

## Über die Feinstruktur von *Synura petersenii* unter besonderer Berücksichtigung der Morphogenese ihrer Kieselschuppen

E. SCHNEPF und G. DEICHGRÄBER

Lehrstuhl für Zellenlehre der Universität Heidelberg

Mit 40 Abbildungen

Eingegangen am 2. April 1969

### Zusammenfassung

Der Bau des Flagellaten *Synura petersenii* und die Substruktur der Mastigonemen werden beschrieben. Coated vesicles finden sich in Verbindung mit Golgi-Zisternen, Cytolysosomen, ER-Elementen, jungen Schuppenvesikeln und dem Plasmalemma. 17 nm dicke Tubuli kommen im Lumen von Elementen des ER und des Golgi-Apparates vor. Die Kieselschuppen entstehen in besonderen Schuppenvesikeln, die zunächst dicht an periplastidären ER-Zisternen liegen und die Form einer ovalen, flachen Zisterne haben und sich dann unter der Beteiligung der periplastidären ER-Zisterne und vielleicht der Mikrotubuli zu einer exakten Gußform für die Kieselschuppen umbilden. Die Schuppenmorphogenese ist also auf eine Morphogenese des Schuppenvesikels zurückzuführen.

### Summary

#### The Fine Structure of *Synura petersenii* with Special Reference to the Morphogenesis of the Silicified Scales

Cells of *Synura petersenii* were studied by electron microscopy. One flagellum is covered by little non-silicified scales and fitted with mastigonemes, whose middle piece mainly consists of two helically wound filaments with a diameter of 4.5 nm. They end in a longer and a smaller terminal fibril. The flagellar bases are fixed to the nucleus and the border of the flagellar pit by several elements of the flagellar root. From this root and from the border of the flagellar pit, microtubules extend along the plasmalemma and along the concave face of the plastids to the basal cell pole.

The plastids are enveloped by a periplastidal cisterna of the ER which often is in continuity with the nuclear envelope. Within these compartments there are bundles of tubules with a diameter of 17 nm. Such tubules are also found within peripheral parts of Golgi cisternae of the distal face of the dictyosome.

In the region of the dictyosome but also in other parts of the cell there are many coated vesicles. They seem to bud off the Golgi cisternae and fuse with cytolysosomes (which also may be derivatives of the Golgi apparatus), or with young "scale forming vesicles", or with the ER, or with the plasmalemma.

The silicified scales cover the cell body and are formed in special vesicles. At first these vesicles are ovoid, flattened cisternae attached to peripheral parts of the periplastidal cisterna. They undergo a complicated formation process. The margins fold over, the periplastidal cisterna locally mushrooms out and pushes outward on the central part of the scale forming vesicle. This complex protuberance then remodels into a hollow cylinder which is connected with the underlying parts by a short hollow stalk. In this way the scale forming vesicle represents a true mould for the scale. The morphogenesis of the scale therefore is a consequence of the morphogenesis of these membranes. Local growth of the membranes and perhaps microtubules play a role in this process.

## 1. Einleitung

Die Flagellaten der Chrysophyceen-Gattung *Synura* tragen auf ihrem Körper kompliziert gebaute Kieselschuppen (MANTON 1955, FOTT und LUDVÍK 1957). Über ihre Entstehung und Morphogenese ist bislang nichts Sicheres bekannt. Nur MANTON hat 1955 die Feinstruktur von *Synura caroliniana* beschrieben und vermutet, daß die Kieselschuppen vom Plasmalemma sezerniert werden. Trotz der damals noch unzureichenden elektronenmikroskopischen Technik hat sie aber in einem Fall auch einen Hinweis dafür erhalten, daß die Schuppen zunächst unverkieselt innerhalb und nicht außerhalb des Protoplasten entstehen.

Die Kieselschalen der Diatomeen werden in besonderen Vesikeln im Zellinneren gebildet (u. a. REIMANN 1964, STOERMER, PANKRATZ und BOWEN 1965, LEWIN, REIMANN, BUSBY und VOLCANI 1966), ebenfalls die Kieselschuppen der farblosen Chrysophycee *Paraphysomonas vestita* (MANTON und LEEDALE 1961) und auch die verkieselten Hüllen der Chrysomonaden-Cysten (Übersicht bei SCHUSSNIG 1960). Die rein organischen Schuppen anderer Chrysophyceen (z. B. *Sphaleromantis*, MANTON und HARRIS 1966) sowie von Haptophyceen (MANTON 1967 c), Prasinophyceen (MANTON und Ettl 1965) und Loxophyceen (MANTON 1967 b) werden im Golgi-Apparat produziert. Es war daher zu prüfen, ob und in welchen Kompartimenten die Kieselschuppen von *Synura* entstehen.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von *Synura* haben diese Frage geklärt. Darüber hinaus haben sie gezeigt, daß Membranen eine Rolle bei ihrer Morphogenese spielen; sie liefern außerdem einen Beitrag zum Problem des Membranflusses und der Membrantransformation. Daneben sollen einige Beobachtungen über die Organisation der Zelle und die Struktur ihrer Organellen mitgeteilt werden, die für eine vergleichend cytologische Betrachtung von Bedeutung sein können.

## 2. Material und Methode

Wir untersuchten den unter der Nummer 960-3 in der Sammlung von Algenkulturen des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen (KOCH 1964) geführten, unbestimmten *Synura*-Stamm. Nach der Form der Schuppen kann er zu *S. petersenii* Korsch. (= *S. caroliniana* Whitford, FOTT und LUDVÍK 1957) gestellt werden.

Die Flagellaten wurden in einer Nährlösung folgender Zusammensetzung in Reagenzgläsern an einem Nordfenster kultiviert:  $\text{KNO}_3$  0,01%,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0,001%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  0,001%, Erddekokt 1,5%, Torfextrakt 1,5%, dazu auf 100 ml Lösung: 1 ml  $\text{CaSO}_4$  (gesättigte Lösung), 0,5 ml Spurenelementlösung (nach KOCH 1965, S. 422), 1 Tropfen einer 0,001% Vitamin-B<sub>12</sub>-Lösung. Der pH-Wert wurde mit 0,1 n HCl vor dem Autoklavieren auf pH 6,1 eingestellt.

Durch Eingriffe in den Stoffwechsel versuchten wir, die Schuppenmorphogenese und die Membranflußsysteme in den Zellen experimentell zu beeinflussen. Die Konzentration der Zellgifte und Hemmstoffe (= Endkonzentrationen in einer auf die Hälfte verdünnten Nährlösung) wurde so bemessen, daß die Flagellaten gerade noch ohne größere, lichtmikroskopisch leicht erkennbare Schädigungen überlebten. Im einzelnen verwendeten wir: 1. Kaliumcyanid,  $10^{-4}$  m, 3 Stdn.; 2. Puromycin, 50 µg/ml, 22 Stdn.; 3. Äthionin, 1%, 24 Stdn.; 4. Colchicin, 0,1%, 0,2%, 24 Stdn.

Änderungen der Feinstruktur konnten wir nach diesen Behandlungen nicht erkennen. Dennoch sei hier vermerkt, aus welchen Versuchen die abgebildeten Individuen stammen; unbehandelt: Abb. 2—5, 8, 12, 13, 16, 17, 19, 21, 24, 27—29, 33, 37, 38; Cyanid: 1, 14, 15, 18, 26, 30—32, 34, 36, 39; Puromycin: 10, 11, 35; Äthionin: 9, 23 b; Colchicin 6, 7, 20, 22, 23, 25.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung fixierten wir die Organismen mit 1%  $\text{OsO}_4$ , 1,5%  $\text{KMnO}_4$  oder 6% bzw. 1% Glutaraldehyd; der Aldehydfixierung folgte eine Nachfixierung mit 1%  $\text{OsO}_4$  oder 1%  $\text{OsO}_4$  + 1%  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . Als Einbettungsmittel verwendeten wir Vestopal, Araldit oder Epon. Am besten bewährte sich (vgl. KIERMAYER 1968) die Fixierung mit 1% Glutaraldehyd in Phosphatpuffer (pH 7,3) bei Zimmertemperatur (10 min), gefolgt von 1%  $\text{OsO}_4$  + 1%  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (pH auf 7,3 eingestellt, 1 Std., Zimmertemperatur), einer Entwässerung über Alkoholstufen in der Kälte und einer Einbettung über Propylenoxyd in Epon. Als Kontrastierungsmittel für die Ultradünnschnitte diente Bleicitrat, meistens zusätzlich auch noch Uranylacetat.

Außerdem untersuchten wir Totalpräparate direkt, nach Negativ-Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure oder Ammonium-Molybdat (MUSCATELLO und HORNE 1968) oder nach Bedampfung. Ferner wurden Schuppen mit 5% HF (5—20 min) entkieselt. Für die Elektronenmikroskopie verwendeten wir Siemens-Geräte (Elmiskop I und Ia). Es wurden etwa 1350 Aufnahmen ausgewertet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Allgemeine Morphologie der Zelle

In unseren Kulturen kommen die Flagellaten entweder einzeln vor (sie sind dann etwa eiförmig), oder sie treten in Kolonien auf, in denen sie mit ihren lang ausgezogenen Hinterenden zusammensitzen. Abb. 1 zeigt im Längsschnitt den Bau der Zelle in Übersicht (vgl. auch z. B. HOLLANDE 1952, MANTON 1955).

Der Körper ist von einer Hülle aus Kieselschuppen bedeckt, die einander überlappen und wohl durch Schleim zusammengehalten werden. Diese Hülle kann auch abgeworfen werden.

Die beiden Geißeln entspringen in einer Geißelgrube; die längere ist eine Flimmergeißel. Der Zellkern bildet gegen die Geißelbasis hin einen Vorsprung aus. Neben der Geißelbasis und dem Zellkern liegt ein großes Dictyosom. Zwei große, schalenförmige, manchmal etwas zerlappte Plastiden umschließen den Zellkern und das Dictyosom im Vorderende und eine große Leukosin-

Vacuole (v. STOSCH 1951) im Hinterende der Zelle. Sie haben keine Augenflecke und Pyrenoide und sind nahezu völlig von einer „periplastidären“ Zisterne des endoplasmatischen Reticulums (ER) eingehüllt. Die Mitochondrien sind über das ganze Plasma verstreut. Das ER ist, abgesehen von der periplastidären Zisterne, nur schwach entwickelt. Weitere Vesikeltypen und Einschlusskörper sind im nachfolgenden erwähnt. Pulsierende Vacuolen wurden in unserem Material nicht beobachtet.

### 3.2. Feinbau der Zellelemente

Der Bau der *Synura*-Geißeln wurde bereits von BRADLEY (1965, 1966) nach Negativ-Kontrastierung eingehend untersucht, besonders in Hinblick auf die Mastigonemen. Detaillierte Angaben erübrigen sich also. Nur einige zum Teil weitergehende, zum Teil etwas abweichende Beobachtungen sollen kurz mitgeteilt werden.

Die Mastigonemen sitzen in zwei Reihen an der Flimmergeißel. Diese ist also pantonematisch. Sie scheinen ihr oft paarweise zu entspringen. Jede Geißelflimmer besteht aus drei Abschnitten, einer etwa  $0,25 \mu\text{m}$  langen Basis, einem etwa  $1,25 \mu\text{m}$  langen und  $15 \text{ nm}$  dicken Schaft und zwei Terminalfibrillen. Die eine ist etwa  $0,85 \mu\text{m}$  lang und  $4,5 \text{ nm}$  dick; die andere ist wesentlich zarter und kürzer (etwa  $0,18 \mu\text{m}$  lang und  $3 \text{ nm}$  dick). Sie wurde von BRADLEY (1966) übersehen. Auch in unseren Aufnahmen (Abb. 2 und 3) ist sie nur bei guter Auflösung zu erkennen und dann nicht immer deutlich, weil sie sich manchmal eng an die größere Terminalfibrille anschmiegt.

Die Mastigonemenbasis ist steif und verbreitert sich regelmäßig etwas von der Ansatzstelle aus (Abb. 2). Kurz vor Beginn des Schaftes knickt sie bei der Präparation oft (Abb. 5). Der Schaft ist etwas biegsamer als die Basis, aber auch er ist, wenn überhaupt, nur ganz schwach gekrümmt. Gelegentlich wird er von einer Scheide aus einem feinen, fibrillären Material eingehüllt (Abb. 2), das von BRADLEY (1966) als „loose helix of fibrous material“ beschrieben wird.

Bei schwachen Vergrößerungen (Abb. 2 und 5) erscheint der Schaft als Röhre, besonders im zentralen Teil ( $0,8 \mu\text{m}$ ), nicht so sehr im basalen ( $0,4 \mu\text{m}$ ) und im terminalen Abschnitt ( $0,05 \mu\text{m}$ ). Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 3) erkennt man jedoch, daß er aus zwei etwa  $4,5 \text{ nm}$  dicken Filamenten auf-

Abb. 1. Längsschnitt. Oben eine Geißel, Teile der Geißelwurzel, rechts vom Zellkern ein Dictyosom. An der Konkavseite der linken Plastide längs verlaufende Mikrotubuli. Glutaraldehyd,  $12\,000\times$

Abb. 2. Mastigoneme. Negativ-Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure,  $55\,000\times$

Abb. 3. Spitze des Mastigonemenschaftes. Negativ-Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure,  $180\,000\times$

Abb. 4. Geißelschuppen an einer Flimmergeißel. Die Mastigonemen sind nur sehr schwach erkennbar.  $\text{OsO}_4$ -Dampf,  $29\,000\times$

Abb. 5. Geißelschuppen und Mastigonemen. Negativ-Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure,  $55\,000\times$

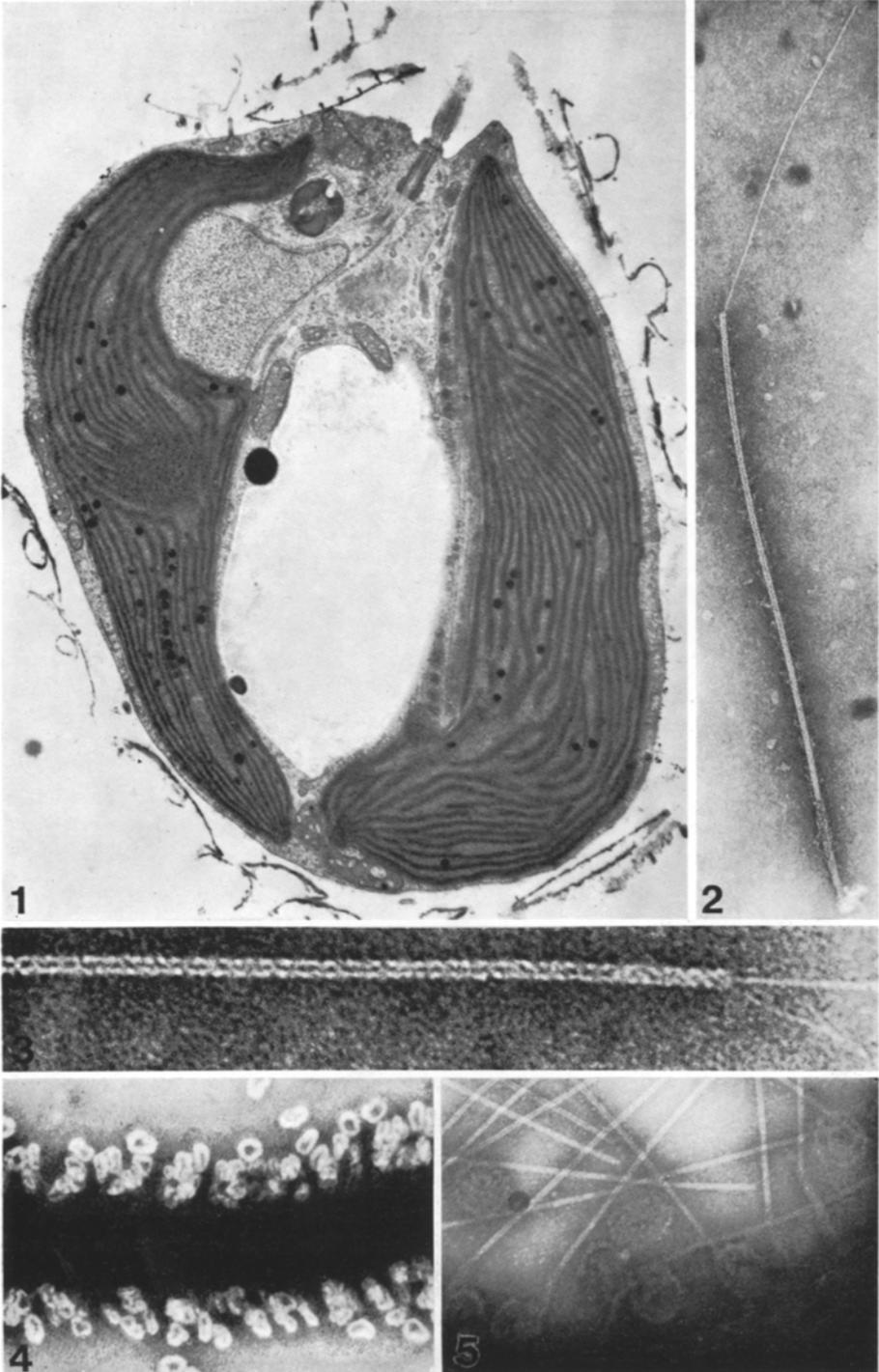


Abb. 1—5

gebaut ist, die schraubig umeinander gewunden sind. An den beiden Enden des Schaftes sind die Windungen enger als im mittleren Teil, deshalb ist hier das „Lumen“ weniger deutlich.

Die Mastigonemen der Zoosporen von *Rhizidiomyces apophysatus* sind ebenfalls aus schraubig gewundenen Filamenten aufgebaut (FULLER und REICHLÉ 1965). Bei anderen Flagellaten sind sie nach den Angaben von PITELKA und SCHOOLEY (1955) über eine Periodizität in den Mastigonemen wohl ähnlich. Es handelt sich wahrscheinlich um ein allgemeines Bauprinzip.

Nach unseren Beobachtungen, auch an Dünnschnitten, stehen die Mastigonemen nicht mit den Geißelfilamenten in unmittelbarem Kontakt.

Die Flimmergeißel ist häufig von Schuppen besetzt. Diese sind, wie schon BRADLEY (1966) bemerkt, allerdings nicht immer zu beobachten. Das ist möglicherweise alters- oder präparationsbedingt. Die Geißelschuppen sind meistens unregelmäßig ringförmige Gebilde von etwa  $0,1 \mu\text{m}$  Durchmesser. Sie werden in Osmium-Dampf nicht geschwärzt (Abb. 4). Durch Negativkontrastierung mit Phosphorwolframsäure werden sie meistens ebenso dargestellt. Gelegentlich gibt es aber auch Individuen, die regelmäßiger geformte Schuppen haben. Diese werden dann mit Phosphorwolframsäure auch selbst etwas kontrastiert (Abb. 5). Es kann noch keine Erklärung dafür gegeben werden, daß zwei Modifikationen von Geißelschuppen nebeneinander vorkommen, wenn auch auf verschiedenen Individuen.

Das Verhalten bei den verschiedenen Kontrastierungen läßt vermuten, daß die *Synnura*-Geißelschuppen wie bei anderen Flagellaten (GREEN und JENNINGS 1967) aus Kohlenhydraten bestehen. In Schnitten konnten sie bislang noch nicht entdeckt werden, Mastigonemen findet man nur selten.

Eine Zuordnung der verschiedenen Strukturen der Geißelwurzel entweder zur Flimmer- oder zur Peitschengeißel ist deshalb noch nicht möglich. Das gewöhnliche Geißelstrukturmuster (Abb. 6) beginnt an der Austrittsstelle. Die beiden zentralen Filamente enden hier an einem Septum (Abb. 9, vgl. auch Abb. 6 und 7). Häufig werden die Geißeln bei der Präparation dicht über dieser Stelle abgeworfen (Abb. 10).

Abb. 6. Querschnitt durch die Geißeln in der Geißelgrube. Links oben Strukturen der Geißelwurzeln im Querschnitt. Glutaraldehyd,  $40\,000\times$

Abb. 7. Querschnitt durch die Geißelbasen. Links Strukturen der Geißelwurzel. Glutaraldehyd,  $55\,000\times$

Abb. 8. Quergestreiftes Band der Geißelwurzel. Glutaraldehyd,  $16\,000\times$

Abb. 9. Geißelbasen längs. Am Rand der Geißelgrube osmiophiles Material, an dem Mikrotubuli ansitzen. Glutaraldehyd,  $40\,000\times$

Abb. 10. Geißelbasis längs, Strukturen der Geißelwurzel. Die Geißel ist abgeworfen. Glutaraldehyd,  $37\,000\times$

Abb. 11. Am Rande der Geißelgrube ansetzende Mikrotubuli. Glutaraldehyd,  $37\,000\times$

Abb. 12. Plastide.  $\text{OsO}_4$ ,  $22\,000\times$

Abb. 13. Plastide und Zellkern. Die Kernhülle geht in die periplastidäre ER-Zisterne über.  $\text{KMnO}_4$ ,  $20\,000\times$

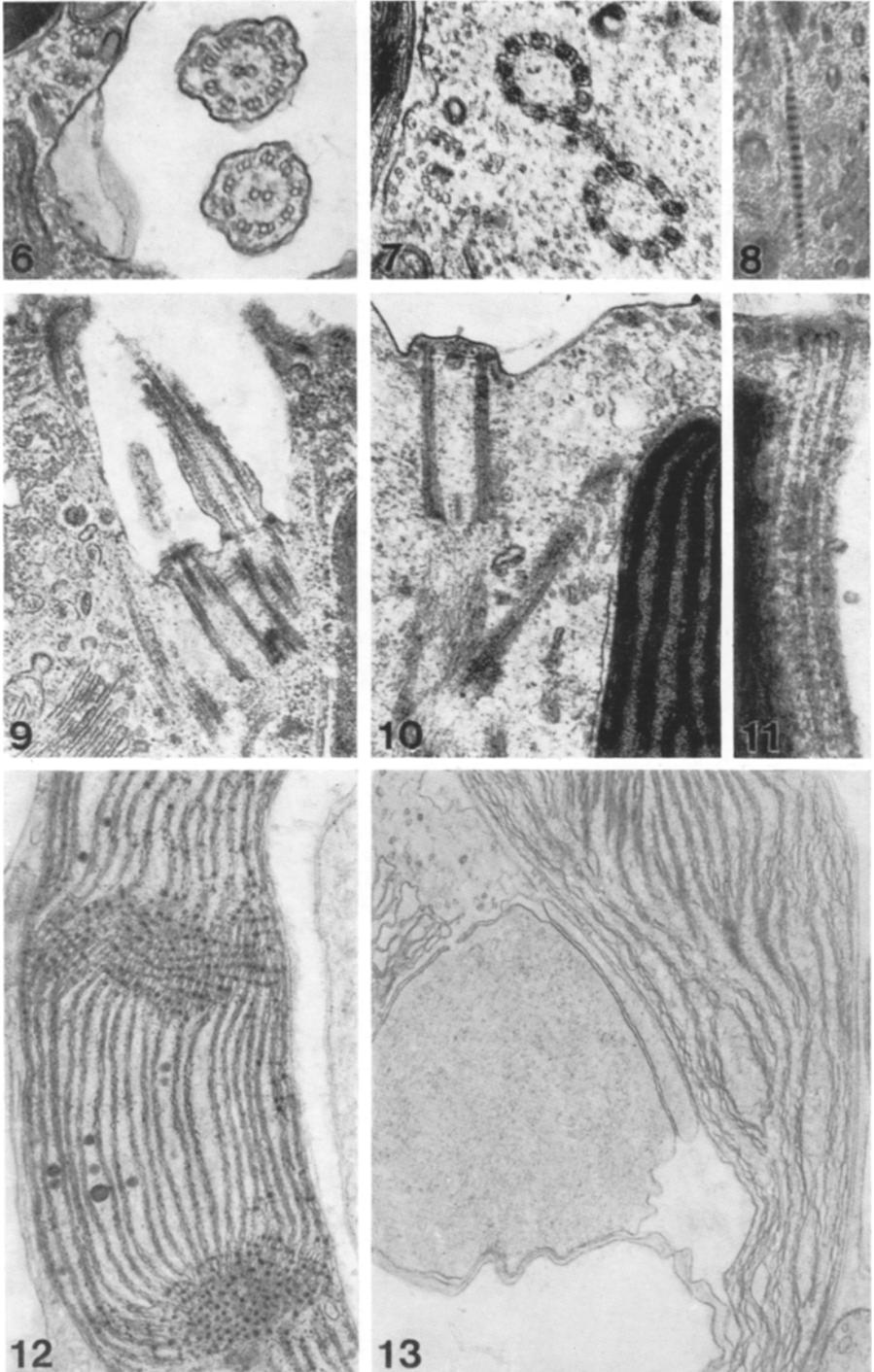


Abb. 6—13

Die Basen der beiden Geißeln sind dicht unter der Oberfläche und am proximalen Ende durch elektronendichtes Material miteinander verbunden (Abb. 7 und 9). Vom Ende der Geißelbasen aus erstrecken sich zwei Fibrillenbänder in Richtung auf den Zellkern. Dort spleißen sie auf, schließen dessen distalen Fortsatz ein und verlaufen dann unmittelbar an der Kernmembran (Abb. 1, vgl. auch Abb. 10). Gelegentlich liegt hier ein periodisch quergestreiftes Fibrillenband (Abb. 8, vgl. MANTON 1955). Etwas unterhalb der Geißelbasis entspringen an einem dieser Fibrillenbänder zwei kleine Bündel aus 4 bzw. 3 Mikrotubuli, die mit osmiophilen Fibrillen vergesellschaftet sind (Abb. 6, 7 und 10). Sie ziehen gemeinsam zum Rand der Geißelgrube. An ihnen entspringen Mikrotubuli (Abb. 10, vgl. FALK 1967: *Botrydium*), die an den Plastiden entlang zum Hinterende der Zelle laufen.

Der Rand der Geißelgrube wird gleichfalls durch elektronendichtes Material markiert (Abb. 9, 10 und 11), von dem aus sich Mikrotubuli dicht unter dem Plasmalemma (Abb. 11) oder an der konkaven Seite der Plastiden entlang in Längsrichtung durch die Zelle erstrecken. In Abb. 1 erkennt man diese Mikrotubuli an den Plastiden im Längs-, in Abb. 23 und 15 im Querschnitt.

Diese Mikrotubuli sind auch allein mit  $\text{OsO}_4$  darstellbar. Sie haben einen Durchmesser von 25 bis 30 nm. Manchmal ist im Querschnitt ein zentraler dunkler Fleck erkennbar.

Wegen der Formvariabilität der Zelle ist auch die Anordnung der verschiedenen Teile der Geißelwurzel nicht unbedingt konstant; wahrscheinlich kommen zu den hier erwähnten Strukturen noch einige kleinere Elemente hinzu.

Die beiden Plastiden enthalten wie bei anderen Chromophyten großflächige Thylakoide (Abb. 1), die jeweils zu dritt einen Stapel bilden (Abb. 12, 13, 23, 33 und 34). Zwischen diesen Stapeln liegen in der Matrix kleine Plastoglobuli (Abb. 1 und 12). Diese werden mit  $\text{KMnO}_4$  nicht dargestellt. Meistens durchziehen die Thylakoidstapel die Plastiden nicht in ihrer ganzen Länge, sondern sie gabeln sich gelegentlich. Außerdem gibt es ein oder mehrere Stellen, an denen sie zusammenlaufen, sich aufteilen, vermehren und oft auch verdrehen, wodurch ein dichtes Gewirr von Membranen entsteht (Abb. 1 und 12). Hier findet man, besonders nach Osmium-, nicht aber nach  $\text{KMnO}_4$ -Fixierungen, sehr viele kleine elektronendichte Tröpfchen. Bei Querschnitten durch die Thylakoidstapel erkennt man, daß sie in Reihen geordnet sind. Sie scheinen Änderungen in der Thylakoidstapelung zu markieren.

Abb. 14. Tubuläre Elemente in einer ER-Zisterne. Glutaraldehyd, 50 000 $\times$

Abb. 15. Teil eines Dictyosoms. In den Golgi-Zisternen oben rechts schräg-längs getroffene tubuläre Elemente. In der Bildmitte ein Cytolysosom mit ansitzenden coated vesicles. Vesikel mit schwach ausgebildetem Belag auch an Golgi-Zisternen. Unten links: querschnittene Mikrotubuli an der periplastidären Zisterne. Glutaraldehyd, 40 000 $\times$

Abb. 16. Querschnitte durch tubuläre Elemente in einer periplastidären ER-Zisterne. Glutaraldehyd, 52 000 $\times$

Abb. 17. Querschnitte durch tubuläre Elemente in Golgi-Zisternen. Glutaraldehyd, 52 000 $\times$

Abb. 18. „Schleimkörper“ nach Glutaraldehydfixierung: Bildung von myelinartigen Komplexen. 36 000 $\times$

Abb. 19. „Schleimkörper“ nach Glutaraldehydfixierung: Bildung von röhrenartigen Strukturen. 33 000 $\times$

Abb. 20. Mitochondrium. Glutaraldehyd, 42 000 $\times$

Abb. 21. „Schleimkörper“ nach Osmiumfixierung; rechts Schuppen in Schuppenvesikeln. 33 000 $\times$

Abb. 22. Kristalliner Einschlusskörper. Glutaraldehyd, 42 000 $\times$

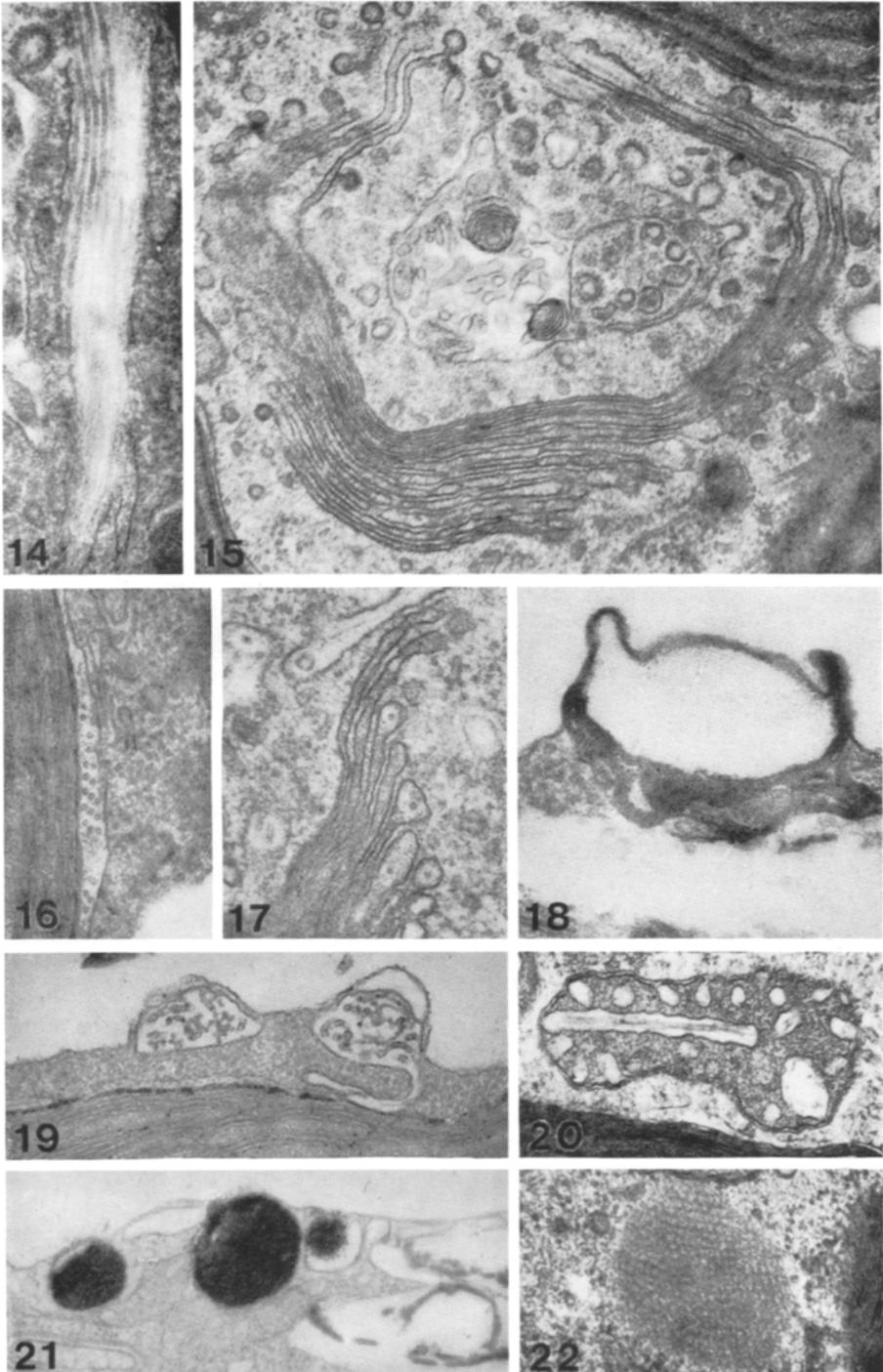


Abb. 14—22

Wie schon kurz erwähnt wurde, sind die Plastiden nahezu lückenlos von einer Zisterne des endoplasmatischen Reticulums umschlossen. Fast überall liegt die innere Membran dieser periplastidären Zisterne so eng an der äußeren Plastidenmembran, daß beide nur bei guter Auflösung deutlich getrennt sind. Nur stellenweise befindet sich zwischen diesen beiden Membranen noch etwas Plasma (Abb. 13 und 23). Dieses ist nach Glutaraldehydfixierungen auffällig dicht. In ihm liegen meistens Anschnitte eines periplastidären Reticulums (FALK und KLEINIG 1968).

Die periplastidäre Zisterne kann mit der Kernhülle (Abb. 13 und 23) oder, seltener, mit cytoplasmatischen Elementen des ER in Verbindung stehen. Sie enthält (Abb. 16) wie diese (Abb. 14) oft Bündel aus röhrenförmigen Strukturen (Durchmesser etwa 17 nm). Solche Gebilde kommen auch in anderen Algen (z. B. KOCH und SCHNEPF 1967, FALK 1967) und niederen Pilzen (z. B. FULLER und REICHEL 1965) vor. Sie gehen gelegentlich in feinere Fibrillen über (Abb. 14).

Die Natur und Funktion dieser Einschlüsse sind unbekannt, ebenso ihre Entstehung. In Zusammenhang damit ist bemerkenswert, daß bei *Synura* solche Tubuli auch in peripheren, etwas aufgetriebenen Teilen von Golgi-Zisternen (vorwiegend in solchen an der distalen, das heißt der Sekretionsseite, vgl. unten) zu finden sind, wie Längsschnitte (Abb. 15) und Querschnitte (Abb. 23 und 17) zeigen. Diese Tubuli können die Golgi-Kompartimente in eigenartiger Weise verformen (Abb. 15).

In den peripheren Bezirken der Zelle, abgesehen vom Geißelpol, sind die sogenannten Schleimkörper (z. B. HOLLANDE 1952, SCHUSSNIG 1960, vgl. auch JOYON 1963) häufig anzutreffen. Es handelt sich um ein stark osmiophiles Material, das in einer kleinen „Vacuole“ eingeschlossen ist (Abb. 21). In dieser Form wird es aber nur mit  $\text{OsO}_4$  erhalten. Bei Glutaraldehyd verquillt es meist (vgl. aber Abb. 26), wobei manchmal Myelinfiguren (Abb. 18), meistens aber unregelmäßige Röhren (Abb. 19) oder Membranen entstehen. Dadurch wird die Zelle über diesen Schleimkörpern mehr oder weniger stark aufgetrieben. Der Zellumriß ist mit Glutaraldehyd infolgedessen meistens nicht lebensecht darstellbar.

Abb. 23. Dictyosom mit artifiziell verändertem Zentrum. Tubuläres Element in einer Golgi-Zisterne (Pfeil). Coated vesicles frei und am Cytolysosom (oben Mitte). An der periplastidären Zisterne der rechten Plastide (die unten in die Kernhülle übergeht) quer geschnittene Mikrotubuli. Glutaraldehyd, 47 000 $\times$ . Einsatz: coated vesicle, Glutaraldehyd, 115 000 $\times$

Abb. 24. Coated vesicles, zum Teil mit Einschluß, zum Teil mit schwach ausgebildetem Belag an Golgi-Zisterne (Pfeil). Glutaraldehyd, 37 000 $\times$

Abb. 25. Coated vesicles an und unter dem Plasmalemma. Glutaraldehyd, 28 000 $\times$

Abb. 26. Coated vesicles an einer großen, ringförmigen Zisterne; Bildung eines Cytolysosoms? Oben ein Schleimkörper. Glutaraldehyd, 37 000 $\times$

Abb. 27. Cytolysosom mit einer flach angeschnittenen Kieselschuppe.  $\text{OsO}_4$ , 20 000 $\times$

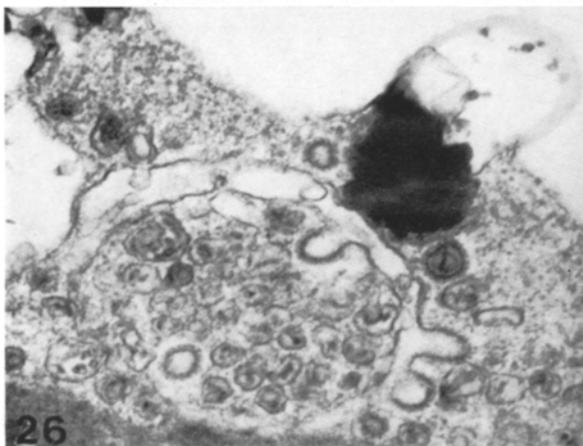
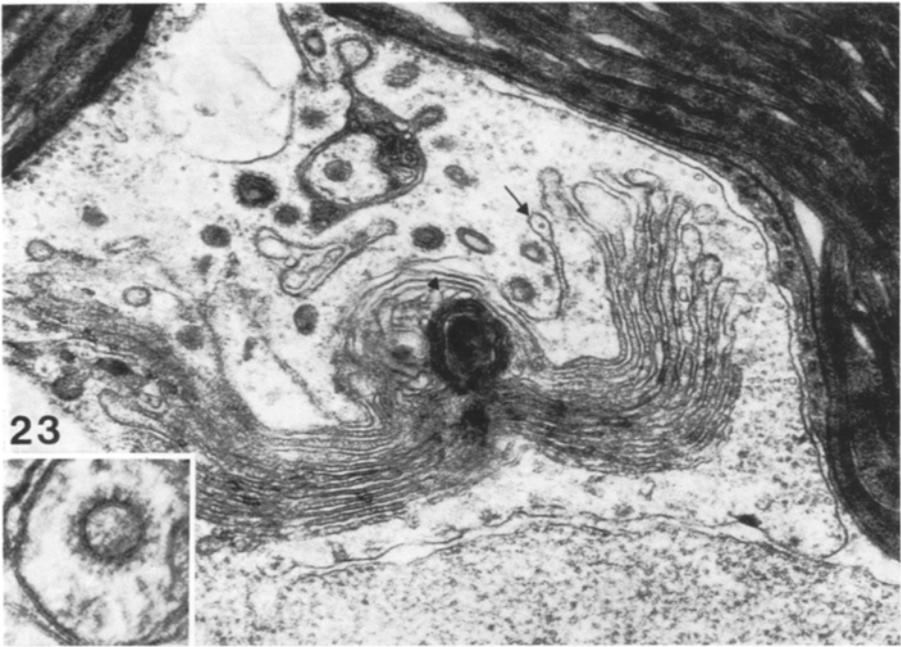


Abb. 23—27

Es ist sehr zweifelhaft, ob diese Gebilde aus „Schleim“ bestehen. Normale Schleime zeigen ein anderes Verhalten. Wahrscheinlicher ist, daß sie reich an polaren Lipoiden sind. Möglicherweise handelt es sich um trichocystenähnliche Gebilde (vgl. HOVASSE 1965).

Die Mitochondrien sind oft sehr bizarr geformt. Die innere Membran bildet relativ kurze, sackartige Einstülpungen. Diese enthalten oft osmiophiles Material, das gelegentlich in Form von Fibrillen auftritt (Abb. 20).

Mitunter findet man — auch nach Fixierungen mit  $\text{KMnO}_4$  — Komplexe eines kristallin geordneten Materials, das frei, also ohne von einer Membran umgeben zu sein, im Grundplasma liegt (Abb. 22). Außerdem kommen Lipoidtropfen, besonders über der Vacuole, vor.

Der Golgi-Apparat wird in der Regel durch ein großes Dictyosom repräsentiert. Es ist meistens schalenförmig gebogen (Abb. 15 und 23) und liegt etwas seitlich am Zellkern nahe der Geißelbasis, also wie bei anderen Chromophyten-Flagellaten parabasal (vgl. SCHNEFF, KOCH und DEICHGRÄBER 1966). In Abb. 1 ist es nur am Rand getroffen.

Nach Glutaraldehydfixierungen ist der zentrale Teil des Dictyosoms durch blasige oder myelinartige Strukturen (Abb. 23) oft stark aufgebläht. Wie Vergleiche mit anderen Fixierungen zeigen, handelt es sich dabei um Artefakte. Ähnliche Veränderungen wurden von MANTON (1967 b) bei *Chrysochromulina* beobachtet.

Obwohl das Dictyosom nahe der Kernhülle liegt und obwohl an seiner proximalen Seite auch oft noch fensterartig durchbrochene ER-Zisternen vorbeiziehen, sind an diesen Elementen und zwischen ihnen und dem Dictyosom nur selten Mikrovesikel zu finden, die bei vielen anderen Protophyten (z. B. FALK 1967) eine diskontinuierliche Verbindung zwischen diesen Strukturen bilden. Auch ein Gradient in der Zisternenhöhe, in der Form der seitlich an den Golgi-Zisternen sitzenden oder mit ihnen durch Tubuli verbundenen Golgi-Vesikel oder der Art ihres Inhaltes ist nur schwach ausgebildet (Abb. 15, 17, 23 und 24). Dennoch deuten die vielen verschiedenen Vesikel in der Nähe des Dictyosoms auf eine gewisse Aktivität des Golgi-Apparates hin.

Diese Vesikel liegen besonders in dem Raum, der von den gekrümmten Golgi-Zisternen teilweise umschlossen wird, also an der distalen Seite, die demnach die sekretorische ist. Besonders auffallend sind ein oder einige wenige größere cytolysosomenartige Gebilde, die in ihrem Inneren Plasmareste und Membranknäule enthalten können (Abb. 15 und 23). Sie werden vermutlich dadurch gebildet, daß sich eine Zisterne kugelschalenförmig schließt (Abb. 26, vgl. BEAULATON 1967). Dabei wirken Fusionen mit anderen Vesikeln mit. Das auf diese Weise abgetrennte Plasma degeneriert. Dabei werden gelegentlich auch ganze Kieselschuppen mit eingeschlossen (Abb. 27).

An diesen „Cytolysosomen“ sitzen häufig „coated vesicles“ (Abb. 14, 23 und 26). Das sind kleine Vesikel mit einem auffälligen Belag aus feinen Stäbchen an der plasmatischen Seite der Membran (Einsatz in Abb. 23), die in einem schmalen, hellen Hof liegen. Die coated vesicles treten auch frei auf, besonders an der distalen Seite der Dictyosomen (Abb. 23 und 24). Manchmal

umschließen sie ein weiteres, kleines Vesikel (Abb. 24), das wohl aus einer Invagination hervorgeht. Sie stehen außerdem mit dem Plasmalemma (Abb. 25), jungen Schuppenvesikeln (s. u.) (Abb. 30) und gelegentlich mit Elementen des ER in Verbindung und finden sich auch am Rande von distal im Dictyosom gelegenen Golgi-Zisternen (Abb. 15 und 25), wo allerdings der Belag oft nur schwach ausgeprägt ist. Es ist bemerkenswert, wie konstant ihr Krümmungsradius ist. Er verändert sich auch dann nicht, wenn ihre Membran mit anderen Membranen fusioniert ist. Wahrscheinlich sind sie durch den Belag besonders stabil.

### 3.3. Die Kieselschuppen und ihre Morphogenese

Das besondere Ziel dieser Untersuchungen war es, die Morphogenese der Kieselschuppen zu verfolgen. Diese sind nicht rein anorganischer Natur. Wenn man sie mit Flußsäure behandelt, bleibt ein zartes Gerüst aus organischem Material zurück (Abb. 29). Auch Diatomeenschalen enthalten neben Kieselsäure Proteine und Polysaccharide (COOMBS und VOLCANI 1968) sowie Lipide (KATES und VOLCANI 1968).

Diese Schuppen sind bei *Synura petersenii* recht kompliziert gebaut (Abb. 28, vgl. MANTON 1955 sowie FORT und LUDVÍK 1957). Sie bestehen aus einer ovalen Grundplatte und einem darauf sitzenden Hohlzylinder. Er ist an dem Ende, das zur Mitte der Zellkolonie gerichtet ist, etwas abgeflacht und rund abgeschlossen. Das andere, nach vorn zeigende Ende erhebt sich höher über die Grundplatte und läuft in einen schiefen, zugespitzten Kegel aus. Die Unterseite dieses Hohlzylinders ist grob perforiert. Sie liegt, abgesehen vom Vorderende, überall dicht auf der Grundplatte und geht kurz hinter dem Apikalkegel in sie über. Dadurch entsteht in dieser ein kreisförmiges Loch, durch das sich der Hohlzylinder zur Schuppenunterseite, also zur Zelle hin, öffnet. Die Grundplatte ist in der Mitte leicht vertieft. Ihre Ränder sind außer am Vorderende nach innen eingeschlagen. Sie wird von zahlreichen kleinen Poren durchbrochen. Grundplatte und Hohlzylinder werden durch Streben miteinander verbunden.

Die Kieselschuppen entstehen in den peripheren Plasmabezirken in besonderen Vesikeln (Abb. 40). Das jüngste, sicher als „Schuppenvesikel“ zu identifizierende Stadium ist eine große, englumige Zisterne. Sie liegt stets auf der Außenseite der Plastiden, eng an der periplastidären Zisterne. Wenn sie, was nur selten vorkommt, seitlich etwas über die Plastiden hinausragt, bildet die periplastidäre Zisterne eine Aussackung, die bis zum Rand des Schuppenvesikels reicht.

Über die Herkunft der jungen Schuppenvesikel läßt sich nichts Sicheres aussagen. Sie sind stets ribosomenfrei. Das schließt nicht aus, daß sie sich aus ER-Elementen entwickeln. Sie könnten aber auch aus Golgi-Vesikeln entstehen. Als Übergangsformen kommen flache Vesikel in Betracht, die in den peripheren Plasmabezirken zahlreich sind.

Diese Vesikel (Abb. 34, 37 und 38) haben eine deutlich dreischichtige Membran. Sie gleichen darin (und auch darin, daß sich in ihrem Inneren oft kleine Einschlüsse befinden) den Lyosomen, die wahrscheinlich ebenfalls von den Dictyosomen abstammen. In mancher Hinsicht sind sie den unter anderen von FALK (1967) bei *Botrydium* beobachteten „fusiformen“ Vesikeln ähnlich. Für diese wird eine Funktion beim Wasser- und Membrantransport in Betracht gezogen; es handelt sich möglicherweise gleichfalls um Abkömmlinge des Golgi-Apparates. Die Membran der jungen Schuppenvesikel zeigt die Dreischichtigkeit etwas weniger klar als die dieser flachen Vesikel. Dennoch gleicht sie ihr eher als etwa einer ER-Membran.

An der Bildung der jungen Schuppenvesikel sind, wie bereits erwähnt wurde, coated vesicles beteiligt. Diese sitzen häufig am Rand eines Schuppenvesikels (Abb. 30). Seltener findet man sie an der Flachseite.

Im zentralen Bereich ist die proximale Membran des Schuppenvesikels stets ganz eng an die äußere Membran der periplastidären Zisterne angepreßt, so daß beide nur bei guter Auflösung voneinander getrennt dargestellt werden. Nur die Ränder sind frei. Über der Kontaktzone trägt die distale Membran des Schuppenvesikels auf der Plasmaseite einen feinen Belag (Abb. 30 und 31).

Im folgenden Entwicklungsstadium bläht sich die periplastidäre Zisterne unter der Kontaktzone und seitlich vom Schuppenvesikel etwas auf. Gleichzeitig schlagen dessen Ränder nach oben ein (Abb. 31). Dabei verdienen die Mikrotubuli besondere Beachtung. Das junge Schuppenvesikel hat etwa die Form und die Ausrichtung der Grundplatte der fertigen Schuppe. Wenn sie quer geschnitten wird, werden daher die wie sie längs verlaufenden (S. 92) Mikrotubuli ebenfalls quer getroffen. Das ist besonders deutlich in Abb. 31 und 34. Mehr schräg-längs geführte Schnitte sind in den Abb. 33, 35, 36 und 37 dargestellt. Wie Abb. 31 zeigt, ziehen die Mikrotubuli dicht über die distale Seite des Schuppenvesikels und begleiten dessen sich umbiegende Ränder.

Bei diesem Einschlagen bleibt um die Kontaktzone herum ein Streifen, in dem sich das Schuppenvesikel und die periplastidäre Zisterne nicht berühren. Dieser Streifen vergrößert sich im Verlauf der Entwicklung. Bei den jungen Stadien liegen hier tubuläre Strukturen. Diese haben eine zartere Wand und einen geringeren Durchmesser als die Mikrotubuli an der distalen Seite des Schuppenvesikels. Sie sind dicht nebeneinander in Längsrichtung geordnet (Abb. 34 und 35).

Im folgenden Stadium bläht sich die periplastidäre Zisterne in einem medianen Bereich im Vorderende der Kontaktzone lokal stark auf. Dadurch wird hier das Schuppenvesikel aufgefaltet. Diese Falte ist in Abb. 32 im Querschnitt dargestellt. Die Ausbeulung der periplastidären Zisterne wächst lokal weiter und formt die Falte zu einem Zylinder um.

Bei diesem Zylinder folgen also von außen nach innen (Abb. 40): die distale Membran des Schuppenvesikels, das Lumen des Schuppenvesikels, die proximale Membran des Schuppenvesikels, ein sehr schmaler Plasmasaum, die distale Membran der periplastidären Zisterne und das Lumen der periplasti-

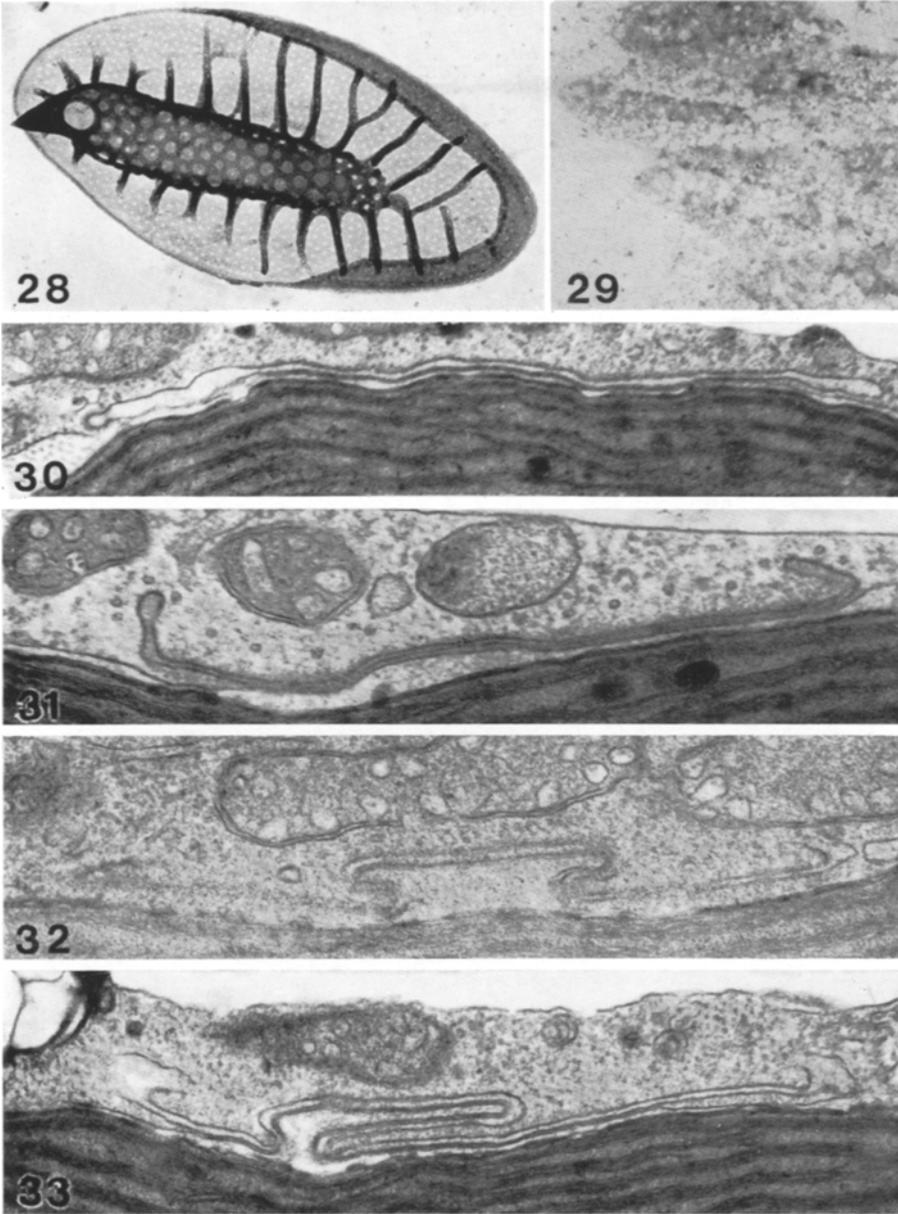


Abb. 28. Kieselschuppe, 17 000 $\times$

Abb. 29. Kieselschuppen nach Behandlung mit Flußsäure. 8000 $\times$

Abb. 30. Junges Schuppenvesikel, links sitzt ein coated vesicle an. Glutaraldehyd, 37 000 $\times$

Abb. 31. Junges Schuppenvesikel mit sich umbiegenden Rändern. Auf der Oberseite Mikrotubuli im Querschnitt. Glutaraldehyd, 43 000 $\times$

Abb. 32. Querschnitt durch ein junges Schuppenvesikel, dessen Zentrum durch die darunterliegende, sich pilzförmig aufblähende periplastidäre Zisterne aufgefaltet wird. Glutaraldehyd, 52 000 $\times$

Abb. 33. Längsschnitt durch ein junges Schuppenvesikel. Bildung des Zylinders. Am linken Vesikelrand schräg getroffene Mikrotubuli. Glutaraldehyd, 39 000 $\times$

dären Zisterne. Der Zylinder ist mit einem zunächst breiten „Stiel“ mit den basalen Teilen verbunden. Durch das seitliche Einwachsen der Membranen wird diese Verbindung eingeschnürt.

Das Schuppenvesikel hat dann die Form der fertigen Schuppe. Das Loch, das im Vorderteil der Schuppe den Eingang in den Hohlzylinder bildet, entspricht der Stelle, an der die periplastidäre Zisterne das Schuppenvesikel auftreibt. In Abb. 34, 35 und 36 ist zwar die Ausstülpung, nicht aber der „Stiel“ getroffen. Auch die Streben werden so vorgeformt, jedoch nicht die Poren.

Wenn das Schuppenvesikel die Form der Schuppe modelliert hat, wird in seinem Lumen die Schuppe ausgeschieden. Das Vesikel hat nur ein sehr niedriges Lumen. Das entstehende Gerüst steht deshalb auf beiden Seiten in Kontakt mit der Vesikelmembran. Zunächst scheint eine organische Matrix gebildet zu werden, die dann verkieselt (Abb. 36 und 37); die Poren bleiben ausgespart.

Dabei löst sich das Schuppenvesikel von der periplastidären Zisterne. Die von dieser gebildete Ausstülpung reißt ab; die Unterseite des Schuppenvesikels wird nun von einer jetzt glatt durchgehenden Membran gebildet. Dabei bleiben Membranen (von der periplastidären Zisterne und vom Schuppenvesikel) sowie Plasmareste im Hohlzylinder zurück und degenerieren (Abb. 37). Schließlich liegen fertig ausgebildete Schuppen in den sich jetzt oft erweiternden Vesikeln (Abb. 38).

Die Extrusion sollte wie in anderen, ähnlichen Fällen dadurch erfolgen, daß sich das Vesikel nach außen hin öffnet, wobei sich die Vesikelmembran mit dem Plasmalemma vereinigt. Abb. 39 zeigt ein Stadium dieses Prozesses. Möglicherweise haben allerdings bei der Entstehung dieses Bildes Artefakte mitgewirkt, jedoch deutet auch das Auftreten eines derartigen Artefaktes auf eine natürliche Tendenz im Verhalten der Membranen.

Eigenartigerweise sind die Membranen der reifen oder nahezu reifen Schuppenvesikel weniger gut darstellbar als das Plasmalemma und die Membranen

Abb. 34. Querschnitt durch ein Schuppenvesikel im hinteren Bereich. Auf der Oberseite Mikrotubuli im Querschnitt, an der Unterseite feinere tubuläre Strukturen. Glutaraldehyd, 40 000 $\times$

Abb. 35. Schrägschnitt durch ein Schuppenvesikel. Die Mikrotubuli auf der Oberseite und die feineren tubulären Elemente an der Unterseite sind schräg-längs getroffen. Glutaraldehyd, 30 000 $\times$

Abb. 36. Beginn der Schuppenbildung in einem schräg getroffenen Schuppenvesikel. Glutaraldehyd, 50 000 $\times$

Abb. 37. Fast fertige Schuppe (Querschnitt) in einem Schuppenvesikel. Im Zylinder der Schuppe degenerierende Plasmareste. Unter dem Plasmalemma schmale Vesikel. Glutaraldehyd, 45 000 $\times$

Abb. 38. Schuppen (Querschnitte) in Schuppenvesikeln. Unter dem Plasmalemma schmale Vesikel. Glutaraldehyd, 40 000 $\times$

Abb. 39. Sich (artifizuell?) öffnendes Schuppenvesikel, die Vesikelmembran geht in das Plasmalemma über. Glutaraldehyd, 35 000 $\times$

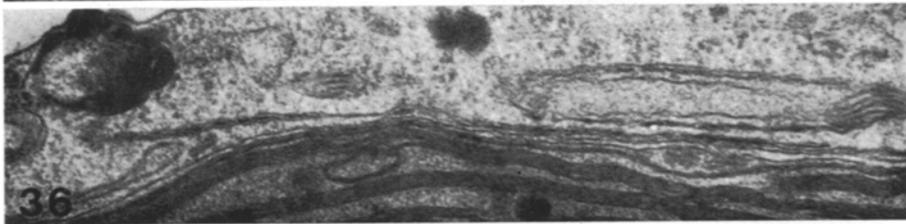
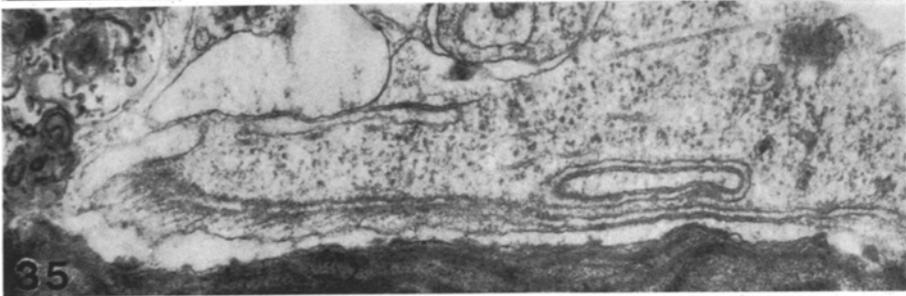


Abb. 34—39

junger Schuppenvesikel. Das widerspricht Erfahrungen an anderen Objekten (SCHNEFF 1965), wonach sich die Membranen von Sekretvesikeln vor ihrer Fusion mit dem Plasmalemma diesem in ihrer Struktur angleichen.

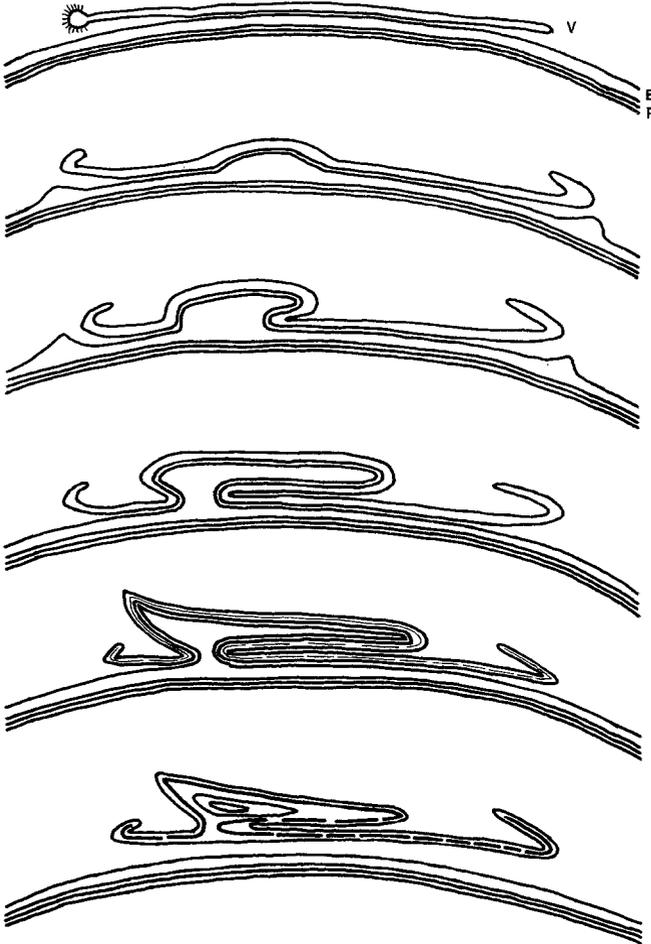


Abb. 40. Morphogenese der Schuppenvesikel (V) und Entwicklung der Kieselschuppen von *Synura petersenii*, schematisch. E = periplastidäre Zisterne des endoplasmatischen Reticulums, P = Plastidenhülle

### 3.4. Die Wirkung von Zellgiften

Durch KCN, Puromycin, Äthionin und Colchicin sollten die Atmung, die Proteinsynthese und die Mikrotubuli gehemmt bzw. zerstört werden und damit die Aktivität des Golgiapparates und die Schuppenmorphogenese beeinflusst werden. Alle Mittel hatten in den angewendeten Konzentrationen keinen deutlichen Effekt. Mikrotubuli waren auch nach Colchicin noch vorhanden.

#### 4. Diskussion

Die Morphogenese der Kieselschuppen von *Synura* ist eine Folge von morphogenetischen Prozessen an und durch Membranen (Abb. 40). Die Membran des Schuppenvesikels ist die Matrix für die Schuppe. Zuerst wird das Schuppenvesikel in die richtige Form gebracht, dann entsteht darin die Schuppe in engem Kontakt mit der Membran, wobei das Muster der Poren allerdings nicht morphologisch erkennbar vorgeprägt ist. Die Frage nach der Morphogenese der Kieselschuppen beinhaltet also zunächst die Frage nach der Morphogenese der Schuppenvesikel.

Bei diesem Prozeß spielt ein lokales Wachstum der Membranen des Schuppenvesikels und der periplastidären Zisterne mit. Das könnte durch örtliche Plastizitätserhöhungen, zusammen mit dem Binnendruck der Kompartimente und einem dann mehr sekundären Einbau von Membranmaterial, oder primär durch eine gerichtete Einlagerung von Membranbausteinen erfolgen. An der Ausrichtung dieses Wachstums oder der Verformung sind vielleicht die Mikrotubuli beteiligt. Damit wären aber allenfalls nur einzelne Schritte des gesamten Vorganges erklärt, zumal die Schuppenform artspezifisch ist.

Diese Membranveränderungen sind eine Vorbedingung für die Schuppenbildung. Andere sind der Transport des organischen und anorganischen Rohmaterials für die Schuppe, ihre Sekretion in das Lumen des Schuppenvesikels und ihre chemische Umwandlung. Man sollte meinen, daß dabei die enge Nachbarschaft zur periplastidären Zisterne von Bedeutung ist. Allerdings entstehen die Kieselschalen von Diatomeen in Vesikeln, die keinesfalls in einer solchen engen Beziehung zum ER oder zu den Plastiden stehen (z. B. REIMANN 1964, STOERMER, PANKRATZ und BOWEN 1965, LEWIN, REIMANN, BUSBY und VOLCANI 1966). Das Porenmuster der Schuppe könnte infolge eines Musters in der Membran des Schuppenvesikels entstehen, durch das eng umschriebene Bereiche bei der Ablagerung der organischen Matrix oder der Kieselsäure ausgespart werden.

Als Vesikel für einen Transport zu den jungen Schuppenvesikeln scheinen unter anderem die coated vesicles eine Rolle zu spielen. Diese Gebilde treten sowohl frei auf als auch in Verbindung mit den Schuppenvesikeln, dem Plasmalemma, den Cytolysosomen, dem ER und Golgi-Zisternen. Da der Belag meist nur schwach ausgeprägt ist, wenn sie noch an Golgi-Zisternen sitzen, sollte man annehmen, daß sie hier entstehen und von hier aus Substanzen zu den erwähnten anderen Kompartimenten verfrachten. Ein Transport in umgekehrter Richtung ist aber nur schwer auszuschließen.

Es ist bemerkenswert, daß die Membranen der coated vesicles mit so vielen verschiedenen anderen Membranen fusionieren. Die coated vesicles bilden also ein Membranflußsystem zwischen den verschiedensten Kompartimenten in der Zelle.

Neben diesen indirekten Kompartimentverbindungen kommen bei *Synura*

wie bei vielen Chromophyten Kommunikationen zwischen der periplastidären Zisterne und der Kernhülle vor. Wenn man das Auftreten der 17 nm dicken Röhren als Indiz nimmt, gibt es noch weitere Verbindungen zwischen den Golgi-Zisternen an der Sekretionsseite der Dictyosomen und dem ER (im weiteren Sinne). Aus der Verteilung dieser Tubuli möchte man schließen, daß sie im Golgi-Apparat entstehen und im ER gespeichert werden, denn es ist nicht wahrscheinlich, daß ein und dasselbe Material in zwei verschiedenen Organellen produziert wird. Die coated vesicles kommen wegen ihrer Größe nur für einen Transport von Vorstufen in Betracht.

Im Golgi-Apparat werden möglicherweise auch die Geißelschuppen gebildet. Sie konnten hier in den Schnittbildern zwar nicht identifiziert werden, doch haben MANTON und Mitarb. (vgl. S. 86) bei zahlreichen anderen Flagellaten ihre Genese im Golgi-Apparat und ihre Extrusion durch Golgi-Vesikel nachgewiesen.

In der *Synura*-Zelle gibt es also mehrere verschiedene Arten von Transportvesikeln und direkten Kompartimentverbindungen. Im Einzelfall weiß man jedoch über die Richtung des Membranflusses und damit des Transportes sowie über die Art der Membrantransformationen nur wenig Sicheres (vgl. SCHNEFF 1968). Die transportierten Substanzen kennt man hier ebenfalls nicht. Dennoch geben diese Untersuchungen einen wenn auch vorerst sicher nur schwachen Eindruck von den ständigen Veränderungen in der Zelle und der Dynamik ihrer Strukturen.

Wir danken Herrn Dr. W. KOCH, Göttingen, für die Überlassung einer *Synura*-Kultur und für wichtige Hinweise sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung.

## Literatur

- BEAULATON, J., 1967: Localisation d'activités lytiques dans la glande prothoracique du ver à soie du chêne (*Antheraea pernyi* Guér.) au stade prénymphal. II. Les vacuoles autolytiques (cytolysosomes). *J. Microsc.* **6**, 349—370.
- BRADLEY, D. E., 1965: Ultrastructure of some chrysophycean flagella. *Excerpta medica Int. Congr.*, Ser. **91**, 336.
- 1966: The ultrastructure of the flagella of three chrysomonads with particular reference to the mastigonemes. *Exp. Cell Res.* **41**, 162—173.
- COOMBS, J., and B. E. VOLCANI, 1968: Studies on the biochemistry and fine structure of silica-shell formation in diatoms. Chemical changes in the wall of *Navicula pelliculosa* during its formation. *Planta (Berl.)* **82**, 280—292.
- FALK, H., 1967: Zum Feinbau von *Botrydium granulatum* Grev. (*Xanthophyceae*). *Arch. Mikrobiol.* **58**, 222—227.
- und H. KLEINIG, 1968: Feinbau und Carotinoide von *Tribonema* (*Xanthophyceae*). *Arch. Mikrobiol.* **61**, 347—362.
- FOTT, B., und J. LUDVÍK, 1957: Die submikroskopische Struktur der Kieselschuppen bei *Synura* und ihre Bedeutung für die Taxonomie der Gattung. *Preslia* **29**, 5—16.
- FULLER, M. S., and R. REICHLER, 1965: The zoospore and early development of *Rhizidiomyces apophysatus*. *Mycologia* **57**, 946—961.

- GREEN, J. C., and D. H. JENNINGS, 1967: A physical and chemical investigation of the scales produced by the Golgi apparatus within and found on the surface of the cells of *Chrysochromulina chiton* Parke et Manton. *J. exp. Bot.* **18**, 359—370.
- HOLLANDE, A., 1952: Classe des Chrysomonadines (*Chrysomonadina* Stein, 1878). In: P.-P. GRASSÉ: *Traité de Zoologie*. I, 471—570. Paris: Masson.
- HOVASSE, R., 1965: Trichocystes, corps trichocystoïdes, cnidocystes et colloblastes. *Proto-plasmatologia III*, F. Wien-New York: Springer-Verlag.
- JOYON, L., 1963: Contribution à l'étude cytologique de quelques protozoaires flagellés. *Ann. Fac. Sci. Univ. Clermont* No. 22, *Biol. animale* 1. Fasc.
- KATES, M., and B. E. VOLCANI, 1968: Studies on the biochemistry and fine structure of silica shell formation in diatoms. Lipid components of the cell walls. *Z. Pflanzenphysiol.* **60**, 19—29.
- KIERMAYER, O., 1968: The distribution of microtubules in differentiating cells of *Micrasterias denticulata* Bréb. *Planta* (Berl.) **83**, 223—236.
- KOCH, W., 1964: Verzeichnis der Sammlung von Algenkulturen am Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen. *Arch. Mikrobiol.* **47**, 402—432.
- 1965: Cyanophyceenkulturen. Anreicherungs- und Isolierungsverfahren. *Zbl. Bakteriol., Suppl.* **1**, 415—431.
- und E. SCHNEFF, 1967: Einige elektronenmikroskopische Beobachtungen an *Vacuolaria virescens* Cienk. *Arch. Mikrobiol.* **57**, 196—198.
- LEWIN, J. C., B. E. REIMANN, W. F. BUSBY, and B. E. VOLCANI, 1966: Silica shell formation in synchronously dividing diatoms. In: I. L. CAMERON and G. M. PADILLA: *Cell synchrony*. S. 169—188. New York: Academic Press.
- MANTON, I., 1955: Observations with the electron microscope on *Synura caroliniana* Whitford. *Proc. Leeds Philosoph. Soc. (Sci. Sect.)* **6**, 306—316.
- 1967 a: Electron microscopical observations on a clone of *Monomastix* Scherffel in culture. *Nova Hedw.* **14**, 1—11.
- 1967 b: Further observations on the fine structure of *Chrysochromulina chiton* with special reference to the haptonema, "peculiar" Golgi structure and scale production. *J. Cell Sci.* **2**, 265—272.
- 1967 c: Further observations on scale formation in *Chrysochromulina chiton*. *J. Cell Sci.* **2**, 411—418.
- and H. ETTL, 1965: Observations on the fine structure of *Mesostigma viride* Lauterborn. *J. Linn. Soc. (Bot.)* **59**, 175—184.
- and K. HARRIS, 1966: Observations on the microanatomy of the brown flagellate *Sphaleromantis tetragona* Skuja with special reference to the flagellar apparatus and scales. *J. Linn. Soc. (Bot.)* **59**, 397—403.
- and G. F. LEEDALE, 1961: Observations on the fine structure of *Paraphysomonas vestita*, with special reference to the Golgi apparatus and the origin of scales. *Phycologia* **1**, 37—57.
- MUSCATELLO, U., and R. W. HORNE, 1968: Effect of the tonicity of some negative-staining solutions on the elementary structure of membrane-bounded systems. *J. Ultrastruct. Res.* **25**, 73—83.
- PITELKA, D. R., and C. N. SCHOOLEY, 1955: Comparative morphology of some protistan flagella. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **61**, 79—128.
- REIMANN, B. E. F., 1964: Deposition of silica inside a diatom cell. *Exp. Cell Res.* **34**, 605—608.

- SCHNEFF, E., 1965: Die Morphologie der Sekretion in pflanzlichen Drüsen. Ber. dtsh. bot. Ges. **78**, 478—483.
- 1968: Membranfluß und Membrantransformation. Ber. dtsh. bot. Ges., im Druck.
- W. KOCH und G. DEICHGRÄBER, 1966: Zur Cytologie und taxonomischen Einordnung von *Glaucocystis*. Arch. Mikrobiol. **55**, 149—174.
- SCHUSSNIG, B., 1960: Handbuch der Protophytenkunde. Bd. II. Jena: Fischer.
- STOERMER, E. F., H. W. PANKRATZ, and C. C. BOWEN, 1965: Fine structure of the diatom *Amphipleura pellucida*. II. Cytoplasmic fine structure and frustule formation. Amer. J. Bot. **52**, 1067—1078.
- STOSCH, H. A. v., 1951: Über das Leukosin, den Reservestoff der Chrysophyten. Naturwissenschaften **38**, 192—193.

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. E. SCHNEFF und G. DEICHGRÄBER, Lehrstuhl für Zellenlehre der Universität, Berliner Straße 15, D-69 Heidelberg.