Reconciling morphological and 18S rRNA phylogenies in the stichotrichines (Ciliophora, Spirotrichea), including new sequences from some rare species

BERGER Helmut[1], MOON-VAN DER STAAY Seung Yeo[2], MOON-VAN DER STAAY Georg W.[2], HACKSTEIN Johannes H. P.[2], KRAUTGARTNER Wolf-Dietrich[3] & FOISSNER Wilhelm[3]
[1]Technisches Büro für Ökologie, Radetzkystrasse 10, 5020 Salzburg, Austria; [2]Catholic University of Nijmegen, Faculty of Science, Department of Evolutionary Microbiology, Toernooiveld 1, 6525 ED Nijmegen, The Netherlands; [3]Universität Salzburg, Institut für Zoologie, Hellbrunnerstrasse 34, 5020 Salzburg, Austria.

We performed a comparative morphological and molecular study on oxytrichid and urostylid stichotrichs (= part of the former hypotrichs). Included are new small subunit (18S) ribosomal RNA (rRNA) gene sequences from five rare oxytrichs (*Gonostomum namibiense*, *Cyrtohymena citrina*, *Hemiurosoma terricola*, *Onychodromopsis flexilis*, *Orthoamphisiella breviseries*) and published sequences, based on cultures provided by W. Foissner, of two key genera, viz., *Gastrostyla* and *Engelmanniella*. These and other sequences, altogether 27 species representing 23 genera, were used to analyze how 18S rRNA based phylogenetic trees can be reconciled with the morphological and ontogenetical data. In 18S rRNA trees, the oligotrichine family Halteriidae invariably clusters within the oxytrichid clade, usually near *Oxytricha granulifera*, type of the genus. This position is hardly supported by morphological and ecological evidences and, especially, it contradicts the current ontogenetic findings; possibly, it is an artifact caused by taxa undersampling. In contrast, most morphological and DNA sequence data of the stichotrichs can be harmonized with the CEUU (Convergent Evolution of Urostylids and Uroleptids) hypothesis which suggests that the urostylid midventral pattern evolved from an oxytrichine ancestor developing a second time within the Oxytrichidae. The systematic position of one of the two key genera could be clarified with the 18S rRNA sequences: *Gastrostyla* is a stylonychine oxytrichid. Based on the molecular data and a reassessment of ontogenesis, a new genus is established for *Onychodromus quadricornutus* FOISSNER, SCHLEGEL & PRESCOTT.

The study was supported by the Austrian Science Foundation (FWF), projects P-14778 (Berger) and P-15017 (Foissner).

Ber. nat.-med. Verein Innsbruck	Suppl. 15	S. 1 - 84	Innsbruck, Nov. 2004

Universitätsverlag Wagner, Innsbruck

17

POSTER bei der Jahrestagung der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft am 10. und 11. Mai 2004

DIVERSITÄT VON BODENORGANISMEN IN NATURWÄLDERN

Sophie ZECHMEISTER-BOLTENSTERN[a], Alexander BRUCKNER[b], Wilhelm FOISSNER[c], Evelyn HACKL[d], Hubert KOPESZKI[e], Norbert MILSOWSZKY[f], Angela SESSITSCH[d] und Wolfgang WAITZBAUER[f]

[a] Bundesamt und Forschungszentrum für Wald, Institut für Forstökologie, Seckendorff Gudent Weg 8, A-1131 Wien
[b] Institut für Zoologie, Universität für Bodenkultur, Gregor Mendelstr. 33, A-1180 Wien
[c] Institut für Zoologie, Universität Salzburg, Hellbrunnerstr. 34, A-5020 Salzburg
[d] Biogenetics, Seibersdorf Research GmbH, A-2444 Seibersdorf, N.Ö.
[e] Heiligenbergstraße 26, 3001 Mauerbach
[f] Universität Wien, Althanstrasse 14, A-1090 Wien

Bodentiere und Mikroorganismen bilden eine Gemeinschaft von Lebewesen, die den Abbau toter organischer Substanz und die Freisetzung darin gebundener Pflanzennährstoffe gewährleistet. In unseren Waldböden kommen ca. eintausend Tierarten mit ein bis zwei Millionen Individuen pro Quadratmeter vor. Die Biomasse eines fruchtbaren Bodens kann über 20 Tonnen pro Hektar ausmachen.

Ziel des Projekts ist die Erfassung und der Vergleich der Biodiversität und der Abundanz verschiedener Organismengruppen in typischen Waldgesellschaften Österreichs. Damit soll der Beitrag einzelner Waldgesellschaften zur Erhaltung der Biodiversität festgestellt werden.

Bisher wurden 30.000 Messdaten erhoben, darunter Bodenchemie, Humusbeschreibungen, Vegetationsaufnahmen, Wurzelaussscheidungen, Mineralisationsraten, Bodenenzyme, mikrobielle Biomassen, Umsatz von Treibhausgasen und mikrobielle Gemeinschafts-strukturen.

Bisher wurden ca. 2.000 Arten gefunden und es zeigte sich, dass die Artenvielfalt der meisten Naturwaldstandorte immens ist. Wir haben 35 neue Arten entdeckt, darunter waren 5 Erstnachweise für Österreich. Auf einem Quadratmeter Boden konnten bis zu 35.000 Individuen der Mesofauna nachgewiesen werden. Es wurden Genbanken der Bodenbakterien einzelner Standorte angelegt und Indikatorarten für intakte Wälder ermittelt. Wir konnten Ähnlichkeiten und Besonderheiten der einzelnen Waldtypen aufzeigen

Im Urwald Rothwald führte die langfristig völlig ungestörte Entwicklung des Ökosystems zu einer Einnischung zahlreicher anspruchsvoller, seltener Arten. In den Auwäldern zeigte sich, dass episodische Störungen durch Überflutung positiv auf die Artenvielfalt wirken. Die Schwarzföhrenwälder beherbergen besondere Lebensgemeinschaften, die in keinem anderen Waldtyp zu finden sind.

Als Bedrohungen für die Biodiversität in Böden konnten hohe Stickstoffeinträge in Großstadtnähe ausgemacht werden, sowie überhöhte Wildbestände, vor allem von Schwarzwild.

SUPPLEMENT

THE SOCIETY OF PROTOZOOLOGISTS

2003 ABSTRACTS

The Journal of Eukaryotic Microbiology

Volume 51 **March–April 2004** **Number 2**

German Section Society of Protozoologists
22nd Annual Meeting
March 2003
Nijmegen, The Netherlands
in connection with the
INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE
MOLECULAR BIOLOGY AND
BIOTECHNOLOGY OF CILIATES AND
ANAEROBIC PROTOZOA
(Abstracts 75–78)

75

Spathidiid Ciliates—A Re-evaluation of Their Morphological Diversity. K. XU and W. FOISSNER, University of Salzburg, Institute for Zoology, A-5020 Salzburg, Austria.

The spathidiids are a large assemblage with families, genera and species often differing by rather inconspicuous features. Several authors consider spathidiids as indeterminable and suppose synonymy of many species. We re-evaluated their morphological diversity by investigating species from soils worldwide, using live observation, protargol impregnation, scanning electronic microscopy, and morphometry. The data suggest the following main features for distinguishing genera: the somatic ciliary pattern (*Spathidium*-, *Protospathidium*-, *Arcuospathidium*-, and *Epispathidium*-type); the structure (number of rows increased in an undescribed genus; isomorphic, heteromorphic) and location (dorsal; lateral in *Cultellothrix* and an undescribed genus) of the dorsal brush; the shape of the circumoral kinety (open in *Apertospathula*) and oral bulge (discoidal in *Semispathidium*); and the number and configuration of the contractile vacuoles (≥ 5 vacuoles each having several excretory pores in *Supraspathidium*). More recently, a striking feature, viz., oralized somatic monokinetids were discovered in two genera (*Apospathidium* and an undescribed genus), further increasing spathidiid diversity. Obviously, spathidiids are a melting-pot of rather different genera, whose relationship is, however, very difficult to analyse. Likewise, there are indeed many *Spathidium* (s.l.) species becoming, however, obvious only on very careful investigation. Much of the spathidiid diversity is still undescribed.

Supported by the Austrian Science Foundation (FWF; project P-15017).

519

Symposium Leipzig. Dezember 2004 Veröffentlicht unter http://www.uni-leipzig.de/ILM/resfest/index.htm

Sequenzanalysen der small subunit rDNA zur Aufklärung der phylogenetischen Beziehungen innerhalb der Stichotrichia (Ciliophora, Spirotrichea)

Stephanie L. Schmidt[1], Detlef Bernhard[1], Wilhelm Foissner[2], Helmut Berger[3] und Martin Schlegel[1]

[1] Universität Leipzig, Institut für Biologie II, Molekulare Evolution und Systematik der Tiere, Liebigstraße 18, 04103 Leipzig

[2] Universität Salzburg, Institut für Zoologie, Hellbrunnerstraße 34, 5020 Salzburg

[3] Technisches Büro für Ökologie, Radetzkystraße 10, 5020 Salzburg

Mit etwa 8000 beschriebenen Arten stellen die Ciliophora (Doflein 1901) eine der umfangreichsten systematischen Gruppen innerhalb der Protisten dar. Durch eine Reihe besonderer Merkmale (z.B. die komplexe Struktur des Cortex, der Kerndimorphismus, sowie die Konjugation als besondere Form der sexuellen Fortpflanzung) unterscheiden sie sich von allen anderen Einzellern.

Im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchung wurde versucht, die phylogenetischen Beziehungen innerhalb der Spirotrichea, einer der artenreichsten und vielfältigsten Klassen der Ciliophora, durch Analysen der small subunit rDNA (ssu rDNA) aufzuklären.

Die Spirotrichea umfassen nach aktuellen systematischen Klassifikationen (z.B. Lynn 2003) 7 Gruppen. Besonderer Fokus unserer Untersuchung lag auf der Gruppe Stichotrichia, die sich durch verschiedene abgeleitete Merkmale (u. a. bezüglich der Infraciliatur) von allen anderen Gruppen innerhalb der Spirotrichea abhebt.

Die Sequenzanalysen der ssu rDNA ergaben, dass die Vertreter der Urostylida keineswegs monophyletisch sind. Während ein Teil der Urostylida die Schwestergruppe zu allen übrigen Vertretern der Stichotrichia bildet, gruppiert der andere Teil innerhalb dieser Gruppe. Die bereits durch frühere Untersuchungen (z.B. Bernhard et al. 2001) angedeutete Trennung der Oxytrichidae in die beiden Unterfamilien Oxytrichinae und Stylonychinae konnte durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt werden, jedoch bilden nur die Vertreter der Stylonychinae ein Monophylum. Die Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Oxytrichinae hingegen lassen sich auch durch den erweiterten Datensatz nicht ausreichend aufklären.

Phylogenetische Analyse der Spirotrichea (Ciliophora) mittels Gensequenzen der small subunit (ssu) rDNA

SCHMIDT Stephanie L.[1], BERNHARD Detlef[1], FOISSNER Wilhelm[2], BERGER Helmut[3] & SCHLEGEL Martin[1]

[1]Universität Leipzig, Institut für Zoologie, Molekulare Evolution und Systematik der Tiere, Liebigstraße 18, 04103 Leipzig; [2]Universität Salzburg, Institut für Zoologie, Hellbrunnerstraße 34, 5020 Salzburg; [3]Technisches Büro für Ökologie, Radetzkystraße 10, 5020 Salzburg.

Die Klasse der Spirotrichea stellt eine der artenreichsten und vielfältigsten Klassen der Ciliophora dar. Das Ziel der vorliegenden Studie besteht in der weiteren Aufklärung der phylogenetischen Beziehungen innerhalb der Spirotrichea, insbesondere der Verwandtschaftsbeziehungen der Oxytrichidae und der Urostylida. Dazu wurde die ssu rDNA von 18 Arten amplifiziert und sequenziert. Die untersuchten Arten gehören 3 Ordnungen und insgesamt 6 Familien der Unterklasse Stichotrichia an. Frühere Untersuchungen zur Phylogenie der Oxytrichidae deuteten auf eine Aufspaltung in die Oxytrichinae und die Stylonychinae hin. Die Analyse des umfangreichen Datensatzes bestätigt diese Trennung, wobei aber nur die Stylonychinae eine monophyletische Gruppe bilden, die Oxytrichinae hingegen erscheinen nach diesen Untersuchungen paraphyletisch.

Die Sequenzanalyse weiterer Arten der Urostylida zeigt, dass auch diese Ordnung nicht monophyletisch ist. Dabei bildet ein Teil der Urostylida die Schwestergruppe zu allen übrigen Vertretern der Unterklasse Stichotrichia, während der andere Teil innerhalb dieser Unterklasse gruppiert.

Gefördert durch die DFG (Schl 229/12-1), Studienstiftung des deutschen Volkes, FWF (Vienna) Projekte P-14778 (Berger) und P-15017 (Foissner)

Ber. nat.-med. Verein Innsbruck	Suppl. 15	S. 1 - 84	Innsbruck, Nov. 2004

Universitätsverlag Wagner, Innsbruck

Morphology, Encystment, and Ontogenesis of *Arcuospathidium cultriforme* (Ciliophora, Haptoria)

XU Kuidong & FOISSNER Wilhelm
Universität Salzburg, Institut für Zoologie, A-5020 Salzburg, Austria.

We studied the morphology, encystment, and ontogenesis of two closely related spathidiids, viz., *Arcuospathidium cultriforme* (PENARD, 1922) and *A. scalpriforme* (KAHL, 1930), using live observation, protargol impregnation, and scanning electron microscopy. Both species are large, that is, have a length between 200 µm and 300 µm and possess a long, steep oral bulge. The data show that they are highly similar, differing only in the length of the oral bulge and the arrangement of the extrusomes. Thus, we classify them as subspecies. During encystment, the macronucleus is strongly shortened and the somatic and oral infraciliature resorbed. The resting cyst is unique in having a distinctly facetted wall not found in twenty other *Arcuospathidium* and *Spathidium* species. Ontogenesis is holotelokinetal and similar to that of other spathidiids, but shows some, likely genus-specific features. Our observations suggest a simple model how the spathidiid oral bulge and ciliary patterns are generated, viz., by faster growth of the dorsal than ventral oral area, making the oral bulge more or less distinctly oblique. An *Arcuospathidium* ciliary pattern is produced if the ciliary rows detach from the oral kinetofragments, while a *Spathidium* pattern is generated if the ciliary rows remain attached to the oral kinetofragments. (Supported by the Austrian Science Foundation, FWF project P-15017.)

Ber. nat.-med. Verein Innsbruck	Suppl. 15	S. 1 - 84	Innsbruck, Nov. 2004

Universitätsverlag Wagner, Innsbruck

Das "*Meseres*-Projekt" Konzept und erste Ergebnisse

WEISSE Thomas[1], FOISSNER Wilhelm[2], GÄCHTER E.[1], MÜLLER Helga[1,3] & STRÜDER-KYPKE M.C.[4]

[1]Institut für Limnologie der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Mondseestr. 9, 5310 Mondsee, thomas.weisse@oeaw.ac.at; [2]Institut für Zoologie der Universität Salzburg, Hellbrunnerstrasse 34, 5020 Salzburg; [3]Jacob-Burckhardt-Str. 18, D-78464 Konstanz; [4]Department of Zoology, University of Guelph, Guelph, ON, CANADA N1G 2W1.

Das Ziel dieses vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (FWF) geförderten, internationalen Forschungsprojektes ist es, das Ausmaß und die ökologische Bedeutung der genotypischen und phänotypischen Variabilität innerhalb der Süßwasser-Ciliaten am Beispiel von *Meseres corlissi* zu untersuchen. Die Art gehört zur Familie der Halteriiden und weist in vivo eine Zellgröße von ca. 70-90 x 60 µm auf; morphologisch ähnelt die Art *Halteria/Pelagohalteria. M. corlissi* bildet Dauerstadien (Zysten), die mit auffälligen, facettierten Schuppen bedeckt sind und für die Untersuchung innerartlicher Variabilität hervorragend geeignet erscheinen. Die Schuppen werden innerhalb der sich enzystierenden Zelle produziert und trotz ihrer Größe bis zu 10 µm durch den Cortex transportiert. Die Ökologie von *M. corlissi* ist noch unbekannt. Unsere ersten Laboruntersuchungen zeigen jedoch, dass die maximalen Wachstums- und Fressraten von *Meseres* sehr hoch sind und sich zwischen Populationen aus unterschiedlichen Habitaten signifikant unterscheiden können. Das Forschungsprojekt wird ökophysiologische, morphologische und molekulargenetische Untersuchungsmethoden kombinieren um das Ausmaß der phänotypischen und genotypischen Variabilität innerhalb verschiedener Isolate von *M. corlissi* zu untersuchen. Die Isolate stammen aus geographisch weit entfernten und sehr unterschiedlichen Standorten. Im Einzelnen soll die

- ökophysiologische und genetische Variabilität innerhalb eines Standortes (klonale Variabilität)

mit der

- Variabilität zwischen entfernten Standorten (lokale Adaptation) verglichen werden.

Dabei soll die (Null-)Hypothese überprüft werden, dass weit verbreitete Ciliaten sich genetisch und ökologisch nicht unterscheiden, d.h. lokale Adaptationen zu vernachlässigen sind.

Ber. nat.-med. Verein Innsbruck	Suppl. 15	S. 1 - 84	Innsbruck, Nov. 2004

Universitätsverlag Wagner, Innsbruck

Video documentation of three giant ciliates: *Bresslauides discoideus*, a Laurasian endemic; *Condylostomides* n.sp., a Gondwanan endemic; and *Blepharisma americanum*, a cosmopolite

KAGE Manfred P.[1], KAGE Christina[1] & FOISSNER Wilhelm[2]
[1]Institut für wissenschaftliche Fotografie, D-73111 Lauterstein, Germany; [2]Universität Salzburg, Institut für Zoologie, A-5020 Salzburg, Austria.

Giant ciliates are easily recognizable and thus "flagships" in a biogeographical context. Several such flagships are known and have a restricted Laurasian/Gondwanan distribution, for instance, *Neobursaridium gigas* and *Frontonia vesiculosa*, which reach 1 mm length and are restricted to South America and Africa; *Loxodes rex* reaches 1.2 mm and has been reliably reported only from tropical Africa; and an up to 800 µm long tetrahymenide ciliate was discovered recently in bromelian tanks from Central America. All these and several others are likely Gondwanan endemics. In contrast, *Bresslauides discoideus* is a Laurasian endemic, although the present population is from the Laurasian/Gondwanan transition zone, viz., from bromelian tanks of the Dominican Republic. *Bresslauides discoideus* is a massive, up to 600 µm large, predaceous colpodid ciliate, which forms resting cysts when environmental conditions become adverse. In spite of its large size, this ciliate has an r-selected life strategy because it reproduces, like typical colpodids, quickly in division cysts with up to eight offspring. *Condylostomides* sp., in contrast, is a k-selected, omnivorous ciliate which hardly grows at temperatures ≤ 20°C, divides in the ordinary way and slowly, and loses the capability to form resting cysts on prolonged laboratory cultivation. This heterotrich ciliate is a real flagship because it reaches a length of 400 µm and has a conspicuous greenish colour due to cortical pigment granules. The population shown represents a new species and was discovered in salt marsh soil from the north coast of Venezuela; later it was found in Brazil and in a mangrove swamp of the Dominican Republic. This suggests that it is a Gondwanan endemic. *Blepharisma americanum* is also a k-selected heterotrich ciliate and likely a cosmopolitan which mainly feeds on bacteria, grows over a wide range of temperatures, divides rather quickly in the ordinary way, and loses the capability to form resting cysts on prolonged laboratory cultivation. It reaches a length of 300 µm and is conspicuously pink due to cortical pigment granules.

Supported by the Austrian Science Foundation, FWF project P-15017.

Ber. nat.-med. Verein Innsbruck	Suppl. 15	S. 1 - 84	Innsbruck, Nov. 2004

Universitätsverlag Wagner, Innsbruck