

BOTANISCHE ZEITUNG.

Redaction: A. de Bary. L. Just.

Inhalt. Orig.: Hugo Zukal, Ueber das Vorkommen von Reservestoffbehältern bei Kalkflechten. — **Litt.:** Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. (Schluss.) — K. Fr. Jordan, Die Stellung der Honigbehälter und der Befruchtungswerkzeuge in den Blumen. — Dr. Jacopo Danielli, Studi sull' *Agave americana* L. — Neue Litteratur. — Anzeige.

Ueber das Vorkommen von Reservestoffbehältern bei Kalkflechten.

Ein Beitrag zur Kenntniss der histiologischen Eigenthümlichkeiten der Flechten.

Von

Hugo Zukal.

Auf S. 13 meiner »Flechtenstudien«¹⁾ beschrieb ich bei der Besprechung des Thallus der *Verrucaria rupestris* Schrad. grosse kugelförmige oder flaschenförmige Zellen, welche von einem stark lichtbrechenden, grünlich schimmernden Inhalt erfüllt sind. Diese Zellen gehören dem Hyphensystem der Flechte an und bilden entweder intercalare, blasenförmige Erweiterungen der cylindrischen Hyphe, oder sie sitzen seitlich an den letzteren, als laterale Ausstülpungen an kurzen Stielen. (Fig. 1 u. 2.)



Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 1. Sphäroidzellen aus dem Thallus von *Verrucaria rupestris*. — Fig. 2. Dsgl. von *Hymenelia caerulea*.

Im untersten Theil des Thallus (Rhizoidensystem) erreichen diese Sphäroidzellen einen durchschnittlichen Diameter von 15 μ ; gegen das Rindengewebe hin nimmt sowohl ihre Zahl, wie auch ihre Grösse ab.

Besonders schön entwickelt fand ich die

¹⁾ H. Zukal, Flechtenstudien. Besonders abgedruckt aus dem XLVIII. Bande der Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien. In Kommission bei Karl Gerold's Sohn.

blasigen Zellen bei einer rosenrothen Varietät der *V. rupestris*.

Aber auch 2 typische Exemplare derselben Flechte von verschiedenen Standorten zeigten ähnliche Sphäroidzellen, obwohl nicht in so grosser Anzahl wie die röthliche Form. Durch diesen Befund wurde ich dazu verleitet die Sphäroidzellen für eine charakteristische Struktureigenthümlichkeit der Species *V. rupestris* zu halten. Vor einigen Monaten wurden mir jedoch 2 Exemplare der typischen *V. rupestris* zugesendet, in deren Thallus keine Spur der beschriebenen Sphäroidzellen aufzufinden war. Dieses Faktum bewog mich zu einer neuerlichen Untersuchung der fraglichen Gebilde. Das Resultat derselben war insofern erfolgreich, als ich durch dasselbe in die Lage versetzt wurde, die histiologische und physiologische Bedeutung der blasigen Zellen, wenigstens in ihren Hauptumrissen, festzustellen.

Die nachfolgende Tabelle giebt eine Uebersicht über den Umfang der Untersuchung und über das Vorkommen oder Fehlen der Sphäroidzellen.

Zahl der untersuchten Exempl. von verschied. Standorten.	Species	Sphäroidzellen fehlen	Sphäroidzellen vorhanden.	
			reichlich entwickelt.	spärlich entwickelt.
10	<i>Verrucaria rupestris</i> Schrad.	4	5	1
8	<i>V. muralis</i> Ach.	2	4	2
5	<i>V. calciseda</i> D. C.	2	1	2
4	<i>V. Dufourii</i> D. C.	2	—	2
4	<i>V. fuscella</i> Schaer.	3	1	—
3	<i>V. chlorotica</i> Wallr.	1	1	1
2	<i>V. nigrescens</i> Pers.	2	—	—
3	<i>V. laevata</i> Ach.	2	—	1
5	<i>Hymenelia caerulea</i> Körb.	2	2	1
10	<i>Petractis exanthematica</i> Körb.	8	—	2
54		28	14	12

Bei einem Exemplare der *V. rupestris* waren nur einzelne Hyphenzellen schwach ganglienförmig angeschwollen, während bei einem aus Südtrol stammenden Exemplar der *Hymenelia caerulea* nur eine leise Andeutung solcher Anschwellungen eben noch zu constatiren war. Bei *P. exanthematica* sah ich nur grosse intercalare Sphäroidzellen, niemals laterale¹⁾.

Aus obiger Tabelle erhellt:

1. dass die Sphäroidzellen bei ein und derselben Species sowohl fehlen wie auch vorkommen können.

2. dass diese Gebilde nicht ausschliesslich der Gattung *Verrucaria* Mass. eigenthümlich sind.

Was die Zahl der blasigen Zellen innerhalb ein und desselben Thallus anbelangt, so ist dieselbe sehr grossen Schwankungen ausgesetzt. Es kann vorkommen, dass bei dem einen Individuum die untersten Partien des Thallus von denselben ganz erfüllt sind, während bei einem anderen Individuum derselben Species die blasigen Zellen nur mit Mühe aufgefunden werden können.

In histiologischer Beziehung wurde festgestellt, dass die Sphäroidzellen 1. nichts anderes, als angeschwollene Zellen der Hyphen sind. Von der Richtigkeit dieser Behauptung kann man sich sowohl durch die Vergleichung der Hyphen innerhalb der verschiedenen Theile ein und desselben Thallus, als auch durch die Vergleichung der Sphäroidzellen verschiedener Species überzeugen. Ja, man bekommt oft bei Zerfaserung eines einzigen Thallusstückchens alle Uebergänge zwischen einer kaum merkbaren Auftreibung der Hyphe und den vollständig entwickelten Sphäroidzellen zu Gesicht. Die Häute der blasigen Zellen und ihrer Traghyphen sind bedeutend dünner, als jene der Hyphen in den höheren Thallusregionen und zeigen keine Schichtung. Sie erweisen sich übrigens als echte Pilzcellulose und geben auch die mikrochemischen Reaktionen derselben. Auffallend ist nur ihre geringe Resistenz gegen kochende Kalilauge. In derselben quellen sie nämlich ungewöhnlich rasch auf und können durch deren längere Einwirkung scheinbar gelöst werden. Da dieses abweichende Verhalten der Sphäroidzellhäute aber wahrscheinlich mit einem Verseifungsprocess des Zellinhalts zusammenhängt und dieser später näher erörtert werden

¹⁾ In den letzten drei Fällen, nämlich, bei der *Hymenelia* und bei *Petractis* hatte sich die Kalkflechte auf einem üppig entwickelten Moosprothallium angesiedelt.

wird, so begnüge ich mich an dieser Stelle mit der blosen Constatirung der Thatsache, Wennich schliesslich noch erwähne, dass die Sphäroidzellen in der Regel durch eine Wand von ihren Traghyphen abgegrenzt sind, die aber gewöhnlich erst dann deutlich wird, nachdem der Zellinhalt durch Lösungsmittel extrahirt worden ist, so glaube ich alles gesagt zu haben, was von den Sphäroidzellen in histiologischer Beziehung erwähnt zu werden verdient.

Nachdem dieser Theil der Untersuchung abgeschlossen war, legte ich mir die Frage vor: Welche Bedeutung haben die Sphäroidzellen für das Leben der Flechte?

Behufs Beantwortung dieser Frage musste der Zellinhalt der Sphäroidzellen mikrochemisch untersucht werden. Dieser stark lichtbrechende, grünlich schimmernde Inhalt konnte sehr verschiedenen Körpern angehören, z. B. homogenem Protoplasma oder dem von Errera bei vielen Pilzen nachgewiesenen Glycogen¹⁾, er konnte von einem Glycosid herrühren oder direkt von Glycose oder Verwandten, endlich auch von einem Fette, ätherischem Oele, oder Harze.

Zuerst wurde der Zellinhalt der Sphäroide auf homogenes Protoplasma untersucht.

Zu diesem Ende wurden nach einander die bekannten wasserentziehenden Mittel, wie absoluter Alkohol, Kochsalzlösung, concentrirtes Glycerin angewendet, um das Phänomen der Contraction zur Anschauung zu bringen, aber ohne Erfolg.

Dieses negative Resultat wurde übrigens auch erwartet, denn es war kaum wahrscheinlich, dass die Hyphen den Process der Entkalkung lebend überstehen würden. Dann prüfte ich den Inhalt der Kugelzellen auf die Fähigkeit der Anhäufung von Pigmenten. Angewendet wurden Hartig's Carmin-Ammoniak, Gentianaviolett, alkoholisches Blauholzextrakt und Eosin.

Mit all diesen Tinctionsmitteln erreichte ich aber nie eine Färbung des Zellinhaltes, sondern höchstens eine oft allerdings sehr undeutliche Färbung der durch den Entkalkungsprocess etwas aufgelockerten Zellwände.

Jodkalium, Chlorzinkjod, Jod und Schwefelsäure erzeugen besonders in den kleineren,

¹⁾ L. Errera, L'épipleme des Ascomycetes et le glycogène des végétaux. Thèse. Bruxelles 1882. — Id., Sur le glycogène chez les Mucorinées. Bull. Acad. de Bruxelles Novbr. 1882. Citirt nach de Bary's vergleichender Morphologie.

jüngeren Sphäroidzellen eine schwach gelbliche Färbung.

Ebenso bringt das Millon'sche Reagens nach 24stündiger Einwirkung einen sehr schwachen, röthlichen Farbenton hervor.

Man kann sich leicht überzeugen, dass die erwähnten sehr schwachen Tinctionen nur von einer dünnen plasmatischen Wandschicht herrühren und nicht von dem stark lichtbrechenden Zellinhalt, wenn man vorsichtig die gefärbten Kugelzellen unter dem Deckglase zerquetscht. Dann tritt nämlich der stark lichtbrechende Inhalt in Form von Tropfen aus, welche sich mit dem Untersuchungswasser nicht mischen; die Tropfen selbst erscheinen ungefärbt, während die zersprengten Sphäroidzellen denselben Farbenton zeigen, wie vorher. Extrahirt man den glänzenden Inhalt der Kugelzellen mit Aether (was, wie wir später sehen werden, sehr leicht geschehen kann) und färbt dann mit Jod oder Millon'schem Reagens, oder Zucker und Schwefelsäure, oder Kupfersulfat und Kali, so kann man ebenfalls constatiren, dass die Sphäroidzellen innen häufig mit einem dünnen, plasmatischen Wandbeleg ausgekleidet sind, der besonders deutlich in den noch jugendlichen, flaschenförmigen Auftreibungen der Hyphen hervortritt. Das Vorhandensein einer plasmatischen Wandtapete kann nicht befremden, wenn man bedenkt, dass die Sphäroidzellen die Fähigkeit der vegetativen Vermehrung durchaus nicht verloren haben, sondern im Gegentheil nicht selten in lebhafter Sprossung angetroffen werden.

Aus den durchgeführten Reaktionen ergab sich der Schluss, dass wohl zuweilen ein dünnes protoplasmatisches Häutchen in den Sphäroidzellen vorhanden ist, dass aber der stark lichtbrechende Zellinhalt selbst nicht aus Protoplasma besteht. Aber auch das Glycogen Errera's (Epiplasma de Bary's) wurde durch dieselben Reaktionen ausgeschlossen, denn sonst hätten die verdünnten Jodlösungen den glänzenden Zellinhalt roth oder violettbraun färben müssen.

Gegen die Annahme, dass der stark lichtbrechende Inhalt der Sphäroidzellen aus Glycose oder einer anderen Zuckerart bestehen könnte, sprach nicht nur das negative Resultat der sofort durchgeführten Fehling'schen und Trommer'schen Probe, sondern auch eine von Herrn Dr. Molisch in Wien entdeckte, äusserst empfindliche Reaction,

die aber hier nicht näher bezeichnet werden kann, weil ihr Entdecker die bezügliche Abhandlung noch nicht publicirt hat.

Zu den Glycosiden konnte der glänzende Inhalt der Kugelzellen auch nicht gehören, denn 1. bildet dieser Inhalt, wenn er mechanisch unter dem Deckglase aus den Zellen gepresst wird, in dem Untersuchungswasser Tropfen, die sich mit dem Wasser nicht mischen und 2. kann er weder durch Schwefelsäure, noch durch Salzsäure in eine Zuckerart und Verwandtes übergeführt werden.

Es blieb somit nur noch die Annahme übrig, dass der starklichtbrechende Zellinhalt aus einem fetten oder ätherischen Oel, oder aus einem Harz bestehe.

Die erstere Annahme, nämlich die Vermuthung, dass er aus Oel bestehe, war nach dem ganzen Aussehen des Körpers a priori das Wahrscheinlichere.

Deshalb wurde der glänzende Inhalt der Sphäroidzellen zuerst auf seine Löslichkeit geprüft.

Zu diesem Ende wurden ganze Thallusstückchen (nach durchgeführter Entkalkung) in absoluten Alkohol, Schwefelkohlenstoff, Aether und Terpentinöl gelegt und dann nach 24 Stunden unter dem Mikroskop untersucht. Dabei zeigte es sich, dass der stark lichtbrechende Zellinhalt durch Aether,¹⁾ Schwefelkohlenstoff und Terpentin vollständig gelöst und extrahirt wird, durch den kalten absoluten Alkohol dagegen keine wahrnehmbare Veränderung erleidet. Ich überzeugte mich übrigens von diesen Löslichkeitsverhältnissen noch auf eine andere Weise, nämlich so, dass ich zarte Schnitte oder Zupfpräparate unter dem Deckglase direkt mit absolutem Alkohol, Aether, Schwefelkohlenstoff und Terpentinöl behandelte.

Diese Methode ergab, wie übrigens vorauszusehen war, genau dasselbe Resultat, wie die frühere.

Nach Durchführung dieser Proben auf Löslichkeit versuchte ich die Färbung der glänzenden Inhaltsmassen durch wässrig al-

¹⁾ Wenn ich in den »Flechtenstudien« gesagt habe, dass der Inhalt der blasigen Zellen selbst nach wochenlangem Liegen in Glycerin, absolutem Alkohol und Aether unverändert bleibe, so beruht dies, wenigstens bezüglich des Aethers, auf einem offenbaren Irrthum, der dadurch entstanden ist, dass ich die blasigen Hyphen nach ihrer Behandlung mit Aether mit Jodtinktur gefärbt habe, wobei ich durch das protoplasmatische Wandhäutchen getäuscht worden bin.

koholische Alkaunatinktur und sehr verdünnte Osmiumsäure. (Siehe Behrens Hilfsbuch S. 374.) Die Färbungen gelangen sofort und waren sehr deutlich. Behandelte man die Sphäroidzellen nach ihrer Färbung mit absolutem Alkohol, so wurde der Farbenton der glänzenden Inhaltmassen zwar nach und nach schwächer und undeutlicher, die glänzenden Inhaltmassen selbst wurden jedoch durch den absoluten Alkohol nicht gelöst.

Bezüglich der Färbung kann ich es nicht unerwähnt lassen, dass nicht nur die starklichtbrechenden Inhaltmassen der Sphäroidzellen roth beziehungsweise schwarz gefärbt wurden, sondern dass auch zahlreiche Tröpfchen in den gewöhnlichen Hyphen dieselbe Färbung zeigten.

Nach den angeführten Reaktionen auf Löslichkeit und Tinction war ich zu der Ueberzeugung gelangt, dass der Inhalt der Sphäroidzellen aus fettem Oel bestehe. Da aber die geschilderten Reaktionen für einen sicheren Schluss noch unzureichend waren, so begab ich mich mit meinem Material in das physiologische Laboratorium des Herrn Professor Wiesner um hier den fraglichen Körper nach allen Regeln der Schule noch einmal zu untersuchen. Hier hatte Herr Dr. Molisch die ausserordentliche Freundlichkeit die Untersuchung selbst durchzuführen.

Zuerst wurde die Acrolein-Probe gemacht.¹⁾

Zu diesem Ende wurden kleine (Sphäroidzellen enthaltende) Thallusstückchen der *Verrucaria muralis* in eine (vorher mit Aether sorgfältig ausgewaschene) Eprovette gebracht, mit einem Glasstab zerkleinert, dann mit Aether tüchtig geschüttelt und endlich filtrirt. Der filtrirte Aether wurde sodann eingedampft und das Residuum schliesslich trocken destillirt. Dabei ergab sich der charakteristische Geruch des Acrolein mit grosser Deutlichkeit.

Sodann versuchte Herr Dr. Molisch die Goldchloridprobe.²⁾ Diese gelang ebenfalls, wenn auch erst nach einer etwa halbstündigen Einwirkung des Färbungsmittels. Dabei zeigte sich wieder die schon oben erwähnte Erscheinung, dass nämlich nicht nur die

Sphäroidzellen, sondern auch ein Theil der Hyphen violett gefärbt wurde.

Nach Durchführung dieser Tinction machte Herr Dr. Molisch die Probe auf Verseifung.

Zu diesem Ende wurden kleine zerzupfte Thallustheile einer Sphäroidzellen enthaltenden *Verrucaria* auf dem Objektträger mit heisser Kalilauge behandelt. Bei dieser Behandlung nahm der Inhalt, die Kugelzellen, im richtigen Moment beobachtet, ein krümeliges Aussehen an und verschwand dann. Die übrigen Hyphen wurden jedoch durch die heisse Kalilauge kaum angegriffen.

Im weiteren Verlaufe der Untersuchung und angeregt durch die Besichtigung eines Thallusstückchens, in welchem die Sphäroidzellen in einer exorbitanten Weise entwickelt waren, kam Herr Dr. Molisch zu der hypothetischen Annahme, dass die Sphäroidzellen zwischen Papier zerquetscht, einen Fettfleck hervorbringen müssten. Der Versuch wurde sofort gemacht und zwar dergestalt, dass ein Sphäroidzellen enthaltendes Gewebestückchen zwischen 2 Objektträgern und 2 Papierstreifen erwärmt und sodann mit grosser Kraft gepresst wurde. Es entstand ein deutlicher Fettfleck, der auch nicht verschwand, wenn man das Papier bis zur Bräunung erwärmte.

Dieser Versuch wurde mehrmals wiederholt und stets mit demselben Erfolg.

Zum Schluss soll noch eine Probe angeführt werden, welche trotz ihrer scheinbaren Rohheit doch ungemein charakteristisch ist.

Bringt man nämlich kleine Sphäroidzellen enthaltende Thallustheile einer *Verrucaria* auf den Objektträger und zerquetscht dieselben energisch mit den Scalpell, so dass die glänzenden Inhaltmassen aus den Kugelzellen heraustreten, und setzt dann reichlich Wasser zu, so sieht man, dass sich die glänzenden Tröpfchen häufig zu grösseren Tropfen vereinigen und dann auf dem Untersuchungswasser wie »Augen« herumschwimmen. Erwärmt man diese Flüssigkeit mit den auf ihr schwimmenden Tropfen in einem Uhrgläschen bis zum Verdampfen, so fliessen zwar die Tropfen auseinander, aber sie verschwinden nicht.

Aus diesen letzteren Versuchen musste geschlossen werden, dass der stark lichtbrechende Inhalt der Sphäroidzellen (welcher überdies auch im absoluten Alkohol unlöslich ist) nicht flüchtig sei und darum auch nicht zu den ätherischen Oelen gehören könne.

¹⁾ I. Wiesner, Ueber die krystallinische Beschaffenheit der geformten Wachsüberzüge pflanzlicher Oberhäute. Bot. Zeitung 1876. Nr. 15. S. 227.

²⁾ O. Löw u. Th. Bokorny, Die Kraftquelle im lebenden Protoplasma. München 1882 S. 46.

Nach den angeführten Löslichkeitsverhältnissen, nach der Acroleinprobe, nach den gelungenen Färbungen mit Alkannatinktur, Osmiumsäure und Goldchlorid; — nach der Hervorbringung eines Fettflecks durch Pressung und der Beobachtung des Schwimmens der ausgetretenen Tröpfchen auf dem Wasser, nach all diesen Proben konnte der fragliche Körper nur Eines sein, — nämlich ein fettes Oel.

Nach Feststellung dieser Thatsache musste vom teleologischen Standpunkte aus weiter geschlossen werden, dass die Sphäroidzellen selber als Reservestoffbehälter anzusprechen sind.

Allerdings beruht dieser Schluss blos auf Analogie mit ähnlichen Fettanhäufungen in den Sporen und Sclerotien etc. der Pilze.¹⁾ Denn ich vermag nichts über die Ursachen der merkwürdigen histologischen Localisation zu sagen, ebenso wenig darüber, in welcher Form und wohin die aufgehäuften Reservestoffe wandern. Doch kann man auf gewisse Thatsachen hinweisen, die meiner Ansicht nach für die weitere Casuistik der ganzen Frage nicht unwichtig sind.

Zu diesen Thatsachen gehört z. B. der Umstand, dass die *Verrucarien*, bei denen die Sphäroidzellen ihre höchste Entwicklung erreichen, Flechten sind, welche im allgemeinen ungemein reich fruktificiren; 2. dass man nicht selten Exemplare mit wohl entwickelten Sphäroidzellen findet, welche so gut wie inhaltsleer sind; 3. dass nicht bei allen Individuen derselben Species die beschriebenen Reservestoffbehälter gebildet werden, sondern nur bei alten, kräftig entwickelten Exemplaren; 4. dass auch in den Zellen der rhizoidalen Hyphen, an denen die Sphäroidzellen sitzen, oder im Falle des Fehlens der letzteren, in den Zellen der unteren Thallushyphen überhaupt grössere und kleinere Fetttropfen massenhaft vorkommen,²⁾ dass somit die Aufstapelung von Fett in den Sphäroidzellen nur als eine Potenzirung eines ganz normalen Zustandes gedeutet werden kann. Der normale Zustand scheint

mir aber dann vorhanden zu sein, wenn das Fett in der Form kleiner Tröpfchen in einer ganz unauffälligen Weise dem Zellinhalt der Hyphen beigemischt erscheint. Abweichungen von diesem normalen Zustand, namentlich Lokalisationen der Fettanhäufung, scheinen indessen, (ganz abgesehen von den Sphäroidzellen) bei den Flechten nicht eben sehr selten vorzukommen, namentlich bei solchen Kalkflechten, welche *Chroolepus* als Nähralge führen, wie z. B. *Hymenelia hiascens* Mass. und *Ionospis Prevostii* Fr. etc. Hier werden die Zellen der Nähralge von dünnwandigen, ungewöhnlich angeschwollenen, kurzgliedrigen Hyphen bilderrahmenartig umwachsen, wodurch eigenthümliche Ketten und Stränge entstehen. Die Hyphenzellen dieser Stränge sind von kurz cylindrischer oder fässchenartiger Form und häufig von einem homogenen stark lichtbrechenden Inhalt erfüllt, der sich bei der mikrochemischen Untersuchung gewöhnlich ebenfalls als Fett erweist. Ich hatte auch ursprünglich die Absicht diese Stränge gleichzeitig mit den Sphäroidzellen abzuhandeln.

Da ich aber in jüngster Zeit in einigen dieser Stränge mit Hilfe der oben erwähnten, (von Herrn Dr. Molisch entdeckten) höchst empfindlichen Reaktion noch andere Stoffe als Fett gefunden habe, so muss ich die Besprechung dieser Localisation, behufs näherer Untersuchung verschieben. Vielleicht gelingt es hier, etwas über die Form zu ermitteln, in welcher das Fett von den Plätzen seiner Aufspeicherung nach den Orten des Verbrauches geschafft wird.

Aus dem Gesagten geht Eines mit Sicherheit hervor, die Thatsache nämlich: dass bei den Flechten die Kohlehydrate auch in den vegetativen Gewebetheilen nicht selten umgewandelt und in der Form von Fett aufgestapelt werden. Ich will aber damit nicht behaupten, dass dies immer geschieht.

In anderen Fällen scheinen stark gequollene, gelatinöse Zellmembranen die Stelle des Fettes vertreten zu können.

Auch ist die Rolle, welche das Lichenin in dem Lebensprocess der Flechte spielt, noch keineswegs sichergestellt.

Hoffentlich werden künftige Untersuchungen in einer nicht allzu fernen Zeit auch dieses etwas abseits liegende Gebiet der Pflanzenphysiologie näher beleuchten.

Wien, am 10. April 1886.

¹⁾ de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig 1884. p. 7.

v. Nägeli, Ueber die Fettbildung bei den niederen Pilzen. Sitzungsber. d. Bayr. Akad. München 1879.

²⁾ Diese Thatsache wurde gleichzeitig mit den Untersuchungen über den Inhalt der Sphäroidzellen festgestellt.