

Taxonomie und Ultrastruktur der Art *Corcontochrysis noctivaga* (Haptophyceae)

Taxonomie a ultrastruktura druhu *Corcontochrysis noctivaga* (Haptophyceae)

Tomáš Kalina

KALINA T. (1975): Taxonomie und Ultrastruktur der Art *Corcontochrysis noctivaga* (Haptophyceae). — Preslia, Praha, 47 : 1—13.

Die Zellen von *Corcontochrysis noctivaga* leben in Gallerte oder schwärmen kurzfristig. Sie haben einen dorso-ventralen Bau der Zelle mit einem Geisselapparat, welcher aus einer trichterförmigen Vertiefung an der Ventralseite der Zelle hervorsticht. Zwei ungleichlange Geisseln sind mit feinen langen Fäden bewachsen. Zwischen diesen ist ein kurzes walzenförmiges Haptonema, das auf dem Querschnitt eine hufeisenförmige Anordnung der Mikrotubuli aufweist. *C. noctivaga* gehört in die Nähe der Gattung *Pavlova* BUTCHER (Haptophyceae). Von den Arten dieser Gattung unterscheidet sich *C. noctivaga* durch die Abwesenheit der elektronendichten Körperchen an der Oberfläche der langen Geissel, des Pyrenoids und des Augenflecks.

Botanisches Institut der Karls-Universität, Benátská 2, 128 01 Praha 2, Tschechoslowakei.

Corcontochrysis noctivaga ist einer der weniger Vertreter aus der Klasse der Haptophyceae, die im Süßwasser bekannt sind. Die Art- und Gattungsbeschreibung (KALINA 1970) wurde hauptsächlich auf lichtmikroskopische Beobachtungen begründet. So wurde festgestellt, dass die Entwicklung dieser Alge zwei Stadien umfasst: ein palmelloides, welches in der Regel überwiegt, und ein kurzfristig bewegliches Stadium. An der Ventralseite der beweglichen Zellen wurden 2 ungleichlange Geisseln und ein kurzes Haptonema beobachtet.

Fast gleichzeitig mit der Veröffentlichung der Artbeschreibung von *Corcontochrysis noctivaga*, aber auch später, erschienen einige Studien, welche Angaben über ähnliche, aus Meer-, Brack- und Süßwasserbiotopen beschriebene Algen bringen. (LEPAILLEUR 1970, VAN DER VEER 1969, 1972, GREEN et MANTON 1970, TSCHERMAK-WOESS 1972, GREEN 1973). Diese Studien haben die Notwendigkeit gezeigt, neue Kenntnisse über die Art *C. noctivaga* zu erlangen.

MATERIAL UND METHODE

Charakteristik des Materials: *Corcontochrysis noctivaga* stammt aus Moortümpeln im Naturschutzgebiet „Úpské rašelinště“, aus Algenproben, die im Juni 1967 gesammelt wurden. Diese Lokalität befindet sich im Riesengebirge (im Gebiet des Krkonošský národní park) in der Höhe von 1415 m ü. d. M. Das Wasser der Moortümpel hat eine schwach saure Reaktion (pH 4,5 bis 5). In einem trockenen Sommer trocknen die Tümpeln völlig aus. In der Algensammlung des Lehrstuhls für Botanik der Karls-Universität wächst *C. noctivaga* als monoalgale und axenische Kultur (Stamm Kalina 1967/4).

Kulturzüchtung: Die Alge wurde auf Schrägagar oder in biphasischen Böden, in welchen die feste Phase 2% Nähragar neben der flüssigen Nährlösung bildet, gezüchtet. Ihre Zusammen-

Tab. 1. — Zusammensetzung der Nährböden (Substanzmenge in g/l H₂O)

	BBM BROWN & BOLD 1964	BBM-2 BROWN & BOLD 1964	ERB	KSph KALINA 1970
NaNO ₃	0,250	0,750	0,250	—
NH ₄ NO ₃	—	—	0,125	0,125
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,075	0,075	0,075	0,075
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,012
K ₂ HPO ₄	0,075	0,075	0,037	0,075
KH ₂ PO ₄	0,175	0,175	0,087	—
NaCl	0,025	0,025	0,025	—
Bodendekokt (nach SMITH & BOLD 1966)	10 ml	10 ml	10 ml	—
Spurelemente nach BROWN & BOLD 1964)	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Thiamin HCl	500 µg	500 µg	500 µg	—
Vitamin B ₁₂	10 µg	10 µg	10 µg	—
trockenes <i>Sphagnum</i>	—	—	—	0,2 g in jede Epruvette
pH-Werte	5,9	5,9—6,1	5,7—5,9	5,5

setzung ist in Tab. 1 angeführt. Die biphasischen Nährböden wurden in zwei Abänderungen benützt. Am häufigsten haben wir die Algen auf Schrägagar geimpft und genügend erwachsene Kolonien mit der Nährlösung übergossen. Diese Methode ermöglichte, das Verhalten der Alge im Übergang zwischen subaerischen und submersen Bedingungen zu beobachten. Im zweiten Fall haben wir die Algen in die Nährlösung, die auf die Schichte des erstarrten Agars gegossen wurde, geimpft. Die Algen wachsen dann nur unter submersen Bedingungen. Verhältnismässig selten wurden die Algen nur in der Nährlösung gezüchtet, in diesem Medium gedeihen sie aber schlecht. Die Kulturen wurden an einem Nordfenster, in einem Ständer mit einer Leuchtröhre oder im Wasserbad unter kontrollierten Bedingungen erhalten.

Reinheit der Kulturen: Die Mehrzahl der Kulturen weisen eine Kontamination von grampositiven Bakterien und Hyphen auf (BEDNÁŘOVÁ, in Vorbereitung). Die Pilzkontamination wurde durch wiederholte Überimpfung, die bakterielle Kontamination mit Hilfe des Antibiotikums Ampicillin beseitigt. Ampicillin wurde in einer Konzentration von 1000 µg/ml bei Zimmertemperatur 24—48 Stunden lang verwendet (PHILIPPOVÁ, in Vorbereitung). Die Reinheit haben wir auf Agarplatten mit ERB + 0,5% Pepton + 0,5% Glukose kontrolliert.

Vorkommen der beweglichen Zellen: Wir unterscheiden ein spontanes und induziertes Vorkommen. Wenn die beweglichen Zellen ohne Beeinflussung erscheinen (nur bei der submersen Kultivation), so kann man ihr Vorkommen als spontanes bezeichnen. Wenn die beweglichen Zellen erst nach einer bestimmten Beeinflussung des Wachstums erscheinen, z. B. nach dem Übergossen mit der Nährlösung, durch Temperatur- oder Belichtungsänderung, so haben wir ihr Vorkommen als induziertes anzusehen. Für die Beurteilung der Vegetationsstrübungsdichte, die durch die beweglichen Zellen verursacht wird, wurde eine Hilfsskala ausgearbeitet:

1. Die Vegetationsstrübung ist mit freiem Auge nicht sichtbar, im Gesichtsfeld des Mikroskops nur einzelne Zellen.
2. Die Vegetationsstrübung ist mit freiem Auge nicht sichtbar, im Gesichtsfeld 10—15 Zellen.
3. Schwache Vegetationsstrübung, mit freiem Auge sichtbar.
4. Deutliche Wölkchen oder ein Ring knapp unter dem Wasserspiegel.
5. Vegetationsfärbung der Lösung.

Tab. 2 — Präparationsverfahren für Ultradünnschnitte

	Chryso 3/2A unbewegliche Zellen	Cor-9 bewegliche Zellen	Cor-10 unbewegliche Zellen
Präfixierung	—	während der Zentrifugation 1% OsO ₄ in der KSpH-Lösung 0 °C; 15 Min.	—
Fixierung	1 % OsO ₄ + 1 % K ₂ Cr ₂ O ₇ in 0,2 M Phosphatpuffer nach SÖRENSEN pH 7, 20°C; 30 Min.	1 % OsO ₄ in 0,05 M s-Collidin, pH 6,8, 0 °C; 150 Min.	1 % OsO ₄ in 0,05 M s-Collidin, pH 7, 0 °C; 120 Min.
Waschen	0,2 M Phosphatpuffer, pH 7, 2 × 15 Min.	3 × redest. H ₂ O 0 °C	3 × redest. H ₂ O 0 °C
Einbettung in Agar	2% Agar, 40 °C	2% Oxoid-Agar, 41°C	2% Oxoid-Agar, 41°C
Färbung	—	2% wässer. Uranyl- acetat-Lösung, 0 °C; im Dunkeln	2% wässer. Uranyl- acetat-Lösung, 0 °C; im Dunkeln
Entwässerung	Entwässer. in Azeton	Entwässer. in Azeton	Entwässer. in Azeton
Einbettung in Kunststoffe	Vestopal W	Durcupan ACM, Fluka	SPURR-Medium
Kontrastieren	2% wässer. Uranyl- acetat-Lösung nach REYNOLDS, Konz. 1 : 5; 5 Min.	Bleisalz-Lösung nach SATO (1968), Konz. 1 : 1; 10 Min.	Bleisalz-Lösung nach SATO (1968), Konz. 1 : 1; 10 Min.

Diese Skala ermöglicht eine subjektive Wertung und eine graphische Darstellung des Vorkommens beweglicher Zellen (Tab. 3).

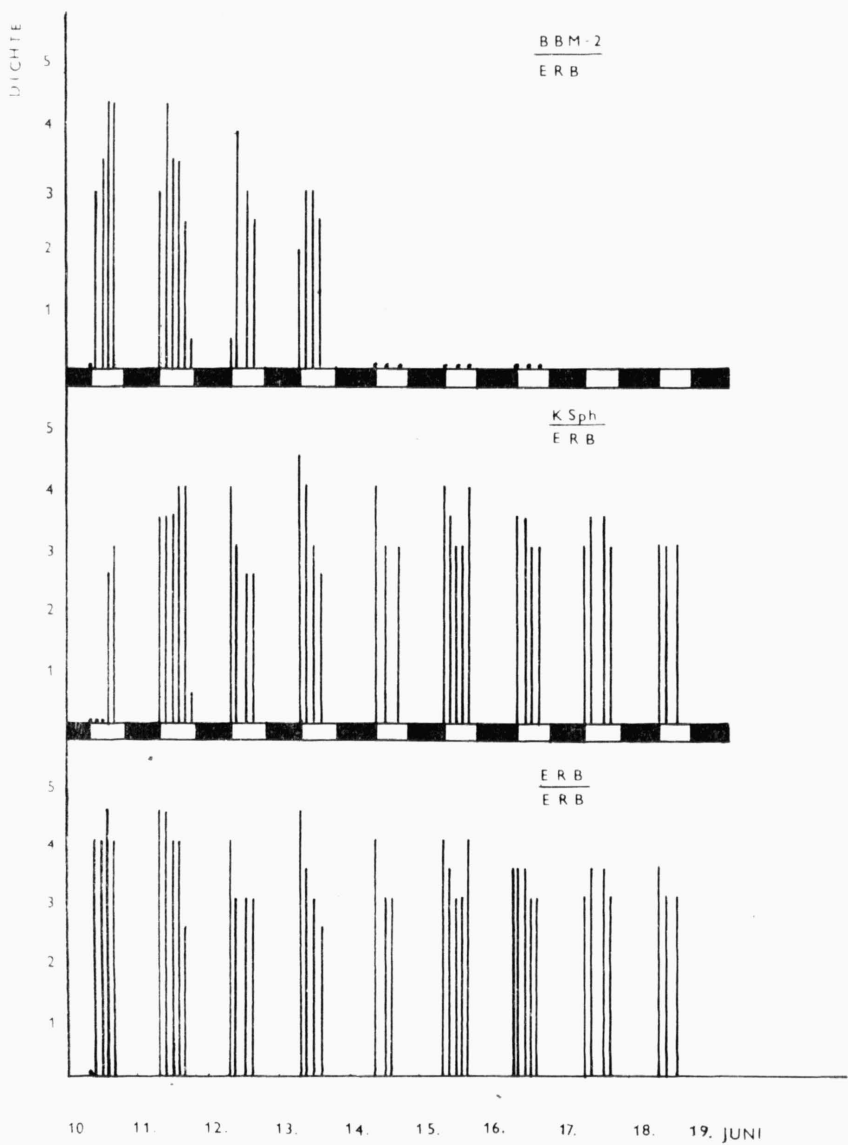
Elektronenmikroskopie: Beim Studium der Alge, besonders der beweglichen Zellen im Licht und Elektronenmikroskop, entstanden methodische Schwierigkeiten, die durch grosse Empfindlichkeit der Alge verursacht sind. Die beweglichen Zellen ertragen schlecht die Zentrifugation, den Druck des Deckglases und weitere notwendige Behandlungen. Bei einigen, besonders Glutaraldehydfixierungen verloren sie ihre Geisseln und Geisselfasern. Für das Studium der Ultrastruktur haben wir Totalpräparate und Ultradünnschnitte vorbereitet. Die Totalpräparate dienten zur Untersuchung der Geisseln und Geisselfasern bei den beweglichen Zellen. Gute Ergebnisse hatten wir bei Fixierung der Zellen mit 1 % Osmiumtetroxid-Lösung in 0,05 M s-Collidin Puffer bei pH 7. In einer nicht gepufferten Lösung von OsO₄ verloren die Zellen ihre Geisseln. Die fixierten Zellen wurden auf mit Formvar befilmte Trägernetze getropft und mit Chrom schräg bedampft oder negativ kontrastiert. Zwecks Negativkontrastierung der Geisselfasern wurden die fixierten Zellen in eine 1%ige, wässrige Uranylacetat-Lösung gebracht. Die Zellsuspension wurde dann auf die Trägernetze getropft und nach dem Austrocknen im

Elektronenmikroskop beobachtet. In Tab. 2 sind Verfahren angetührt, die bei der Präparation der Zellen für Ultramikrotomie verwendet wurden. Die Präfixierung der beweglichen Zellen während der ersten Zentrifugation war für das Erhalten der Geisseln nötig. Zur Fixage-Pufferung hat sich s-Collidin bewährt, welches eine bessere Unterscheidung der einzelnen Strukturen im Grundplasma ermöglicht. Die fixierten und entwässerten Zellen wurden in verschiedene Kunststoffe eingebettet. Vestopal W, Dureupan ACM und Spurr-Medium gewährleisteten schneidbare Blöcke. Die Unterschiede sind bei Kontrastierung und Beobachtung im Elektronenmikroskop sichtbar. Die beste Erhaltung der Struktur, Kontrastierungsfähigkeit und Stabilität im Elektronenstrahl weist das SPURR-Medium auf. Die Dünnschnitte haben wir in 1–2% wässriger Lösung von Uranylacetat und in Lösungen der Bleisalze kontrastiert. Die Anwendung der Bleisalzlösung nach SATO (1968) bietet bessere Ergebnisse beim Spurr-Medium und Dureupan als Bleizitrat nach REYNOLDS (1963). Die Lösung nach SATO ist sehr stabil und bildet keinen Niederschlag auf den Schnitten. Die eigene Kontrastierung in der Lösung nach SATO (verdünnt 1 : 1 mit destilliertem Wasser) wurde durch Eintauchen der Netze, eingelegt in einer löcherigen Polyethylenkapsel, durchgeführt (nach DOUGHERTY 1967). Die Ultradünnschnitte wurden auf dem Ultramikrotom Tesla BS 490 hergestellt und die Präparate in dem Elektronenmikroskop Tesla BS 613 untersucht.

WACHSTUM UND ENTWICKLUNG DER ALGE

Unbewegliche Zellen von *Corcontochrysis noctivaga* leben in Gallerte und bilden Kolonien, in welchen sie unregelmässig angeordnet sind (Taf. I, Abb. 1). Auf dem Agarsubstrat sind die Kolonien zuerst rundlich mit einer gewölbten Oberfläche, später bilden sie Überzüge. Die Gallerte dieser Kolonien ist hart, nach Färbung mit wässriger Methylenblaulösung geschichtet. In den Nährlösungen sind die Kolonien zart flockenförmig mit einer zerfliessenden, nicht geschichteten Gallerte. Unbewegliche Zellen vermehren sich durch Längsteilung, es entstehen zwei Tochterzellen. Diese bleiben gewisse Zeit in dichter Nähe beisammen und sind oft mit gemeinsamer Hülle umgeben. Die Reste der Hülle sind in der Gallerte sichtbar. Bewegliche Zellen (Taf. I, Abb. 2) kommen nur im flüssigen Medium vor und können aus jeder unbeweglichen Zelle entstehen. Die Zellteilung der beweglichen Zellen wurde nicht beobachtet. Ein spontanes Vorkommen von beweglichen Zellen haben wir in biphasischen Kulturen mit der submersen Kultivation verfolgt. Nach der Impfung vermehren sich in der Kultur nur unbewegliche Zellen, welche allmählich häufige, flockenförmige Kolonien mit dünner Gallerte bilden. Nach 10–14 Tagen erschien ein schwacher Ring beweglicher Zellen. Der Ring oder die leichte Vegetationstrübung erschien unregelmässig und kurzfristig, höchstens 2–3mal monatlich. In der Nährlösung kamen immer vereinzelte bewegliche Zellen vor. In weiteren Versuchen strebten wir nach Beeinflussung der Bildung von beweglichen Zellen. In der ersten Versuchsreihe züchteten wir die Alge 14–21 Tage auf Schrägagar (KSph, ERB, B-2). Nach dieser Zeit haben wir den Algenbewuchs mit der Nährlösung übergossen und die Kulturen ins Dunkle übertragen. Bewegliche Zellen erschienen nach 12–16 Stunden und schwärmten 3–4 Stunden. Diese Versuche haben gezeigt, dass die beweglichen Zellen in grossen Mengen gleichzeitig entstehen können. Ihre Induktion wurde durch Übergiessen der Kultur verursacht, einen kleineren Einfluss hat die Temperaturänderung und Verdunkelung. Nachfolgende Versuche wurden unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt. Die Algen wurden wieder 14–21 Tage auf Schrägagar vorgezüchtet. Dann wurden sie in ein Wasserbad mit der Temperatur von $22 \pm 2^\circ \text{C}$ und mit regulierter Belichtungszeit (12 Std. Licht, d. i. von 08,00 bis 20,00, und 12 Std. Dunkel, d. i. von 20,00 bis 08,00) übertragen. Tab. 3 zeigt das Verhalten der beweglichen Zellen während des zehntätigen Versuchs in ihrer Lichtphase (08–18 Std.). Einzelne Diagramme zeigen den

Einfluss von verschiedenen Lösungen, die zum Übergießen der auf dem ERB-Schrägar wachsenden Algen verwendet wurden. Die Kulturen wurden am 9. 7. um 13 Uhr übergossen. Bewegliche Zellen erschienen am 10. 7. in der Zeit von 10—14 Std., d. i. nach 21—25 Std. Die Dichte der beweglichen Zellen erreichte ihr Maximum schon während der ersten Versuchstages, aus-



Tab. 3. — Das Verhalten der beweglichen Zellen von *C. noctivaga* in einem vieltägigen, unter konstanten Licht- und Temperaturbedingungen durchgeführten Versuch. Einzelne Diagramme stellen Bewegungsdauer und Zusammensetzung der Nährböden dar. Erklärung der Abkürzungen im methodischen Teil (Tab. 1) angeführt.

nahmsweise später, und einige Tage blieb die Kultur in diesem Zustand. In Kulturen B-2/ERB hat sich die Maximaldichte nur 2 Tage gehalten, am 5. Tag sind die beweglichen Zellen verschwunden. In Kulturen ERB/ERB und KSph/ERB hat die Dichte erst nach 7 Tage abgenommen. Während des Versuches war das Wachstum der Kultur beschränkt. Unbewegliche, vor dem Übergießen gewachsene Zellen änderten sich aufeinanderfolgend in bewegliche. Zur Dichteabnahme kam es immer nachmittags.

Unsere Beobachtungen zeigen, dass im Lebenszyklus der Alge ein unbewegliches Stadium überwiegt, wo die Zellen in Gallerte leben. Die beweglichen Zellen entwickeln sich nur selten und kurzfristig, oft erscheinen überhaupt keine während des ganzen Versuches. Diese Schwierigkeit des Übergangs in den beweglichen Zustand ist für *Corcontochrysis noctivaga* typisch. Die Zellteilung beschränkt sich auf das unbewegliche Stadium. Am intensivsten erfolgt sie in den Zellen, die gerade zu Schwärmen aufgehört haben. So lassen diese bei wiederholter Zellteilung kleine kugelige Kolonien entstehen. Die älteren unbeweglichen Zellen teilen sich langsam und gewöhnlich entstehen 2 Tochterzellen.

FEINBAU DER ZELLEN

Die Struktur der beweglichen und unbeweglichen Zellen ist ungefähr dieselbe. Beide Zelltypen haben eine ähnliche Gestalt und einen dorso-ventralen Bau. An der Bauchseite sind sie mit Geisseln versehen, die bei den unbeweglichen Zellen in Gallerte eingelagert sind. Manche Organellen der unbeweglichen Zellen weisen Unterschiede auf, die als Ausdruck der veränderten Lebensaktivität erklärt werden können. Diese Unterschiede können wir in der Lamellenanordnung des Chromatophoren, in der Struktur des Dictyosoma, in der Schleimproduktion, in der Speicherstoffablagerung und in der Vakuolenbildung feststellen.

Bei Ventralansicht sind die Zellen von *C. noctivaga* eiförmig und in der Richtung der Längsachse leicht gedreht. Mitten durch die Ventraloberfläche verläuft eine kompliziert gestaltete Ventralfurche (Taf. I, Abb. 2; Taf. IV, Abb. 15; Taf. V, Abb. 23; Taf. VI, Abb. 30). Im Vorderdrittel dieser Furche befindet sich eine trichterförmige Vertiefung (Taf. III, Abb. 10, 12, 13, 14; Taf. IV, Abb. 17; Taf. VI, Abb. 29), aus welcher die Geisseln herauswachsen. Die Dorsaloberfläche der Zelle ist glatt und leicht gewölbt (Taf. III, Abb. 12).

Die Zelloberfläche ist mit einer dünnen, festen Hülle bedeckt, die die ganze Zelle umgibt und in die trichterförmige Vertiefung an der Ventralseite eintritt (Taf. III, Abb. 10, 12; Taf. IV, Abb. 17). Die äussere Oberfläche der Hülle ist glatt. Auf dem Querschnitt (Taf. IV, Abb. 17) zeigt sie einen dreischichtigen Bau: eine fein granuliert Mittelschicht ist von zwei dünnen, elektronendichten Schichten begrenzt. Die Hülle (oder nur ihr Teil) ist leicht von der Zelloberfläche entfernt, was in den meisten Fällen auf den Schnitten sichtbar ist. Die abgezogene Hülle hat auf dem Schnitt eine nur fein granuliert Struktur. Bei einigen Zellen (Taf. V, Abb. 20; Taf. VI, Abb. 29, 30) ist die von der Oberfläche abgezogene Hülle gewellt. Im Geisselbereich bildet sie scharfe Ausläufer und Ausstülpungen. Unter der abgezogenen Hülle ist die Zelloberfläche von einer elektronendichten Schicht bedeckt, die für das Plasmalemma gehalten werden kann. Zwischen der Hülle und Zelloberfläche kann man oft Vesikel unregelmässiger Gestalt beobachten, die etwa Schleime enthalten (Taf. IV, Abb. 18).

Einige unbewegliche Zellen sind von einer Gallertblase umgeben, ihre äussere Oberfläche wird von einer elektronendichten Schicht abgegrenzt, die an die Zellhülle erinnert (Taf. III, Abb. 12).

Der Geisselapparat wächst aus einer trichterförmigen Vertiefung an der Ventralseite der Zelle heraus. Die Abb. 4, 5, 6 (Taf. II) zeigen die verhältnismässige Länge und charakteristische Lage der Geisseln. Zwischen beiden Geisseln ist ein kurzes, walzenförmiges Haptonema untergebracht. Die Oberfläche beider Geisseln ist mit einem dichten Bewuchs aus feinen Fasern

bedeckt. Abb. 7 (Taf. II) zeigt solche negativ gefärbte Fasern bei stärkerer Vergrößerung: es sind dünne, einfache Fäden. Die Geisseln wachsen in einem gemeinsamen, schräg nach vorne geneigten Bündel heraus (Taf. III, Abb. 13, 14). Eine ähnliche Neigung hat auch die trichterartige Vertiefung, welche die Geisseln umgibt.

Die Form der Vertiefung ist verwickelt. Ihre Innenfläche ist mit der Zellhülle bedeckt, die in ihrem oberen Teil runzelig erscheint. Die Vertiefung endet an der Austrittsstelle der Geissel aus der Zelle. Eine enge Einstülpung des Bodens tritt aber in das Geisselbündel in die Zelle hinein (Taf. III, Abb. 10, 14; Taf. IV, Abb. 18; Taf. V, Abb. 21). Diese Einstülpung kann man mit „pit“ oder „sac“ bei den *Pavlova*-Arten vergleichen. Die Wände der trichterartigen Vertiefung sind durch schichtenförmig eingelagertes Fadenmaterial verstärkt (Taf. III, Abb. 10, 12, 13, 14; Taf. IV, Abb. 16, 17, 18 usw.), welches in einer unteroberflächigen Zisterne entsteht. In den Abb. 10, 13, 14 (Taf. III) ist im Längsschnitt der Geisseleintritt dargestellt, eine Stelle, wo das Haptonema herauswächst. Das Haptonema ist kurz walzenförmig und im freien Teil mit elektronendichtem Material erfüllt. In denselben Aufnahmen ist im Längsschnitt eine Geisselwurzel, die durch das Cytoplasma verläuft und blind in der Zelle endet, abgebildet. Die Querschnitte der Geisselwurzel (Taf. VI, Abb. 27, 28) zeigen die Anordnung der Mikrotubuli in ihren verschiedenen Teilen. In den Abb. 16, 18, (Taf. IV) und 21 (Taf. V) sind im Querschnitt die Geisselbasen, in Abb. 24 ist eine Brücke zwischen den Kinetosomen dargestellt.

Querschnitte des Haptonemas sind in den Abb. 16 (Taf. IV) und 31, 32 (Taf. VI) wiedergegeben, wo die charakteristische hufeisenförmige Anordnung des elektronendichten Materials, in welchem die Mikrotubuli eingelagert sind, erkennbar ist. Hier können wir auch eine kleine Mittelzisterne bemerken.

An der Ventralseite der Zelle, in der Umgebung der Längsfurche und trichterförmigen Vertiefung entwickelt sich eine unteroberflächige Zisterne. Abb. 16 (Taf. IV) zeigt die Lage des Geisselbündels in der Zisterne. In derselben Abb. kann man sehen, dass die Zisterne vom Plasma durch ein System von Elementarmembranen abgetrennt ist. In der Umgebung der Zisterne befinden sich verschiedene Vesikel (Taf. IV, Abb. 18), die sich wahrscheinlich in die Zisterne entleeren. Diese Vesikel werden wahrscheinlich von den Dictyosomen abgeteilt.

Der Golgi-Apparat ist eine auffallende Struktur in allen Zellen. Er ist aus einem einzigen Dictyosom, welches polar gebaut ist, gebildet und namentlich in beweglichen Zellen mächtig entwickelt. Form und Lage des Dictyosoms in beweglichen Zellen zeigen die Abb. 20—23 (Taf. V). Das Dictyosom befindet sich inmitten der Zelle, in der Nähe der pulsierenden Vakuole. Es kann in eine Generationszone mit schmalen, leicht gebogenen Vesikeln und in eine Sekretionszone mit aufgeblasenen Vesikeln, die mit einem homogenen, elektronentransparenten Inhalt gefüllt sind, unterschieden werden. Einige gefüllte Vesikel sind im Kontakt mit einer grossen pulsierenden Vakuole (Taf. V, Abb. 21, 22, 23; Taf. VI, Abb. 25). Der Inhalt der Vesikel wird vielleicht in die pulsierende Vakuole und teilweise auch in die unteroberflächige Zisterne entleert. An den Rändern der flachen Vesikel werden kleine kugelige Vesikel („coated vesicles“) mit elektronendichten Inhalt gebildet. In den unbeweglichen Zellen nimmt das Dictyosom eine verschiedene Lage ein (Taf. III, Abb. 10; Taf. IV, Abb. 18, 19), manchmal nähert es sich bis zur Zelloberfläche. Das Dictyosom der unbeweglichen Zellen ist nicht in eine Sekretions- und Generationszone gegliedert (Taf. III, Abb. 10; Taf. IV, Abb. 19), die Vesikel sind von gleicher Form, einander parallel und gebogen.

Die unbeweglichen Zellen sind von Gallerte umgeben. In Abb. 8 ist eine in einer konzentrisch geschichteten und durch fadenförmige Elemente gebildeten Gallerte eingelagerte Zelle wiedergegeben (fixiert mit $\text{OsO}_4 + \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Nach Fixierung mit $\text{OsO}_4 + \text{s-Collidin}$ ist die Struktur weniger sichtbar.

Corcontochrysis noctivaga ist mit 1—2 parietalen Chromatophoren versehen (Taf. V, Abb. 20; Taf. VI, Abb. 24, 25). Die Innenfläche der Chromatophoren ist mit einer flachen Zisterne des endoplasmatischen Retikulums bedeckt

(Taf. VI, Abb. 24, 25). Die Chromatophoren enthalten viele, ungefähr parallel angeordnete Lamellen, die immer von 3—4 Thylakoiden gebildet werden. Unter den Lamellen ist eine grob granuliert Matrix. Die Chromatophoren der beweglichen Zellen haben sehr dichte parallele Lamellen mit engen Zwischenschichten der Matrix (Taf. V, Abb. 23; Taf. VI, Abb. 25, 30). Abb. 23a zeigt den vergrößerten Teil des Chromatophoren einer beweglichen Zelle. In den Chromatophoren der unbeweglichen Zellen sind die Lamellen durch ungleich verteilte, meistens dichte Zwischenschichten der Matrix gegliedert (Taf. IV, Abb. 15, 17, 18).

In manchen Zellen der alten Kulturen ist mit dem Lichtmikroskop ein orangefarbiges Körperchen sichtbar, das seiner Lage nach an ein Stigma erinnert (Kalina 1970, Tab. I: g, i, h). Diese Körperchen entsprechen schwach osmophilen Tropfen (Plastoglobuli), die einzeln unter den Lamellen zerstreut sind (Taf. IV, Abb. 18; Taf. VI, Abb. 29). Manchmal sind sie in einer Reihe von 3—4 angeordnet (Taf. IV, Abb. 18). Diese Tropfen sind zum Unterschied von den Grana des Augenflecks nur schwach elektronendicht und kommen nur vereinzelt vor, so dass wir sie nicht für einen Teil des Augenflecks halten können. Die Reservestoffe finden sich im Cytoplasma in Form von regelmässig ovalen, mit einer Elementarmembran umgebenen Körnchen (Taf. II, Abb. 9).

Der Zellkern liegt in der Nähe der Dorsaloberfläche der Zelle. Er hat eine unregelmässige Gestalt und ist mit der Kernhülle bedeckt (Taf. III, Abb. 14; Taf. V, Abb. 20; Taf. VI, Abb. 25). Im Karyoplasma des interkinetischen Zellkernes, das in elektronentransparentes Nukleoplasma und elektronendichtes Chromatin geteilt ist, liegt ein Nucleolus.

Die Mitochondrien beider Zelltypen sind von gedehnter Form mit keulenförmigen Cristen.

Ausser den beschriebenen Organellen befinden sich im Plasma der Zellen noch zwei Typen von Vakuolen. In den alten, unbeweglichen Zellen sind oft grosse Vakuolen von unregelmässig ellipsoidischer Form, die einen elektronendichten Niederschlag (Polyphosphate?) und oft auch Körper von spindelförmiger Gestalt und kristallinischer Struktur enthalten (Taf. II, Abb. 8; Tab. III, Abb. 14). In beiden Zelltypen finden wir selten auch kleine Vakuolen mit zahlreichen kugeligen Granula.

DISKUSSION UND ERGEBNISSE

Das Studium der Ultrastruktur und des Lebenszyklus der Kulturen bestätigt, dass *Corcontochrysis noctivaga* ein Flagellat ist, bei welchem das palmelloide Stadium überwiegt und auch unbewegliche, mit Gallerte umgebene Zellen gebildet werden. Unter bestimmten Bedingungen können diese Zellen aus der Gallerte ausschwärmen und bewegen sich eine bestimmte, in der Regel kurze Zeit in der Nährlösung. Der bedeutende Anteil des palmelloiden Stadiums in der Entwicklungsgeschichte der Art kann man für eine Anpassung an die amphibiotischen Bedingungen, die für ephemere Torftümpeln typisch sind, halten.

Vom taxonomischen Gesichtspunkt aus sind folgende Feststellungen wichtig:

1. Die Zellen weisen dorsiventralen Bau und bilaterale Symmetrie in der Lage der Zellorganellen auf.

2. Der Geisselapparat (2 verschieden lange Geisseln + Haptonema) wächst als gemeinsames Bündel aus einer trichterförmigen Vertiefung im Vorderteil der Fureche an der Ventralseite der Zelle hervor.

3. Die Geisseln sind mit feinen, dichten Fasern bedeckt.

4. Auf dem Querschnitt durch das Haptonema ist ein hufeisenförmiges, elektronendichtes Material, in welchem Mikrotubuli eingelagert sind, erkennbar.

5. Die Zelle ist von einer festen, dreischichtigen Hülle umgeben.

6. In der Umgebung der trichterförmigen Vertiefung und entlang der Venturfureche ist eine unteroberflächige Zisterne entwickelt.

7. In der Zelle ist eine einzige pulsierende Vakuole vorhanden, die einen Teil des Dictyosoms bildet.

8. Die Reservestoffe sind als regelmässige, ellipsoidische Körper im Plasma der unbeweglichen Zellen eingebettet.

Diese Merkmale ermöglichen es, *C. noctivaga* in den Umkreis von Flagellaten mit einem ähnlichen Zellbau zu stellen. Es sind dies folgende Arten:

Pavlova gyrans BUTCHER, 1967, Leitart, elektronenmikroskopisch von GREEN et MANTON (1970) studiert;

Pavlova pinguis GREEN, 1967, auf Grund lichtmikroskopischer Beobachtung beschrieben. Sie hat eine amöboide Zellform, einen Chromatophor und Augenfleck;

Pavlova mesolychnon Van der VEER, 1969, elektronenmikroskopisch studiert;

Pavlova helicata Van der VEER, 1972, elektronenmikroskopisch studiert;

Pavlova granifera GREEN, 1973, elektronenmikroskopisch studiert.

Zu dieser Gruppe gut bekannter Algen kann man noch zwei andere, vorläufig nur wenig bekannte Taxa stellen:

Exanthemachrysis gayralii LEPAILLEUR, 1970, wurde auf Grund lichtmikroskopischer Beobachtungen und teilweise auch elektronenmikroskopischer Aufnahmen der Geisseln beschrieben. Die längere Geissel ist mit feinen Fäden bedeckt. Elektronendichte Körperchen fehlen vollkommen. Die Alge bildet kugelige Kolonien unbeweglicher Zellen, die sich durch Sprossung vermehren. *Sarcinochrysis granifera* (MACK) TSCHERMAK-WOESS, 1973, wurde auf Grund lichtmikroskopischer Beobachtungen beschrieben. In der Kultur dieser Alge wurden bewegliche Zellen beobachtet, die mit der Art *Pavlova granifera* identisch sind und unbewegliche Zellen von verschiedener Gestalt. Einige von diesen bilden sarcinoide Kolonien, ähnlich wie die Gattung *Sarcinochrysis* GETTLER. Dieses Taxon scheint fraglich zu sein. GAYRAL (1972 und briefliche Mitteilung) scheidet jede Möglichkeit aus, diese Alge in die Gattung *Sarcinochrysis* einzureihen. Sie studierte die Art *S. maritima* GETTLER und hat festgestellt, dass die Zoosporen dieser Alge einen, für die Klasse der *Phaeophyceae* typischen Geisselapparat besitzen. GREEN, welcher Kulturen von *S. granifera* studierte (briefliche Mitteilung), hat festgestellt, dass die sarcinoiden Kolonien keine beweglichen Zellen, welche *Pavlova*-Arten ähnlich wären, produzieren. Er hat nur Zoosporen, wie in den Gattungen *Isochrysis* oder *Ruttena*, aufgefunden.

Die Arten der Gattung *Pavlova*, *Corcontochrysis* und soweit bekannt auch *Exanthemachrysis* haben viele gemeinsame Merkmale. Es sind dies folgende:

1. Dorsoventraler Zellbau und ventrale Geisselinsertion.

2. Eigenartige Geisselfasern.

3. Innenbau des Haptonemas.

4. Anwesenheit der unteroberflächigen Zisterne.

5. Ein Dictyosom, das elektronendichte Körperchen oder Schleime produziert.

6. Mikrochemische Reaktion der Reservepolysaccharide.

Diesen Merkmalen nach unterscheiden sich die untersuchten Flagellaten von Vertretern der Klasse der *Chrysophyceae* und teilweise auch von der Klasse der *Haptophyceae* (Bau des Haptonemas, Produktion des Golgi-Apparates, Geisselfasern).

Tab. 4 ist ein Versuch, die Arten der Gattung *Pavlova* und *Corcontochrysis noctivaga* auf Grund von 15 Merkmalen zu vergleichen. Aus der Tabelle geht

Tab. 4. — Übersicht der diakritischen Merkmale der elektronenmikroskopisch untersuchten Arten

Merkmal	<i>Pavlova gyrans</i>	<i>P. mesolychnon</i>	<i>P. helicata</i>	<i>P. granifera</i>	<i>Corcontochrysis noctivaga</i>
überwiegendes Stadium	nur bewegliche Zellen *	nur bewegliche Zellen *	nur bewegliche Zellen *	unbewegliche und bewegliche Zellen	unbewegliche und bewegliche Zellen
Zellform	amöboid-wechselnd *	beständig	beständig	beständig	beständig
Zellhülle	Periplast mit Rhizopodien *	perforierte Theka *	Theka °	Periplast °	3schichtige Hülle °
Haptonema	nicht kontraktile, kurz	kontraktile, 4mal länger als die Zelle *	kontraktile, 4mal länger als die Zelle *	nicht kontraktile, kurz	nicht kontraktile, kurz
elektronendichte Körperchen auf der längeren Geißel	+ *	+ *	+ *	+ *	—
Austritt der Geißel	im Niveau der Oberfläche *	in einer flachen Vertiefung *	in einer flachen Vertiefung *	in einer flachen subapikalen, beutelförmigen Vertiefung	in einer trichterförmigen Vertiefung der Ventralseite
Einstülpung	eng röhrenförmig, glatt	beutelförmig, mit einem engen Kanälchen, glatt *	beutelförmig, mit einem engen Kanälchen, glatt *	breit röhrenförmig, mit elektronendichten Körperchen *	eng röhrenförmig
unteroberflächige Zisterne	umgibt die ganze Zelle °	in der Umgebung der Geißelpapille °	umgibt die ganze Zelle °	umgibt die ganze Zelle °	in der Umgebung der trichterförmigen Vertiefung u. längs der Ventralfurche °

Gallerte	— *	— *	— *	bei unbeweglichen Zellen, geschichtet	bei unbeweglichen Zellen, geschichtet
Pyrenoid	1, am distalen Zellende hervortretend *	2, aus der Innenoberfläche des Chromatophoren hervortretend *	2, aus der Innenoberfläche des Chromatophoten hervortretend *	1, in das Zellinnere hervortretend *	—
polysaccharide Körner	unregelmässig mit kristallinischer Struktur	2—4, ellipsoidisch	2, ellipsoidisch	2, ellipsoidisch	2—3, ellipsoidisch
Vorkommen	Brackwasser *	salzhaltige Pfützen *	salzhaltige Pfützen *	Seeufer	Torftümpel
pulsierende Vakuole	— *	— *	— *	+	+
Produkte des Golgi-App.	dichte Körperchen *	?	dichte Körperchen *	?	Gallerte
<i>Corcontochrysis:</i> Zahl der gemeinsamen Merkmale	4	5	3	10	—

Anmerkung: * bezeichnet die von *C. noctivaga* abweichenden Merkmale
 ° Merkmale, die nicht genau verglichen werden konnten

hervor, dass unter den Arten der Gattung *Pavlova* wesentliche Unterschiede bestehen. Diese ermöglichen, 3 Gruppen der Arten auszugliedern:

1. *Pavlova gyrans*, *P. pinguis*: Flagellaten mit einer amöboid-veränderlichen Zellform, Pseudopodien bildend. Haptonema kurz, nicht kontraktile, Chromatophor umfasst ein Pyrenoid, Augenfleck vorhanden.

2. *P. mesolychnon*, *P. helicata*: Flagellaten mit ständiger Zellform, mit langem, kontraktilem Haptonema, mit 2 Chromatophoren, wobei jeder ein Pyrenoid beinhaltet. Stigma fehlend.

3. *P. granifera*: Flagellaten und unbewegliche Zellen in Gallerte. Die Zellen haben eine ständige Zellform, ein kurzes, nicht kontraktiles Haptonema, ein Pyrenoid und Stigma.

Man kann nicht ausschliessen, dass weitere Forschungen die Notwendigkeit ergeben werden, diese Gruppen als selbständige Gattungen zu definieren.

Der Vergleich einzelner Arten der Gattung *Pavlova* mit *C. noctivaga* (Tab. 4) zeigt eine verschiedene Zahl ähnlicher Merkmale. Die kleinste Zahl weist der Typus der Gattung, *Pavlova gyrans*, auf. Die grösste Zahl ähnlicher Merkmale kommt bei *P. granifera* vor. Diese Art ist von *C. noctivaga*, ungeachtet der wesentlichen Ähnlichkeit, in einigen bedeutenden Merkmalen verschieden: längere Geissel und innere Oberfläche der Einstülpung sind mit elektronendichten Körperchen bedeckt, die unteroberflächige Zisterne hat eine ganz andere Form, der Chromatophor besitzt ein Pyrenoid, ein Augenfleck ist vorhanden.

Ergänzte Diagnose der Gattung *Corcontochrysis* KALINA 1970

Zellen in Gallerte lebend oder frei schwimmend mit dorsoventralem Zellbau und mit fester Zellform. Der Geisselapparat wächst aus einer trichterförmigen Vertiefung an der Ventralseite der Zelle und ist von zwei verschiedenen langen Geisseln mit feinen Fäden an ihrer Oberfläche und einem Haptonema gebildet. Elektronendichte Körperchen fehlen. In der Umgebung der trichterförmigen Vertiefung und der Längsfurche, die an der Ventralseite der Zelle verläuft, ist eine unteroberflächige Zisterne entwickelt. Die Chromatophoren sind braun gefärbt, ohne Pyrenoid, kein Augenfleck. In der Zelle ist eine einzige pulsierende Vakuole vorhanden. Im Plasma der unbeweglichen Zellen sind 2–3 ellipsoidische Körner eingebettet.

Ergänzte Diagnose der Art *Corcontochrysis noctivaga* KALINA 1970

Zellen in Gallerte lebend oder freischwimmend, 5–8–12 μm lang, 6–8 μm breit, 4–5 μm dick, leicht dorsiventral abgeplattet, an der Ventralseite breit ellipsoidisch, von der Seite nierenförmig mit einer gewölbten, glatten Dorsaloberfläche. An der Ventralseite ist eine Längsfurche entwickelt, in ihrem Vorderdrittel befindet sich eine trichterförmige Vertiefung mit einer eng röhrenförmigen Einstülpung, die in das Zellinnere reicht. Die lange Geissel, etwa 1,5mal länger als die Zelle, ist mit einem dichten Bewuchs von langen, feinen Fäden bedeckt. Die kürzere Geissel ist am Ende verjüngt, sie erreicht etwa $\frac{1}{2}$ der Zellenlänge und ist auch von feinen Fäden bedeckt. Ein nicht kontraktiles, 2,5 μm langes, walzenförmiges Haptonema wächst zwischen beiden Geisseln hervor. Die Zellhülle ist fest, dreischichtig. In der Umgebung der trichterförmigen Vertiefung ist eine unteroberflächige Zisterne entwickelt. Chromatophoren 2, seitlich liegend, braun gefärbt, ohne Pyrenoid, kein Augenfleck. Zellkern unregelmässig oval, liegt in der Zellmitte. Im Cytoplasma eine pulsierende Vakuole, in den unbeweglichen Zellen 2–3 regelmässige ellipsoidische Körner vorhanden.

Ich möchte gern meinen besten Dank Herrn em. Professor RNDr. Erich Daumann CSc., für die Durchsicht des Manuskripts, Fräulein RNDr. Libuše Phillipová, Frau Eva Truncová und Herrn Ing. Vladimír Pokorný CSc., für die wertvolle und opferwillige Mitarbeit aussprechen.

Buňky *Corcontochrysis noctivaga* žijí ve slizu nebo krátkou dobu rejdí. Mají dorso-ventrální stavbu buňky s bičíkovým aparátem, který vyrůstá z nálevkovité prohlubně na břišní straně buňky. Dva různé dlouhé bičíky jsou porostlé jemnými dlouhými vlákny. Mezi nimi je krátké válečkové haptonema, na příčném řezu s podkovovitě uspořádanými mikrotubulemi v elektron-densní dřeni. *C. noctivaga* patří do blízkosti rodu *Pavlova* BUTCHER. Od druhů tohoto rodu se liší absencí elektrondensních tělísek na povrchu dlouhého bičíku, absencí pyrenoidu a stigmatu.

LITERATUR

- BROWN R. M. et H. C. BOLD (1964): Comparative studies of the algal genera *Tetracystis* and *Chlorococcum*. — *Phycological Studies*, Univ. Texas Publ., 5 : 1—213.
- DOUGHERTY W. J. (1967): Perforated BEEM capsules for precipitate-free transfer of ultrathin sections through staining solutions. — *Stain Technol.*, Baltimore, 42 : 104—105.
- GAYRAL P. (1972): Sur les Chrysophycées à zoides pheophycéens notamment *Sarcinochrysis marina* Geitler. — *Bull. Soc. Phycol. France*, Paris, 17 : 40—45.
- GREEN J. C. (1973): Studies in the fine structure and taxonomy of flagellates in the genus *Pavlova*. II. A freshwater representative, *Pavlova granifera* (Mack) comb. nova. — *Österr. Bot. Z.*, Wien, 121 : 235—255.
- GREEN J. C. et I. MANTON (1970): Studies in the fine structure and taxonomy of flagellates in the genus *Pavlova*. I. A revision of *Pavlova gyrans*, the type species. — *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, Plymouth, 50 : 1113—1130.
- KALINA T. (1970): *Corcontochrysis noctivaga* gen. et sp. n. (Chrysophyceae). — *Preslia*, Praha, 42 : 297—302.
- KREGER D. R. et J. Van der VEER (1970): Paramylon in a Chrysophyte. — *Acta Bot. Neerl.*, Amsterdam, 19 : 401—402.
- LEPAILLEUR H. (1970): Sur un nouveau genre de Chrysophycées: *Exanthemachrysis* nov. gen. (*E. Gayralii* nov. sp.). — *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 270 : 982—931.
- REYNOLDS E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. — *J. Cell Biol.*, New York, 17 : 208—212.
- SATO T. (1968): A modified method for lead staining of thin sections. — *J. Electron Microscopy*, Tokyo, 17 : 158—159.
- SMITH R. L. et H. C. BOLD (1966): Investigation of the algal genera *Eremosphaera* and *Oocystis*. *Phycological Studies*, Univ. Texas Publ., 6 : 7—121.
- SPURR A. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. — *J. Ultrastructure Res.*, New York, 26 : 31—43.
- TSCHERMAK-WOESS E. (1972): Über die Haptophyceae *Sarcinochrysis granifera* aus dem Neusiedlersee. — *Österr. Bot. Z.*, Wien, 121 : 235—255.
- VEER J. Van der (1969): *Pavlova mesolychnon* (Chrysophyta) a new species from the Tamary estuary, Cornwall. — *Acta Bot. Neerl.*, Amsterdam, 18 : 496—510.
- (1972): *Pavlova helicata* (Haptophyceae), a new species from Frisian Island Schiermonnikoog, the Netherlands. — *Nova Hedwigia*, Weinheim, 23 : 131—159.

Eingegangen am 27. Februar 1974

Rezendent: J. Komárek

Als Anlage zu dieser Arbeit s. noch Taf. I—VI.

Abkürzungen in den Tafeln:

D — Dictyosom, ER — endoplasmatisches Retikulum, H — Haptonema, CH — Chromatophor, N — Zellkern, P — Einstülpung, PV — pulsierende Vakuole, RS — Reservepolysaccharide, W — Geißelwurzel.