokumentation der Tentakelaktivität mit Hilfe von Einzelbildern einer videographischen Aufnahme (b). Die Bewegung ist durch eine relativ langsame Elongation des Tentakels (linker Bildteil) und eine sehr schnell erfolgende Kontraktion desselben (rechter Bildteil) gekennzeichnet. Dieser Bildserie liegt eine Videoaufnahme von etwas mehr als einer Sekunde zugrunde.

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

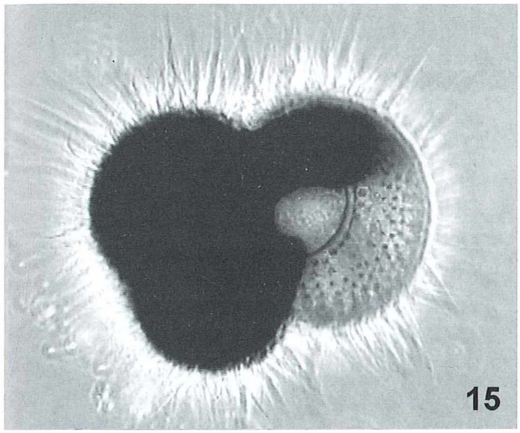
Natur (1899–1904) vermittelt eine plastische Vorstellung von der räumlichen Ausgestaltung dieser Lebewesen (Abb. 13).
Etwas Literaturwissen vorweg bedarf es, Strukturen zuzuordnen, die zunächst überhaupt nichts mit Dinoflagellaten gemein zu haben scheinen. Bei den kugeligen Stachelformen, von denen ein Beispiel in Abbildung 12 wiedergegeben ist, handelt es sich um Zysten von Dinoflagellaten. An dieser Stelle sei auf entsprechende Spezialliteratur über diese Flagellaten verwiesen, in der unter anderem deren teilweise ausgesprochen interessante Lebenszyklen erläutert werden (Spector, 1984; Taylor, 1987).

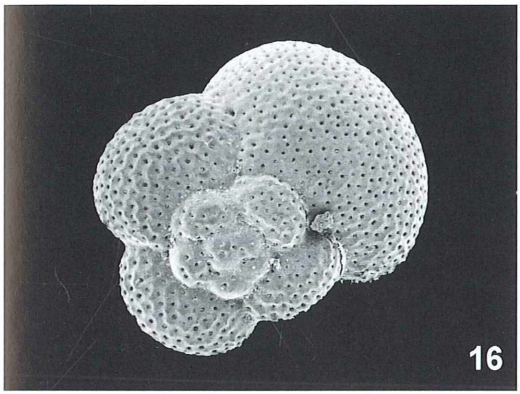
Erythropsis, ein extravaganter Dinoflagellat

Wenn man ganz viel Glück hat – und das war uns beschert –, stößt man auf Panzergeißler, die man allein von ihrem äußeren Erscheinungsbild, das man vielleicht aus der entsprechenden Literatur theoretisch kennt, für absolut unwahrscheinlich hält. Dazu gehören Vertreter der Gattung *Erythropsis*, die eine Struktur aufweisen, die wegen ihrer auffälligen Morphologie als Ocellus (kleines Auge) bezeichnet wird (Abb. 14). Es gibt detaillierte elektronenmikroskopische Untersuchungen dazu, die eine sehr komplexe Ultrastruktur dieses Organells belegen (Greuet, 1968, 1977). Bislang findet sich allerdings nicht der geringste experimentelle Hinweis darauf, dass es sich hierbei tatsächlich um ein Zellelement mit Augenfunktion handelt.
Als wäre das nicht schon abenteuerlich genug, findet sich genau bei diesem Protisten am Hinterende ein als Tentakel bezeichneter Auswuchs, dem man auf den in der Literatur anzutreffenden statischen Zeichnungen der Organismen kaum ein besonderes Interesse schenkt. Wenn man dann den Organismus im Leben beobachtet, wird man sich nur wundern. Denn dieser Fortsatz kann sich unglaublich schnell verlängern und verkürzen. Man schafft es nur mit Mühe, diesen Vorgang videografisch zu dokumentieren (Abb. 14). Im vorgefundenen Präparat war das Ende des Tentakels offenbar am Objektträger festgeklebt. Ob das der Situation in freier Natur entspricht, sei dahingestellt. Auf jeden Fall hat man den Eindruck, dass der Einzeller schnelle Suchbewegungen ausführt. Möglicherweise sucht er nach Nahrung. Was dieser Flagellat frisst und wie dann die Nahrungsaufnahme in Bruchteilen von Sekunden vonstatten gehen soll, ist nicht so recht bekannt. Bekannt ist allerdings, dass er einen komplex aufgebauten Mundapparat besitzt (Greuet, 1969).
Die Ultrastruktur des Tentakels wurde in der Mitte der sechziger Jahre detailliert dargelegt (Greuet, 1967). Man fand keine Elemente, an die man heutzutage auf Anhieb denkt, wenn man im Tierreich Kontraktionen beobachtet, also keine Aktomyosin-Systeme, wie man sie in höchster funktioneller Perfektion beispielsweise aus quergestreiften Muskeln kennt. Stattdessen zeigen sich so genannte Myoneme, die man außer in Einzellern sonst nirgendwo antrifft, und zu Bändern angeordnete Mikrotubuli. Beide Strukturelemente sollen zusammengenommen die auffällige Tentakelaktivität betreiben.
Analysiert man die Kontraktions- und Extensionsbewegung des Tentakels Bild für Bild, fällt sehr schnell auf, dass die Kontraktion offenbar schneller erfolgt als die Elongation (Abb. 14). Das deutet darauf hin, dass der Tentakelkontraktion ein anderer Mechanismus zugrunde liegt als der langsamer erfolgenden Verlängerung. Eine solche Situation kann man auch bei bestimmten heterotrichen Wimpertieren beobachten, beispielsweise beim Trompetentier *Stentor*, wenn sich das gesamte Tier kontrahiert beziehungsweise elongiert (Hausmann et al., 2003). Neben anderen wichtigen Charakteristika (Alveolen, Kernbesonderheiten, komplexe Fressapparate) kann man das soeben beschriebene Kontraktionsverhalten als einen weiteren Hinweis dafür werten, dass Dinoflagellaten, Apicomplexa (ehemals Coccidien) und Ciliaten sich während der Evolution aus einem gemeinsamen Vorfahren entwickelt haben. Es gibt heutzutage kaum noch Stimmen, die gegen eine Zusammenfassung dieser Einzeller zum Taxon Alveolata sprechen.

Kämmerlinge (Foraminiferen)

Die durch ein meist gekammertes Außengehäuse gekennzeichneten Foraminiferen (= Kämmerlinge) sind eine gattungs- und artenreiche, von jeher den Amöben zugeordnete Einzellergruppe fast ausschließlich der Meere, die man allerdings nicht so sehr im Plankton vermutet, sondern eher als substratgebundene Formen vom Meeresboden oder von Algen-Thalli und anderen Hartsubstraten kennt (Gupta, 2002; Lee





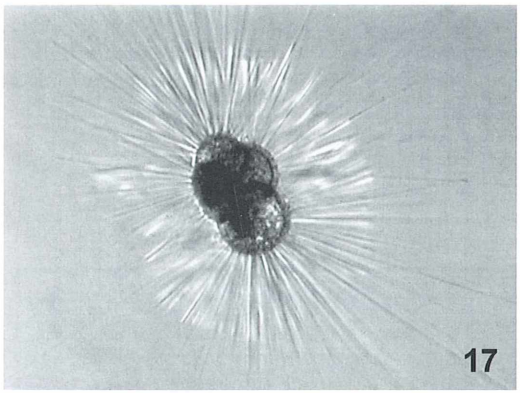


Abb. 15–18: Foraminiferen. – Abb. 15: Ein großer Anteil der planktischen Formen gehört zu den Globigerinen. – Abb. 16: Kammeranordnung im rasterelektronenmikroskopischen Bild. – Abb. 17: Vielfach sind lange Schwebefortsätze ausgebildet.

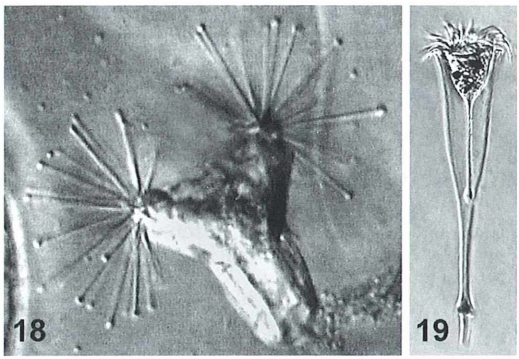


Abb. 18 und 19: Ciliaten. – Abb. 18: Ein Sauginfusor (Suctor) der Gattung *Acineta* hat auf einem Partikelaggregat den nötigen festen Untergrund gefunden. – Abb. 19: Tintinnide der Gattung *Rhabdonellopsis* in ihrem gattungsspezifischen Gehäuse.

und Anderson, 1991; Murray, 1971, 1979; Nuglisch, 1985).

Die in den Planktonproben gesichteten Forams (Abb. 15–17), wie sie gerne von den wissenschaftlichen Spezialisten dieser Forschungsdisziplin genannt werden, gehören in der Regel den Globigerinen an (Abb. 15), deren Gehäuse durch kugelige Kammern gekennzeichnet sind, was besonders im Rasterelektronenmikroskop deutlich wird (Abb. 16). Bei den Planktern sind oft zarte, fragile Schwebefortsätze ausgebildet (Abb. 17).

Wimpertiere (Ciliaten)

Natürlich gibt es auch Wimpertiere im Plankton des Oberflächenwassers der Meere (Göke, 1963). Wenn die Ciliaten in diesem Bericht nur marginal gestreift werden, dann deshalb, weil wahrscheinlich das Planktonnetz, das eingesetzt wurde, eine zu weite Maschenweite aufwies. Das hatte zur Folge, dass wohl nur die etwas sperrigeren Vertreter dieser prinzipiell wichtigen Einzellergruppe eingefangen wurden. Das waren dann beispielsweise sessile, auf Detritusaggregaten aufsitzende Sauginfusorien (Suktorien) (Abb. 18) oder die mit ihren typischen, selbstgebauten amphoren-, tüten- oder rohrförmigen Gehäusen umher schwimmenden Tintinniden (Abb. 19). Hin und wieder wurden auch sessile peritriche Ciliaten gefunden, die dann in großer Anzahl mit ihren kontraktilen

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Stielen beispielsweise an *Chaetoceros*-Fäden (Diatomeen) festgeheftet waren und durch ihre hin und wieder kurzfristig unterbrochene Filtrieraktivität beeindruckten.

Literaturhinweise

Göke, G.: Meeresprotozoen (Foraminiferen, Radiolarien, Tintinninen). Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1963.

Greuet, C.: Organisation ultrastructurale du tentacule d'*Erythropsis pavillardi* Kofoid et Swezy, Péridinien, Warnowiidae Lindemann. Protistologica *3*, 335–346 (1967).

Greuet, C.: Organisation ultrastructurale de l'ocelle de deux Péridiniens Warnowiidae, *Erythropsis pavillardi* Kofoid et Swezy et de *Warnovia pulchra* Schiller. Protistologica *4*, 209–230 (1968).

Greuet, C.: Étude morphologique et ultrastructurale du trophonte d'*Erythropsis pavillardi* Kofoid et Swezy. Protistologica *5*, 481–504 (1969).

Greuet, C.: Évolution structurale et ultrastructurale de l'ocelloide d'*Erythropsidinium pavillardi* Kofoid et Swezy (Péridinien, Warnowiidae Lindemann) au cours des divisions binaire et palintomiques. Protistologca *13*, 127–143 (1977).

Gupta, B. K. S. (ed.): Modern Foraminifera. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 2002.

Haeckel, E.: Kunstformen der Natur. Verlag des Bibliographischen Instituts, Leipzig 1899–1904.

Hausmann, K., Hülsmann, N., Radek, R.: Protistology, 3rd. edition. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 2003.

Hofrichter, R. (Hrsg.): Das Mittelmeer – Fauna, Flora, Ökologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2001 (Teil 1), 2003 (Teil 2).

Kalbe, L.: Kieselalgen in Binnengewässern – Diatomeen, 2. Auflage. Die Neue Brehm-Bücherei, Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1980.

Kofoid, C. A., Swezy, O.: The free-living unarmored Dinoflagellata. University of California Press, Berkeley 1921.

Krammer, K.: Kieselalgen – Biologie, Baupläne der Zellwand, Untersuchungsmethoden. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1986.

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

Lee, J. J., Anderson, O. R. (eds.): Biology of Foraminifera. Academic Press, London 1991.

Murray, J. W.: An atlas of British recent foraminiferids. Heinemann Educational Books, London 1971.

Murray, J. W.: British nearshore foraminiferids – Keys and notes for the identification of the species. Academic Press, London 1979.

Nuglisch, K.: Foraminiferen – Marine Mikroorganismen. Die Neue Brehm-Bücherei, Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1985.

Riedel, R. (Hrsg.): Fauna und Flora des Mittelmeeres, 3. Auflage. Paul Parey, Hamburg 1983.

Spector, D. L. (ed.): Dinoflagellates. Academic Press, New York 1984.

Taylor, F. J. R. (ed.): The biology of dinoflagellates. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.

Tomas, C. R. (ed.): Identifying marine phytoplankton. Academic Press, London 1997.

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

Stiften Sie Lebenshilfe!

Bringen Sie einen Teil Ihres Vermögens in die Lebenshilfe-Stiftung „Tom Mutters" ein.

Sichern Sie Zukunft für Menschen mit geistiger Behinderung!

Wir beraten Sie gerne:
Grit Lahmann, Tel. (06421) 491-218, Fax (06421) 491-618

Lebenshilfe-Stiftung „Tom Mutters", Bundesvereinigung Lebenshilfe e.V., 35043 Marburg, Raiffeisenstraße 18, stiften@lebenshilfe.de, Konto 747475, Marburger Bank (BLZ 53390000)

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Vom Ei zum Adulttier – Mikroskopische Dokumentation der Keimes- und Jugendentwicklung bei ausgewählten Grillenarten

Robert Sturm

Insekten gelten heute in vielen Sparten der Biowissenschaften als unverzichtbare Modellorganismen. Ihre besonderen Vorzüge liegen in ihrer zumeist einfachen Haltung sowie in der Erzielung zum Teil großer Populationen aufgrund hoher Reproduktionsraten. Sehr gut für jegliche Form des Anschauungsunterrichts in Schule und Universität sind vor allem die durch ihre unvollständige Entwicklung gekennzeichneten Geradflügler (Orthopteren) geeignet. In der vorliegenden Studie soll am Beispiel ausgewählter Grillenarten gezeigt werden, wie bereits mit einfachsten Präparationstechniken ein Einblick in die Embryonal- und Larvalentwicklung der Tiere vorgenommen werden kann.

Hemimetabole Insekten, zu welchen beispielsweise die Geradflügler (Orthopteren) mit den uns gut vertrauten Grillen und Heuschrecken zu zählen sind, zeigen im Allgemeinen eine unvollständige Entwicklung, deren Hauptmerkmal in der Einschaltung einer Jugendentwicklung (Larvalphase) zwischen Keimesentwicklung (Embryonalphase) und Geschlechtsperiode (Adultstadium) besteht. Die aus den Eiern schlüpfenden Larven lassen in vielerlei Hinsicht bereits große Ähnlichkeiten mit den ausgewachsenen Tieren erkennen und werden zumeist über mehrere Häutungsstadien an den Habitus der adulten Individuen herangeführt. Bei den Grillen werden im Laufe der Larvalentwicklung unter anderem Hinterleibsanhänge wie etwa der weibliche Eilegestachel, die Flügel sowie die zur Schallwahrnehmung notwendigen Tympanalorgane gebildet, aber auch zahlreiche Organe im Körperinneren (zum Beispiel die Gonaden) erfahren noch eine weitere Ausdifferenzierung (Anderson, 1972). Die Larvalphase dauert je nach betrachteter Orthopterenart zwischen zwei und vier Monaten, wobei exogene Faktoren hier eine bedeutende Rolle spielen.

Der Jugendentwicklung vorgeschaltet ist das Stadium der Keimesentwicklung, innerhalb welcher die befruchtete Eizelle (Zygote) einen komplexen Zellteilungs-, Wachstums- und Differenzierungsprozess mit Anlage der Gewebe und Organe durchläuft und schließlich als Larve aus dem Ei schlüpft. Die Dauer dieses Stadiums ist ebenfalls von Art zu Art sehr unterschiedlich (85 Tage bei der Stabheuschrecke *Carausius morosus*, 13 Tage bei der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria*) und wird zudem wie die Jugendentwicklung von äußeren Faktoren wie Temperatur oder Luftfeuchtigkeit mitbestimmt. Die Komplexität von Embryonal- und Larvalentwicklung ist in der Literatur ausführlich dokumentiert worden (Anderson, 1972; Weber, 1979) und soll im weiteren am Beispiel ausgewählter Orthopterenarten, nämlich der australischen Feldgrille *Teleogryllus commodus*, dem Heimchen *Acheta domesticus* und der Steppengrille *Gryllus assimilis* in groben Zügen anhand diverser mikroskopischer Fotografien dargestellt werden.

Vorgehensweise beim Präparieren der Insekteneier, Larven und Adulttiere

Zucht und Haltung der Grillen mit den dafür notwendigen Utensilien wurden bereits in einem früheren Beitrag im Detail dargestellt (Sturm, 2006). Ergänzend soll hier noch die Eiablage der Grillenweibchen beschrieben werden, da deren Ablauf unter kontrollierten Umweltbedingungen wichtig für eine Dokumentation der Keimesentwicklung erscheint. Zudem ist die möglichst genaue Kenntnis des Zeitpunktes der Oviposition eine zwingende Voraussetzung für eine vollständige mikroskopische Studie der embryonalen Differenzierung. In einem ersten Schritt werden einmal verpaarte Weibchen einzeln in verschließbare Glasgefäße (Volumen 200 ml), in

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

welche zuvor eine mehrere Zentimeter dicke Sandlage gefüllt wurde, übertragen. Die Weibchen werden nach 24 Stunden wieder entfernt und die innerhalb dieses Zeitraums abgelegten Eier bei vorher festgelegten Umweltbedingungen (z.B. 25 °C und 60% relative Luftfeuchtigkeit) inkubiert. In regelmäßigen Zeitabständen werden Eier aus dem Substrat entnommen, nach der unten beschriebenen Art und Weise fixiert und unter dem Lichtmikroskop studiert.

Das wesentliche Problem bei der Untersuchung der Eier besteht in der Undurchsichtigkeit der Eihaut (Chorion), welche jedoch durch ein spezielles, von Groepler (1981) vorgestelltes Fixierungsverfahren großteils beseitigt werden kann. Zu diesem Zweck werden die Eier in eine Mischung aus Alkohol, Formol und Eisessig (50:30:5) eingelegt und im Wärmeschrank bei 40 °C etwa eine Stunde lang behandelt. Nach dieser Prozedur werden die Eier in 70%igen Alkohol zur Spülung und Konservierung übertragen. Für die Mikroskopie werden die Eier gemeinsam mit Ringerlösung auf einem Glasobjektträger positioniert, welcher nach Montierung von Wachsfüßchen als Abstandshalter mit einem Deckglas zu versehen ist.

Für die mikroskopische Untersuchung einzelner Abschnitte der Jugendentwicklung werden entsprechenden Häutungsstadien zuzuordnende Jungtiere – die Häutungsstadien lassen sich anhand der Körperlänge beziehungsweise der Größe einzelner Körperanhänge differenzieren – aus den Zuchtbehältern (50 × 30 × 20 cm) entnommen, im Kohlendioxidstrom betäubt und in 70%igem Alkohol fixiert. Die Mikroskopie erfolgt sodann unter Verwendung des Auflichtmodus. Bei den Adulttieren, welche aufgrund ihrer Größe mit einer normalen Kamera zu fotografieren sind, kann meist von vorbereitenden Maßnahmen abgesehen werden, das heißt, die Tiere werden lebend abgelichtet. Bei längeren Belichtungszeiten empfiehlt sich jedoch eine kurzfristige Narkotisierung der Tiere im CO_2-Strom.

Ablauf der Keimes- und Jugendentwicklung bei Orthopteren

Zum besseren Verständnis der unten beschriebenen Ergebnisse soll zuerst ein grober Überblick über die wichtigsten Phasen der Embryonal- und Larvalentwicklung gegeben werden, wobei die Abbildung 1 eine Veranschaulichung des Beschriebenen bietet. Die Eizellen der hier dokumentierten Grillenarten zeigen jenen für hemimetabole Insekten typischen Dotterreichtum und eine verhältnismäßige Armut an Plasma, welches sich unmittelbar an die Eihaut (Chorion) anlegt. Zu Beginn der Embryogenese – in Abbildung 1 links dargestellt – erfolgt die so genannte Primitiventwicklung, an deren Anfang wiederum die superfizielle Furchung steht. Hierbei teilt sich der befruchtete Eikern mit oftmaliger Wiederholung und die entstehenden Tochterkerne verteilen sich unter der Eihaut, sodass eine einschichtige lockere Zelllage, das Blastoderm, ausgebildet werden kann. Aus dem Blastoderm entwickelt sich die Keimanlage und in weiterer Folge der zweischichtige Keimstreif, welcher bereits die spätere Segmentierung des Tieres ansatzweise erkennen lässt. Der Kopf setzt sich in dieser Phase noch aus drei Segmenten (Mandibel-, 1. und 2. Maxillensegment) zusammen, während der Hinterkörper anfangs völlig ungegliedert bleibt und seine 11 Segmente erst mit weiterer Fortdauer der Embryogenese entwi-

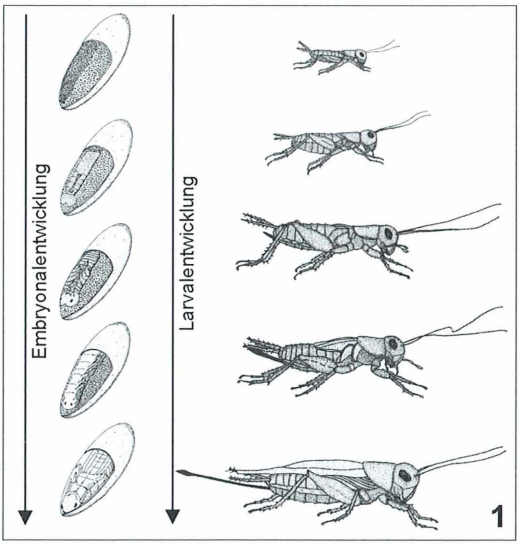


Abb. 1: Schema zur Keimes-(links) und Jugendentwicklung (rechts) bei hemimetabolen Insekten. Dargestellte Embryogenesestadien (von oben nach unten): Keimstreifenentwicklung, Segmentierung, Abschluss der Segmentierung, Bildung der Extremitäten, Keimhülle und Körperhöhle, Endstadium mit Rückenschluss. Die Larvalentwicklung ist vor allem durch eine stetige Veränderung der Körperproportionen sowie die Ausdifferenzierung der Körperanhänge gekennzeichnet.

ckelt. Gleichzeitig mit der Segmentierung vollzieht sich die Anlage der Körpergliedmaßen und Keimhüllen sowie die Ausdifferenzierung der Leibeshöhle, wodurch die Körpergrundgestalt der Grillenembryonen vollendet ist. Die folgende Entwicklungsphase, welche in der Wissenschaft als Keimesbewegung oder Blastokinese bezeichnet wird, bewirkt eine Einrollung des Keimes, auf die eine Kontraktion und Umrollung des Keimstreifs folgen. Dadurch wird der Keim selbst wieder in seine normale Lage zum Dottersystem gebracht – eine Prozedur, die zur Eröffnung der so genannten Amnionhöhle führt und schließlich den Rückenschluss ermöglicht. Der Keimesbewegung folgt die Definitiventwicklung, innerhalb welcher die einzelnen Körperorgane zur Ausbildung gelangen und sich deren histologische Differenzierung vollzieht. Die Embryonalentwicklung findet schließlich ihr Ende mit dem Rückenschluss, bei dem das Amnion dorsal überwachsen wird und degeneriert.

Die Jugendentwicklung der betrachteten Grillenarten – in Abbildung 1 rechts dargestellt – zeigt eine schrittweise Annäherung der äußeren Gestalt des Jungtieres an den Habitus der Imago, wobei jedem Wachstums- und Differenzierungsschritt eine Häutung vorausgeht. Neben einer kontinuierlichen Zellvermehrung, wie sie bereits für die Keimesentwicklung kennzeichnend war, tritt bei der Larvalentwicklung ein intensives Zellwachstum auf, so dass das Körpergewicht auf etwa das Dreißigfache ansteigt, während die Körperlänge um das Zehn- bis Fünfzehnfache anwächst. Ein weiteres Merkmal dieser Phase der Ontogenese ist die fortwährende Veränderung der Körperproportionen, das heißt, der Kopf tritt in seiner Größe allmählich hinter den Thorax zurück, und der Hinterleib nimmt immer mehr an Größe zu. Sehr auffällig innerhalb der Jugendentwicklung erscheint die Anlage der Flügel, welche bei den hier beschriebenen Grillenarten zwischen dem 7. und 9. Häutungsstadium

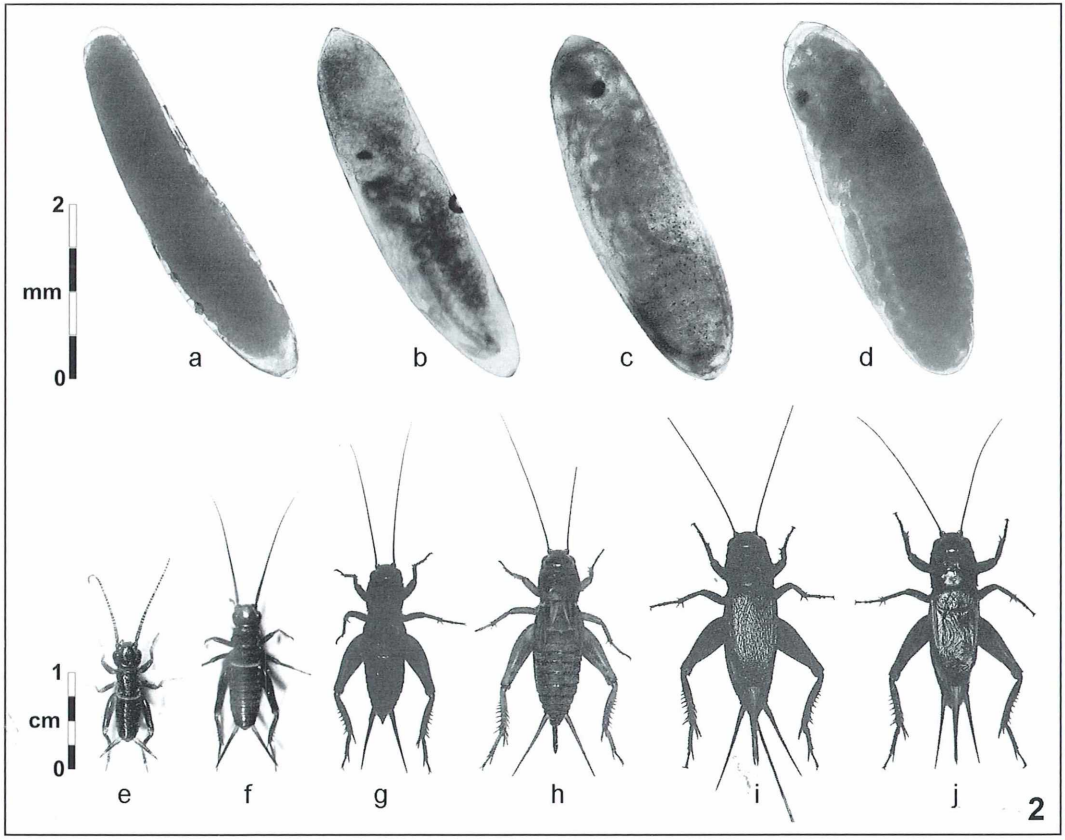


Abb. 2: Embryogenese (a–d), Larvalentwicklung (e–h) und Adulttiere (i Weibchen, j Männchen) von *Teleogryllus commodus*.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

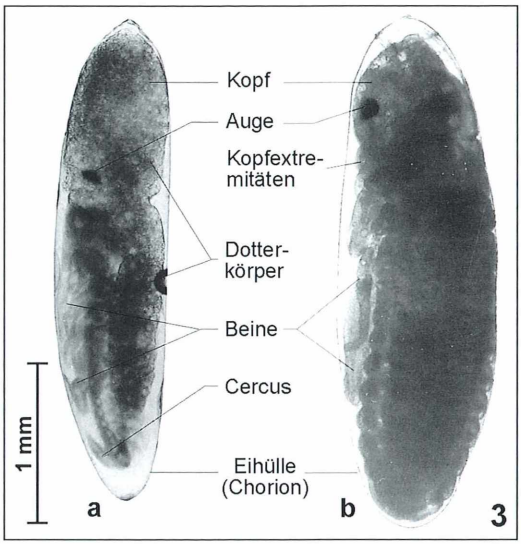


Abb. 3: Detailaufnahmen des mittleren (a) und finalen (b) Embryonalstadiums von *Teleogryllus commodus*.

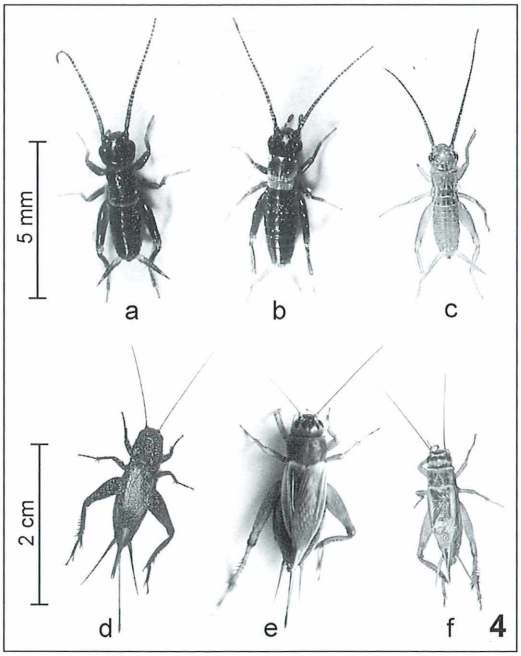


Abb. 4: Larven und Adulttiere der drei hier beschriebenen Grillenarten. a–c Larven. a *Teleogryllus commodus*, b *Gryllus assimilis*, c *Acheta domesticus*. d–f Adulttiere. d Weibchen von *Teleogryllus commodus*, e Weibchen von *Gryllus assimilis*, f Männchen von *Acheta domesticus*.

einsetzt und zuerst zur Ausbildung der lateralen und dorsalen Flügelscheiden führt, welche im weiteren Verlauf eine entsprechende Größenzunahme erfahren. Bei weiblichen Larven startet die Bildung des Ovipositors aus den beiden terminalen Hinterleibssegmenten einheitlich mit dem 7. Häutungsstadium. Die Tympanalorgane, welche der akustischen Sinneswahrnehmung dienen, werden erst im letzten Larvalstadium ausgebildet. Nach der Adult- oder Imaginalhäutung sind die externen Differenzierungsprozesse abgeschlossen, wohingegen die Geschlechtsorgane noch einer weiteren Entwicklung bedürfen, ehe die Tiere nach etwa fünf Tagen ihre vollständige Geschlechtsreife erreichen.

Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen

Abbildung 2 zeigt einzelne Phasen der Keimes- und Jugendentwicklung bei der australischen Feldgrille *Teleogryllus commodus*. Die vier fotografierten Stadien der Embryogenese umfassen einen frühen Abschnitt mit beginnender Primitiventwicklung (Abb. 2a), eine mittlere Phase, in welcher die Körpersegmentierung und Anlage der Extremitäten bereits vollzogen wurde (Abb. 2b), eine späte Phase mit vollständiger Ausbildung der Köpergestalt und nahezu vollzogenem Rückenschluss, sowie jene Phase kurz vor dem Ausschlüpfen des Tieres (Abb. 2d). Die unterhalb der Embryonalstadien dargestellte Jugendentwicklung von *Teleogryllus* zeigt in eindrucksvoller Weise die kontinuierliche Größenzunahme der Larven. Dargestellt sind von links nach rechts das 3.–4., 5., 7. und 9. Häutungsstadium sowie das weibliche und männliche Adulttier. Gut erkennbar sind neben der Längenzunahme die Anlage der Flügel beim 9. Larvalstadium und die Entwicklung des Ovipositors ab dem 7. Larvalstadium.

In Abbildung 3 werden das mittlere und finale Embryogenesestadium der Abbildung 2 vergrößert dargestellt und die Strukturen bezeichnet. Besonders augenscheinlich wird hier der unterschiedliche, oben im Detail beschriebene Differenzierungsgrad zwischen den beiden Stadien. Während im mittleren Stadium die Körpersegmentierung und Entwicklung der Extremitäten am Anfang begriffen sind, zeigt das späte Stadium rechts bereits das voll ausdifferenzierte Tier kurz vor dem Ausschlüpfen (ein Hinweis dafür sind die Perforationsstellen am oberen

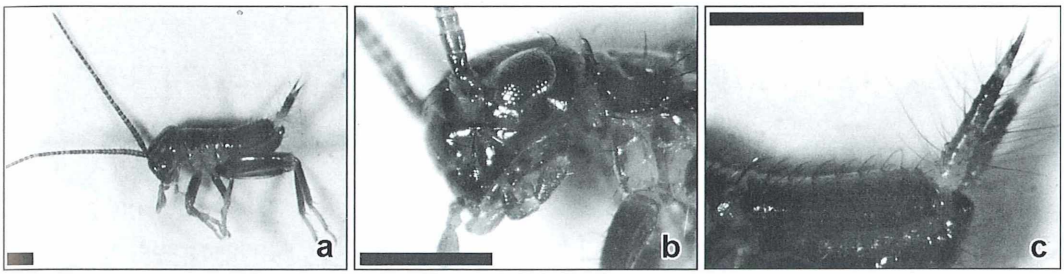


Abb. 5: Larve von *Teleogryllus commodus* (ca. 3. Häutungsstadium). a Übersicht, b Larvenkopf, c Hinterleibsanhänge mit Sinneshärchen. Balken 1 mm.

Ende der Eischale sowie der bei genauem Hinsehen am Larvenkopf erkennbare „Eizahn", welcher zum Aufbrechen des Chorions dient. Beim links dargestellten Stadium fällt zudem der noch deutlich dominierende Dotterkörper auf, welcher jene für die Entwicklung des Embryos notwendigen Energiereserven bereitstellt. Keimes- und Jugendentwicklung verlaufen bei *Teleogryllus commodus*, *Acheta domesticus* und *Gryllus assimilis* nahezu identisch. Um jedoch dem Titel des Beitrages gerecht zu werden, werden in Abbildung 4 jeweils ein frühes Larvenstadium sowie das Adulttier besagter Grillenarten gezeigt. Die Larven gleichen sich in Bezug auf ihren äußeren Habitus sehr; eine Unterscheidung der einzelnen Spezies wird lediglich durch die verschiedenen Körperfärbungen (*Acheta* hellbraun, *Teleogryllus* und *Gryllus* dunkelbraun bis schwarz) sowie durch die hellen Thoraxringe bei *Gryllus* ermöglicht. Die Adulttiere sind schon aufgrund ihrer unterschiedlichen Körpergrößen leichter voneinander differenzierbar, wobei *Gryllus* in der Regel die größten Vertreter hervorbringt (Körperlänge ohne Anhänge über 2 cm), *Acheta* hingegen vergleichsweise eher kleinwüchsig ist (kleiner 2 cm).

Abschließend soll auch die Junglarve von *Teleogryllus* noch einer näheren Betrachtung unterzogen werden (Abb. 5). Wie in Abbildung 5a sehr deutlich zu erkennen ist, gleicht der äußere Habitus der Larve – von den fehlenden Flügeln abgesehen – nahezu der Gestalt des Adulttieres, was als charakteristisch für die Entwicklung hemimetaboler Insekten gilt. Auffällig ist jedoch die noch vorhandene Überproportionierung des Kopfes einerseits und der Körperanhänge (Antennen, Extremitäten, Cerci) andererseits, welche im Vergleich zum Hinterleib sehr groß wirken. Am Kopf (Abb. 5b) sind die Mundwerkzeuge bereits voll ausdifferenziert und ermöglichen dem Tier somit eine ungestörte Nahrungsaufnahme. Die Hinterleibsanhänge (Abb. 5c) sind mit feinsten Härchen besetzt, welche den Larven als Mechanorezeptoren (Tastsinn) dienen.

Resümee

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Studie der Insektenentwicklung für den Mikroskopiker ein durchaus interessantes Betätigungsfeld darstellt, dies nicht zuletzt auch deshalb, weil die Ontogenese nicht einheitlich sondern von Insektenordnung zu Insektenordnung unterschiedlich abläuft und man somit immer wieder neue Erkenntnisse gewinnen kann. Mittels einfacher Präparationstechniken lässt sich ein Einblick in die Keimesentwicklung mit all ihrer Komplexität gewinnen, die jedoch gerade bei den Orthopteren durch entsprechende histologische Studien in Zukunft noch besser zu dokumentieren sein wird.

Literaturhinweise

Anderson. D. T.: The development of hemimetabolous insects. In: Counce, S. J., Waddington, C. H. (eds.): Developmental systems: Insects, Volume I. Academic Press, London 1972.

Groepler, W.: Das Experiment: Embryonalentwicklung Wanderheuschrecke. Biologie in unserer Zeit *11*, 91–94 (1981).

Sturm, R.: Mikroskopischer Einblick in die Anatomie des Insektenabdomens am Beispiel der australischen Feldgrille *Teleogryllus commodus*. Mikrokosmos *95*, 145–152 (2006).

Weber, H.: Grundriß der Insektenkunde, 5. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1979.

Verfasser: Mag. Dr. Robert Sturm, Brunnleitenweg 41, 5061 Elsbethen, Österreich

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Ein einfaches Mikroskopiesystem für Zeitrafferaufnahmen lebender Zellen

Morten Motzfeldt Laane

Hochwertige Zeitraffermikroskopie lebender Zellen erfordert normalerweise für Amateure unerschwingliche Geräte. Die Kosten für solche Aufnahmeeinrichtungen können auch ein Problem für professionelle Wissenschaftler sein. Seit einiger Zeit ermöglichen jedoch digitaltechnische Entwicklungen, Videos von Zellbewegungen und Zellverhalten bei niedrigen Kosten und mit nur wenigen technischen Problemen aufzunehmen. Hier beschreibe ich ein für diese Zwecke mit einer gängigen Webkamera ausgestattetes einfaches Mikroskopsystem, das sich über einen Zeitraum von drei Jahren in Lehre und Forschung bewährt hat. Über 500 kleinere Videosequenzen einer Vielzahl lebender Organismen wurden bereits damit hergestellt, unter anderem detaillierte Studien von Bakterien und Protozoen sowie Zellen von Pflanzen, Tieren und Menschen. Mit dem System war es sogar möglich, die Bewegungen und Teilungen von Zellorganellen wie Mitochondrien und Pigmentkörpern (Melanosomen) zu verfolgen.

Zeitrafferstudien lebender Zellen und Organismen waren früher mit vielen Problemen behaftet. Dieses faszinierende Feld wurde auf bunte Art und Weise von Ott (1957) beschrieben, welcher am Anfang eine Küchenuhr seiner Frau zur Kontrolle von Kamera und Lampen verwendete. Später produzierte er Sequenzen für Walt Disneys Naturfilme und erhielt einen Ehrendoktortitel. Als Honorary Doctor of Science der Loyola University in Chicago und Fakultätsmitglied des Department of Biology der Universität von Michigan studierte er unter anderem die Teilung kultivierter Krebszellen.

Probleme bei Zeitrafferaufnahmen

Vor vielen Jahren erhielt ich eine Anfrage des norwegischen Fernsehens zur Produktion von Zeitraffersequenzen wachsender Hefezellen. Damals musste ein 16 mm Farbfilm und eine Bolex Paillard Kamera mit elektromechanischem Verschluss verwendet werden. Das Ganze wurde von mehreren „Black Boxes" kontrolliert und litt unter den hohen Kosten für das Filmmaterial und vielerlei Problemen beim Entwickeln, Schneiden und Bearbeiten der Aufnahmen sowie beim Herstellen digitalisierter Kopien in Sendequalität. Die Kosten für eine etwa einminütige Zeitraffersequenz mit Sendequalität beliefen sich auf den Preis für ein besseres Lichtmikroskop.

Solche Probleme beim Festhalten langsamer biologischer Prozesse haben sich zwar deutlich verringert, aber die Mikroskope, die heutzutage für diese Zwecke entwickelt werden, sind leider ausgesprochen teuer. In vielen Instituten werden Konfokalmikroskope im Fluoreszenzmodus für diese Zwecke verwendet, da diese neben anderen Funktionen auch in der Lage sind, Zeitrafferaufnahmen in „vier Dimensionen" (Zeitraffer dreidimensionaler Strukturen) zu produzieren. Diese Instrumente, obwohl beeindruckend, haben jedoch auch ihre Grenzen. Sie sind äußerst komplex, erfordern für erfolgreiche Aufnahmen viel Fingerspitzengefühl und manchmal auch genaueste Wartung. Es kann vorkommen, dass die Einstellung des Instruments und des Datenprogramms so viel Zeit in Anspruch nimmt, dass die zu studierenden Vorgänge bereits abgelaufen sind, bevor die ersten Aufnahmen gemacht werden können.

Einfache Vorrichtung für Zeitrafferaufnahmen

Hier könnte sich ein einfacheres Mikroskopsystem als effizienter erweisen (Abb. 1). Das unten beschriebene Instrument wurde nach vielen Versuchen und Fehlschlägen konstruiert.

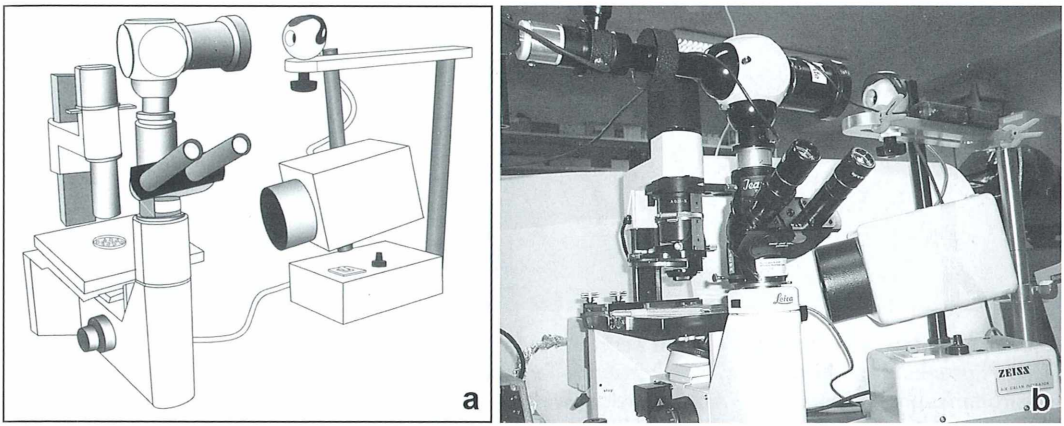


Abb. 1a und b: Ausrüstung für Zeitrafferaufnahmen lebender Zellen, zusammengestellt aus erhältlichen Mikroskopteilen. Ein Leica DMIL umgekehrtes Mikroskop wurde zusammen mit einem Zeiss Prismenwürfel, welcher am Fototubus angebracht war (kein Okular), benutzt. Eine speziell entworfene Linse führte das Bild zum Bildchip der Logitech 3000 Pro Webkamera (Linse entfernt), welche an einem separaten, regulierbaren Halter befestigt war. Ein Luftstrominkubator zur Erwärmung des Mikroskops auf z.B. 37 °C lieferte eine gleich bleibende Temperatur für die Zellen, die in einer Spezialpetrischale mit einem Deckglas am Boden gehalten wurden.

Es besteht aus relativ kostengünstigen Einzelteilen, die mit Hilfe unserer Mechanikwerkstatt zusammengesetzt wurden. Amateure können fast alle möglichen Mikroskopteile im Internet – zum Beispiel bei eBay – finden, wo jederzeit 2.000–3.000 Teile in den Verkaufslisten stehen (Tab. 1).

Unter mehreren möglichen Geräten erwies sich ein Leica DMIL umgekehrter Mikroskopkörper mit äußerst präzisem Feinfokus und keiner mechanischen Drift als die stabilste Wahl. Ausgestattet mit einer 6 V Halogenlampe (20 W oder 35 W) erlaubt er Videoaufnahmen mit Phasenkontrast. Mit dem Kondensor S55/0.35 verursacht selbst mehrstündige Beleuchtung keine thermischen Schäden an lebenden Zellen. Für höhere Vergrößerungen (40× und 100× Objektive) wurde der Kondensorträger und ein Zeiss Phasenkontrast-Kondensor mittels Schlauchklemme befestigt (Abb. 2).

Vom DMIL Mikroskopkörper gibt es zwei Versionen: Eine für Objektive mit „unendlich" Tubuslänge und mit einem Spezialgewinde und eine für „endliche" Linsen (Tubuslänge 160 mm). Letztere ist am einfachsten zu benutzen.

Ein Zeiss Prismenwürfel, befestigt am Fototubus (Mikroskop ohne Okular), lenkte das Licht um 90° durch eine Projektionslinse zu einer Logitech 3000 Pro Webkamera ab.

Linsensysteme

Die Projektionslinse wurde im Norwegischen Institut für Energieforschung (Norwegian Institute for Energy Research) speziell angefertigt. Da dies aufwändig ist, kann auch eine 2″ oder 3″ Projektionslinse eines alten 16 mm Filmprojektors verwendet werden. Ein Adapter für den Prismenwürfel muss von einem Mechaniker angefertigt werden. Einfache Verbindungen von Logitech Webkameras zu Okularen kann man auch im Internet finden (Kontakt: steve@webcaddy.com.au). Beim Fokussieren auf einzelne Zellen wird das Bild jedoch zu klein, um ohne Entfernen der Linse gute Ergebnisse zu liefern. Das Entfernen der Linse ist bei den 3.000ern und 4.000ern Modellen einfach, jedoch beim 5000er Modell nicht zu empfehlen.

Die Linse der Kamera wurde entfernt, und an ihrer Stelle schützte ein rundes Deckglas den internen Bildchip vor Staub. Die Kamera wurde an einem Stahlstativ befestigt, welcher in der Mechanikwerkstatt in unserem Institut gefertigt wurde. Das Bild wurde vom Mikroskop direkt auf den Bildchip der Kamera projiziert, wobei die Stativbefestigung es ermöglichte, die Kamera in allen drei Dimensionen zu justieren und eine bestimmte Zelle oder einen bestimmten Ausschnitt des projizierten Bildes auszuwählen (Abb. 3).

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

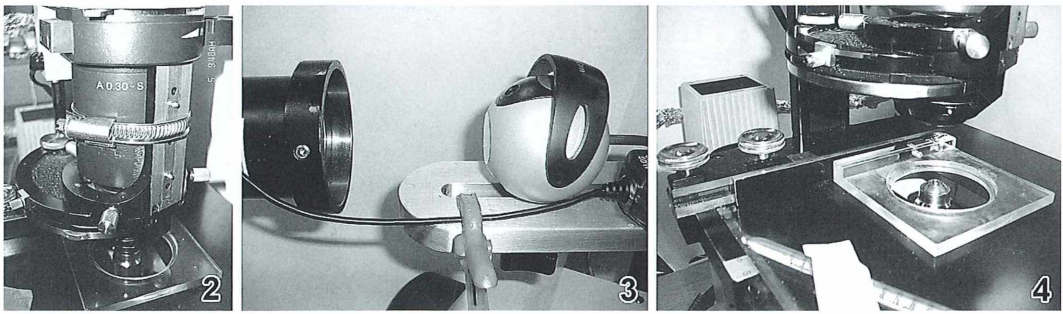


Abb. 2: Anordnung für hoch auflösende Zeitrafferaufnahmen lebender Zellen. Befestigt ist ein zusätzlicher Phasenkontrast-Kondensor. Eine konstante Temperatur in der Petrischale wird durch einen Zeiss Luftstrominkubator eingestellt. – Abb. 3: Detail, welches den offenen Lichtweg zwischen der Webkamera und der Projektorlinse zeigt. Die Linse der Kamera wurde entfernt, und ein rundes Deckglas schützt nun den Bildchip vor Staub. Das Bild wird direkt auf den Bildchip projiziert. Der schwere Kamerahalter erlaubt Änderungen in der Entfernung zwischen der Projektorlinse und dem Bildchip, so dass eine einzelne Zelle die gesamte Fläche des Chips füllen kann. – Abb. 4: Detailansicht, welche den mechanischen Kreuztisch zeigt. Ein selbst gefertigter Plexiglasrahmen hält die Mat-Tec Petrischale.

Tabelle 1: Zubehörteile des Zeitrafferaufnahmen-Mikroskopiesystems.

Mikroskopkörper (Stativ): Leica DMIL für 160 mm Tubuslänge, RMS Objectiv thread. Alternativ Zeiss Invertoscope D. Trinokularer Fototubus.

Mikroskoptisch mit Feintrieb: Von einem ausgemusterten Second-Hand-Mikroskop. Ein Plexiglas-Probenhalter wurde befestigt, der zu den Mat-Tec Petri-Schalen passt, und die Dvorak-Stotler-Kammer wurde von der mechanischen Werkstatt der Universität Oslo, Norwegen, hergestellt.

Linsen: Objektive: Phasenkontrast 10x/0.25, 40x/0.75, 100x/1.30 or 90x/1.40; Okulare: 10x; kein Okular im Fototubus.

Kondensoren: Zeiss oder Leitz, long distance/n.A. 0.90, oder aplanatisch n.A.1.40 (befestigt am Standardkondensor des DMIL).

Dualer Prismenwürfel: Zeiss, Oberkochen, Teil-Nr. 473057 (alter Zeiss Katalog) oder Diskussionswürfel, Teil-Nr. 473047.

Projektionslinsen: Konstruiert am IFE (norwegisches Institut für Energieforschung, Kjeller, Norwegen) mit Linsen von Spindler & Hoyer, Deutschland; teuer. Alternative: Projektionslinse eines alten 16 mm Filmprojektors (z.B. Viktor Instruments, England E.F.2" f.1.6). Solche Linsen sind bei eBay erwerbbar (nehme eine 2" oder 3" Linse).

Computer: Ein PC mit Windows XP Pro, Media-Player 10.0, Intel P4, 3.0 GHz, 800/512K, 512 Mb RAM. Asus Radeon 9600XT, Graphik (oder ähnlich).

WebCam: Logitech 3000Pro or 4000Pro. Logitech 5000Pro nur für Spezialzwecke. Hat einen VGA-Sensor mit „Right Light Technologie" und Rauschreduktion für extrem schwaches Licht.

WebCam Bühne: Justierbare, horizontale Tischbühne in Messing und Stahl für die WebCam. Konstruiert von der mechanischen Werkstatt der Universität Oslo, Norwegen.

Staubschutz für Bild-Chip: Deckglas (schützt Bild-Chip), rund, Ø 24,5 mm.

Plastik-Petrischalen: Nr. 0, unbeschichtet, Ø 49 mm, Röntgen-bestrahlt. Mat-Tec Corp. 20 Horner Ave. Ashland, MA 01720, USA.

Für „high-Tech" Experimente: Die Dvorak-Stotler DSC 200 Kulturkammer, teuer.
Kontaktadresse: vss1lucas@aol.com

Temperaturregulation: ASI 400 Luftstrominkubator (ursprünglich Zeiss), nun Newtek HCR 03, Box 99, Burnsville VA 24487, USA.

Software: Magix Music Maker 2005 de Lux, oder Magix Music Maker 10 (or 11).
Read-Please, Natural Voices 16K.

Kameramodelle

Es gibt zurzeit drei Modelle der benutzten Logitech Kamera: 3000Pro, 4000Pro und eine neue 5000Pro, die mit Software geliefert werden. Die 3000Pro und 4000Pro Modelle ähneln einander. Ihre Objektive sind relativ einfach zu entfernen. Man öffnet die Kamera vorsichtig (Schraube nahe am USB-Kabel), entfernt das Objektiv und setzt die Kamera zusammen, ohne den Bildchip zu berühren! Ein rundes Deckglas wird als Staubschutz auf die Öffnung der Kamera geklebt. Beide Kameramodelle enthalten Software für Zeitrafferaufnahmen. Mit der 4000Pro Kamera kann man auch Fotos (1.3 Megapixel) machen.
Die Logitech 5000Pro Webkamera ist mit einem verbesserten Festfokusobjektiv von sehr kleinem Durchmesser ausgestattet. Dieses nicht entfernen! Bei Schwachlicht ist das Rauschen der Kamera überraschend gering. Die Kamera kann mit dem Objektiv direkt auf einem Weitfeld-Mikroskopokular angebracht werden und zur Digitalfotografie benutzt werden, oder um Präparate auf dem Computerschirm zu zeigen. Die Original-Software erlaubt keine Zeitrafferaufnahmen. Mit dem Image-Studio-Programm, das mit den beiden anderen Modellen geliefert wird, kann die 5000Pro ebenfalls Zeitrafferaufnahmen von hoher Qualität machen, jedoch ist die Kamera ohne weitreichende Änderungen nicht gut zum Studium einzelner Zellen geeignet. Aufgrund ihrer hohen Lichtempfindlichkeit liefert die 5000Pro selbst im Fluoreszenzmodus gute Resultate beim Filmen mit normaler Bildfrequenz (30 Bilder/s).
Nach dem Installieren der Software können alle Kameras über den USB-Anschluss direkt mit einem Computer verbunden werden. Die Logitech-Software ist stabil und funktioniert ohne Probleme.

Raumausstattung

Für Zeitrafferaufnahmen benötigt man angemessene Räume. Bei mir steht die benötigte Ausrüstung im Institut in einem Kellerraum ohne Fenster. Hier liegt die Temperatur ganzjährig bei etwa 18 °C. Die Raumbeleuchtung sollte während der Aufnahmen ausgeschaltet bleiben, weil der Lichtweg zwischen der Projektionslinse und der Kamera offen ist (Abb. 3). Der offene Lichtweg erlaubt auf einfache Weise, den Abstand zum Bildchip zu verändern, so dass zum Beispiel das Bild einer einzelnen Zelle die gesamte Fläche des Bildchips füllen kann (maximale Anzahl Pixel). Ein schwaches Raumlicht beeinträchtigt die Bildqualität jedoch nicht.

Probenkammern

In den meisten Fällen wurden Zellen in kleinen Spezial-Petrischalen (Mat-tek Corp., 200 Horner Ave., Ashland, MA 01721, USA) untersucht (Abb. 4). Die sterilen Petrischalen enthalten am Boden ein austauschbares Deckglas, das nach der Aufnahme zum Fixieren und Färben der Zellen leicht herausgenommen werden kann. Der Objekttisch wurde zum Aufnehmen der Petrischalen so verändert, dass einzelne Zellen leicht in die optische Achse gebracht werden konnten.
Für Phasenkontrastaufnahmen lebender Zellen bei größtmöglicher Vergrößerung wurde eine so genannte Dvorak-Stotler Kammer (DSC) be-

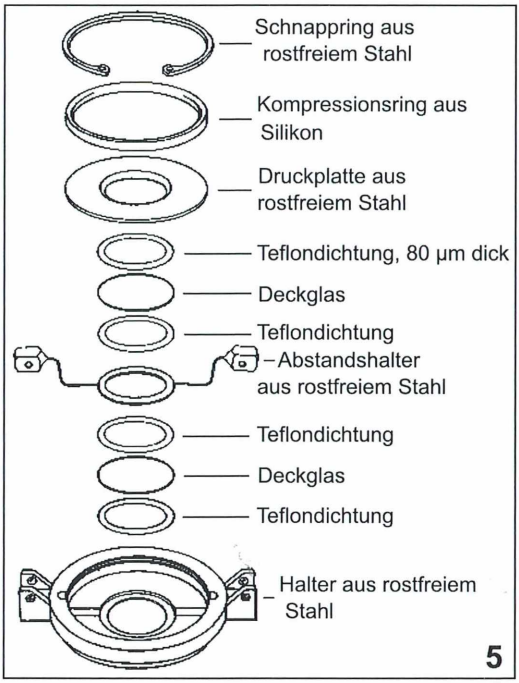


Abb. 5: Einzelteil-Ansicht der Dworak-Stotler Anzuchtkammer. Der Abstandshalter aus rostfreiem Stahl erlaubt das Einbringen von Kulturmedium und/oder Chemikalien.

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

nutzt, in der die Zellen zwischen zwei runden Deckgläsern (Abstand 1 mm) gehalten wurden (Abb. 5). Hiermit konnten selbst winzigste Zellorganellen nahe am Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops beobachtet werden. Die DSC 200 Kammer, welche das Einbringen von Nährlösung erlaubt, ist ziemlich teuer, war aber wegen gleicher Dimensionen wie die Petrischalen leicht mit dem veränderten Objekttisch zu benutzen.

Bakterien, Protozoen, Mikroalgen und viele Pilzarten können ohne Probleme bei Raumtemperatur untersucht werden. Säugetierzellen müssen jedoch bei 37 °C gehalten werden. Bei professionellen Mikroskopen ist die Fläche um den Objekttisch in ein Plastikgehäuse eingefasst, in dem die Temperatur kontrolliert werden kann. Ein warmer Luftstrom, erzeugt von einem an einen Thermostat gekoppelten normalen Haartrockner, kann ebenfalls zur Temperierung benutzt werden. Besser ist ein alter Zeiss Luftstrominkubator („400 Air stream incubator" von Newtek; http://www.newtek.com/incubatr.htm). Um ein Abweichen des Mikroskops vom eingestellten Fokus als Folge von Temperaturänderungen zu vermeiden, sollte das Mikroskop zusammen mit dem Luftstrominkubator einige Stunden vor den geplanten Zeitrafferaufnahmen eingeschaltet werden.

Aufnahmemethoden

Mit der beschriebenen Anordnung wurden mehr als 500 Zeitraffer- und Videoaufnahmen normaler Bildfrequenz von biologischen Proben angefertigt (Tab. 2). Die Anordnung war so stabil, dass Zellen oft für mehr als 12 Stunden im Fokus blieben. Bakterien und eine Reihe von Protozoen wurden in einem aus dem Kulturgefäß genommenen Tropfen Wasser zwischen einem Objektträger und einem Deckglas gefilmt. Dabei lag das Deckglas nahe am Objektiv des umgekehrten Mikroskops. Durch das Trocknen des Wasserfilms an den Rändern des Deckglases flachte sich das Präparat ab, und die Zellen wurden leicht gequetscht, was das Erfassen von Details verbesserte. Sich schnell bewegende Objekte wurden mit einer Frequenz von 30 Bildern/Sekunde aufgenommen. Amöben und Objekte, die sich langsam bewegen (z.B. wachsende Pilzhyphen), wurden mit 1 Bild/5 Sekunden oder manchmal mit 1 Bild/2 Se-

Tabelle 2: Beispiele von Zeitrafferaufnahmen oder Videosequenzen in Echtzeit (Logitech 3000 Pro Webkamera).

Chemische Prozesse: Kristallentwicklung, komplexe strukturelle Entwicklung in einem „chemischen Garten".

Virus: Effekte von IPNV (Infectious Pandemic Pancreatic Necrosis Virus) auf Lachs-Nierenzellen.

Cyanobakterien: Zellbewegung, *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Nostoc* etc.

Bakterien: Wachstum und Bewegung von Zellen, *Staphylococcus epidermidoides*, *Escherichia coli*, zahlreiche Arten aus Proben von Aquarien oder Gartenteichen.

Spirochäten: Mehrere Arten aus amerikanischen und australischen Termiten und der Waldschabe *Cryptocercus punctulatus*.

Amöben: Süßwasseramöben, verschiedene Arten von Carolina Biological Co., vermutlich *Vahlkampfia*, *Astramoeba*, *Thecamoeba*, *Amoeba proteus*.

Ciliaten: *Stentor*, *Vorticella*, *Paramecium*, *Colpidium*.

Heliozoa: Wenige Arten, eine macht Exocytose.

Flagellaten: Von Aquarien oder Teichwasser, Termiten und *Cryptocercus punctulatus*.

Algen: Wenige einzellige Arten, eine zeigt Geißelschlag.

Pilze: *Aspergillus*, *Penicillium* (Wachstum von Hyphen, Sporenbildung).

Schleimpilze: *Dictyostelium* Amöben, Bildung des slug-Stadiums, *Physarum polycephalum*, Cytoplasma-Pendelströmung.

Nematoden: *Caenorhabditis elegans*, Verhalten.

Stachelhäuter: *Strongylocentrotus droebachiensis*, Befruchtung, frühe Embryoalentwicklung bis zum Gastrula-Stadium.

Vertebraten: Menschliche Leukozyten in Blut, menschliche Gebärmutterhals-Krebszellen, MCDK-Zellen, He-La Zellen, Endothelzellen von kleinen Blutgefäßen im Fettgewebe gesunder norwegischen Frauen (mit Erlaubnis der Colosseum Medical Clinic, Oslo, Norwegen). Zeigt Mitose-Vorgänge, menschliche Nabelschnur-Zellen, F83$^+$ Lachszellen zum Studium der Mitose und Verhalten der Pigmentgrana (Melanosomen). Frühe Mäuse-Embryonalstadien (problematisch, Zellen starben nach wenigen Tagen.

kunden gefilmt. Zum Bearbeiten des Films ist es sinnvoll Sekundenintervalle zu wählen, die einen ganzzahligen Bruchteil von 60 darstellen. Die resultierenden AVI-Filme laufen mit 30 Bildern/Sekunde, und Zellbewegungen werden 60fach oder 150fach beschleunigt wiedergegeben.

Verhalten bestimmter Zelltypen

Einige Typen von Krebszellen (z.B. Gebärmutterhalskrebs) verteilten sich schlecht auf dem Deckglas und waren zu dick, um Details erkennen zu lassen. Endothelzellen von Blutgefäßen, die in der Colosseum Medical Clinic, Oslo, Norwegen, aus gesundem Fettgewebe isoliert wurden, verteilten sich dagegen gut. Es konnten auch interessante Beobachtungen zur Mitose in Menschenzellen gemacht werden (Abb. 6a–c).
Eine Lachszelllinie ($CD83^+$ Teleostleukozytzellen) erwies sich als besonders interessant. Lachszellen wachsen gut bei Raumtemperatur im geeigneten Medium (M 15 Medium). Die Zellen wurden vom Norwegischen Veterinärinstitut zur Verfügung gestellt. Sie verteilen sich ungewöhnlich gut und so flach auf einem Deckglas, dass das Innere der Zellen auch mit Immersionsobjektiven fast immer im Fokus war. Die Webkamera wurde hier zur Untersuchung der winzigen Pigmentkörper, die sehr häufig in den Zellen sind, benutzt (Haugarvoll et al., 2006).
Die Lachszellen erwiesen sich auch als interessantes Material für in situ Untersuchungen der Mitose. Weil die Zellen sich extrem flach auf dem Deckglas verteilten, konnten sie als ein zweidimensionales System in Bezug auf Zellbewegungen betrachtet werden (Abb. 7).
Andere Zellen runden sich in später G2-Phase des Zellzyklus mehr oder weniger ab und schnüren sich in der Zytokinese am Äquator ein. Die Tochterzellen werden dann flacher und verteilen sich wieder auf der Oberfläche des Deckglases. Die $CD83^+$ Zellen blieben dagegen oft in allen Stadien der Mitose flach, und einige Zellen zeigten das Phänomen der Spindelrotation. Weil die meisten Studien der Mitose an fixierten Präparaten gemacht wurden, ist die Fähigkeit zur Spindelrotation von Zellbiologen wenig beachtet worden. Die Spindelrotation ist jedoch ein bekanntes Phänomen in den ersten Stadien der Embryonalentwicklung, wo die Spindel um 90° rotiert und so die Achse der Zellteilungen im Ei bestimmt (Heunert, 1975). Das Phänomen ist auch bei differenzierten Zellen beobachtet worden (Haydar et al., 2003).
Mehrere solcher Mitosen wurden in Lachszellen zusammen mit normalen Mitosen, in denen die Spindel nicht rotierte, gefilmt. Eine Analyse einzelner Videobilder zeigte interessante Abfolgen der Änderung der Spindelachse (Abb. 8). In diesen Zellen war die Zytokinese-Achse bis zum Beginn der Anaphase nicht bestimmt, und der Grad der Spindelrotation schien häufig ein

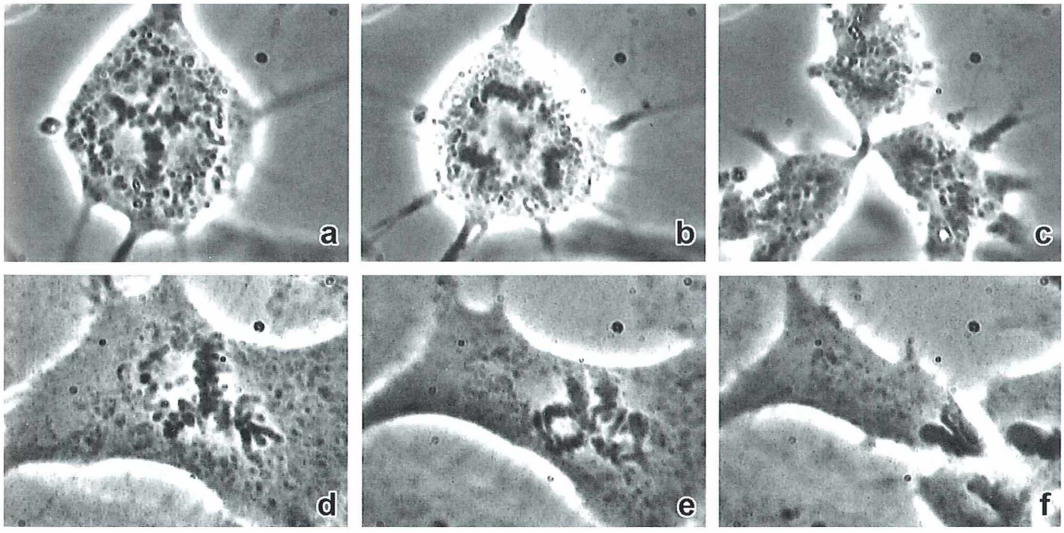


Abb. 6: Tripolare Mitose in einer mikrovaskulären Endothelzelle aus menschlichem Fettgeweb (a–c) im Vergleich zum selben Phänomen in einer Nierenzelle des Lachses (d–f).

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

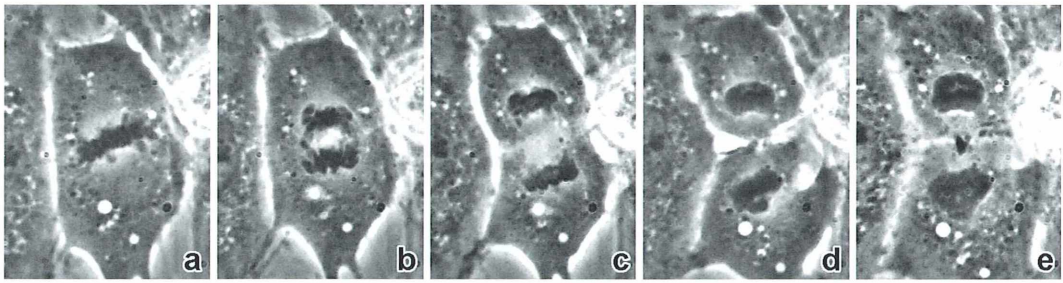


Abb. 7a–e: Einzelbilder einer Videoaufnahme, welche Stadien der Mitose bei Nierenzellen des Lachses zeigt. a Späte Metaphase, b Mitte der Anaphase, c späte Anaphase/Telophase, Beginn der Zytokinese, d Ende der Zytokinese, e Tochterzellen noch nicht getrennt, aber Reorganisation und Abflachen der Kerne sichtbar. Der Gesamtprozess dauerte etwa 30 Minuten bei 20 °C.

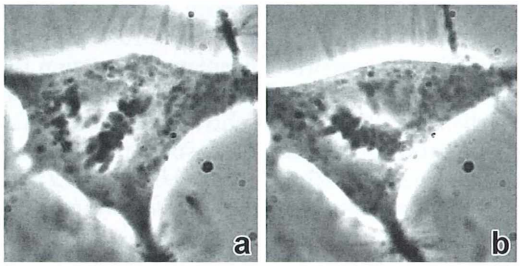


Abb. 8a und b: Spindelrotation in einer Nierenzelle des Lachses. a Späte Metaphase. b Die Spindel und die Metaphaseplatte haben sich kurz vor der Anaphase und der darauf folgenden Zytokinese um 90° gedreht.

Vielfaches von 90° zu sein (d.h. Änderung der Achse = n × 1/4). Das Phänomen verdient es, weiter untersucht zu werden, weil es sowohl mit normaler als auch abnormer Gewebe- und Organentwicklung verknüpft zu sein scheint.

Bearbeitung der Filme

Die mit der Logitech-Kamera angefertigten Filme lassen sich mit den meisten digitalen Videobearbeitungsprogrammen bearbeiten. Persönlich bevorzuge ich das Magix Music Maker-Programm 2005 (www.magix.com), welches Video, Ton und Musikspuren erlaubt, sowie eine Reihe anderer Möglichkeiten wie beispielsweise Kompatibilität mit Sprachprogrammen wie ReadPlease bietet (ReadPlease Natural Voices, www.readplease.com; ReadPlease Co., 121 Cheney Ridge Road, Thunder Bay ON P76 1A7, Canada). Empfohlene Stimmen sind: Amerikanisch: Ray, Crystal, Mike; Englisch: Charles; Deutsch: Rainer. Es ist empfehlenswert, das endgültige Arrangement der Video- und Tonspuren als Video mit DVD-Qualität zu exportieren.

Der Music Maker ermöglicht auch den Export des Videos im QuickTime Format mit 15 Bildern/Sekunde. QuickTime Videos sind kompatibel mit einem Programm mit dem Namen Video Point (vertrieben von Pasco, www.pasco.com), welches das Verfolgen von Bewegungen von Zellkomponenten wie Mitochondrien und weitere Analysen mit mathematischen Methoden erlaubt.

Was alles gemacht werden kann, findet man in den Beispielen auf der CD von Laane und Yu (2005). Zweifelsohne können diese Techniken weiter verbessert werden, was neue Felder für Spaß und ernsthafte Wissenschaft mit dem Mikroskop eröffnet.

Literaturhinweise

Haugarvoll, E., Thorsen, J., Laane, M. , Huang, Q., Koppang, E. O.: Melanogenesis and evidence for melanosome transport to plasma membrane in a CD83$^+$ teleost leucocyte cell line. Pigment Cell Research *19*, 214–225 (2006).

Haydar, T. F., Ang, E., Rakic, P.: Mitotic spindle rotation and mode of cell division in the developing telencephalon. PNAS *100*, 2890–2895 (2003).

Heunert, H.-H.: Die Embryonalentwicklung des Strandseeigels *Psammechinus miliaris*. Mikrokosmos *64*, 86–94 (1975).

Laane, M. M., Yu, L.: The living cell. CD/DVD for Windows 98/ME/2000/XP with MediaPlayer/Pentium 450Mhz processor, 64 MB RAM. Ca. 30 min. Norsk Biologforening BIO, post@bio.no, ISBN 82-997130-0-5. 2005.

Ott, J.: My ivory cellar. The story of time-lapse photography. Devin-Adair Pub., New York 1979.

Verfasser: Prof. Dr. phil. Carl Morten Motzfeldt Laane, Institute of Molecular Bioscience (IMBV), University of Oslo, P.O.Box 1041, 0316 Blindern, Norway, E-Mail: c.m.m.laane@imbv.uio.no

Mikrokosmos
5/2006

510543
Bibliothek des OÖ.
Landesmuseums

Museumstraße 14
4020 Linz

1 (6)

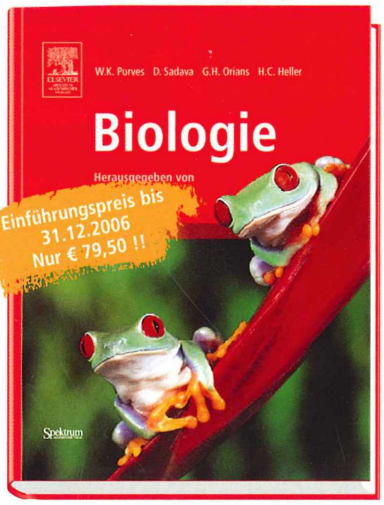
300229

Bestellen können Sie

- telefonisch: (0 70 71) 93 53 69
- per Fax: (0 62 21) 912 63 38
- per mail: bestellung@elsevier.de

www.elsevier.de

Herausgeber der deutschen Ausgabe von Purves *Biologie* ist **Prof. Jürgen Markl** (Uni Mainz), der die Inhalte des Werkes sorgfältig an die deutschen Studienverhältnissen angepasst hat.



7. Aufl. 2006, 1.500 S., 1.090 Abb., geb.
Einführungspreis (bis 31.12.06):
€ (D) 79,50 / € (A) 81,80 / sFr 122,–,
danach: € (D) 89,50 / € (A) 92,10 / sFr 137,–
ISBN 10: 3-8274-1630-2;
ISBN 13: 978-3-8274-1630-8

Dazu: Bild-CD-ROM Purves, *Biologie* mit den Grafiken des Buches im JPG- und PDF-Format sowie als Power-Point-Folien.
2006, € (D) 25,– / € (A) 25,90 / sFr 38,–
ISBN 10: 3-8274-1792-9; ISBN 13: 978-3-8274-1792-3

- **Enthält alle Teildisziplinen der Biologie**
- **Exzellent bebildert**
- **Hochaktuell (2006!!): moderne Forschung und neueste Erkenntnisse sind integriert**

William K. Purves et al.

Biologie

Herausgegeben von Jürgen Markl

Dieses umfassende und didaktisch ausgezeichnete Lehrbuch der gesamten Biologie mit all ihren Teildisziplinen richtet sich an

- **Studierende der Biologie**, die einen guten Einstieg in das Studium und einen verlässlichen Begleiter an der Universität brauchen – ob Diplom, Bachelor oder Master
- **Hochschuldozenten/-innen**, die in ihrem Unterricht Wert auf herausragende Didaktik und prüfungsrelevantes Wissen legen
- **Lehrer/-innen**, denen die Schulbücher für den Unterricht unzureichend erscheinen und die sich v. a. einen prägnanten und originellen Einstieg in ihre Unterrichtsstunden wünschen
- **Staatsexamenskandidaten/-innen und Referendare/-innen**, für die eine gute Präsentation von Lehrstoff in der Biologie berufsentscheidend ist
- **Schüler/-innen** in der Sek II/Oberstufe, die über ihren Tellerrand hinausschauen möchten
- **Studierende**, die Lebenswissenschaften nicht nur in Multiple-Choice-Fragen verstehen möchten

Was macht Purves *Biologie* so besonders?

- **Verstehen statt pauken:** Lernen nicht nur von Fakten, sondern von Zusammenhängen
- **Das Auge lernt mit:** didaktisch ausgezeichnete Visualisierung selbst schwieriger Sachverhalte
- **Hochaktuell – am Puls der Zeit:** Moderne Methoden und neue Forschungsansätze wurden integriert
- **Mit zusätzlichem Service:** Auf eigener Website sind Zusatzmaterial und -Infos jederzeit abrufbar
- **Im Studienalltag erprobt:** In Amerika erscheint Purves *Biologie* bereits in der 7. Auflage!

Ausführliche Informationen finden Sie unter www.elsevier.de/purves

Wissen was dahinter steckt. Elsevier.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie

Jahr/Year: 2006

Band/Volume: 95_5

Autor(en)/Author(s):

Artikel/Article: Mikrokosmos 95_5 1