

Feinbau und Carotinoide von *Tribonema* (*Xanthophyceae*)

H. FALK und H. KLEINIG

Botanisches Institut der Universität Freiburg i. Br.
Lehrstuhl für Zellbiologie

Eingegangen am 11. Januar 1968

Fine Structure and Carotenoids of the Alga Tribonema (Xanthophyceae)

Summary. The fine structure and the carotenoids of three species of the genus *Tribonema* were investigated: *Tr. viride*, *Tr. aequale* and *Tr. minus*. The cells of the latter two species (cultured material) contained one nucleus, whereas the cells of the former (collected near Freiburg/Black Forest) possessed numerous nuclei. This multinucleate material is supposed to represent stages in the formation of zoospores as is also indicated by the occurrence of flagella.

The ultrastructure of the H-shaped walls which are characteristic for these *Heterotrichales* is described in detail. The general appearance of the cell interior of *Tribonema* resembles closely that of the related siphonous genus *Botrydium* (FALK, 1967). This is true for mitochondria, centrioles, the parabasal position of the dictyosomes, the association of the forming face of the Golgi apparatus with the nuclear envelope, cisternae of the ER-system surrounding the plastids and for the electron-transparent DNA-containing areas at the ends of the plastids. With respect to certain other structural features, however, differences between these two Xanthophycean algae are apparent:

a) In *Tribonema*, only one distinct dictyosome per nucleus can be recognized.
b) The plastids lack a pyrenoid area traversed by parallel bands of thylakoids. However, some of the plastids bulge somewhat into the cytoplasm and form out-pocketings, free of thylakoids. If these out-pocketings do represent pyrenoids, then they belong to the "bulging type" found in some brown algae, *Euglenophyceae* and *Haptophyceae*. c) In *Tribonema* plastids the three thylakoids forming a band are appressed and are not separated by an interthylakoidal space.

These structural differences are discussed with particular reference to their taxonomic value in assessing the position of the *Xanthophyceae* and other related groups of the *Chromophyta*.

Furthermore, evidence is presented that a limited area in the space between the plastid envelope and the surrounding ER-cisterna is occupied by a network of smooth ER-tubules. This network seems to be continuous with the periplastidal ER-cisterna. Similar tubular structures are reported for other groups of the *Chromophyta*. This suggests that the periplastidal network is of widespread occurrence among the *Chromophyta*.

Analysis of the carotenoid pigments of *Tribonema* has demonstrated that besides the carotenoids reported to be common in *Xanthophyceae* three triesters of a recently described new carotenoid, vaucherixanthin also are present. The esterified vaucherixanthin amounts up to 40% of the total carotenoid content. Since these triesters so far have been found only in *Vaucheria*, *Botrydium* and *Tribonema* they may provide additional taxonomic characterization for the *Xanthophyceae*.

Zusammenfassung. Zell-Feinbau und Carotinoidausstattung wurde bei drei Arten der Xanthophyceengattung *Tribonema* untersucht: *Tr. viride* (Freilandmaterial), *Tr. aequale* und *Tr. minus* (Kulturmaterial). Während die beiden letzteren nur einen Kern je Zelle enthielten, traten bei *Tr. viride* bis zu sechs Kerne je Zelle auf. Wahrscheinlich handelte es sich dabei um Fäden, die im Begriff waren, Zoosporen zu bilden, was auch durch das vereinzelte Auftreten von Geißeln nahegelegt wird.

Der Zellfeinbau von *Tribonema* ist dem von *Botrydium* sehr ähnlich. Einige bemerkenswerte Abweichungen hiervon (Dictyosomenzahl, Assoziationstyp der Thylakoide, Pyrenoid) werden unter dem Gesichtspunkt der Verwertbarkeit von Feinstrukturdaten für die Algensystematik ebenso diskutiert wie Übereinstimmungen mit anderen Chromophytengruppen (unter anderem periplastidäre ER-Cisterne, parasasale Lage des Golgi-Apparates, Lagebeziehung Kernhülle — Dictyosom). Bei den bereits für verschiedene Chromophytengruppen beschriebenen „tubulären Strukturen“ im Raum zwischen Periplastidärcisterne und Plastidenhülle handelt es sich um ein flächiges Maschenwerk aus nicht mit Ribosomen besetzten, untereinander kommunizierenden Tubuli („*Periplastidär-Reticulum*“), das mit der periplastidären Cisterne des ER in Verbindung steht.

Die Analyse der Carotinoide ergab, daß bei *Tribonema* außer den üblichen Xanthophyceen-Carotinoiden drei Triester des erst kürzlich in *Vaucheria* und *Botrydium* gefundenen, bisher unbekanntes Carotinoids Vaucherixanthin vorkommen. Es wird angenommen, daß Vaucherixanthin ein Pigment von chemotaxonomischem Wert zur Charakterisierung der Xanthophyceen ist.

Die Zahl der für die Systematik der Algen verfügbaren Merkmale ist durch die zunehmende Kenntnis ihres Feinbaues als auch ihrer Pigmentausrüstung beträchtlich erweitert worden. Dies trifft besonders für den Bereich der Chromophyten (sensu CHRISTENSEN, 1966) zu.

Dabei bietet sich eine Reihe von Feinstrukturdaten zur Abgrenzung und Unterscheidung an (Assoziationstyp der Plastidenthylakoide, Auftreten einer periplastidären ER-Cisterne, parasasale oder perinucleäre — bzw. disperse — Lage des Golgi-Apparates, Feinbau der Geißel usw.). Bei Xanthophyceen wurden in dieser Hinsicht bisher nur siphonale oder begeißelte Formen untersucht. Arbeiten an trichalen Vertretern standen aus oder wurden mit noch unzureichender Fixierungstechnik (LEFORT, 1962) durchgeführt.

Alle Gruppen der Chromophyten enthalten nur Chlorophyll a, sie unterscheiden sich aber in vielen Fällen in ihrer Carotinoid-Ausrüstung. So sind z. B. für verschiedene Xanthophyceen β -Carotin, Antheraxanthin, Luteinepoxid und ein Trollixanthin-ähnliches Pigment nachgewiesen (THOMAS u. GOODWIN, 1965). In den beiden siphonalen Xanthophyceen *Vaucheria* und *Botrydium* kommen neben β -Carotin, Antheraxanthin, Trollixanthin und — in Spuren — Zeaxanthin und Kryptoxanthin-epoxid aber auch noch drei Tri-Ester eines bisher unbekanntes Carotinoids Vaucherixanthin vor (KLEINIG u. EGGER, 1967). Es war zu vermuten, daß diese Triester auch in den übrigen Xanthophyceen-Gattungen zu finden sind. Sie wären dann ein Specificum für diese Algen-Gruppe.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, feinstrukturelle und pigmentanalytische Daten für die trichale Gattung *Tribonema* zu sammeln und ihre Verwertbarkeit in systematischer Hinsicht zu prüfen. Außerdem sollten an diesem hierfür geeigneten Objekt verschiedene auffällige Strukturbesonderheiten einiger Chromophytengruppen aufgezeigt werden.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an drei Arten der Gattung *Tribonema* durchgeführt: *Tr. viride* Pascher¹, *Tr. aequale* Pascher und *Tr. minus* G. S. West. Die beiden letzteren entstammten der Algensammlung Göttingen (880-1, 880-3), während erstere am natürlichen Standort (Bach bei Schlatt, südl. v. Freiburg i. Br.) entnommen wurde.

A. Elektronenmikroskopische Methoden. Zur Fixierung diente 6% phosphatgepuffertes (pH 7,2) Glutaraldehyd bei 0-4°C während 8-9 Std. Nach 12stündigem Auswaschen in mehrfach gewechselter Pufferlösung wurde in 1% OsO₄ (nach PALADE) für 3-4 Std bei 4°C nachfixiert. Stufenlose Entwässerung nach SITTÉ (1962) und Einbettung in Araldit erfolgte nach der üblichen Technik. Ultradünnschnitte (mit Pb-Citrat oder UO₂⁺⁺/Pb-Citrat kontrastiert) wurden mit einem Siemens-Elmiskop I A untersucht.

B. Pigment-Analysen. Die Farbstoffe wurden mit Aceton extrahiert und in Petroläther (Sb. 40-60°C) überführt. Die einzelnen Carotinoide wurden chromatographisch (Kieselgel) isoliert und in verschiedenen Systemen charakterisiert: 1. Kieselgur-Dünnschicht, Laufmittel Benzol/Methanol = 50:3; 2. mit unges. Triglyceriden imprägnierte Cellulose-Dünnschicht, Laufmittel Methanol/Aceton/Wasser = 30:10:2; 3. Polyamid-Dünnschicht, Laufmittel Petroläther (Sb. 100-140°C)/Methanol/Methyläthylketon = 40:5:5. Als Vergleich dienten die Carotinoide aus *Vaucheria* (KLEINIG u. EGGER, 1967). Die funktionellen Gruppen wurden nach den in der Carotinoidchemie üblichen Methoden bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Feinbau

Die für die Gattung *Tribonema* charakteristischen, H-förmigen Wandstücke sind im Elektronenmikroskop auch ohne Vorbehandlung deutlich zu sehen. Vor allem die Querwände lassen — in längsgeschnittenen Fäden — parallele Cellulosefibrillen erkennen, die seitlich in die Längswände einbiegen (Abb. 1a). Nur bei *Tr. aequale* erschienen die Querwände durch eine kontrastreiche — an eine Mittellamelle erinnernde — Wandschicht in zwei Hälften geschieden (Abb. 1b). Die Überlapung benachbarter H-Stücke erstreckte sich in unserem Material oft über weite Bereiche, so daß nicht selten bis zu drei solcher Wände übereinandergreifend auftraten (Abb. 1c). Die einzelnen H-Elemente sind stets durch fibrillär-flockiges Material untereinander verkittet; es handelt sich dabei wahrscheinlich um Schleimsubstanzen, die einerseits beim Längenwachstum der neu eingefügten Wandstücke das

¹ Für die Nachbestimmung sind wir Herrn Dr. C. J. SOEDER (Limnologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.) zu Dank verpflichtet.

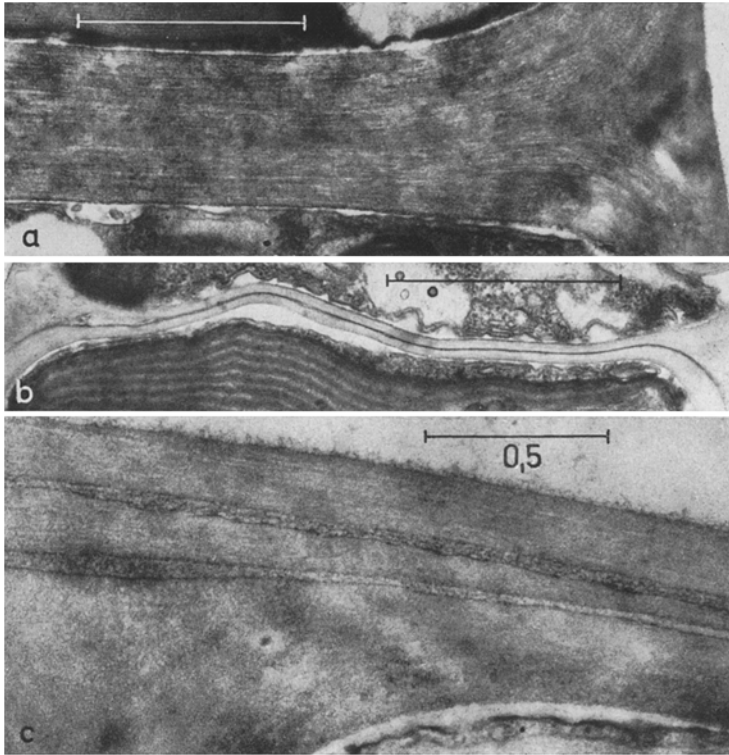


Abb. 1. a Cellulosefibrillen in der Querwand von *Tr. minus*. b Querwand von *Tr. aequale* mit kontrastreicher Mittelschicht. c Einander überlappende Teile der H-förmigen Zellwände von *Tr. minus*; zwischen den einzelnen Wänden flockiges Material (Schleim). Strichmarken entsprechen, falls nicht anders angegeben, jeweils 1 μm

Auseinandergleiten der älteren Stücke ermöglichen, zum anderen aber auch die einzelnen ineinandergeschachtelten Stücke zusammenhalten.

Während die Zellen des untersuchten Kulturmaterials (*Tr. aequale* und *Tr. minus*) durchweg nur einen Zellkern besaßen, traten in *Tr. viride* mehrere — bis zu sechs — je Zelle auf. Es liegt die Annahme nahe, daß es sich hier um Fäden handelte, die auf dem Wege zur Zoosporenbildung polyenergid geworden waren. Hierauf deutet auch das Auftreten von Geißelbasen bei diesen Fäden hin. Häufig liegen dabei zwei Kerne sehr dicht beieinander (Abb. 2). Das Chromatin findet sich in den recht kleinen Kernen (etwa 2—3 μm \varnothing) weitgehend peripher verteilt an der Kernhülle. Der Gesamtaspekt der Chromatinverteilung spricht für einen Zustand hoher metabolischer Aktivität der Zellen. Die Kernporen lassen auf Tangentialschnitten einen deutlichen Annulus

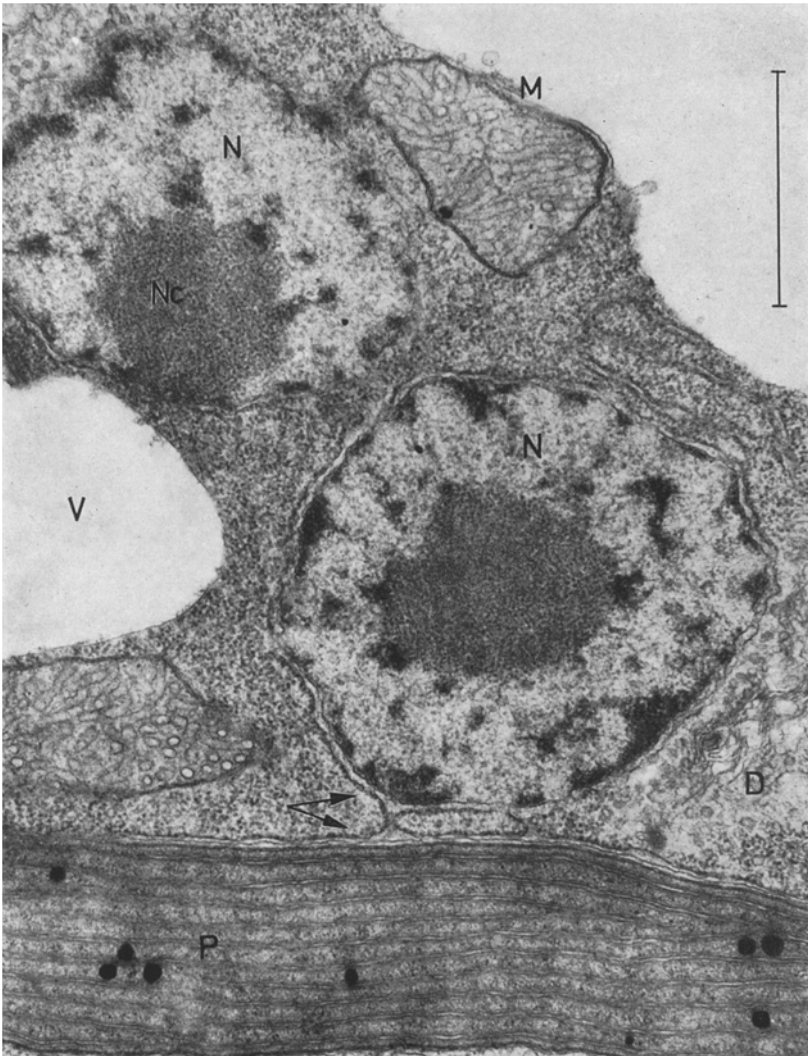


Abb. 2. Mehrkernige Zelle von *Tr. viride*; man beachte das weitgehend peripher im Kern (*N*) verteilte Chromatin und den Ribosomenbesatz auf der äußeren Membran von perinucleärer und periplastidärer Cisterne (*/*); dieser Ribosomenbesatz fehlt dort, wo der Kernhülle ein Dictyosom (*D*) gegenüberliegt. *Nc* Nucleolus, *M* Mitochondrium, *P* Plastide, *V* Vacuole. $\text{UO}_2^{2+}/\text{Pb}$ -citrat

(Innendurchmesser 60–70 nm) erkennen, der aus den bekannten globulären Untereinheiten — meist acht oder neun — zusammengesetzt ist (Abb. 3 a). Im Querschnitt erscheint der Binnenraum der Poren manchmal

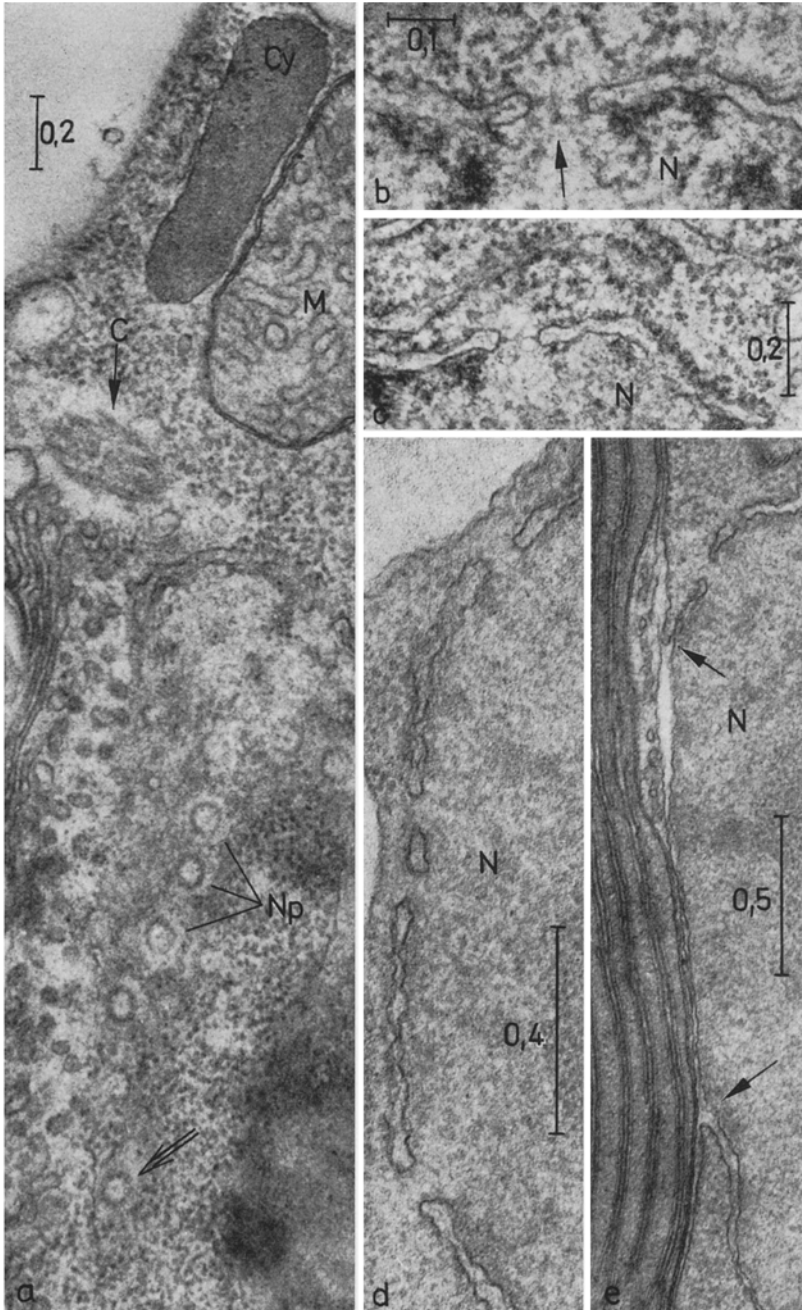


Abb.3. Kernporen bei *Tr. viride*. a Poren (*Np*) bei tangential getroffenem Kern zeigen Annuli mit globulären Untereinheiten (\Rightarrow). Zwischen Kernhülle und Dictyosom die Regenerationsvesikel (links). *C* Centriol, *Cy* Cytosom, *M* Mitochondrium. Pb-citrat. b und c Querschnittene Kernporen mit Binnenmaterial (\swarrow). UO_2^{2+} /Pb-citrat. d und e Kernporen ohne auffälliges Binnenmaterial; in e ist die Kernhülle teilweise identisch mit der Periplastidärcisterne (\swarrow); Pb-citrat

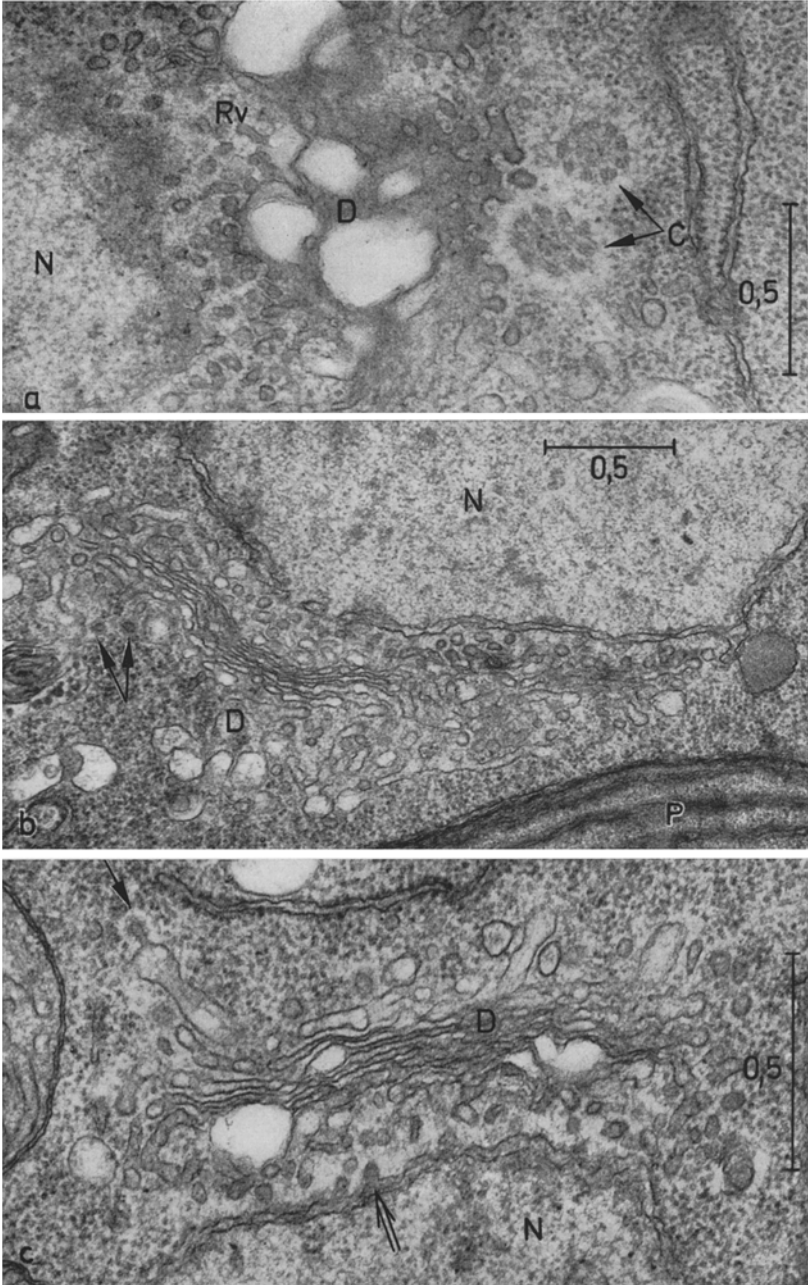


Abb.4. Dictyosomen von *Tr. viride*. a Flächenschnitt durch ein Dictyosom (D) zeigt retikuläre Cisternen; Lage des Dictyosoms parbasal in bezug auf das Centriolenpaar (C); zwischen Kern (N) und „forming face“ des Dictyosoms befinden sich die Regenerationsvesikel (Rv). b Dictyosom von etwa 2 μm Durchmesser. Auf der sezernierenden Seite unter anderem „coated vesicles“ (↙). P Plastide. c Kernhülle mit Regenerationsvesikeln (⇒). Golgi-Cisterne mit ansitzendem „coated vesicle“ (↙)

„leer“ (Abb. 3d, e), nicht selten aber auch durch von der Porenwand hineinragendes Material eingeengt (Abb. 3b, c); im so verbleibenden Lumen findet man bisweilen feine Stränge von elektronendichtem Material. Mit STEVENS u. SWIFT (1966) könnte man derartige Stränge als Substanz deuten, die sich auf der Passage Karyoplasma-Cytoplasma gerade im Innern eines Kernporen-Komplexes befindet.

Auffallend ist in den Tangentialschnitten ein „heller Hof“ um den Annulus herum (Abb. 3a), eine etwa 20–25 nm breite Zone, in der der sonst recht dichte Ribosomenbesatz der äußeren Membran der Kernhülle fehlt. Dieser Ribosomenbesatz fehlt außerdem auch in den Bereichen der Kernmembran, die der regenerierenden Seite eines Dictyosoms gegenüberliegen (Abb. 2, 4b, c), eine für viele Chromophyten typische Anordnung (z. B. BOUCK, 1965; STOERMER et al., 1965; FALK, 1967): von der äußeren Membran der perinucleären Cisterne scheinen sich Vesikel abzuschnüren, die dann zur „forming face“ des Dictyosoms wandern und dort mit den Membranen der Golgi-Cisternen fusionieren („Regenerationsvesikel“).

Bei allen drei *Tribonema*-Arten fand sich stets nur ein solches kernnahes Dictyosom und zwar in parabasaler Lage in bezug auf die Geißelbasis bzw. auf das Centriolen-Diplosom (Abb. 4a). Dieses Dictyosom erreicht mitunter eine beträchtliche Größe (bis zu 2 μm); es erscheint nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um zwei sehr eng beieinanderliegende Dictyosomen handelt (etwa Abb. 4b). Diese großen Dictyosomen sind wohl mit den aus der Lichtmikroskopie lange bekannten juxtannucleären „stark lichtbrechenden Körperchen“ von *Tribonema* identisch (SCHERFFEL, 1925). Die Golgi-Cisternen erweisen sich im Flachschnitt als deutlich retikulär (Abb. 4a). Auf der Sekretions-Seite der Dictyosomen sind neben typischen Golgi-Vesikeln manchmal auch „coated vesicles“ zu erkennen (Abb. 4b, c). Einzelne Golgi-Cisternen erscheinen stark angeschwollen (möglicherweise ein Fixierungsartefakt).

Die drei untersuchten Arten besitzen pro Zellkern jeweils ein Paar von Centriolen (Abb. 4a). Nur bei der — vermutlich vor der Zoosporenbildung stehenden — *Tr. viride* fanden wir gelegentlich auch im Zellplasma Geißelquerschnitte vom 9 + 2-Typ.

Die Mitochondrien von *Tribonema* sind tubulär (Abb. 2, 3a) und häufig eng assoziiert mit einem der auffälligen Cytosomen von etwa 0,2–0,4 μm Durchmesser, die von einer einfachen Elementarmembran umgeben und mit einer elektronendichten, mitunter flockig erscheinenden Substanz angefüllt sind (Abb. 3a, 4b, 6b).

Abb. 5. Plastide von *Tr. viride*: an deren Enden die Areale mit geringem Kontrast und DNA-Fibrillen (inset rechts oben). Inset links unten: thylakoidfreie Plastidenausstülpung, möglicherweise Pyrenoid. Pb-citrat

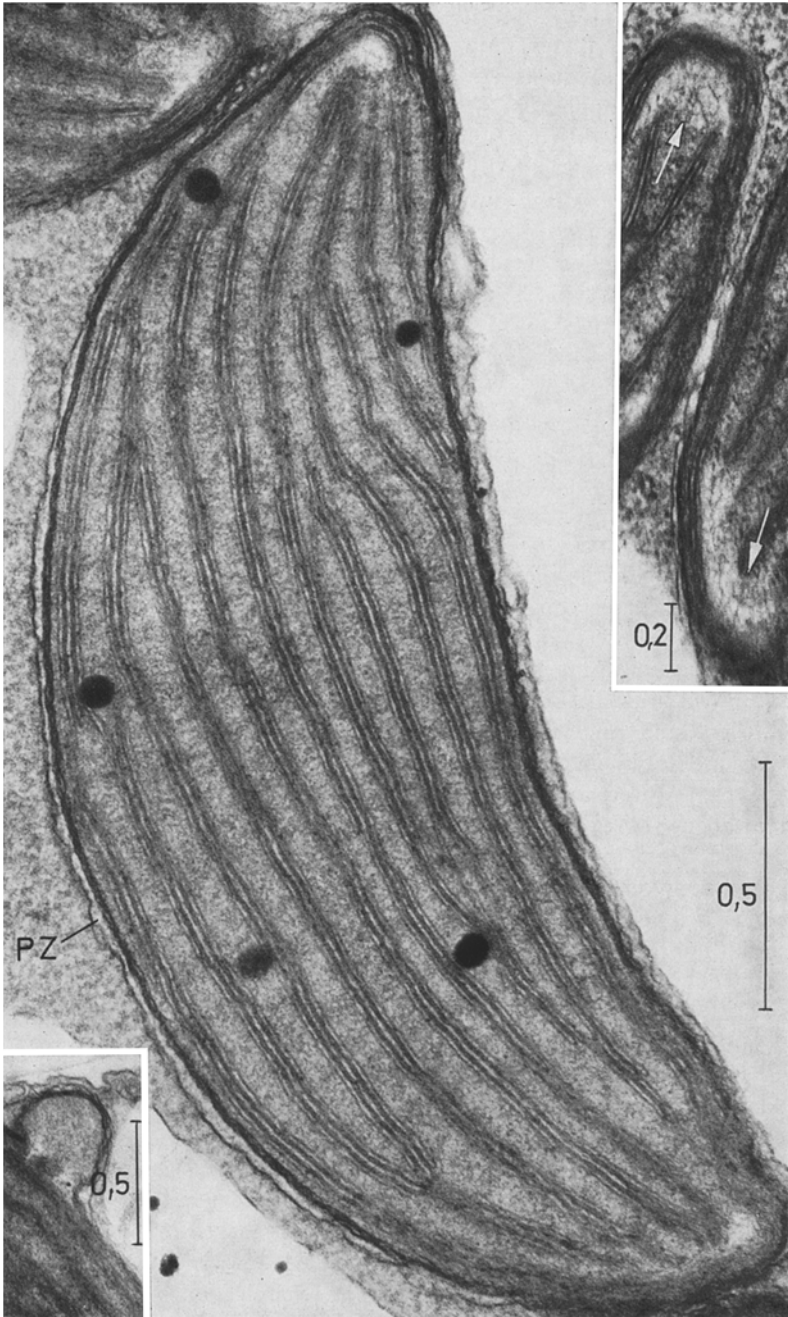


Abb. 5

Während *Tr. minus* und *Tr. aequale* nur zwei bis vier Plastiden je Zelle besitzen, findet man in den bedeutend größeren Zellen von *Tr. viride* bis zu 15 Plastiden. Diese werden in ihrer ganzen Länge von den für die Chromophyten — mit Ausnahme der *Cryptophyceae* — typischen Thylakoidbändern aus je drei assoziierten Thylakoiden durchzogen (Abb. 2, 3e, 5, 6c). Anders als bei der systematisch engverwandten Xanthophyceae *Botrydium* (FALK, 1967) sind hier die Thylakoidmembranen nicht durch einen elektronentransparenten Zwischenraum von etwa 4–5 nm voneinander getrennt, sondern eng aneinander gepreßt und weisen damit das typische „Dünn-Dick“-Muster auf, eine Anordnung, die ja auch in den Grana der Chlorophyten und höheren Pflanzen die Regel ist. Daraus erklärt sich auch die im allgemeinen geringere Breite der Thylakoidbänder bei *Tribonema* im Vergleich zu *Botrydium* (vgl. Abb. 9). Manchmal schert ein Thylakoid aus dem Dreierverband aus (vgl. LEFORT, 1962), läuft eine Strecke als Einzelthylakoid und gliedert sich dann in ein anderes, benachbartes Dreierband ein (Abb. 6c). Im Lichtmikroskop (vgl. PASCHER) wie im Elektronenmikroskop (LEFORT, 1962) waren bei *Tribonema* bisher keine Pyrenoide festgestellt worden. Wir fanden ebenfalls nichts, was eindeutig als Pyrenoid anzusprechen wäre, halten es aber für möglich, daß kleine thylakoidfreie, „köpfchenartige“ Vorwölbungen der Plastiden solche Pyrenoide darstellen (Abb. 5): sie entsprächen damit einem Pyrenoidtyp, wie man ihn sonst etwa bei Phaeophyceen (z. B. BOUCK, 1965; EVANS, 1966), Haptophyceen (MANTON, 1966), und Euglenophyceen (LEEDALE, 1967) findet. An den Enden der Plastiden findet man auch bei *Tribonema* die schon für andere Chromophyten (unter anderem von BISALPUTRA u. BISALPUTRA, 1967) beschriebenen Areale mit geringem Kontrast (Abb. 5), die feinfibrilläre DNA enthalten und — wie kürzlich von GIBBS (1967a, b) am Beispiel der Chrysophyceae *Ochromonas danica* nachgewiesen — die Orte sowohl der DNA-Synthese als auch die der DNA-abhängigen RNA-Synthese innerhalb der Plastiden sind.

Obwohl die Zellen von *Tr. viride* zum Teil bereits Geißelanlagen besaßen, waren zu diesem Zeitpunkt noch keine Plastiden-ständigen Augenflecke zu beobachten.

Wie bei vielen Chromophyten gezeigt wurde (unter anderem GIBBS, 1962; DESCOMPS, 1963; BOUCK, 1965; MANTON, 1966; FALK, 1967), ist auch bei *Tribonema* jede Plastide von einer besonderen Cisterne des Endoplasmatischen Reticulum (ER) umhüllt (Abb. 2, 3e, 5, 6). Diese periplastidäre Cisterne geht auch hier oft direkt in die perinucleäre (= Kernhülle) über (Abb. 3e). GIBBS (1962) hatte bei *Ochromonas* gezeigt, daß im Raum zwischen der periplastidären ER-Cisterne und der eigentlichen Plastidenhülle Reihen von — im Schnitt quergetroffenen — Tubuli (etwa 25–35 nm \varnothing) auftreten. Derartige Anordnungen findet

man bei Phaeophyceen (BOUCK, 1965; EVANS, 1966), Bacillariophyceen (STOERMER et al., 1965), Haptophyceen (MANTON, 1966) und Xantho-

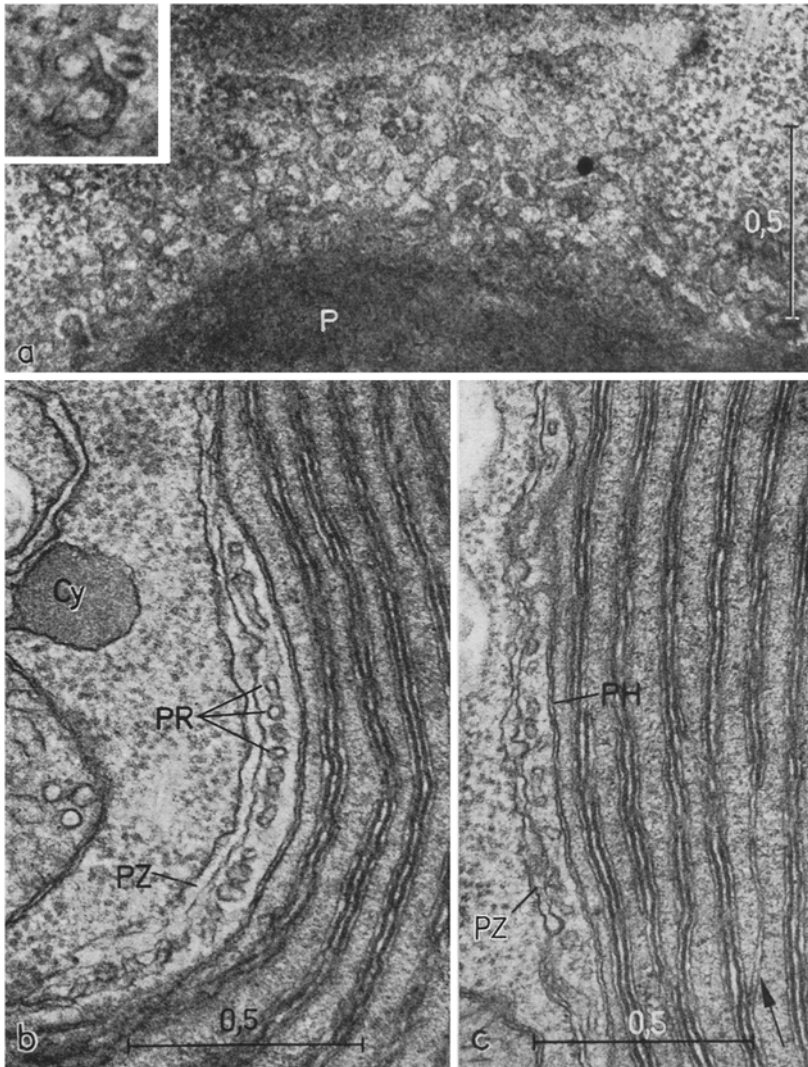


Abb.6. Periplastidäres Reticulum bei *Tr. viride*. a Flächenschnitt; (links oben Maschen eines Netzwerks bei höherer Vergrößerung (75000:1). P Plastide. b und c Periplastidärcisterne (PZ) mit Ausstülpungen zum periplastidären Reticulum (PR), das hier im Querschnitt vorwiegend tubulär erscheint. Bei ↗ ein Thylakoid, das von einem Dreierband zu einem benachbarten wechselt. PH Plastidenhülle, Cy Cytosom

phyceen (FALK, 1967). Die in dieser Hinsicht besonders günstigen Verhältnisse bei *Tribonema* — recht große Plastiden mit wandständiger Orientierung, so daß auch Flächenschnitte durch die fragliche Region recht häufig sind — erlaubten eine Aufklärung der Strukturzusammenhänge dieser Tubulireihen (Abb.6b): Von der Periplastidär-cisterne

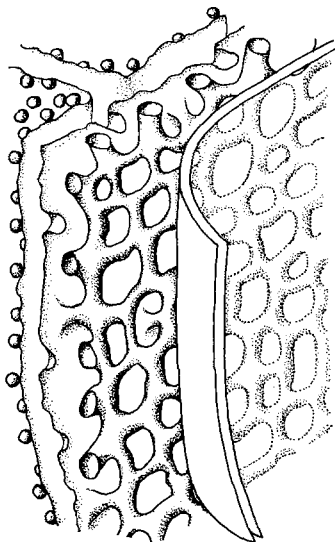


Abb. 7. Schema-Zeichnung der Anordnung von ER, Periplastidär-cisterne, periplastidärem Reticulum und Plastidenhülle (Erläuterung vgl. Text)

zweigen zur Plastide hin Ausläufer ab (Abb.6c), die in etwa 30–40 nm Abstand von der Plastide ein flächiges Netzwerk aus miteinander kommunizierenden Röhren ausbilden (Abb.6a). Diesbezügliche frühere Beobachtungen von BOUCK (1965) und FALK (1967) finden damit ihre Erklärung. Die räumliche Anordnung dieses Netzwerks, für das wir den Namen „periplastidäres Reticulum“ vorschlagen, ist in Abb.7 schematisch dargestellt. Bei *Tribonema* liegt das periplastidäre Reticulum stets auf der zum Zellinnern hingewandten Seite der Plastide. Es sei in diesem Zusammenhang noch besonders darauf hingewiesen, daß zwar die zum Cytoplasma hin liegende Membran der Periplastidär-cisterne stets mit Ribosomen besetzt ist, nicht aber die zur Plastide hin orientierte Membran und das gesamte periplastidäre Reticulum selbst (Abb.2, 6). Über die

Funktion einer solchen lokalen Oberflächenvergrößerung des ER-Systems der Zelle ist nichts bekannt, doch ist die Boucksche Vermutung, es handle sich dabei um eine spezielle Ausbildung zur Resorption und zum Abtransport der bei diesen Algengruppen ja häufig löslichen Photosyntheseprodukte, recht interessant.

Pigmentausrüstung

Die Carotinoide von *Tr. aequale* und acht weiteren Xanthophyceen sind bereits von anderen Autoren untersucht worden (THOMAS u. GOODWIN, 1965). Danach sollen diese Algen einheitlich β -Carotin, Antheraxanthin, Luteinepoxid und eventuell Trollixanthin enthalten. In den beiden Xanthophyceen-Gattungen *Vaucheria* und *Botrydium* dagegen sind neben β -Carotin, Antheraxanthin, Trollixanthin (zwei sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe), Spuren von Zeaxanthin und Kryptoxanthinepoxid drei Tri-Ester eines neuen Pigments gefunden worden,

das Vaucherixanthin genannt wurde (KLEINIG u. EGGER, 1967). Vaucherixanthin kommt nicht frei in den Algen vor, sondern nur in Form der drei Tri-Ester (wahrscheinlich mit Ameisensäure, Essigsäure und Propionsäure). Neben den drei Estergruppen enthält das Pigment noch eine sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe und eine Epoxidfunktion.

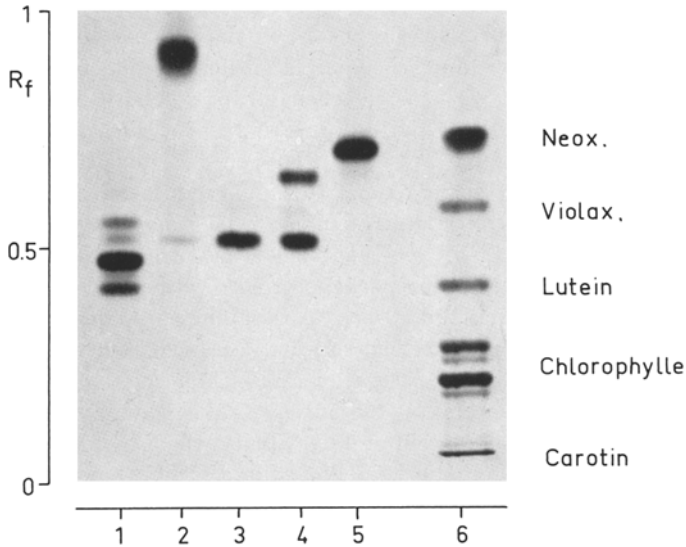


Abb.8. Verteilungschromatogramm auf mit ungesättigten Triglyceriden imprägnierter Cellulose-Dünnschicht, Laufmittel Methanol/Aceton/Wasser = 30:10:3. Spur 1: Vaucherixanthin-Ester. Spur 2: freies Vaucherixanthin (Ester verseift mit äthanol. NaOH). Spur 3: Antheraxanthin. Spur 4: Antheraxanthin, Fucoxanthin (Testsubstanzen). Spur 5: Trollixanthin. Spur 6: Gesamtextrakt eines grünen Blattes von *Syringa* (Testsubstanzen)

Bei der Analyse der Farbstoffe aus *Tribonema* zeigte sich nun, daß die Pigmentausrüstung hier mit der von *Vaucheria* und *Botrydium* völlig übereinstimmt. Auch in *Tribonema* kommen neben β -Carotin, Antheraxanthin, Trollixanthin und — in Spuren — Zeaxanthin die drei Tri-Ester des Vaucherixanthins vor. Diese Ester können bis zu 40% der Gesamtcarotinoide ausmachen. In Abb.8 sind die einzelnen Verbindungen zusammen mit Testsubstanzen auf einem Verteilungschromatogramm dargestellt.

Wird der Pigment-Extrakt aus *Tribonema* vor der Analyse alkalisch verseift (THOMAS u. GOODWIN), so resultiert das freie Vaucherixanthin, das mit fünf OH-Gruppen und einer Epoxidfunktion schon sehr polar ist. Bei der Ausschüttelung des Alkali geht diese Verbindung kaum in die lipophile Phase und kann daher leicht übersehen werden.

Das spurenweise Auftreten von Zeaxanthin in *Tribonema* deutet daraufhin, daß auch hier die lichtinduzierte Antheraxanthin-Zeaxanthin-Umwandlung stattfinden kann, wie sie für *Vaucheria* schon nachgewiesen wurde (KLEINIG, 1967).

Schlußbemerkungen

Sowohl Feinstruktur als auch Carotinoidausstattung von *Tribonema* bestätigen deren Einordnung bei den Xanthophyceen; besonders die Übereinstimmung mit der zur gleichen Gruppe gehörigen siphonalen Gattung *Botrydium* (vgl. KLEINIG u. EGGER, 1967; FALK, 1967) ist auffällig. Doch erscheinen drei Abweichungen von dem für *Botrydium* beschriebenen Feinbau bemerkenswert: 1. Während bei *Botrydium* stets zwei Dictyosomen je Kern auftreten, ist bei *Tribonema* nur eines zu erkennen. 2. Die Plastiden von *Tribonema* besitzen nicht das von Thylakoidbändern äquidistant durchzogene große Pyrenoid. Sollten die in Abb. 5a gezeigten „thylakoidfreien Ausstülpungen“ der *Tribonema*-Plastiden Pyrenoiden entsprechen, so wären diese von einem grundsätzlich anderen Typ als die von *Botrydium*. Wie schon EVANS (1966) für die Phaeophyceen und LEEDALE (1967) für die Euglenophyceen gezeigt haben, stellt das Vorhandensein und der Strukturtypus eines Pyrenoides kein Merkmal von systematischem Wert für Einteilungen oberhalb der Gattung dar. So können etwa einzelne Vertreter aus systematisch sehr weit voneinander entfernten Gruppen den gleichen Pyrenoidtyp besitzen, z. B. „bulging pyrenoids“ bei verschiedenen Euglenophyceen, Phaeophyceen und Haptophyceen (vgl. BOUCK, 1965; EVANS, 1966; MANTON, 1966; LEEDALE, 1967). 3. Der Assoziationstyp der Thylakoide innerhalb eines Thylakoidbandes ist bei *Botrydium* (interthylakoidale Zwischenräume von 4–5 nm) und *Tribonema* (Thylakoide eng aneinanderliegend) grundsätzlich verschieden (Abb. 9). Dieses Merkmal („Dünn-Dick“-Muster oder nicht) ist also keineswegs, wie EVANS (1966) annahm, zur Abgrenzung der Phaeophyceen von den anderen Gruppen der Chromophyten geeignet.

Die GIBBSSche Vermutung (1962), die Xanthophyceen besäßen keine periplastidäre Cisterne, erwies sich auch am Beispiel von *Tribonema* als unrichtig (vgl. auch FALK, 1967). Vielmehr scheint eine solche Periplastidärzisterne ein gemeinsames Strukturmerkmal für all jene Algengruppen zu sein, die β -1-3-Glucane als Reservepolysaccharide führen, d. h. also für alle Chromophyten — mit Ausnahme eventuell der Dinophyceen — und für die Euglenophyceen. Das hochgeordnete periplastidäre Reticulum dagegen wurde bisher nur bei Chrysophyceen, Xanthophyceen, Haptophyceen und Phaeophyceen beobachtet. Als Feinbau-Merkmal von großem systematischem Wert hat sich erneut die Position

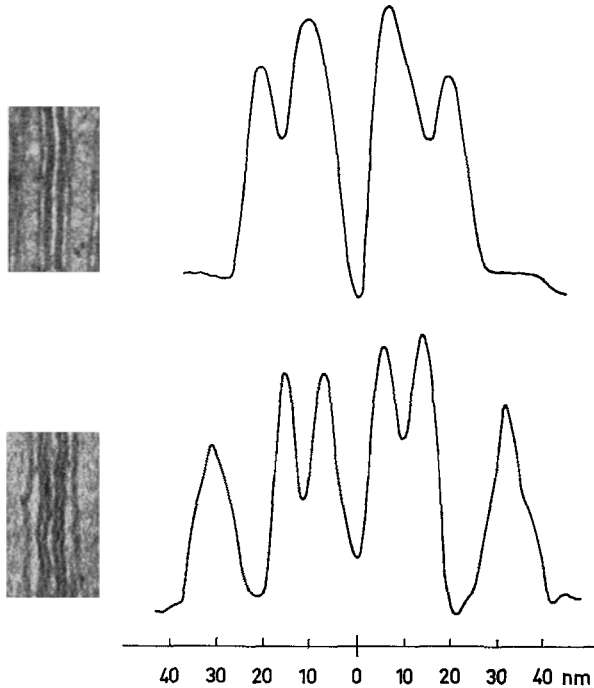


Abb.9. Mikrodensitometer tracings (Joyce-Loebl & Co.)² der abgebildeten Thylakoidbänder von *Tribonema viride* (oben) und *Botrydium granulatum*: Die drei Thylakoide sind bei *Botrydium* mit interthylakoidalen Zwischenräumen zu einem breiteren, bei *Tribonema* ohne derartige Zwischenräume zu einem schmäleren Band assoziiert. Elektronenmikrogramme 105000:1. Glutaraldehyd/OsO₄-Fixierung

des Golgi-Apparates in bezug auf Geißelbasis bzw. Centriol erwiesen (SCHNEFF et al., 1966).

Die bisherigen Untersuchungen zeigen, daß die Xanthophyceen neben weit verbreiteten Carotinoiden drei Triester des Vaucherixanthins enthalten. Dieses Pigment ist bisher nur in Xanthophyceen gefunden worden und scheint somit als „Leit-Pigment“ für diese Gruppe große systematische Bedeutung zu haben.

Mit Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Herrn Prof. Dr. E. SCHNEFF, Herrn Prof. Dr. P. SITTE und Herrn Dr. W. W. FRANKE danken wir für anregende Diskussionen ebenso wie Frau DORIS STACH und Fr. MARIANNE WINTER für sorgfältige technische Mitarbeit.

Literatur

BISALPUTRA, T., and A.-A. BISALPUTRA: Chloroplast and mitochondrial DNA in a brown alga *Egregia menziesii*. J. Cell Biol. **33**, 511—520 (1967).

² Hierfür danken wir Herrn Ing. E. GÜNTHER (Ernst Mach-Institut, Freiburg i. Br.) recht herzlich.

- BOUCK, G. B.: Fine structure and organelle associations in brown algae. *J. Cell Biol.* **26**, 523—537 (1965).
- CHRISTENSEN, T.: Alger. In: T. W. BÖCHER, M. LANGE u. T. SØRENSEN (eds.): *Botanik*, vol. II No. 2. Copenhagen: Munksgaard 1966.
- DESCOMPS, S.: Observations sur l'infrastructure de l'enveloppe des chloroplastes de *Vaucheria* (Xanthophycées). *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **257**, 727—729 (1963).
- EVANS, L. V.: Distribution of pyrenoids among some brown algae. *J. Cell Sci.* **1**, 449—454 (1966).
- FALK, H.: Zum Feinbau von *Botrydium granulatum* Grev. (*Xanthophyceae*). *Arch. Mikrobiol.* **58**, 212—227 (1967).
- GIBBS, S. P.: Nuclear envelope-chloroplast relationship in algae. *J. Cell Biol.* **14**, 433—444 (1962).
- Synthesis of chloroplast RNA at the site of chloroplast DNA. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **28**, 653—657 (1967a).
- Radioautographic evidence for the in situ synthesis of chloroplast and mitochondrial RNA in *Ochromonas danica*. *J. Cell Biol.* **35**, 45 A (1967b).
- KLEINIG, H.: Antheraxanthin-Zeaxanthin-Umwandlung in *Vaucheria sessilis* (*Xanthophyceae*). *Planta (Berl.)* **75**, 73—76 (1967).
- , u. K. EGGER: Carotinoide der *Vaucheriales Vaucheria* und *Botrydium* (*Xanthophyceae*). *Z. Naturforsch.* **22b**, 868—872 (1967).
- LEEDALE, G. F.: *Euglenoid flagellates*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall 1967.
- LEFORT, M.: Contribution à l'étude inframicroscopique du *Tribonema aequale* (Pasch.). *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **254**, 3022—3024 (1962).
- MANTON, I.: Further observations on the fine structure of *Chrysochromulina chiton* with special reference to the pyrenoid. *J. Cell Sci.* **1**, 187—192 (1966).
- SCHERFFEL, zit. nach A. PASCHER (Hrsg.): *Die Süßwasserflora*, H. 11, S. 97. Jena: G. Fischer 1925.
- SCHNEPF, E., W. KOCH u. G. DEICHGRÄBER: Zur Cytologie und taxonomischen Einordnung von *Glaucocystis*. *Arch. Mikrobiol.* **55**, 149—174 (1966).
- SITTE, P.: Einfaches Verfahren zur stufenlosen Gewebe-Entwässerung für die elektronenmikroskopische Präparation. *Naturwissenschaften* **49**, 402—403 (1962).
- STEVENS, B. J., and H. SWIFT: RNA transport from nucleus to cytoplasm in *Chironomus* salivary glands. *J. Cell Biol.* **31**, 55—77 (1966).
- STOERMER, E. F., H. S. PANKRATZ, and C. C. BOWEN: Fine structure of the diatom *Amphipleura pellucida*. II. Cytoplasmic fine structure and frustule formation. *Amer. J. Bot.* **52**, 1067—1078 (1965).
- THOMAS, D. M., and T. W. GOODWIN: Nature and distribution of carotenoids in the *Xanthophyta (Heterokontae)*. *J. Phycol.* **1**, 118—121 (1965).

Dr. HEINZ FALK,
 Dr. HANS KLEINIG
 Botanisches Institut der Universität
 Lehrstuhl für Zellbiologie
 78 Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9—11