

Mise en évidence de substances fluorescentes dans les
organes jaunes de *Caccosphaeroma burgundum* Dollfus,
Crustacé Isopode des eaux souterraines

Par H. DESCIMON¹⁾ et CL. MARVILLET²⁾

Avec 2 figures dans le texte

Le Crustacé *Caccosphaeroma burgundum*, observé à l'état vivant, montre des taches jaunes réparties assez régulièrement sur tout le corps, mais particulièrement développées dans le prosoma et le pléotelson (Fig. 1). J. Daum, qui a étudié le premier la biologie de ce Sphéromien cavernicole dans le laboratoire du Professeur Husson, les a décrits sous le nom d'«organes jaunes» (R. Husson et J. Daum 1953; J. Daum 1954).

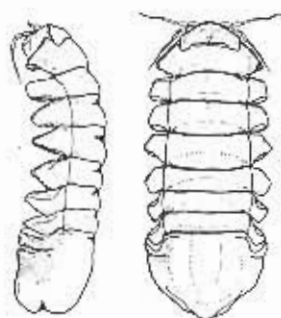


Fig. 1. Répartition des organes jaunes (en pointillé) chez *Caccosphaeroma burgundum* Dollfus examiné en position latérale (à gauche) et en face dorsale (à droite). On remarque la forte concentration de ces organes dans la partie antérieure du corps (tête et premier segment thoracique) et au niveau du pléotelson. Ces organes jaunes sont situés juste sous la carapace. (D'après J. Daum, 1954.)

Homologues des organes de Zenker, décrits dans la partie postérieure du corps d'*Asellus aquaticus* L., ils ont été retrouvés (R. Husson et J. Daum 1957) chez l'autre espèce du genre *Caccosphaeroma* (*C. virei* Dollfus des grottes du Jura) et dans deux autres Isopodes du genre *Asellus*, l'un épigé, *A. meridianus* Racovitza, l'autre hypogé, *A. cavaticus* Leydig (R. Husson et J. P. Henry 1963).

¹⁾ Laboratoire de Zoologie, Ecole Normale Supérieure - 24 rue Lhomond, Paris-V^e.

²⁾ Laboratoire de Biologie Animale et Générale-Faculté des Sciences - 21, Dijon.

D'après J. Daum, il s'agit de conglomérats de cellules adipeuses de couleur jaune, contenant de nombreuses sphérules de diamètres variés, concrétions d'acide urique ou d'urates.

Les recherches entreprises par H. Schorr dans le même laboratoire, en utilisant les méthodes microchimiques mises au point par J. Schindler en 1950, ont mis en évidence la présence d'acide urique dans les concrétions des organes jaunes et l'absence d'urates et de guanine, sans pouvoir affirmer la présence éventuelle d'autres purines (R. Husson et H. Schorr 1957; H. Schorr 1957). La localisation de l'acide urique au sein même des cellules, attribuée aux sphérules, n'y était cependant pas déterminée de façon exacte.

Quant au pigment jaune responsable de la coloration, il entrelace tout l'organe d'un fin réseau irrégulier, indépendant des sphérules. La recherche des caroténoïdes par méthodes microchimiques, faite par Schorr, était demeurée négative.

Nous avons repris méthodiquement l'étude de ces pigments jaunes de façon à tenter la détermination de leur nature exacte.

Vérifications préliminaires

L'observation, au microscope polarisant, d'organes jaunes dilacérés, confirme la structure cristalline des abondantes sphérules qui représentent très probablement l'acide urique au sein des cellules.

Des chromatogrammes ont été effectués sur couche mince de silicagel à l'aide d'extraits d'organes jaunes et de spots témoins de carotènes. Leur révélation, par vaporisation de trichlorure d'antimoine en solution dans le chloroforme anhydre, reste négative et confirme l'absence de caroténoïdes dans les organes jaunes.

Matériel et techniques

Les animaux ont été récoltés dans le cours d'eau souterrain de l'abîme de Bévy (Côte-d'Or) et mis en élevage dans les chambres froides du laboratoire.

La technique analytique employée fait appel essentiellement à la chromatographie sur papier et couche mince de cellulose et à l'électrophorèse sur couche mince de cellulose.

Les animaux (110 individus, soit 3,5 g) sont broyés dans un petit broyeur de Potter, dans l'éthanol-chloroforme (1:1) (c.a. 5 ml/g). Le broyat est centrifugé à 1 000 g, le surnageant est éliminé et l'opération est répétée dans les mêmes conditions.

Le culot est repris dans 2,5 ml/g de méthanol-pyridine-eau (5:1:4), additionné de thiodiglycol (0,5%), puis centrifugé; l'extraction est recommencée une seconde fois et les extraits sont fusionnés.

Pour les études individuelles, les animaux, ou les organes disséqués, sont simplement broyés une fois dans le méthanol-pyridine-eau et centrifugés.

Les chromatographies bidimensionnelles sont effectuées en série sur des feuilles 20×20 de papier Whatman n° 1. La combinaison de solvants utilisée est n-propanol-ammoniacque 1% (2:1) puis n-butanol-acide acétique-eau (20:3:7).

Quelques chromatographies unidimensionnelles ont été réalisées de la même manière dans le propanol-ammoniacque pour comparer divers organes dont les extraits ont été chromatographiés côte à côte.

L'extrait est évaporé à l'aide d'une microsiringue à l'origine d'un chromatogramme (volume déposé : 50 μ l pour une chromatographie bidimensionnelle, 25 μ l pour une chromatographie unidimensionnelle).

D'autre part, des chromatographies semi-préparatives ont été effectuées sur papier Whatman 3MM 20×30 cm préalablement lavé; 1,5 ml d'extrait est évaporé en ligne selon la petite dimension. Le solvant de chromatographie est le n-propanol-ammoniacque. Les bandes fluorescentes et absorbantes obtenues sont éluées dans l'eau (additionnée de 0,5% de thiodiglycol); l'éluat est ensuite lyophilisé et repris dans le méthanol-pyridine et utilisé pour la chromatographie unidimensionnelle en comparaison avec des substances témoins dans divers solvants.

L'électrophorèse est pratiquée sur couche mince de cellulose (tampon : acétate d'ammonium pH 6,3; 20 V/cm).

Les chromatogrammes et électrophorèse sont lus en lumière U.V. (365 et 254 m μ). Les substances pures sont révélées par immersion dans l'éosine mercurique (0,2% d'éosine dans l'éthanol à 95° saturé de chlorure mercurique), puis lavage dans l'alcool à 95°; les chromatogrammes sont observés en lumière U.V. Cette technique, très sensible, sera détaillée dans une publication ultérieure.

Résultats

A. Etude des substances fluorescentes

Six taches fluorescentes, dont certaines, bleues, apparaissent rapidement sous irradiation aux U.V., et deux taches absorbantes peuvent être observées sur les chromatogrammes bidimensionnels (Fig. 2).

Parmi elles, les plus abondantes, 3 (violette), 6 (jaune) et 4 (absorbante) ont été plus particulièrement étudiées.

1^o - Tache n° 3. La bande correspondant à cette tache sur les chromatogrammes semi-préparatifs a été comparée avec l'isoxanthoptérine qui présente la même couleur de fluorescence et des valeurs de RF similaires. Une comparaison entre la substance 3 et l'isoxanthoptérine de synthèse a été effectuée dans 5 solvants choisis parmi ceux qui donnent la meilleure différenciation (Tabl. 1). Les RF coïncident dans tous les cas, une légère différence étant cependant

observée dans les chlorure d'ammonium. Les migrations électrophorétiques sont également identiques (déplacement de 0,45-0,60 cm en 2 heures vers la cathode).

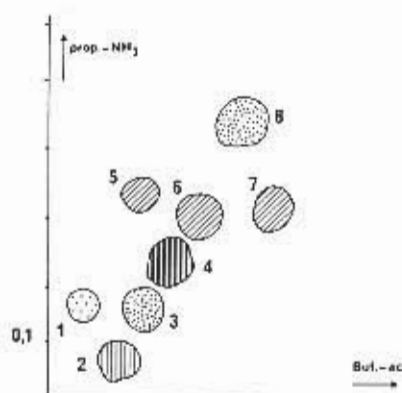


Fig. 2. Chromatogramme bidimensionnel d'extrait de *Caecosphaeroma burgundum*: substances fluorescentes et absorbantes dans l'U.V. 1: bleu. 2: absorbant. 3: violet. 4: absorbant. 5, 6, 7: jaune ou jaune-vert. 8: violet.

2^o - Tache n° 6. Cette substance a été comparée avec de la riboflavine et de la sépiaptérine témoin extraite du Papillon *Colias croceus* Fourcroy (H. Descimon 1965). Les valeurs de RF permettent d'exclure l'hypothèse que cette substance soit de la sépiaptérine; de même, alors que ce dernier composé s'altère rapidement sur les chromatogrammes en acide ptérique-6-carboxylique (la couleur de fluorescence passant progressivement du jaune au bleu), le pigment jaune de *Caecosphaeroma* reste stable dans les mêmes conditions. Ce fait permet d'écarter également la «xanthoptérine B₂» (M. Goto, M. Kowishi, K. Sugiura, M. Tsusue 1966), elle aussi très labile. En revanche, cette stabilité relative rapproche la substance 6 de la riboflavine; les valeurs des RF ne présentent aussi que des différences légères, qui peuvent n'être dues qu'à l'impureté du produit chromatographié. Une étude sur de plus grandes quantités s'avère donc nécessaire.

3^o - Tache n° 4. Celle-ci s'est révélée identique, par ses propriétés chromatographiques (Tabl. 1) et par sa révélation à l'éosine mercurique, à de l'acide urique synthétique. Ce résultat confirme les conclusions de H. Schorr.

Tableau 1

Valeur des RF dans les différents solvants utilisés. PA : n-propanol-ammoniaque 1% (2:1). BA : n-butanol-acide acétique-eau (20:3:7). IAA : isopropanol-acétate d'ammonium 2% (1:1). NH_4Cl : 3%. PEE : pyridine-éthér-eau (4:3:3). FP : formiate de pyridine pH 6,5-0,1 N. BPE : n-butanol-pyridine-eau (6:4:3)

	Tache 3 violet	Isoxantho- ptérine témoin	Tache 6 jaune vert	Sépio- ptérine Colias	Ribo- flavine	Tache 4 absor- bante	Acide urique
PA	0,16	0,17	0,30	0,32	0,32	0,22	0,22
BA	0,19	0,20	0,27	0,34	0,29	0,19	0,19
IAA	0,39	0,38	0,40	0,49	0,42		
NH_4Cl	0,30	0,33	0,31	0,30	0,35		
PEE	0,62	0,62	0,77	0,74	0,79		
FP						0,50	0,50
BPE						0,13	0,13

La substance 2, absorbante, est probablement une purine, puisqu'elle réagit fortement à l'éosine mercurique. La comparaison avec des substances de synthèse (guanine, adénine, xanthine et hypoxanthine) n'a permis de l'identifier à aucun de ces composés.

La substance 8, présente en trop faible quantité, n'a pu être soumise à des essais systématiques, mais il est possible qu'il s'agisse de biopptérine.

L'apparition, sous irradiation U.V., de taches fluorescentes bleues, laisse à penser que des tétrahydroptérines sont présentes chez cet animal (I. Ziegler 1965; M. Goto, M. Konishi, K. Sugiura, M. Tsusue 1966).

B. Répartition des substances fluorescentes selon les organes

Des chromatogrammes unidimensionnels comparatifs d'extraits de différents organes (pléotelson, hépatopancréas, carapace et tête) montrent des différences notables dans les teneurs en substances fluorescentes ou absorbantes (Tabl. 2).

Tableau 2

Répartition des substances fluorescentes et absorbantes suivant les organes

	2	3	4	6	8
Pléotelson		++	++	++	
Hépatopancréas	+++		+		+
Carapace					
Tête		++	++	++	

L'examen de ce tableau montre que la substance 6 est particulièrement abondante dans les régions où sont localisés les organes jaunes. Cette substance est donc très probablement le pigment jaune responsable de leur vive coloration.

La substance 3 est, elle aussi, particulièrement abondante dans ces organes, de même que l'acide urique.

Une comparaison entre des extraits d'animaux laissés à l'obscurité et d'autres placés à la lumière ambiante (1000 lux environ) n'a pas montré de différence notable.

Discussion

Les seuls travaux sur les pigments et substances fluorescentes des Crustacés n'ont porté que sur les Décapodes (R. G. Busnel et A. Drillon 1948; M. Viscontini, H. Schmidt et E. Hadorn 1955). Aucun travail de ce genre n'a été effectué sur les pigments fluorescents des Isopodes et, a fortiori, sur ceux des Isopodes cavernicoles. La présente étude montre l'existence d'un certain nombre de ces substances. La substance 3 est vraisemblablement de l'isoxanthoptérine, composé extrêmement répandu chez la plupart des Arthropodes. Le pigment jaune (substance 6) n'a pu être identifié avec certitude. Des séparations à l'échelle préparative seront effectuées ultérieurement pour déterminer sa structure. Des travaux récents ont d'ailleurs montré la variété des pigments jaunes des Arthropodes (M. Viscontini 1963; G. H. Schmidt et M. Viscontini 1964; H. Descimon 1965; M. Goto et al. 1966). La présence éventuelle de tétrahydroptérines est également assez vraisemblable.

Dans le domaine de la faune cavernicole, R. Bernasconi (1964) a obtenu d'intéressants résultats concernant les Coléoptères troglobies, chez lesquels il a pu mettre en évidence la présence de leucoptérine et de xanthoptérine.

Le rôle physiologique de ces pigments reste à élucider; des recherches récentes ont montré la grande importance comme coenzymes d'oxydation des substances possédant le noyau ptéridine et en particulier des pigments jaunes (M. Viscontini et G. H. Schmidt 1965). La biologie très particulière de *Caecosphaeroma burgundum* est peut-être en relation avec l'accumulation frappante d'une telle substance chez cet animal.

RÉSUMÉ

L'analyse chromatographique des organes jaunes du Crustacé Isopode des eaux souterraines *Caecosphaeroma burgundum* Dullfus a permis de mettre en évidence, par observation des chromatogrammes en lumière ultra-violette, un certain nombre de substances absorbantes et de substances fluorescentes. Parmi ces dernières, seule l'isoxanthoptérine a été identifiée.

Le pigment jaune, qui possède vraisemblablement le noyau ptéridine, n'a pu être identifié à un composé connu et fera l'objet de travaux ultérieurs.

SUMMARY

Chromatographic analysis of the yellow organs of the fresh-water Isopod Crustacean *Caecosphaeroma burgundum* Dollfus revealed, through observation of the chromatograms in ultraviolet light, the occurrence of both absorbant and fluorescent substances. Among the latter, only isoxanthopterin has been identified. The yellow pigment, which probably has a pteridine nucleus, could not be identified as a known compound and will be the object of later investigations.

BIBLIOGRAPHIE

- BERNASCONI, R. (1964) - Recherches biochimiques sur les pigments des Insectes cavernicoles. Ann. de Spéol., 19, 3: 553-572.
- BUSNEL, R. G., et DEILHON, A. (1948) - Sur les pigments flaviniques et ptéridiniques des Crustacés. Bull. Soc. Zool. Fr., 73: 141-185.
- DAUM, J. (1954) - Zur Biologie einer Isopodenart unterirdischer Gewässer: *Caecosphaeroma burgundum* Dollfus. Ann. Univ. Sarav., 3: 104-160.
- DESCIMON, H. (1965) - Identification de la sépiapterine dans les ailes des Pieridae (Lepid. Rhopalocera). Bull. Soc. Chim. Biol., 47, n° 6: 1095-1100.
- GOTO, M., KONISHI, M., SUGIURA, K., et TSUSUKI, M. (1966) - The structure of a yellow pigment from the mutant lemon of *Bombyx mori*. Bull. Chem. Soc. Jap., 39, n° 5.
- HUSSON, R., et DAUM, J. (1953) - Sur la Biologie de *Caecosphaeroma burgundum*. C.R. Ac. Sc., 236: 2345-2347.
- (1957) - Répartition des organes jaunes chez le troglobie *Caecosphaeroma burgundum* Doll. Notes biospéol., 12: 53-57.
- HUSSON, R., et HENRY, J. P. (1963) - Etude chez trois espèces du genre *Asellus* des concrétions des organes de Zenker. Bull. Soc. Zool. Fr., 88: 274-277.
- HUSSON, R., et SCHÖRR, H. (1957) - Mise en évidence d'acide urique dans les organes jaunes du Crustacé troglobie *Caecosphaeroma burgundum* Dollfus. C.R. Ac. Sc., 244: 513-515.
- SCHINDLER, J. (1950) - Reservestoff- und Exkretspeicherung bei Bodentieren unter besonderer Berücksichtigung der Harnsäureverbindungen. Österr. Zool. Zeitschr., 2: 517-567.
- SCHMIDT, G. H., et VISCONTINI, M. (1963) - Fluoreszierende Stoffe aus roten Waldameisen der Gattung *Formica*. Isolierung einer Riboflavin-Formicapterin-Verbindung. Helvet. Chim. Acta, 47, fasc. 7.
- SCHÖRR, H. (1957) - Untersuchungen über Purine und Pigmente in den „Gelben Organen“ des Höhlenisopoden *Caecosphaeroma burgundum* Doll. Ann. Univer. Sarav.-Naturwiss., V: 311-328.
- VISCONTINI, M. (1963) - Pterines et génétique chez *Drosophila melanogaster*. Il Farmaco, n° 1.
- VISCONTINI, M., et SCHMIDT, G. H. (1965) - Über die physiologische Bedeutung der Pterine. Zeitschr. für Naturforsch., 20b: 327-331.
- VISCONTINI, M., SCHMIDT, G. H., et HADORN, E. (1955) - Isolierung fluoreszierender Stoffe aus *Astacus fluviatilis*. Exper., XI: 390-392.
- ZIEGLER, I. (1965) - Pterine als Wirkstoffe und Pigmente. Ergeb. Physiol., Biol. Chem. und exper. Pharmak., 56.

TABLE I.

DEVELOPMENT OF ALGAL STRAINS IN LABORATORY DARKNESS FOLLOWED BY CULTURING IN LIGHT

Algal strains	Darkness, 268 days January 22, 1960 - October 18, 1960		Light, 150 days October 18, 1960 - June 25, 1961	
	Measurement of algal thalli in mm ²	Color of algal thalli	Development of algae	
5. Cystococcus humicola Naeg. em. Treb.	0.5	green	2	
10. Hormidium flaccidum A.Br. sens. ampl.	1	light green	2	
11. Phormidium molle (Kg.) Gom.	+	light green	1	
23. Amorphonostoc punctiforme (Kg.) Elenk.	+	green	2	
28. Chlamydomonas intermedia Chodat	2	light green	1	
29. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	2	green	3	
29a. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	5	green	-	
37. Botrydiopsis minor (Schmidle) Chodat	+	green	-	
43. Ellipsoidion regulare Pascher ?	1	brownish-green	-	
47. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	1	green	5	
49. Monodus subterranea Boye-Petersen	2	green	3	
50. Monodus subterranea Boye-Petersen	2	green	4	
53. Nostoc sp.	+	light green	2	
62. Stratonostoc commune Vaucher	2	green	4	
63. Chlorella vulgaris Beyer.	0.5	green	3	
65. Scenedesmus obliquus (Turpin) Kg.	1	green	5	
66. Chlorella vulgaris Beyer.	1	green	-	
68. Chlorella sp.	1	green	-	
81. Lyngbya lagerheimii (Möb.) Gom.	+	green	-	
81a. Chlorella sp.	1	green	1	
82. Chlorella miniata (Naeg.) Oltm.	+	green	4	
87. Raphidiella fascicularis Pascher	+	green	-	
87a. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	+	green	-	
88. Monodus subterranea Boye-Petersen	+	green	-	
91. Chlorella vulgaris Beyer.	+	brown	-	
101. Chlorella pyrenoidosa Chick	2	green	-	
106. Chlorella vulgaris Beyer.	2	green	1	
124. Chlorella vulgaris Beyer.	3	green	3	
132. Chlorella pyrenoidosa Chick	3	green	4	
135. Chlorella vulgaris Beyer.	2	green	2	
136. Plectonema sp.	-	-	-	
138. Chlorella vulgaris Beyer.	1	green	-	
138a. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	-	-	-	
138b. Chlorella vulgaris Beyer.	-	-	-	
143. Chlorella pyrenoidosa Chick	2	green	3	
144. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	-	-	-	
144a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	3	green	4	
144b. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	2	green	2	
146. Chlorella vulgaris Beyer.	4	green	2	
149. Chlamydomonas intermedia Chodat	4	green	2	
151. Chlorella vulgaris Beyer.	2	green	-	
154. Chlorococcus infusionum (Schrank) Menegh.	1	brown	-	
159. Chlorella vulgaris Beyer.	-	-	-	
159a. Chlorella vulgaris Beyer.	2	yellowish-green	4	
162. Chlorella vulgaris Beyer.	+	green	1	
166. Chlorella vulgaris Beyer.	2	green	4	
168. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	+	green	-	
177. Chlorogloea microcystoides Geitler	-	-	-	
181. Pleurochloris commutata Pascher	-	-	3	
204. Chlorella pyrenoidosa Chick	-	-	1	
207. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	+	green	3	
208. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	+	green	2	
209. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	+	light green	-	
209a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	+	light green	-	
209b. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	2	green	-	
209c. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	+	green	-	
209d. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	4	light green	-	
211. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	+	green	-	
212. Phormidium molle (Kg.) Gom.	+	green	-	
213. Ellipsoidion sp.	+	green	3	
214. Amorphonostoc punctiforme (Kg.) Elenk.	+	green	-	
215. Amorphonostoc punctiforme (Kg.) Elenk.	+	green	3	
216. Nostoc sp.	+	green	-	
216a. Chlorocloster minimus Pascher	4	green	3	
217. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	5	green	2	
217x. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	3	green	-	
217xx. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	4	green	-	
218. Nostoc sp.	+	green	3	
219. Chlorella vulgaris Beyer.	+	green	2	
221. Monodus subterranea Boye-Petersen	+	green	-	
222. Chlorococcus humicola (Naeg.) Rabenh.	+	light green	3	
223. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	-	-	-	
224. Nitzschia palea (Kütz.) W. Smith.	+	light green	4	
225. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	+	light green	-	
225x. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	+	light green	-	
226. Phormidium uncinatum (Ag.) Gom.	2	green	-	
227. Phormidium molle (Kg.) Gom.	+	green	-	
227x. Ellipsoidion oocystoides Pascher	-	-	-	
227xx. Ellipsoidion oocystoides Pascher	+	green	1	
228. Ellipsoidion oocystoides Pascher	+	green	1	
229. Pleurochloridella botrydiopsis Pascher	+	green	2	
230. Amorphonostoc paludosum Kg.	+	-	-	
230a. Stithococcus bacillaris Naeg. sens. ampl.	+	green	3	
231. Nitzschia palea (Kg.) W. Smith	+	brown	-	
232. Monodus subterranea Boye-Petersen	+	green	-	
233. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	+	green	3	
233a. Chlorella vulgaris Beyer.	+	green	1	
234. Phormidium molle (Kg.) Gom.	+	green	-	
234a. Oscillatoria nigra Vaucher	-	-	-	
240. Chlorococcus sp.	+	green	-	
254. Plectonema tenue Thur.	+	brownish-green	-	
280. Dictyococcus cinnabarinus (Kol. et F. Chodat) Vischer	3	green	-	
309. Botrydiopsis arhiza Borzi	+	green	-	
309a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	5	green	-	
309b. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	3	green	-	

*Explanation of signs used in the Tables to show the degree of development of the algal cultures:

- = perished;
- + = survived;
- 1 = insignificant development;
- 2 = slight development;
- 3 = development;
- 4 = good development;
- 5 = very good development.

TABLE III

PARALLEL GROWTH EXPERIMENTS IN DARKNESS IN THE CAVE AND LABORATORY,

365 Days (December 19, 1960 - December 20, 1961)

Algal strains	Cave		Laboratory	
	Measurement of algal thalli in mm ²	Color	Measurement of algal thalli in mm ²	Color
5. Cystococcus humicola Naeg. em. Treb.	100	green	+	light green
10. Hormidium flaccidum A. Br. sens. ampl.	1	green	+	green
11. Phormidium molle (Kg.) Gom.	100	brownish-green	+	light green
23. Amorphonostoc punctiforme (Kg.) Elenk.	100	green	100	vivid green
28. Chlamydomonas intermedia Chodat	50	dark green	3	vivid green
29. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	200	bluish-green	100	vivid green
29a. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	100	brownish-green	5	green
37. Botrydiopsis minor (Schmidle) Chodat	1	dark green	+	light green
43. Ellipsoidion regulare Pascher?	50	dark green	+	brownish-green
47. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	200	green	5	vivid green
49. Monodus subterranea Boye-Petersen	200	dark green	3	vivid green
50. Monodus subterranea Boye-Petersen	300	green	3	green
53. Nostoc sp.	100	yellowish-green	2	green
62. Stratonostoc commune (Vaucher) Elenk.	200	dark green	150	vivid green
63. Chlorella vulgaris Beyer.	200	dark green	2	vivid green
65. Scenedesmus obliquus (Turpin) Kg.	2	green	+	green
66. Chlorella vulgaris Beyer.	50	dark green	2	green
81. Lyngbya lagerheimii (Xob.) Gom.	100	green	-	-
81a. Chlorella sp.	4	green	1	light green
82. Chlorella miniata (Naeg.) Oltm.	50	green	1	green
87. Raphidiella fascicularis Pascher?	400	vivid green	-	-
87a. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	150	dark green	-	-
88. Monodus subterranea Boye-Petersen	200	light green	+	green
91. Chlorella vulgaris Beyer	200	light green	+	green
101. Chlorella pyrenoidosa Chick	100	dark green	2	green
106. Chlorella vulgaris Beyer.	200	vivid green	3	green
122. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	-	-	2	light green
122a. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	150	brownish-green	-	-
124. Chlorella vulgaris Beyer.	200	vivid green	100	vivid green
132. Chlorella pyrenoidosa Chick	100	green	+	green
135. Chlorella vulgaris Beyer.	150	vivid green	5	green
136. Plectonema sp.	100	green	5	vivid green
138. Chlorella vulgaris Beyer.	400	vivid green	100	vivid green
138a. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	50	bluish-green	-	-
138b. Chlorella vulgaris Beyer.	50	green	+	green
143. Chlorella pyrenoidosa Chick	100	dark green	1	green
144. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	-	-	+	light green
144a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	300	green	-	-
144b. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	yellowish-green	1	light green
146. Chlorella vulgaris Beyer.	100	dark green	2	vivid green
149. Chlamydomonas intermedia Chodat	2	dark green	100	brownish-green
151. Chlorella vulgaris Beyer.	250	vivid green	150	vivid green
154. Chlorococcum infusionum (Schrang) Menegh.	100	yellowish-green	-	-
159. Chlorella vulgaris Beyer.	100	dark green	-	-
159a. Chlorella vulgaris Beyer.	300	vivid green	-	-
162. Chlorella vulgaris Beyer.	250	dark green	+	green
166. Chlorella vulgaris Beyer.	300	dark green	2	green
168. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	100	green	2	green
172. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	50	green	+	green
172a. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	150	dark green	100	green
174. Ankistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs	50	dark green	+	green
176. Hammatodea normanni W. et G.S. West	100	dark green	-	-
177. Chlorogloea microcystoides Geitler	50	blackish-green	+	green
181. Pleurochloris commutata Pascher	50	dark green	1	green
201. Monodus dactylococcoides Pascher	100	dark green	+	green
204. Chlorella pyrenoidosa Chick	2	vivid green	+	green
205. Chlorella sp.	-	-	+	dirty green
206. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	100	vivid green	+	vivid green
207. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	400	dark green	100	light green
208. Stratonostoc linckia (Roth) Elenk.	400	dark green	2	light green
209. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	bluish-green	+	vivid green
209a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	dark green	2	green
209b. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	100	bluish-green	+	green
209c. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	dark green	+	yellowish-green
209d. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	dark green	+	green
209e. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	dark green	+	green
211. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	100	green	+	green
211a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	100	green	-	-
212. Phormidium molle (Kg.) Gom.	-	-	100	green
213. Ellipsoidion sp.	200	dark green	3	green
213a. Ellipsoidion sp.	-	-	+	green
214. Amorphonostoc punctiforme (Kg.) Elenk.	300	dark green	1	green
215. Amorphonostoc punctiforme (Kg.) Elenk.	200	dark green	2	green
216. Nostoc sp.	200	dark green	+	green
216a. Chlorocloster minimus Pascher	4	green	+	green
217. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	-	-	1	green
217x. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	100	yellowish-green	3	vivid green
217xx. Phormidium foveolarum (Mont.) Gom.	100	dark green	2	green
218. Nostoc sp.	100	dark green	+	green
219. Chlorella vulgaris Beyer.	2	green	+	green
221. Monodus subterranea Boye-Petersen	2	green	+	green
222. Chlorococcum humicola (Naeg.) Rabenh.	6	dark green	+	green
223. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	300	green	100	light green
224. Nitzschia palea (Kg.) W. Smith	200	brownish	1	brownish-green
225. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	300	dark green	100	light green
225x. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	300	dark green	100	green
228. Phormidium uncinatum (Ag.) Gom.	-	-	200	green
227. Phormidium molle (Kg.) Gom.	150	dark green	2	green
227x. Ellipsoidion oocystoides Pascher	100	green	-	-
227xx. Ellipsoidion oocystoides Pascher	+	dark green	+	green
229. Pleurochloridella botrydiopsis Pascher	100	dark green	+	green
230. Amorphonostoc paludosum (Kg.) Elenk.	150	dark green	1	green
230a. Stichococcus bacillaris Naeg. sens. ampl.	3	dark green	+	light green
231. Nitzschia palea (Kg.) W. Smith	150	brownish	+	brownish-green
232. Monodus subterranea Boye-Petersen	50	dark green	1	green
233. Phormidium autumnale (Ag.) Gom.	-	-	100	vivid green
233a. Chlorella vulgaris Beyer.	-	-	2	green
234a. Oscillatoria nigra Vaucher	-	-	+	light green
280. Dictyococcus cinnabarinus (Kol et F. Cnodat) Vischer	2	dark green	+	green
309. Botrydiopsis arhiza Borzi	4	dark green	1	vivid green
309a. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	bluish-green	3	green
309b. Phormidium laminosum (Ag.) Gom.	200	bluish-green	5	vivid green