Phyton (Austria)	Vol. 26	Fasc. 2	219–225	15. 4. 1987
------------------	---------	---------	---------	-------------

Aus dem Institut für Pflanzenphysiologie der Karl-Franzens-Universität Graz, dem Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg und dem Institut für Neurobiologie der Kernforschungsanlage Jülich

# Untersuchungen über die Mineralisierung der Gehäuse von *Trachelomonas*-Arten (Euglenophyceen) mit Hilfe des Laser-Mikrosonden-Massenanalysators LAMMA 500

Von

Georg Heinrich\*), Ludwig Kies\*\*) und Walter Schröder\*\*\*)

Mit 5 Abbildungen (1 Tafel)

Eingelangt am 8. Januar 1986

Key words: LAMMA ion spectra, iron, manganese, envelope Trachelomonas, Euglenophyceae

## Summary

Heinrich G., Kies L. & Schröder W. 1987. Mass spectrometric analysis with LAMMA 500 of mineralized tests of the flagellate *Trachelomonas (Euglenophyceae)*. – Phyton (Austria) 26 (2): 219–225, with 5 figures (1 plate). – German with English summary.

Tests of naturaly occurring *Trachelomonas volvocina* and *T. hispida* accumulate only iron whereas *T. lefevrei* from the same water sample shows all transitions from a predominating iron incrustation with traces of manganese only to a predominating manganese incrustation with traces of iron only.

 $T.\ volvocinopsis$  from a different location shows only Fe incrustation of its tests. Anionic spectra of  $T.\ volvocina$  and  $T.\ volvocinopsis$  tests are characterized by Cl-peaks whereas those of  $T.\ hispida$  give  $PO_2^-$  and  $PO_3^-$  peaks.

It is concluded that the mineralization of *Trachelomonas* tests is not strictly dependent upon the chemical composition and the pH of the water but is to a certain degree species specific.

<sup>\*)</sup> Univ.-Prof. Dr. Georg Heinrich, Institut für Pflanzenphysiologie der Karl-Franzens-Universität Graz, A-8010 Schubertstraße 51.

<sup>\*\*)</sup> Univ.-Prof. Dr. Ludwig Kies, Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg, Ohnhorststraße 18, D-2000 Hamburg 52.

<sup>\*\*\*)</sup> Dr. Walter Schröder, Institut für Neurobiologie der Kernforschungsanlage Jülich, D-5170 Jülich.

## Zusammenfassung

Heinrich G., Kies L. & Schröder W. 1987. Untersuchungen über die Mineralisierung der Gehäuse von *Trachelomonas*-Arten (Euglenophyceen) mit Hilfe des Laser-Mikrosonden-Massenanalysators LAMMA 500. – Phyton (Austria) 26 (2): 219–225, mit 5 Abbildungen (1 Tafel). – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

Gehäuse von  $Trachelomonas\ volvocina\ und\ T.\ hispida\ speichern\ ausschließlich\ Eisen, während\ T.\ lefevrei\ aus\ derselben\ Wasserprobe\ alle\ Übergänge\ der\ Mineralisierung\ von\ überwiegend\ Eisen\ und\ Spuren\ von\ Mangan\ bis\ zu\ überwiegend\ Mangan\ und\ Spuren\ von\ Eisen\ aufweist.\ T.\ volvocinopsis\ aus\ einer\ anderen\ Wasserprobe\ speichert\ nur\ Fe\ in\ seinen\ Gehäusen.\ LAMMA-Anionenspektren\ der\ Gehäuse\ von\ T.\ volvocina\ und\ T.\ volvocinopsis\ sind\ durch\ das\ Vorhandensein\ von\ Cl^-\ Peaks\ charakterisiert,\ diejenigen\ von\ T.\ hispida\ durch\ PO_2^--\ und\ PO_3^--Peaks.$ 

Es wird geschlossen, daß die Mineralisierung der Gehäuse von *Trachelomonas*-Arten nicht einfach von der chemischen Zusammensetzung und dem pH des Wassers abhängt, sondern in gewissem Maße artspezifisch ist.

## Einleitung

In eine Reihe von Arbeiten wird die Feinstruktur verschiedener *Trachelomonas*-Arten, deren Gehäusebildung und der komplizierte Aufbau der fertigen Gehäuse beschrieben (DODGE 1975, LEEDALE 1975, ROSOWSKI & al. 1975, WEST & WALNE 1980, WEST & al. 1980 a).

Nach Leedale 1975, bestätigt durch andere Autoren und mit zusätzlicher Information versehen, unterscheidet sich der Gehäuseaufbau von *T. volvocina* bzw. *T. volvocinopsis* deutlich von dem vieler anderer Trachelomonaden, etwa von dem der Gehäuse von *T. hispida, T. echinata* und *T. lefevrei*. Die Gehäuse der *Trachelomonas*-Arten sind vererzt. Mit dieser Eigenschaft beschäftigen sich in letzter Zeit u. a. West & Walne 1977, Moss & Gibbs 1979, West & al. 1980 b, Noll & Zierold 1981, Steinberg & Klee 1984. In der vorliegenden Arbeit wird unter Verwendung eines Laser-Mikrosonden-Massen-Analysators (LAMMA) geprüft, ob die Sonderstellung von *T. volvocina* und der nahe verwandten Art *T. volvocinopsis* gegenüber *T. hispida* und *T. lefevrei* auch in der Vererzung zum Ausdruck kommt.

### Material und Methodik

Trachelomonas hispida, T. lefevrei und T. volvocina stammen aus der Lehmkuhle Oldenfelde, einem Weiher in Hamburg-Rahlstedt, T. volvocinopsis aus der Meetschower Moorkuhle, Kreis Lüchow-Dannenberg (Niedersachsen) (Müller & Kies 1982). Gehäuse bzw. ihre Bruchstücke wurden auf 3 mm große Au- oder Cu-Netze für die Elektronenmikroskopie aufgenommen, 5mal jeweils 30 sec. mit dest. H<sub>2</sub>O gewaschen, um anfhaftende Verunreinigungen und lösliche Ionen zu entfernen und anschließend ohne weitere Vorbehandlung mit dem Laser-Mikrosonden-Massenanalysator (LAMMA® 500) der Firma Leybold-Heraeus, Köln, untersucht (Heinen &

al. 1978). Die Proben werden im Lichtmikroskop betrachtet. Mit Hilfe eines Hochleistungslasers werden die Gehäuse an einer, durch einen Pilot-Laser markierten Stelle, am Rand getroffen. Die durch den Laserstrahl gebildeten Ionen werden in einem Flugzeit-Massenspektrometer hoher Auflösung registriert. Es kann jeweils ein Massenspektrum der positiven oder der negativen Ionen aufgezeichnet werden.

## Ergebnisse

Die Gehäuse von *T. volvocina* aus der Lehmkuhle Oldenfelde wiesen, übereinstimmend mit den Literaturangaben (Noll & Zierold 1981, Steinberg & Klee 1984), nur Eisenspeicherung auf. Dies gilt auch für *T. volvocinopsis* aus der Meetschower Moorkuhle. Die leeren Gehäuse beider Arten lassen sich licht- und elektronenmikroskopisch nicht unterscheiden, dies gelingt nur an lebenden Zellen. *T. volvocina* besitzt 2 pyrenoidführende Chloroplasten, *T. volvocinopsis* 5 oder mehr pyrenoidlose Chloroplasten (Pringsheim 1953).

Das Kationenspektrum von *T. volvocinopsis* aus der Meetschower Moorkuhle läßt deutlich die drei Eisenisotope erkennen, Mn fehlt vollständig (Abb. 1). Das dazugehörende Anionenspektrum zeigt neben Kohlenwasserstoff-Peaks, deren Zustandekommen teilweise der Folie zugeschrieben werden muß, hohe Cl<sup>-</sup>-Peaks (Abb. 2). In der Aufsammlung aus der Lehmkuhle Oldenfelde vom 7. 3. 1982 findet sich neben *T. volvocina* auch *T. hispida* (beide Abb. 4 a, b). Die *T. hispida*-Gehäuse sind kragenlos und haben mehr oder weniger viele Stacheln. Im Kationenspektrum liegt nur Fe vor. Die Anionenspektren sind durch deutliche PO<sub>2</sub>/PO<sub>3</sub>--Peaks charakterisiert (Abb. 3).

Vergleichbar mit den "fingerprints" verschiedener Bakterien (SEYDEL & LINDNER 1981, LINDNER & SEYDEL 1883), gestatten hier die Anionenspektren, *T. volvocina* bzw. *T. volvocinopsis* sicher von *T. hispida* zu unterscheiden.

Dieselbe Wasserprobe aus der Lehmkuhle Oldenfelde enthielt auch massenhaft *T. lefevrei*, dessen Gehäuse einen deutlichen Kragen aufweist und entweder stachellos ist oder wenige Stacheln besitzt (Abb. 5 a, b). In den Gehäusen dieser Trachelomonaden kommen Fe oder Mn in wechselnden Mengen vor, wobei im Extremfall Fe oder Mn stark dominieren und das jeweils andere Element nur in Spuren vorhanden ist.

Neben Fe bzw. Mn fand sich in den LAMMA-Kationenspektren aller *Trachelomonas*-Arten meist in abnehmender Häufigkeit Al mit Si neben Na, K und Ca.

## Besprechung

Es läge nahe, daß die Mineralisierung der Gehäuse von *Trachelomonas*-Arten streng mit dem Ionenangebot aus dem Standortwasser korreliert ist.

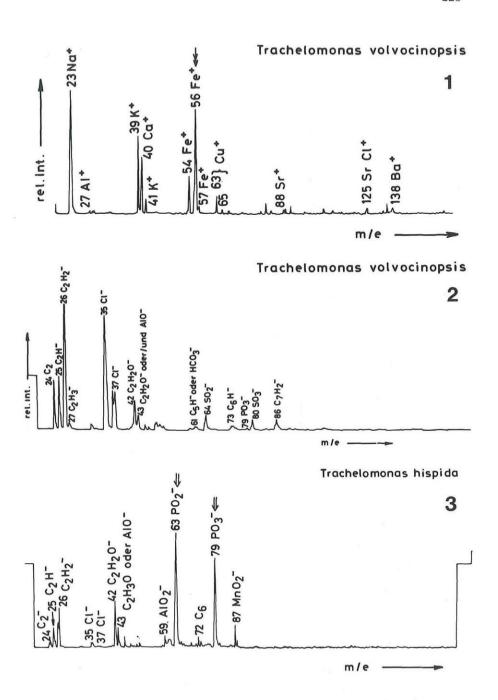
Dies ist jedoch nicht der Fall. Während T. volvocina in Übereinstimmung mit Noll & Zierold 1981 und T. hispida ausschließlich Fe-Inkrustierung aufweisen, läßt die in der gleichen Wasserprobe vorkommenen T. lefevrei in Übereinstimmung mit DUNLAP & WALNE 1982 alle Übergänge der Vererzung von viel Fe neben wenig Mn zu überwiegend Mn neben Spuren von Fe erkennen. Die Fe- und Mn-Kreisläufe von Seen und Tümpeln sind gut bekannt. Nach RUTTNER 1962 kann ein Wasserkörper dann Fe in gelöster Form, als Ferrobikarbonat, enthalten, wenn er 1. nahezu frei von O2 ist, 2. eine ausreichende Menge von CO2 enthält, 3. ein pH-Wert von 7,5 nicht überschritten wird und 4. genügend in Zersetzung begriffene Substanz bzw. H<sub>2</sub>S zur Reduktion des Ferrihydroxyds vorhanden ist. Die Verhältnisse werden allerdings durch das Vorkommen von Fe in organischer Bindung und als Kolloid (Humate) kompliziert. Mn verhält sich im Wasserkörper ähnlich wie Fe. Infolge seiner, verglichen mit Fe, leichteren Reduzierbarkeit und schwereren Oxidierbarkeit reicht es im Sauerstoffgradienten allerdings weiter nach oben als das Fe (RUTTNER 1962). Wäre ein Organismus streng in jene Zone eingeschichtet, in der Fe bereits vollständig ausfällt, Mn aber noch vorhanden ist, so müßte er aus physikalischen Gründen nur Mn-Mineralisierung aufweisen. Solche Organismen gibt es zwar, es ist aber nicht sehr wahrscheinlich, daß sich Individuen dauernd in einer ganz engen Zone der O2-Tension aufhalten, zumal größere Vertikalwanderungen der freibeweglichen Trachelomonaden eher die Regel darstellen dürften. Der Umstand, daß gleichzeitig im selben Tümpel Organismen mit unterschiedlicher Mineralisierung vorkommen, zeigt, daß die Mineralisierung nicht ausschließlich vom Mineralangebot gesteuert wird, sondern, daß es sich, im Sinne von WEST & al. 1980 b, um eine Biomineralisation handeln muß. Die Anionenspektren weisen auf die Sonderstellung von T. volvocina und T. volvocinopsis hin.

Ob die bei *T. hispida* auftretenden PO<sub>2</sub>-- und PO<sub>3</sub>--Peaks aus organischer Substanz gebildet werden oder als Hinweis gewertet werden können, daß das Fe nicht nur in oxydischer Bindung vorliegt, wie bisher vermutet, sondern teilweise auch als ebenfalls unlösliches, gelblich gefärbtes Eisenphosphat, ist ungeklärt.

Abb. 1. Im LAMMA-Kationenspektrum des Gehäuses von *Trachelomonas volvocinopsis* ist Fe neben Na, K und Ca vorhanden, Mg fehlt.

Abb. 2. Das Anionenspektrum von  $Trachelomonas\ volvocinopsis\$ weist hohe Cl-Peaks auf, PO $_2$ -bzw. PO $_3$ -fehlen.

Abb. 3. Das Anionenspektrum von *Trachelomonas hispida* ist durch PO<sub>2</sub><sup>-</sup>- und PO<sub>3</sub><sup>-</sup>- Peaks charakterisiert, dafür ist fast kein Cl<sup>-</sup> feststellbar.



## Danksagung

Der Firma Leybold-Heraeus, Köln, dort besonders Herrn Dr. H. J. Heinen, danke ich für die Benutzung des LAMMA, Herrn Dr. D. Keyser, Zoologisches Institut der Universität Hamburg, für die Benutzung des Rasterelektronenmikroskopes, ihm und Frau U. Heuer für die dabei geleistete Hilfe, der Deutschen Forschungsgemeinschaft (He 558) und dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (P 6160 B) für Reisebeihilfen.

#### Literatur

- Dodge J. D. 1975. The fine structure of *Trachelomonas (Euglenophyceae).* Arch. Protistenk. 117: 65–77.
- Dunlap J. R. & Walne P. L. 1982. Characterization of *Trachelomonas* envelopes. Scient. Progr. and Abstracts, First. Intern. Phycol. Congress, St. John's, New Foundland, a 13.
- Heinen H. J., Meier S., Vogt H. & Wechsung R. 1981. Laser desorption mass spectrometry with LAMMA. Fresenius Z. Anal. Chem. 308: 290–296.
- Leedale G. F. 1975. Envelope formation and structure in the euglenoid genus Trachelomonas.-Br. Phycol. J. 10: 17–41.
- LINDNER B. & SEYDEL, V. 1983. Mass spectrometric analysis of single bacterial cells with LAMMA<sup>500</sup>. Proc. 2<sup>nd</sup> LAMMA-Symposion, Borstel, 111–118.
- Moss M. O. & Gibbs G. 1979. A comparison of the levels of manganese and iron in the tests of *Trachelomonas* Ehrenb. in surrey rivers. Br. phycol. J. 14: 255–262.
- MULLER U. & KIES L. 1982. Algenvegetation eines alten Torfstiches im Gartower Forst (Kreis Lüchow-Dannenberg, Niedersachsen). Verh. naturwiss. Ver. Hamburg (NF) 25: 101–137.
- Noll M. & Zierold K. 1981. Rasterelektronenmikroskopische und röntgenmikroanalytische Untersuchungen an *Trachelomonas* spec. des Bergsenkungsgebietes Hallerey in Dortmund-Dorstfeld. Arch. Hydrobiol. 91: 242–253.
- Pringsheim E. G. 1953. Observations on some species of *Trachelomonas* grown in culture. New Phytol. 52: 93–113, 238–266.
- ROSOWSKI J. R., VADAS R. L. & KUGRENS P. 1975. Surface configuration of the loricas of the euglenoid *Trachelomonas* as revealed with scanning electron microscopy. Amer. J. Bot. 62: 48–57.
- RUTTNER F. 1962. Grundriß der Limnologie, 3. Aufl. W. de Gruyter, Berlin.
- SEYDEL U. & LINDNER B. 1981. Qualitative and quantitative investigations on Mycobacteria with LAMMA. Fresenius Z. Anal. Chemie 308: 253–257.
- STEINBERG C. & KLEE R. 1884. Zur Chemie von *Trachelomonas*-Loricae. Arch. Protistenk. 128: 283–294.
- West L. K. & Walne P. L. 1977. Manganese biomineralization in cell envelopes of Trachelomonas (Euglenophyceae). – J. Cell Biol. 75: 409 a.
  - & 1980. Trachelomonas hispida var. coronata (Euglenophyceae). II. Envelope substructure. – J. Phycol. 16: 498–506.
  - & Rosowski J.R. 1980 a: Trachelomonas hispida var. coronata (Euglenophyceae). I. Ultrastructure of cytoskeletal and flagellar systems. J. Phycol. 16: 489-497.
  - & B Bently J. 1980 b. Trachelomonas hispida var. coronata (Euglenophyceae). III. Envelope elemental composition and mineralization. J. Phycol. 16: 582–591.

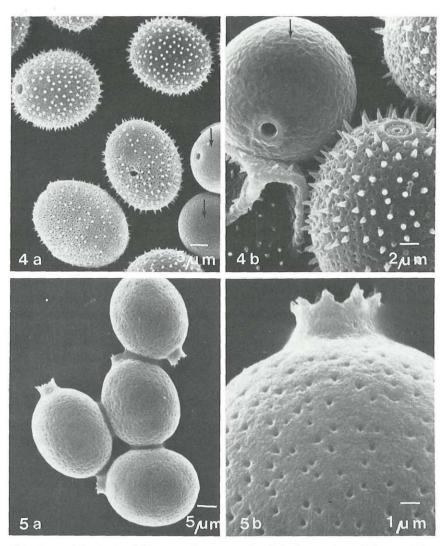


Abb. 4 a und b. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der mit kurzen oder langen Stacheln versehenen Gehäuse von *Trachelomonas hispida* und von *Trachelomonas volvocina*, beide aus der Lehmkuhle Oldenfelde.

Abb. 5 a und b. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Gehäuse von *Trachelomonas lefevrei* aus der Lehmkuhle Oldenfelde. Die meist stachellosen Gehäuse besitzen einen krönchenförmigen Kragen.

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: 26\_2

Autor(en)/Author(s): Heinrich Georg, Kies Ludwig, Schröder Walter

Artikel/Article: Untersuchungen über die Mineralisierung der Gehäuse von

<u>Trachelomonas-Arten (Euglenophyceen) mit Hilfe des Laser-</u>

Mikrosonden-Massenanalysators LAMMA 500. 219-225