

Untersuchungen zur Abgrenzung der Arten *Phormidium uncinatum* und *Phormidium autumnale*

Von D. P. HÄDER und W. NULTSCH

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg)

1. Einleitung

Innerhalb der Cyanophyceen bereiten besonders die Vertreter der Gattung *Phormidium* der systematisch-taxonomischen Abgrenzung erhebliche Schwierigkeiten. Die Gründe hierfür liegen auf der Hand: Die Arten dieser Gattung unterscheiden sich nämlich nur in wenigen morphologischen Merkmalen, und gerade diese Merkmale zeichnen sich durch eine grosse Variabilität aus, was sowohl auf äussere als auch auf innere Faktoren zurückzuführen ist.

Da morphologische Merkmale zur Beschreibung der Arten offensichtlich nicht ausreichen, erscheint es unumgänglich, künftig auch im Falle der Cyanophyceen physiologische Merkmale hinzuzuziehen, ein Verfahren, das sich z. B. in der Bakterien-systematik längst eingebürgert hat. KANN und KOMÁREK [5] schlagen deshalb zur Artenabgrenzung und -bestimmung die folgenden sechs Methoden vor:

1. Kritischer Vergleich der Arten nach der Literatur,
2. Studium der Variabilität in Naturmaterial verschiedener Herkünfte,
3. Beobachtung von Kulturen,
4. zytologische Untersuchungen mit Hilfe des Elektronenmikroskopes,
5. genetische Untersuchungen,
6. physiologische Untersuchungen.

Als siebente Methode sollte man in diese Liste die statistische Auswertung der Zellgrösse von Populationen aufnehmen.

KANN und KOMÁREK [5] haben nur die Methoden 1 bis 3 angewandt. Auf Grund ihrer Ergebnisse schlagen sie vor, die beiden Arten *Phormidium autumnale* und *Phormidium uncinatum* in der Sammelart *Phormidium autumnale* zusammenzufassen, zwei Formen also, die bisher von anderen Autoren, z. B. GEITLER [3] und GOMONT [4], als getrennte Arten angesehen wurden. Allerdings sind sich alle Autoren darüber einig, dass die Abgrenzung schwierig ist.

Da wir in unserem Institut Stämme der genannten *Phormidium*-arten seit vielen Jahren in Kultur halten und diese wiederholt zu physiologischen Versuchen herangezogen haben (s. Zusammenfassung bei NULTSCH [12]), sehen wir uns veranlasst, aus der Fülle der vorliegenden Daten einige herauszugreifen, die nach unserer Auffassung einen wesentlichen Beitrag zur Frage der Abgrenzung der beiden Arten leisten kön-

nen. Wir stützen uns dabei im wesentlichen auf lichtmikroskopische Untersuchungen an Kulturmaterial, auf physiologische Untersuchungen sowie auf die statistische Auswertung der Zellgrösse von Populationen.

2. Material und Methodik

Die Isolierung und Kultur von *Phormidium autumnale* und *Phormidium uncinatum* wurden bereits ausführlich beschrieben (NULTSCH [7,9]), so dass an dieser Stelle darauf verwiesen werden kann. Abweichend davon benutzen wir eine Agarkonzentration von 0,28%. Um eine mögliche Synchronisierung der Kulturen auszu-schalten, wurden sie in Dauerlicht (Leuchtstoffröhren, 1000 Lux) angezogen. Die Temperatur betrug konstant 25°C, der Überimpfrhythmus 5 Tage. Die Versuchsanordnungen für die physiologischen Untersuchungen sind den einschlägigen Publikationen (NULTSCH [7, 8, 9, 11]) zu entnehmen. Die Messung der Absorptionsspektren erfolgte mit Hilfe des Shimadzu-Spektrophotometers MPS 50 bei Zimmer-temperatur und in flüssigem Stickstoff¹).

3. Morphologische Unterschiede zwischen *Phormidium uncinatum* und *Phormidium autumnale*

Bei der morphologischen Unterscheidung der *Phormidium*-arten spielt in den Bestimmungsschlüsseln die Gestalt der Fadenenden eine wichtige Rolle: z. B. Grösse und Form der Endzellen, Vorhandensein und Form der Kalyptra sowie die Frage, ob das Ende gerade oder konisch zulaufend, kopfig oder hakenförmig gekrümmt ist. Abb. 1 zeigt, dass diese Merkmale ausserordentlich variabel sind. Bei beiden Arten treten sowohl kopfige Endzellen als auch Endzellen mit und ohne Kalyptra auf. Sie können halbkugelig, sichelförmig, stumpfdreieckig oder fast kugelig sein. Der einzig erkennbare Unterschied liegt darin, dass die Zellfäden bei *Phormidium uncinatum* häufiger konisch zulaufen als bei *Phormidium autumnale*, wo sie meist abgerundet sind. Insofern ist die Gestalt der Fadenenden kein zuverlässiges Merkmal zur Unterscheidung dieser beiden Arten.

Dafür scheint uns ein anderes morphologisches Merkmal von Bedeutung zu sein. Bei näherer Betrachtung fällt nämlich auf, dass die Fäden von *Phormidium autumnale* häufig an den Querwänden deutlich ausgebuchtet sind (vgl. Abb. 2A und B). Diese Ausbuchtungen treten bei *Phormidium uncinatum* höchstens wenige Zellen hinter dem Fadenende auf, wo die Verjüngung einsetzt, während sie innerhalb des Fadens bei unserem Material niemals festzustellen waren (vgl. Abb. 2C und D). Hier sind im Gegenteil die Trichome an den Querwänden oft tonnenförmig eingeschnürt, besonders bei solchen Zellen, die gerade in Teilung begriffen sind (vgl. Abb. 3C und D), während bei *Phormidium autumnale* tonnenförmige Einschnürungen nicht nachweisbar sind (vgl. Abb. 3A und B). Granula an den Querwänden, wie sie von DREWS und NIKLOWITZ [2] beschrieben wurden, finden sich bei dem Kulturmaterial in beiden untersuchten Arten. In der Regel liegen die Granula zweier benachbarter Zellen einander gegenüber (vgl. Abb. 4A bis D).

¹) Wir danken Herrn Doz. Dr. Senger für seine Hilfe bei der Messung der Tieftemperatur-spektren und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für apparative Unterstützung.

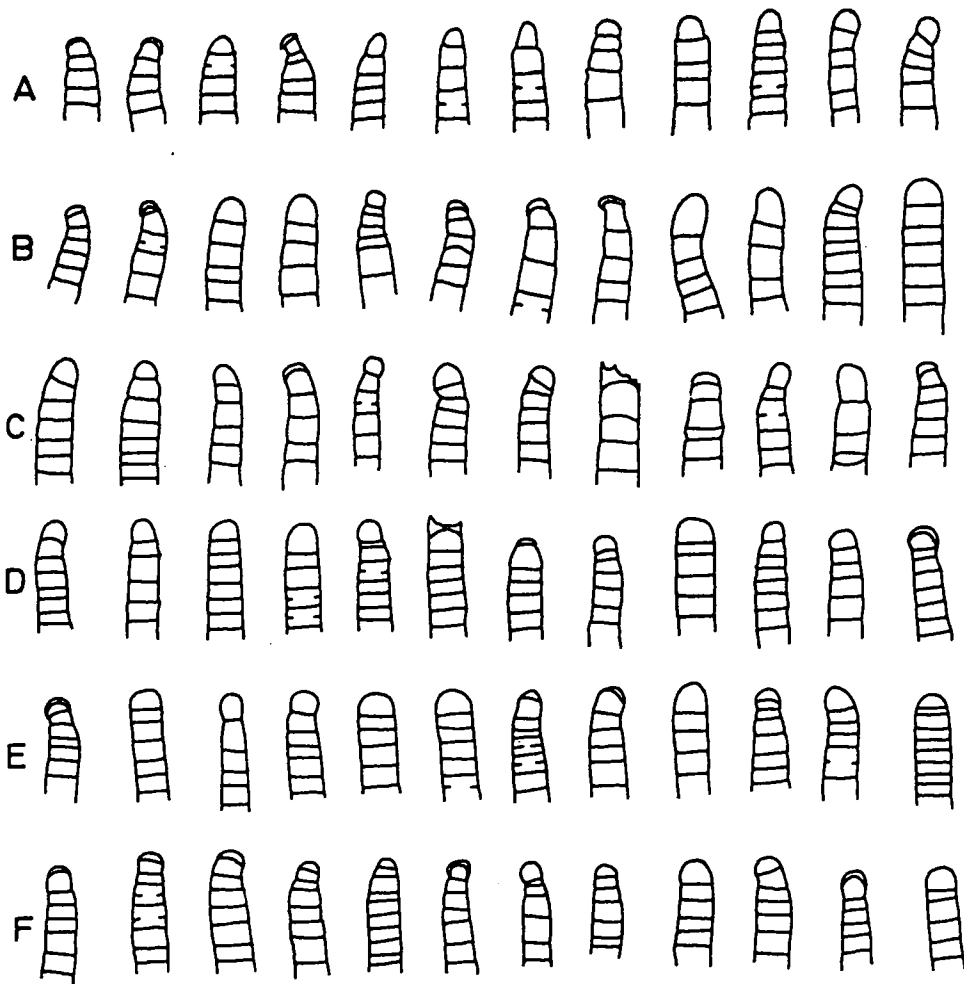


Abb. 1. Trichomenden. Reihe A–C: *Ph. uncinatum*, Reihe D–F: *Ph. autumnale*.

4. Statistische Auswertung der Zellgrösse von Populationen

Die Breite der Trichome wird von den meisten Autoren für *Phormidium autumnale* zwischen 4 und 8,5 μ angeben, für *Phormidium uncinatum* zwischen 5,5 und 9 μ . Somit überschneiden sich die Fadenbreiten beider Arten erheblich. In unseren Kulturen betrug die mittlere Fadenbreite bei *Phormidium autumnale* 7,9 μ und bei *Phormidium uncinatum* 8,6 μ . Die kleinste gemessene Fadenbreite war bei beiden Arten 7,1 μ (vgl. Tab. 1). Die im Vergleich zur Literatur geringeren Schwankungen der Zellgrösse unseres Kulturmaterials dürften ihre Ursache einerseits in der Konstanz der Anzuchtbedingungen haben, andererseits aber auch darauf zurückzuführen sein, dass es sich durchweg um Klonkulturen handelt.

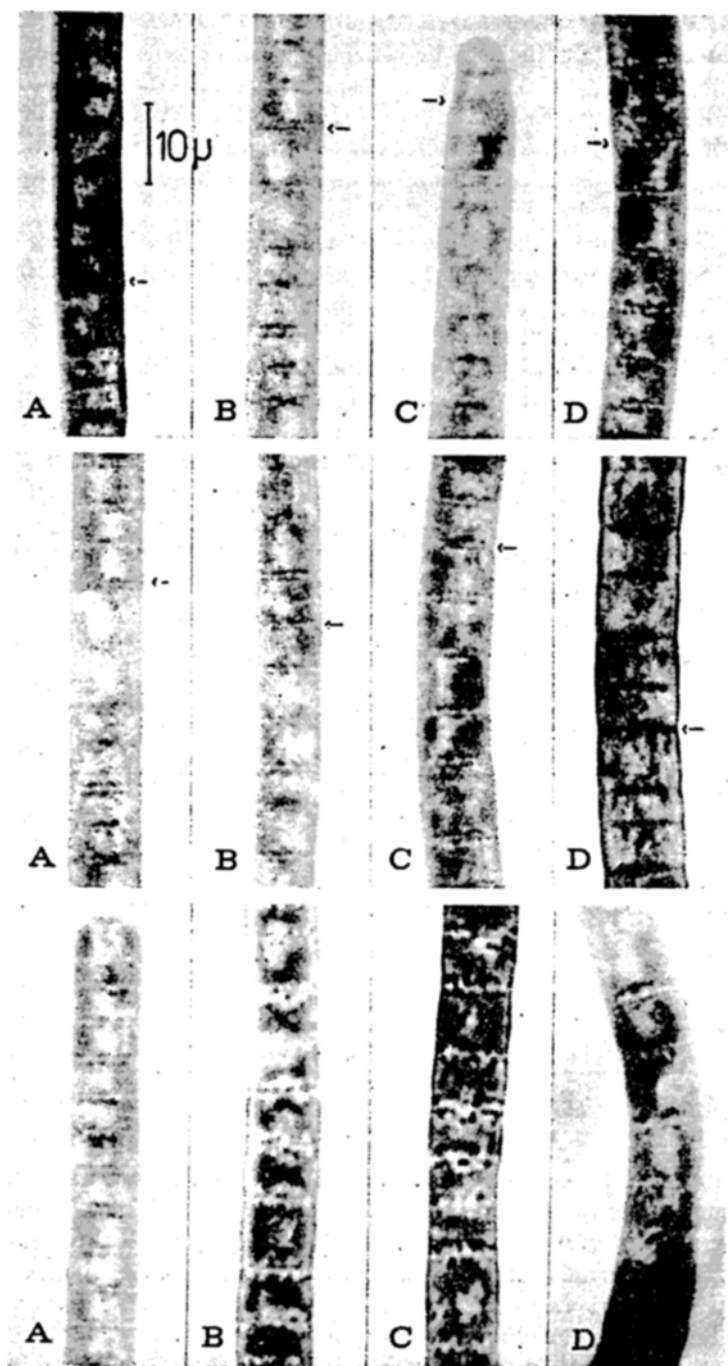


Abb. 2, 3 und 4. A und B: *Ph. autumnale*, C und D: *Ph. uncinatum*.

Misst man die Breite einer grösseren Anzahl von Trichomen und trägt die Ergebnisse für beide Arten als statistische Verteilungskurven auf, so erhält man zwei deutlich getrennte Kurven, die sich zwar überlappen (Abb. 5), aber dennoch erkennen lassen, dass die Zellen von *Phormidium uncinatum* im Durchschnitt um fast $1\ \mu$ breiter sind als die von *Phormidium autumnale*. Dabei ist allerdings auch die Differenz zwischen den gemessenen Maximal- und Minimalwerten bei *Phormidium uncinatum* deutlich grösser als bei *Phormidium autumnale*.

Entsprechendes gilt für die Länge der Zellen (Abb. 6). Hier liegt der Mittelwert von *Phormidium autumnale* um etwa $1\ \mu$ unter dem von *Phormidium uncinatum*. Abweichend von einigen Angaben in der Literatur (BEHRE [1], GEITLER [3]) sind jedoch auch die Werte für die minimale und maximale Zelllänge bei *Phormidium autumnale* deutlich niedriger als bei *Phormidium uncinatum* (vgl. Tab. 1).

Da die Zellen von *Phormidium uncinatum* im Durchschnitt länger und breiter sind als die von *Phormidium autumnale*, ist es verständlich, dass das Verhältnis von Länge zu Breite bei beiden Arten nicht so auffällige Unterschiede zeigt (Tab. 1). GEITLER [3] und KANN und KOMÁREK [5] geben ähnliche Werte für das Verhältnis von Länge zu Breite an, wie sie auch von uns gefunden wurden. Lediglich BEHRE [1] schreibt für *Phormidium autumnale*: «Zelllänge $1\frac{1}{2}$ der Breite bis quadratisch.» Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass Material von Standorten mit unteroptimalen Wachstumsbedingungen verwendet wurde, das erfahrungsgemäss eine geringere Teilungsrate aufweist als Kulturmateriel, so dass die Zellen länger werden.

Tab. 1.

	<i>Ph. uncinatum</i>	<i>Ph. autumnale</i>
Mittlere Fadenbreite	8,6 μ	7,9 μ
Minimale Fadenbreite	7,1 μ	7,1 μ
Maximale Fadenbreite	10,2 μ	8,9 μ
Mittlere Zelllänge	5,1 μ	4,0 μ
Minimale Zelllänge	2,8 μ	2,0 μ
Maximale Zelllänge	8,8 μ	7,0 μ
Verhältnis von Länge zu Breite		
Der Mittelwert	0,58	0,52
der Minimalwert	0,34	0,25
der Maximalwert	0,91	0,84

5. Pigmentgehalt

Hält man beide Arten nebeneinander in Kultur, so fällt auf, dass *Phormidium autumnale* normalerweise einen deutlich rötlichen Farbton aufweist, während *Phormidium uncinatum* graubraun erscheint. Erst bei Alterung der Kultur nehmen beide Arten eine graugrüne und später eine gelbgrüne Farbe an, die ein sicherer Indikator für ungünstige Kulturbedingungen ist.

Zur Untersuchung des Pigmentgehaltes wurden In-vivo-Absorptionsspektren aufgenommen, und zwar sowohl bei Raumtemperatur (Abb. 7) als auch in flüssigem Stickstoff (Abb. 8). Danach stimmen beide Arten in der Pigmentausrüstung zwar grundsätzlich miteinander überein, zeigen aber deutliche quantitative Unterschiede.

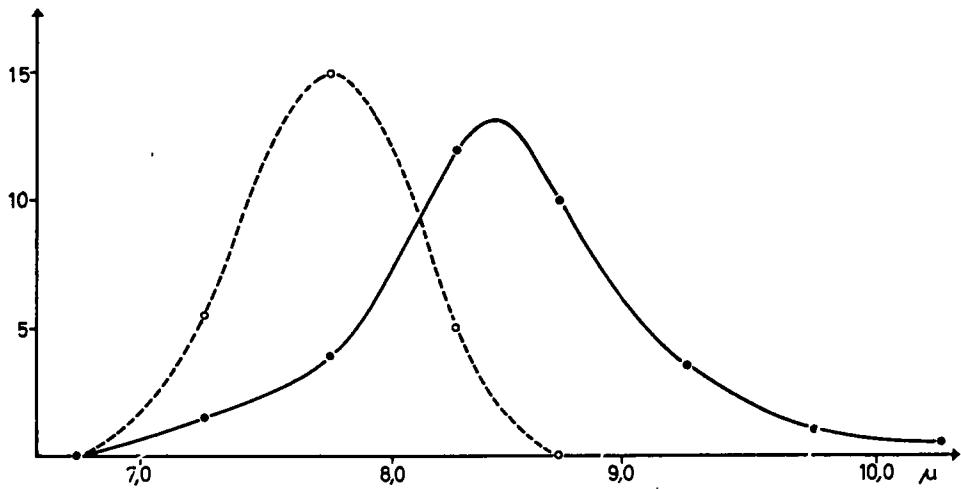


Abb. 5. Statistisches Verteilungsdiagramm der Fadenbreite. *Ph. uncinatum* (ausgezogene Linie, geschlossene Punkte), *Ph. autumnale* (unterbrochene Linie, offene Kreise). Abszisse: Trichombreite in μ , Ordinate: relative Häufigkeit innerhalb der Populationen.

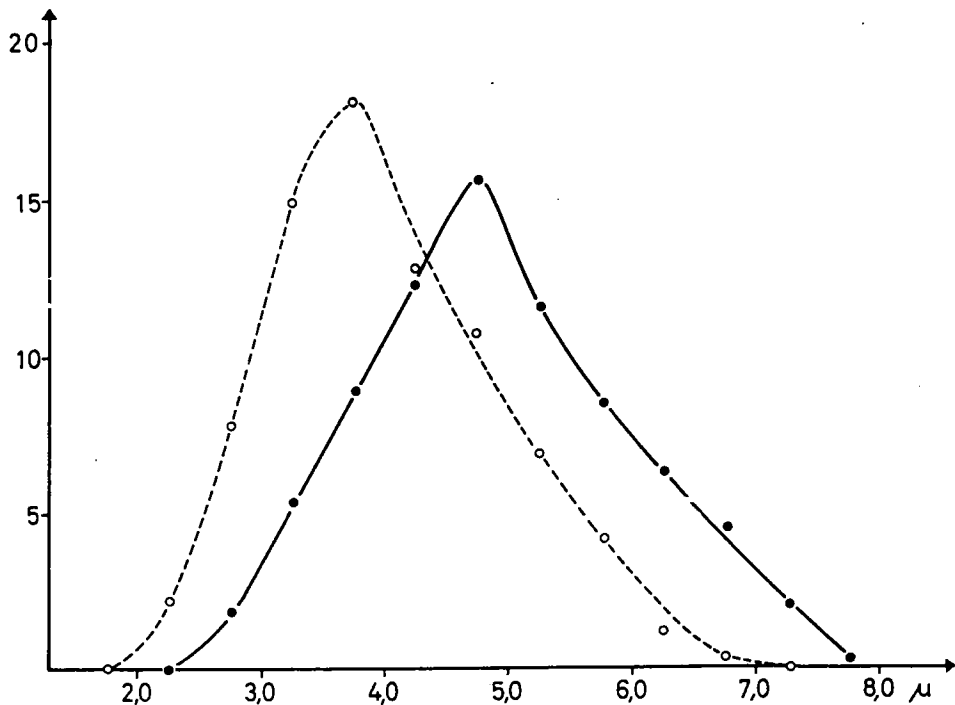


Abb. 6. Statistisches Verteilungsdiagramm der Zelllänge. Zeichen wie in Abb. 5. Abszisse: Zelllänge in μ , Ordinate: relative Häufigkeit innerhalb der Populationen.

Dies gilt insbesondere für den Bereich von 560 bis 570 nm, d.h. den Absorptionsbereich des Phycoerythrins. Die unterschiedliche Höhe der Absorptionsmaxima in diesem Bereich, bezogen auf das Absorptionsmaximum des Chlorophylls a zwischen 430 und 440 nm, zeigt deutlich, dass *Phormidium autumnale* wesentlich mehr Phyco-

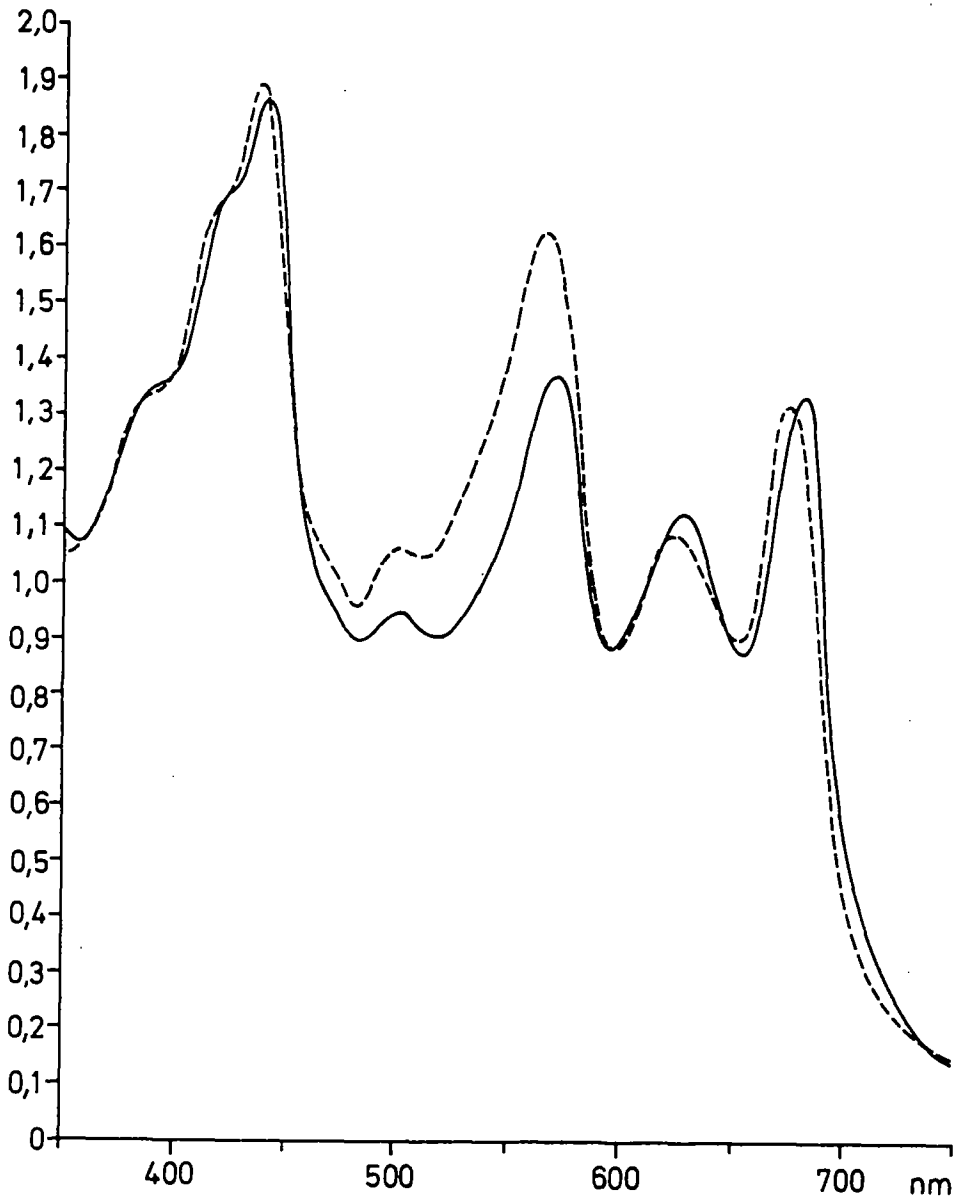


Abb. 7. In-vivo-Absorptionsspektren von *Ph. uncinatum* (ausgezogene Linie) und *Ph. autumnale* (unterbrochene Linie).

erythrin enthält als *Phormidium uncinatum*. Das ist auch der Grund für die charakteristischen Farbunterschiede der Kulturen.

Die Tieftemperaturspektren zeigen, wie zu erwarten, eine stärkere Auflösung der Absorptionsbanden, und zwar insbesondere im Bereich der Biliproteide. Die Zweigipfeligkeit der Bande im Bereich zwischen 600 und 650 nm ist verständlich, da beide Arten sowohl C-Phycocyanin als auch Allo-Phycocyanin enthalten. Bemerkenswert ist jedoch, dass auch im Absorptionsbereich des Phycoerythrins ein zweigipfeliges Absorptionsmaximum auftritt. Die Zweigipfeligkeit des Absorptionsspektrums von Phycoerythrin ist also auch in der Zelle nachweisbar und somit kein Artefakt, das erst während oder nach der Extraktion des Pigmentes auftritt [6, 10, 13].

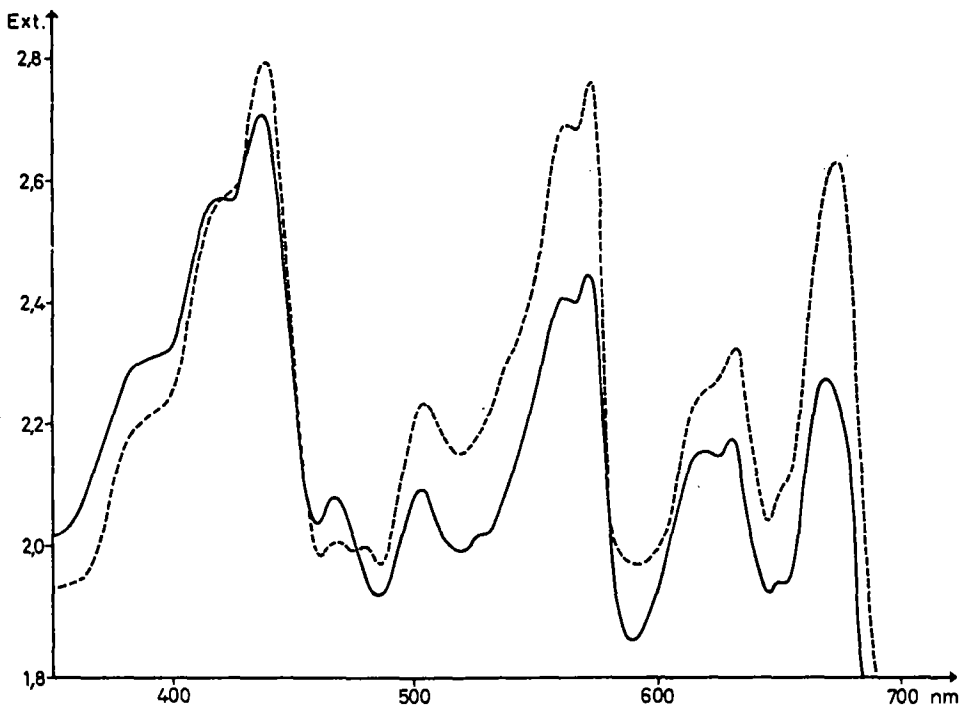


Abb. 8. Tieftemperaturspektren (Erklärung s. Abb. 7).

Die in Abb. 7 und 8 wiedergegebenen Absorptionsspektren wurden zu verschiedenen Zeiten gemessen. Ausserdem liegen weitere Absorptionsspektren aus früherer Zeit vor. Alle zeigen übereinstimmend einen deutlich niedrigeren Phycoerythringehalt von *Phormidium uncinatum*. Damit ist bewiesen, dass diese Pigmentunterschiede artkonstant und nicht etwa auf äussere Faktoren zurückzuführen sind.

6. Lichtreaktionsverhalten

Grössere Unterschiede im Pigmentgehalt sollten auch Unterschiede im physiologischen Verhalten beider Arten zur Folge haben, jedenfalls bei solchen Prozessen, an

denen die genannten Pigmente beteiligt sind. Dies lässt sich an Hand von Aktionspektren nachweisen.

So zeigen die beiden in Abb. 9 wiedergegebenen Aktionsspektren der Phototopotaxis (NULTSCH [7, 11]) zwar einen im wesentlichen übereinstimmenden Verlauf, lassen aber quantitative Unterschiede im nahen UV und bei 560 nm erkennen. Der letztere spiegelt den erheblich geringeren Phycoerythringehalt von *Phormidium uncinatum* eindeutig wieder.

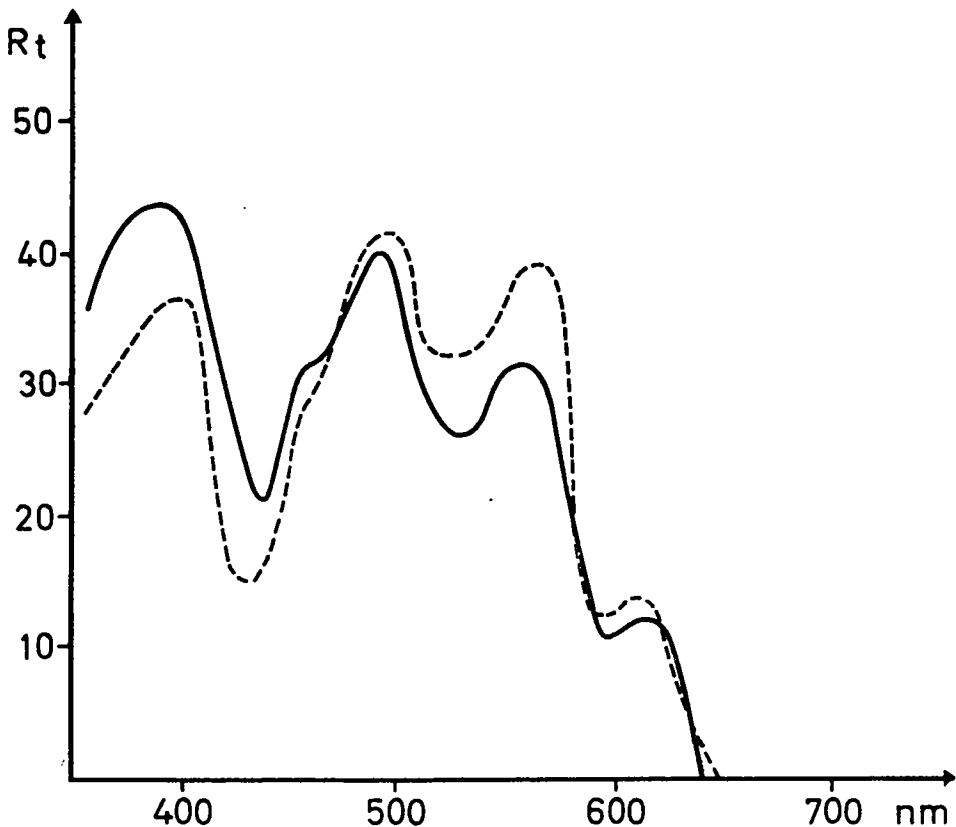


Abb. 9. Aktionsspektren der Phototopotaxis. Linien wie in Abb. 7. Ordinate: Reaktionswert R_t in relativen Einheiten.

Noch deutlichere Unterschiede weisen die Aktionsspektren der Photokineses beider Arten auf (Abb. 10) (NULTSCH [8, 11]). So zeigt das Spektrum von *Phormidium autumnale* bei 430 nm nur eine Schulter, während sich bei *Phormidium uncinatum* in diesem Bereich ein distinktes Maximum erkennen lässt. Dieser Befund deutet auf eine verschieden starke Beteiligung des Chlorophylls a an der Photokinese hin, da ja die Soret-Bande in diesem Bereich liegt. Auch in dem durch die Biliproteide absorbierten Spektralbereich um 560 nm (Phycoerythrin) und 615 nm (Phycocyanin) sind deutliche Unterschiede zu erkennen.

7. Diskussion

Die Taxonomie der Cyanophyceen basiert zur Zeit fast ausschliesslich auf morphologischen Merkmalen. Dies hat, wie eingangs bereits dargelegt wurde, zu erheblichen Unsicherheiten in der Abgrenzung und Einordnung der Arten, insbesondere auch bei der Gattung *Phormidium*, geführt. So konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die Form der Trichomenden kein brauchbares morphologisches Kriterium zur Unterscheidung der beiden untersuchten *Phormidium*-arten ist, während, zum

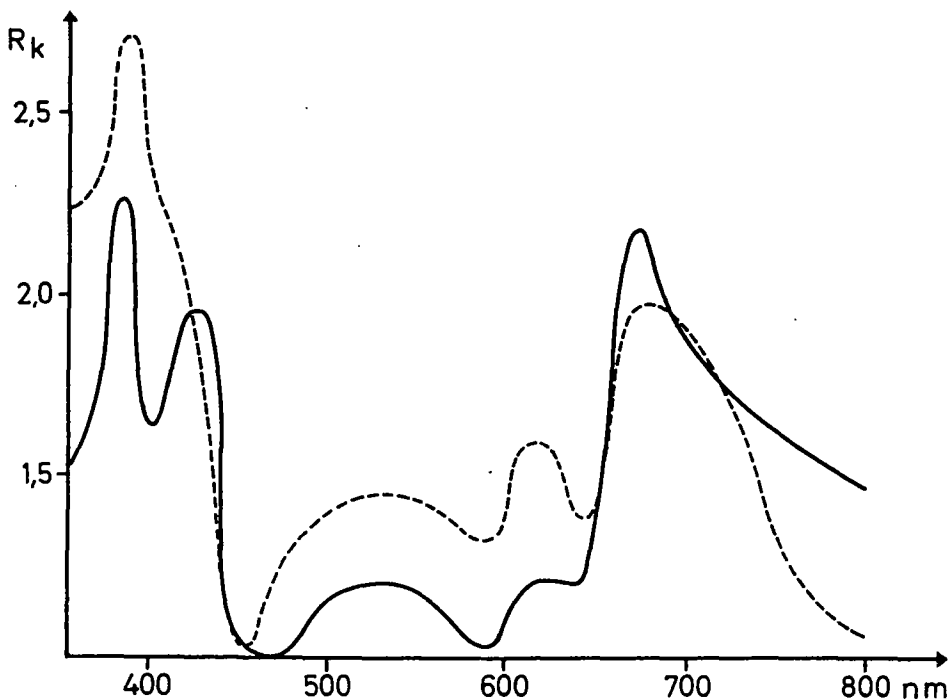


Abb. 10. Aktionsspektren der Photokinese. Linien wie in Abb. 7. Ordinate: Reaktionswert R_k in relativen Einheiten.

mindesten bei Kulturmateriale, Ausbuchtungen (*Ph. autumnale*) bzw. tonnenförmige Einschnürungen (*Ph. uncinatum*) der Zellwand an den Querwänden durchaus zur Unterscheidung der beiden Arten herangezogen werden können. Unerlässlich für die Artenabgrenzung erscheint uns jedoch die statistische Auswertung von Populationen, durch die sich verschiedenen Arten an Hand ihrer Verteilungskurven für Länge und Breite der Zellen sehr wohl voneinander unterscheiden lassen.

Erlauben schon diese Kriterien eine klare Trennung der beiden Arten, so bieten Unterschiede im Pigmentgehalt weitere Anhaltspunkte dafür. Eine qualitativ grundsätzlich verschiedene Pigmentausrüstung ist bei verwandten Arten natürlich nicht zu erwarten, doch weisen *Phormidium autumnale* und *Phormidium uncinatum* unter gleichen Kulturbedingungen signifikante quantitative Unterschiede im Pigment-

gehalt auf, die auch makroskopisch deutlich zum Ausdruck kommen. Natürlich unterliegt der Pigmentgehalt einer Art, je nach physiologischem Zustand, gewissen Schwankungen, doch sind die Unterschiede zwischen beiden Arten unter gleichbleibenden Kulturbedingungen sehr konstant, und zwar selbst dann, wenn das Nährmedium innerhalb gewisser, physiologisch zulässiger Grenzen variiert wird. Weitere physiologische Unterschiede ergeben sich aus dem Vergleich der Aktionsspektren beider Arten, z. B. den Aktionsspektren der Phototopotaxis und der Photokinesis.

Die kritische Bewertung aller vorgenannten morphologischen und physiologischen Unterschiede führt nach unserer Auffassung zu dem Schluss, dass die Trennung der beiden Spezies *Phormidium autumnale* und *Phormidium uncinatum* durchaus gerechtfertigt ist. Denn wenn wir von einer Art verlangen, dass ihre Vertreter in allen wesentlichen Merkmalen untereinander übereinstimmen, so ist gerade diese Bedingung im vorliegenden Fall in mehrfacher Hinsicht nicht erfüllt. Aus diesem Grunde muss die Zusammenfassung in eine Sammelart abgelehnt werden.

8. Zusammenfassung

Vergleichende Untersuchungen der Morphologie, der Grössenverhältnisse, des Pigmentgehaltes und des Lichtreaktionsverhaltens führen zu dem Schluss, dass es sich bei *Phormidium autumnale* und *Phormidium uncinatum* um zwei verschiedene, durchaus unterscheidbare Arten handelt. Die Zusammenfassung zu einer Sammelart wird daher abgelehnt.

RÉSUMÉ

Il résulte des recherches comparant les morphologies, les dimensions, les contenus de pigment et les photoréactions des *Phormidium autumnale* et *Phormidium uncinatum* que ces derniers appartiennent à deux espèces différentes bien à distinguer. Nous refusons par conséquent un regroupement des deux *Phormidia* dans une espèce.

SUMMARY

Investigations on the morphology, the dimensions, the pigment contents and the light reaction behaviour strongly indicate that *Phormidium uncinatum* and *Phormidium autumnale* are distinctly different species. We therefore object to the unification of the two into one species.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] BEHRE, K., *Die Algenbesiedlung der Unterweser unter Berücksichtigung ihrer Zuflüsse (ohne Kieselalgen)*, Veröffentl. Inst. Meeresforschung Bremerhaven 7, 71–263 (1961).
- [2] DREWS, G., und NIKLOWITZ, W., *Beiträge zur Cytologie der Blaualgen, II. Mitteilung: Centroplasma und granuläre Einschlüsse von Phormidium uncinatum*, Arch. Mikrobiol. 24, 147–162 (1956).
- [3] GEITLER, L., *Cyanophyceae*, in Rabenh.'s Kryptogamenflora 14 (1932).
- [4] GOMONT, M., *Monographie des Oscillariées*, Ann. Sci. nat. Bot. 7 (1893).
- [5] KANN, E., und KOMÁREK, J., *Systematisch-ökologische Bemerkungen zu den Arten des Formenkreises Phormidium autumnale*, Schweiz. Z. Hydrol. 32, 495–518 (1970).

- [6] LEIBO, S.P., und JONES, R.F., *Freezing of the Chromoprotein Phycoerythrin from the Red Alga Porphyridium cruentum*, Arch. Biochem. Biophys. 106, 78–88 (1964).
- [7] NULTSCH, W., *Der Einfluss des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. I. Mitteilung: Photo-topotaxis von Phormidium autumnale*, Planta 56, 632–647 (1961).
- [8] NULTSCH, W., *Der Einfluss des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. II. Mitteilung: Photokinesis bei Phormidium autumnale*, Planta 57, 613–623 (1962).
- [9] NULTSCH, W., *Der Einfluss des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. III. Mitteilung: Photo-phobotaxis bei Phormidium uncinatum*, Planta 58, 647–663 (1962).
- [10] NULTSCH, W., *Trennung von Chromoproteiden durch Gelfiltration*, Biochim. Biophys. Acta 59, 213–215 (1962).
- [11] NULTSCH, W., *Phototaktische Aktionsspektren von Cyanophyceen*, Ber. dt. bot. Ges. 75, 443–453 (1962).
- [12] NULTSCH, W., *Photomotion of Microorganisms and its Interactions with Photosynthesis*, in Halldal, P., *Photobiology of Microorganisms* (London, New York, Sydney, Toronto, 1970).
- [13] PECCI, J., und FUJIMORI, E., *Spectral Change of Phycoerythrin from Hydrocoleum Species and its Relationship to Protein Dissociation, Effect of Mercurials on Single- and Double-peaked Forms*, Biochim. Biophys. Acta 154, 332–341 (1968).

Anschrift der Autoren:

Donat Peter Häder und Prof. Dr. Wilhelm Nultsch, Botanisches Institut der Universität
D-355 Marburg a.d. Lahn, Pilgrimstein 4.