



Erschienen im MIKROKOSMOS 100, 187 – 188 (2011)

Konkurrenzsituation zwischen endosymbiotischen Chlorellen und Trichocysten im corticalen Zellplasma von *Paramecium bursaria*.

Im Artikel „Mikroskopische Streifzüge auf Hiddensee IV“ wurde über den Weg der zur Endosymbiose fähigen Chlorellen von den Nahrungsvakuolen in die perialgalen Schutzvakuolen (PV) in *Paramecium bursaria* berichtet (Bettighofer, 2010). Die vorliegende Mitteilung beschäftigt sich mit den jüngsten Forschungsergebnissen von Yuuki Kodama und Masahiro Fujishima bezüglich der Vorgänge bei der Platzierung der PV im corticalen Bereich von *P. bursaria* (Kodama und Fujishima, 2010).

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

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

Die Forschungsgruppe um die Autoren entwickelte daraufhin einen für Trichocysten spezifischen monoclonalen Antikörper, um Details des Verdrängens der Trichocysten und der Anheftung der PV im Fluoreszenzmikroskop sichtbar zu machen. Sie nutzten

dazu die Methode der indirekten Immunfluoreszenz, bei der ein Fluoreszenzfarbstoff an sekundäre Antikörper gebunden wird und so die Verteilung der primären, o. g. monoclonalen Antikörper in den beobachteten Zellen sichtbar macht. Zusätzlich wurden die symbiontenträgenden Ciliatenzellen im Elektronenmikroskop untersucht, um zytologische Details des Verdrängungsprozesses der Trichocysten während der Infektion durch die Endosymbionten in Erfahrung zu bringen.

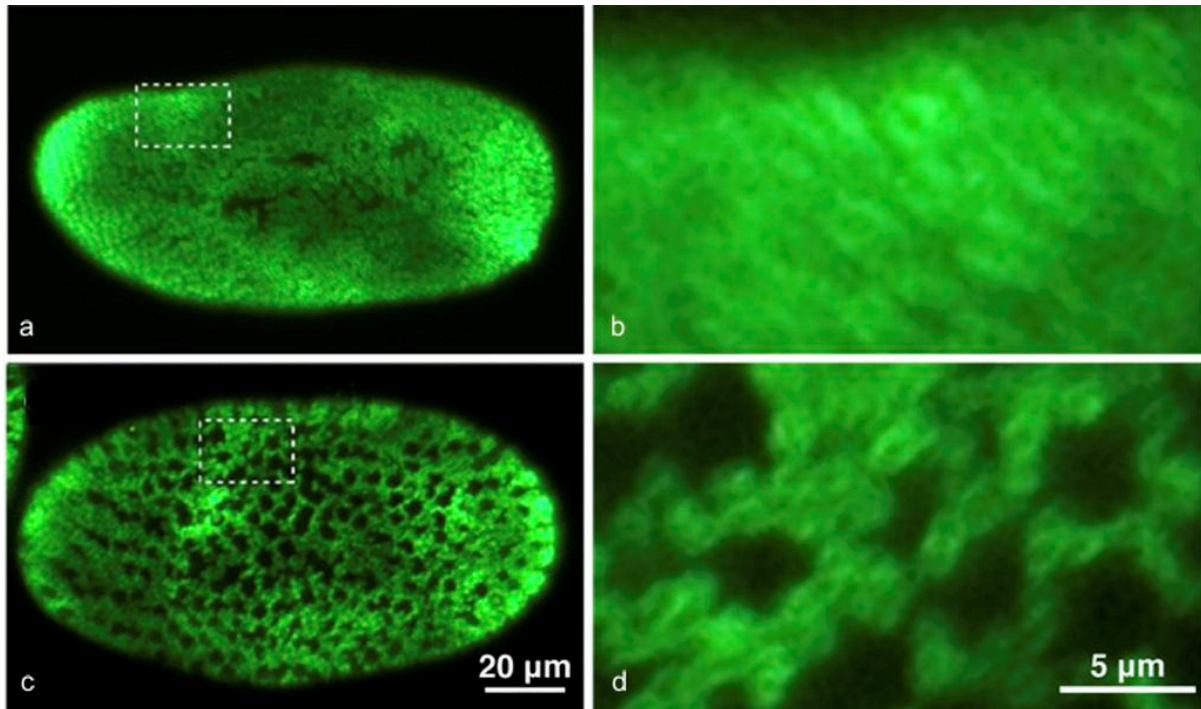


Abb. 1: Indirekte Immunfluoreszenz zeigt die Verteilung der Trichozysten bei algenfreien (a, b) und algenträgenden (c, d) *P. bursaria* – Stämmen. Die kreisförmigen Aussparungen in (c, d) werden durch die um den Platz konkurrierenden PV erzeugt.

Die Immunfluoreszenz-Untersuchung zeigte eindeutig, dass die PV und die Trichocysten um die Plätze unter der Zellmembran konkurrierten (Abb. 1). Dies führt insbesondere dazu, dass infizierte Ciliatenzellen deutlich weniger Trichocysten haben als symbiontenfreie. Wurde mittels Zugabe von Cycloheximid in das Kulturmedium die Verdauung der Endosymbionten induziert, so vermehrten sich die Trichocysten in den nunmehr algenfreien Ciliatenzellen beträchtlich und nahmen spätestens 9 Tage nach der Behandlung alle frei gewordenen Räume unter dem Cortex ein.

Zur Untersuchung der Veränderungen, welche die Trichocysten während der Infektion der Wirtszellen mit Symbionten erfahren, wurden Proben von Ciliatenzellen während des Infektionsprozesses separiert, fixiert und für die Beobachtung im Transmissions-Elektronenmikroskop vorbereitet. Das Ziel dieser Beobachtung war die Lokali-

sierung lysosomaler Aktivität (saure Phosphatase, AcPase). Es zeigte sich, dass im Prozess der Infektion mit Chlorellen die Lysosomen nicht nur (wie üblich) mit den Nahrungsvakuolen fusionierten, sondern auch an Trichocystenvakuolen, in deren Nähe sich PV befinden. Dies erklärt das Verschwinden der Trichocysten an jenen Stellen, an denen die Chlorellen in ihren aus Nahrungsvakuolen (NV) hervorgegangenen PV am Cortex andocken (Abb. 2).

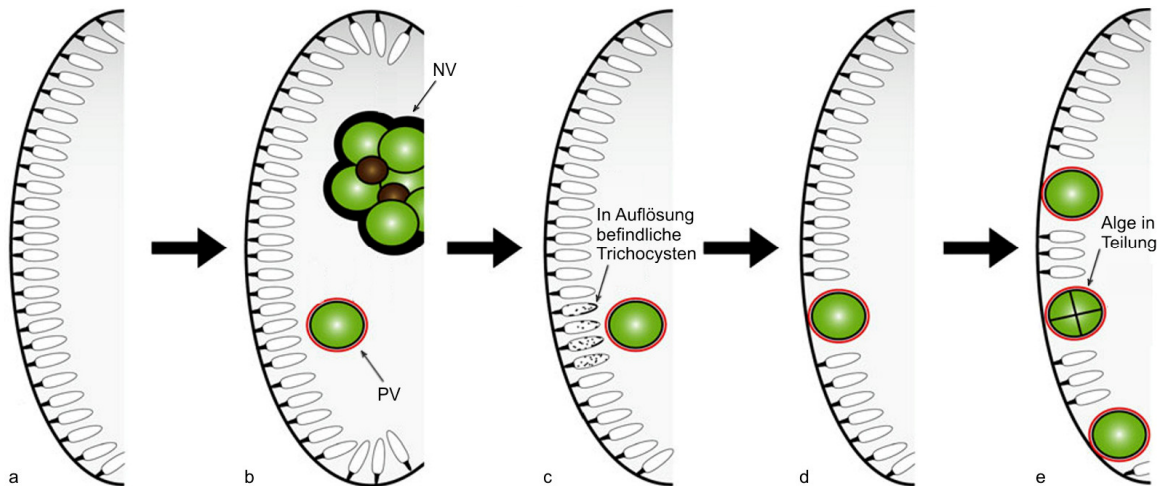


Abb. 2: Schematische Darstellung des Verschwindens von Trichocysten, verursacht durch Endosymbionten-Infektion.

a) Chlorellenfreies *P. bursaria* mit vielen Trichocysten unter den Cortex.

b) ca. 30 Minuten nach Mischung mit Algen beginnen einige davon, aus der AcPase-positiven NV (schwarz umrandet) mittels Knospung in eine perialgale Schutzvakuole (PV) zu wandern.

c) ca. 3 h nach Mischung mit Algen werden Trichocysten nach Fusion mit Lysosomen verdaut.

d) PV bewegen sich in Richtung des Wirtszellencortex zu den Trichocysten-freien Bereichen hin.

e) 24 h später beginnen sich die Endosymbionten zu teilen und weitere Trichocysten zu verdrängen, deren Zahl daraufhin weiter abnimmt.

Literatur

Bettighofer, W.: Algen als Symbiosepartner. Mikrokosmos 99, 108–109 (2010) sowie [http://www.protisten.de/docs/Mikroskopische Streifzuege auf Hiddensee IV.pdf](http://www.protisten.de/docs/Mikroskopische_Streifzuege_auf_Hiddensee_IV.pdf).

Kodama, Y., Fujishima, M.: Endosymbiosis of *Chlorella* species to the ciliate *Paramecium bursaria* alters the distribution of the host's trichocysts beneath the host cell cortex. Protoplasma DOI: 10.1007/s00709-010-0175-z (2010).

Kodama, Y., Fujishima, M.: Localization of perialgal vacuoles beneath the host cell surface is not a prerequisite phenomenon for protection from the host's lysosomal fusion in the ciliate *Paramecium bursaria*. Protist 160, 319–329 (2009).

Autor: Wolfgang Bettighofer, Rutkamp 64, D-24111 Kiel,
email: wolfgang.bettighofer@gmx.de