

Zeitschrift: Mycologia Helvetica

Band: 9 (1997)

Heft: 1

Artikel: Polarisationsoptische Untersuchungen an Kristallen von *Strobilurus esculentus* = Polarization-optical research on the crystals of *Strobilurus esculentus*

Autor: Kostyra, H.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1036353>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 09.11.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Polarisationsoptische Untersuchungen an Kristallen von *Strobilurus esculentus*

Polarization-optical research on the crystals of *Strobilurus esculentus*.

H. Kostyra

Institut für Botanik (Lehrstuhl für Botanik II)
der Universität Regensburg, D-93040 Regensburg

Summary – Anisotropic structures within Agaricales are analysed through polarization-optical methods by the example of *Strobilurus esculentus*. The crystal-optical specifications presented tetragonal calcium oxalate as cystide-crystallite. The meta-solid characteristic of this modification could be proved. Anisotropic characteristics are found within many cellwalls in the hymenium and trama of the lamella-plektenchym so that a statement about textural elements within the hyphen wall becomes possible. The development of idiomorphological crystal-forms can be directly reduced to the influence of the excretion-shell. The taxonomical importance of the cystide-crystals and their carrier-structures was analysed on the basis of a comparison between the genera of *Inocybe* and *Strobilurus*. Compared to modern electronic methods the polarization-microscopic analysis turns out to be a very useful alternative.

Zusammenfassung – Anisotrope Strukturen im Bereich der Blätterpilze werden am Beispiel von *Strobilurus esculentus* mit polarisationsoptischen Methoden untersucht. Die kristalloptischen Daten ergaben tetragonales Calciumoxalat als Cystidenkristallit. Das metastabile Verhalten dieser Modifikation konnte nachgewiesen werden. Anisotrop verhalten sich auch viele Zellwände im Hymenium und Trama des Lamellenplektenchyms, so dass eine Aussage über Texturelemente in der Hyphenwand möglich wird. Die Ausbildung idiomorpher Kristallformen ist unmittelbar auf den Einfluss der Exkretionshülle zurückzuführen. Die taxonomische Bedeutung der Cystidenkristalle und ihrer Trägerstrukturen wurde anhand eines Vergleiches der Gattungen *Inocybe* und *Strobilurus* untersucht. Als Methode erweist sich die polarisationsmikroskopische Analytik, verglichen mit modernen elektronischen Verfahren, als eine sehr brauchbare Alternative.

Key Words: Agaricales, *Strobilurus esculentus*, calcium oxalate, weddellite, crystallographic methods of analysis.

1. Einleitung

Biogene Mineralvorkommen wie Karbonate, Sulfate oder Phosphate sind auch in der Mineralogie Gegenstand intensiver Forschung. Oxalate hingegen, die keine nutzbaren Lagerstätten bilden, haben vergleichsweise wenig Beachtung gefunden. Sie wurden erst interessant, als ihr Vorkommen in Sedimenten nachgewiesen werden konnte und ihre beiden Modifikationen als Whewellit und Weddellit Eingang in die mineralogische Literatur fanden. Ihre Röntgenstrukturen wurden bestimmt (HONEGGER, 1952). Die erstaunliche Vielfalt der Kristallformen dieser sedimentär gebildeten Oxalate hat GOLDSCHMIDT (1923) übersichtlich in einem Bildatlas dargestellt.

Mit einer auffällig reduzierten Flächenkombination finden sich die beiden Oxalatmodifikationen im lebenden Organismus wieder. Als kristalline Ausscheidungsprodukte sind sie wichtige Indikatoren von Stoffwechselfvorgängen, für die sich Biologen und und Mediziner gleichermaßen interessieren. Zahlreiche Arbeiten befassen sich mit dem Vorkommen von kristallinen Oxalaten im Harnsediment von Tier und Mensch sowie auch in den Geweben höherer Pflanzen. FREY hat 1929 und später 1981 (unter dem Namen FREY-WYSSLING) in grundlegenden Arbeiten die kristallinen Residuen der Gefäßpflanzen untersucht und damit eine über 300 Jahre dauernde intensive Forschung (PHILIPSBORN, 1954) zu einem vorläufigen Abschluss gebracht.

Erst in den letzten 30 bis 40 Jahren wird das Vorkommen von Kristallen in Pilzgeflechten beschrieben. Untersucht wurden Zygomyceten (URBANUS et al., 1978), Ascomyceten und besonders die Aphylllophorales-Gruppe, deren Vertreter meist reichhaltiges Kristallmaterial liefern. Ganz anders und um vieles schwieriger gestalten sich Untersuchungen, wenn Cystiden als Träger von Kristallausscheidungen auftreten. Bei den Agaricales ist das die Regel. In diesem Bereich sind nur wenige Arbeiten erschienen, so z.B. über Kristallisate in der Gattung *Inocybe* (WATERKEYN et al., 1992; KOSTYRA, 1993). Deshalb erschien es angemessen, die bisher gewonnenen Erfahrungen über Cystidenkristallisation zu erweitern. Dazu wurden die Kristallabscheidungen verschiedener *Strobilurus*-Arten auf Oxalat und andere mögliche Verbindungen untersucht. Neben der biologischen Untersuchung kamen vor allem kristalloptische Methoden zur Anwendung. Zusätzliche mikrochemische und elektronenoptische Verfahren dienten der Absicherung der Ergebnisse.

2. Material und Methoden

2.1 Material

Von der Gattung *Strobilurus* wurden drei Arten untersucht: *S. esculentus*, *S. stephanocystis* und *S. tenacellus*. Nur *S. esculentus* produziert genügend Kristalle für eine methodisch vielseitige Analyse. Deshalb beziehen sich die folgenden Untersuchungen fast ausschliesslich auf diese *Strobilurus*-Art.

Für eine Kristallbestimmung ist die Verwendung von Frischmaterial nicht unbedingt erforderlich. Exsikkate genügen weitgehend. Untersucht wurde Herbarmaterial aus dem Botanischen Institut der Universität Regensburg. Um Entwicklungsstadien in der Kristallbildung zu erfassen, wurde jedoch Frischmaterial verarbeitet. Zur Herstellung mikroskopischer Präparate wurden trockene Pilzlamellen in Kunstharz, Frischmaterial dagegen in Glycerin eingeschlossen. Quetschpräparate mit verdünnter Kalilauge haben sich nicht bewährt; die Lauge löst die Kristalle und bildet beim Eintrocknen störende Kristallmuster.

Polarisationseffekte im Plektenchym der Pilze können nur bei einer Präparatdicke von weniger als 20 μm beobachtet werden. Dazu wurden Mikrotomschnitte von Paraffinmaterial hergestellt.

2.2 Methoden

2.2.1 Optische Mikroskopie

Die Untersuchung der Cystidenkristalle wurde in der Hauptsache mit einem einfachen Polarisationsmikroskop der Firma Zeiss durchgeführt. Vergrößerung etwa 400–800-fach. Folgende in der Mineralogie übliche Polarisationsausrüstung kam zur Anwendung:

Polarisator:

Das Filter im Fuss des Mikroskops liefert einen Lichtvektor in der Medianebene (Richtung vom Mikroskop zum Beobachter = NS-Richtung). Dieses linear polarisierte Licht soll im folgenden mit 1PL bezeichnet werden. Es erzeugt ein Hellfeld.

Analysator:

Das zweite Polarisationsfilter, in Kreuzstellung in das Tubusrohr eingeschoben, löscht den Polarisationsvektor (=2PL-Stellung). Es entsteht ein Dunkelfeld durch kreuzpolarisiertes Licht (=2PL-Dunkelfeld). Zwischenstellungen können notwendig werden, z.B. 1,5PL. Dies bedeutet eine Filterkreuzung von 45°.

Drehtisch:

Er erlaubt die zentrierte Drehung des Objekts. Gemessen wird im Uhrzeigersinn. Besondere Winkelstellungen – orthogonal oder diagonal – sind aus Abb. 1a ersichtlich. Die Richtung 135° heisst Regelstellung.

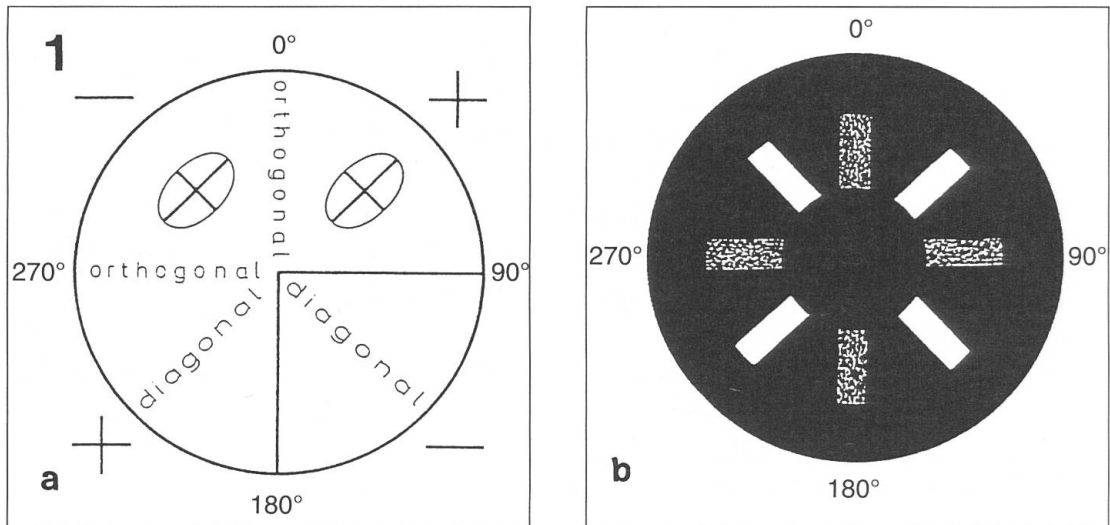


Abb. 1: a – Orientierung des Gesichtsfeldes im Polarisationsmikroskop. Die Ellipsen im oberen Teil sind Schnittellipsen der Indikatrix. (Aus CZAJA, 1974). b – Nachweis der Doppelbrechung eines anisotropen Objektes im 2PL-Dunkelfeld. Orthogonale Stellung: Auslöschung, diagonale Stellung: maximale Helligkeit. (Aus CZAJA, 1974).

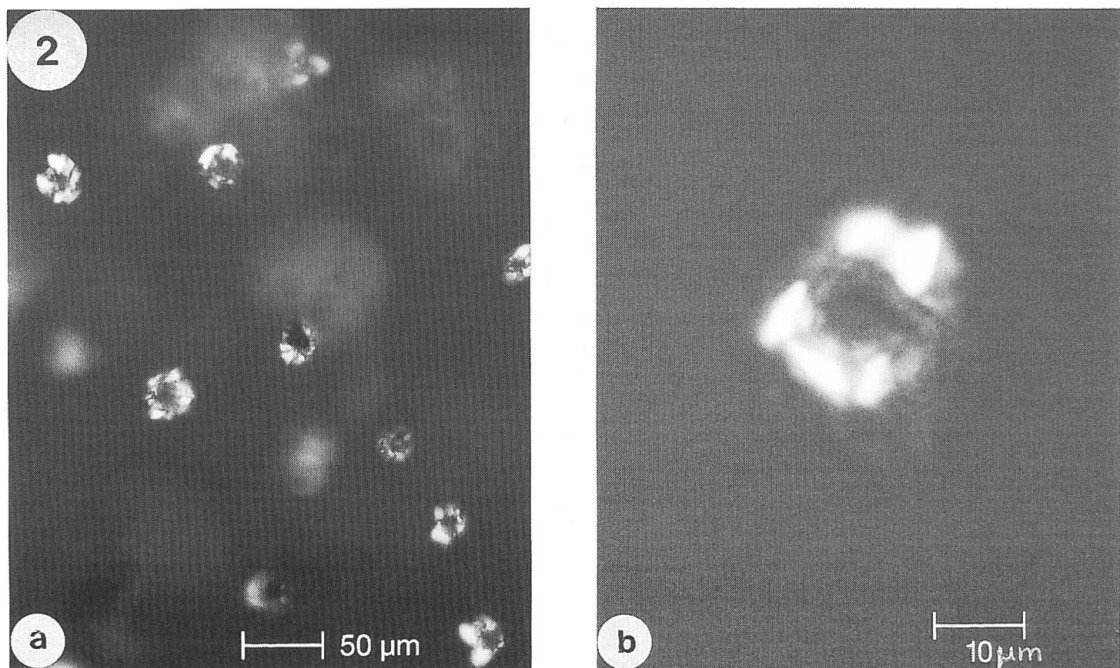


Abb. 2: Cystidenkristalle von *S. esculentus* bei steigender Vergrößerung im 2PL-Dunkelfeld. Vergrößerung 100- und 1500-fach.

Kompensator:

Der Kompensator RotI, ein Gips- oder Quarzplättchen, verändert den Gangunterschied (Γ) der beiden Lichtvektoren und damit die Interferenzfarbe in additiver oder subtraktiver Richtung (s. LEVY-Tafeln).

Drehkompensator:

Dieser wird anstelle des Gipsplättchens verwendet. Er ermöglicht die Messung der Doppelbrechung (Δ). Das ist die Differenz der beiden extremen Brechungswerte ($n_\gamma - n_\alpha = \Delta$). Zur Anwendung kommt ein Drehkompensator von Ehringhaus.

Anmerkung: Zur Einführung in die Polarisationsmikroskopie siehe CZAJA (1974), MÜLLER & RAITH (1981).

Obige Ausrüstung reicht aus für die visuelle Bestimmung kristalliner Exkrete bei *Strobilurus* oder anderen Pilzen. Für den Biologen erschliesst der Einsatz der Polarisationsoptik neue Arbeitsgebiete. In vielen Fällen genügen nämlich die optischen Phänomene für das Erkennen bzw. Unterscheiden von Kristallen. Ausserdem eröffnet das 2PL-Dunkelfeld neue Wege zur Beobachtung und Deutung strukturbedingter Anisotropien in Zellwänden und Zellinhaltsstoffen (CZAJA, 1974; FREUND, 1957). Für Fotoaufnahmen stand ein Olympus-Mikroskop BH2/Pol zur Verfügung, das computergesteuerte Langzeitbelichtungen ermöglichte. In einigen Fällen mussten vergrösserte Kopien der Originalaufnahmen angefertigt werden.

2.2.2 Rasterelektronenmikroskopie

Präparation: Paraffinschnitte wurden auf den Objektträgerblock geklebt und mit Xylol entparaffiniert. Sputtern unter Argon mit Gold.

Aufnahmen: Staatl. Forschungsinstitut f. A. M., Regensburg.

Gerät: JSM – 840/LGS (EDAX) der Firma Kontron.

2.2.3 Chemische Charakterisierung der Kristalle

Das Lösungsverhalten der Kristalle wurde mikrochemisch mit Salzsäure, Schwefelsäure und Essigsäure getestet. Alle Säuren etwa 1n.

Der Nachweis der Kationen erfolgte in situ mit Hilfe der wellenlängen- und energiedispersiven Röntgenanalyse (Firma Siemens München, Gerät: Mikrosonde von ARL).

Das Oxalat-Anion wurde mikrochemisch aufgrund seines Lösungsverhaltens in Mineralsäuren und seiner oxidativen Wirkung in essigsaurer Kaliumpermanganatlösung nachgewiesen.

3. Resultate

3.1 Beobachtungen im 2PL-Dunkelfeld

Bei Hellfeldebetrachtung sind Kristalle im Strahlengang eines Normalmikroskopes kaum auszumachen, da sich ihre Lichtbrechung von der des Einbettungsmittels nur wenig unterscheidet. Wird jedoch der Analysator in Kreuzstellung eingeschoben, so entsteht ein tief dunkles Gesichtsfeld (das 2PL-Dunkelfeld), in dem die Kristalle in Diagonalstellung maximal hell leuchten (vgl. Abb. 1b). Prüft man mit 1,5PL-Einstellung, so erscheinen unter den Leuchtflecken die Pleurocystiden als Träger der Kristalle. Im 2PL-Dunkelfeld erkennt man bei entsprechender Vergrößerung Kristallite, die in charakteristischer Weise ein dunkles Mittelfeld einschliessen (Abb. 2a). Diese für *S. esculentus* kennzeichnende Anordnung soll im folgenden als «Kristallkreis» bezeichnet werden. Erst bei maximaler Vergrößerung (>400-fach) werden auch Umrisse von Kristallen erkennbar. Sichtbar werden sie als flächenhafte Projektionen der räumlichen Körper, die sich in die Schärfenzone des Mikroskops abbilden (Optische Querschnitte, Abb. 2b). In solchen Kristallkreisen findet man eine Fülle von Formen, die sich erfahrungsgemäss auf einige Grundtypen

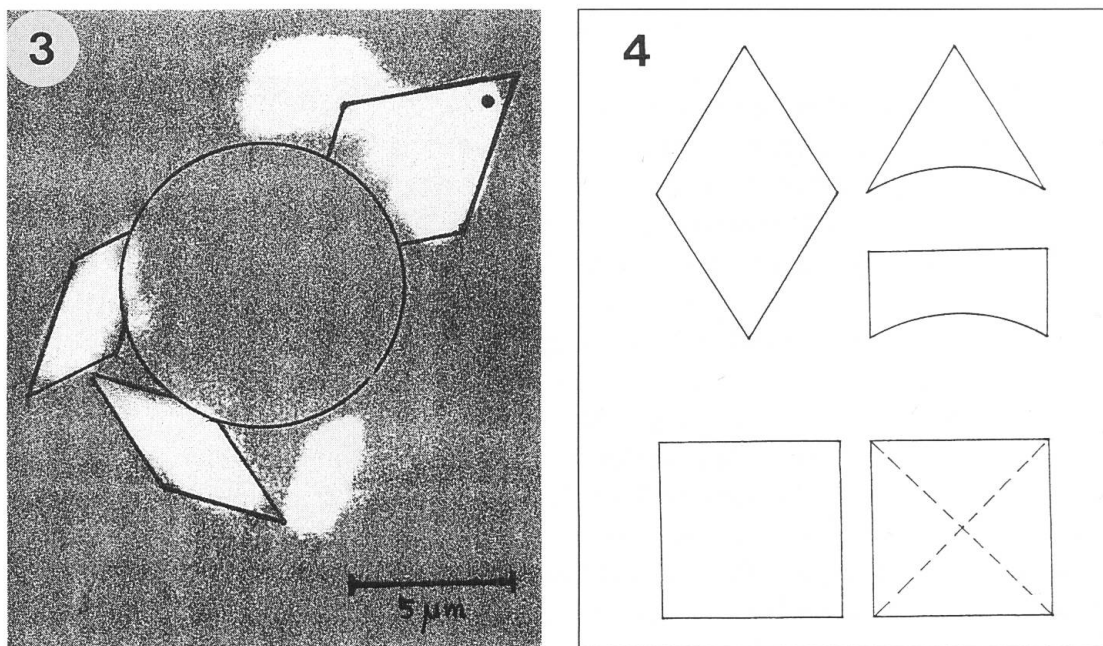


Abb. 3: Der Kristallkreis von Abb. 2b in stark vergrößerter Kopie, graphisch etwas interpretiert, zeigt Grundtypen von optischen Kristallquerschnitten (Kristallaspekte). Zeichen (.) = Winkel $\alpha = 60^\circ$.

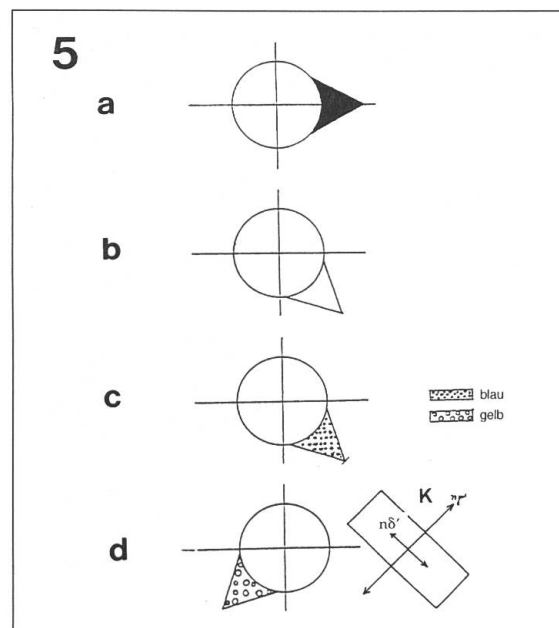
Abb. 4: Häufige Kristallaspekte im mikroskopischen Bild: Raute, Quadrat und Teilformen (Halbraute und Halbquadrat).

einschränken lassen. Abb. 3 soll die Beobachtungen erläutern und zwar an einer stark vergrößerten Kopie des in Abb. 2b fotografierten Kristallkreises. Im Ergebnis treten immer die gleichen Umrissformen auf: Raute, Halbraute, Quadrat bzw. ein Teil davon. Abb. 4 zeigt die Übersicht der Idealumrisse. Die Halbraute ist von allen Formen der häufigste Kristallaspekt und so kennzeichnend für *S. esculentus*, dass sie taxonomische Bedeutung erlangen könnte. Der quadratische Aspekt ist sehr selten. Das hängt mit der lateralen Insertion am Cystiden-Apex zusammen. Teilquadrate im Kristallkreis sind häufiger. Dagegen findet sich das Vollquadrat öfter im Lamellentrama isoliert von den Cystiden («Isolat-Kristalle»). Im Hellfeld werden bei günstiger Lichtführung feine Diagonalen sichtbar (Abb. 4).

3.2 Optische Kristallanalyse

Kristallite von 2 bis 5 μm sind morphologisch nur schwer zu erfassen. Auch starke Vergrößerungen, der Einsatz von Phasen- und Interferenzkontrast-Methoden oder auch Rasteraufnahmen erbringen keine sichere Bestimmung. Dagegen ermöglicht die kristalloptische Ausmessung mikroskopischer Umrissformen in vielen Fällen eine ausreichend genaue und besonders vielseitige Identifizierung. Dies soll im folgenden an einem Verfahren gezeigt werden, das auch von Biologen mit etwas polarisationsoptischer Erfahrung (FREY, 1929) erfolgreich durchführbar ist. Zumindest können die optischen Phänomene für taxonomische Abgrenzungen hilfreich sein.

Abb. 5: Ein Halbrautenkristall auf dem Drehtisch in orthogonaler und diagonaler Lage. Kristalloptischer Aspekt im 2PL-Dunkelfeld; a – symmetrische Auslöschung, b – maximale Helligkeit, c, d – Farbaspekte bei Kompensation mit RotI. K = Kompensator mit eingezeichneten Lichtvektoren.



3.2.1. Beobachtungen auf dem Drehtisch

Zur Untersuchung eignen sich Kristallumrisse mit symmetrischer Gestalt, wie z.B. die Halbraute von Abb. 3 in einer Bildfolge der Abb. 5a–d. Bei einer azimuthalen Drehung um 360° wird der Kristall in der orthogonalen Richtung viermal dunkel (symmetrische Auslöschung), in den diagonalen Lagen viermal hell mit einer weissen Interferenzfarbe (MICHEL-LEVY, 1982). Bei Anwendung des Gipskompensators RotI entsteht eine blaue oder gelbe Interferenzfarbe, je nach dem Azimut der Halbraute. Der streng quadratförmige Umriss dagegen bleibt in allen Azimuten dunkel (Abb. 6a, b). Daraus folgt: In Richtung der Flächennormalen auf das Quadrat verhält sich der Kristall isotrop und deshalb ist er auch im 2PL-Dunkelfeld kaum zu sehen.

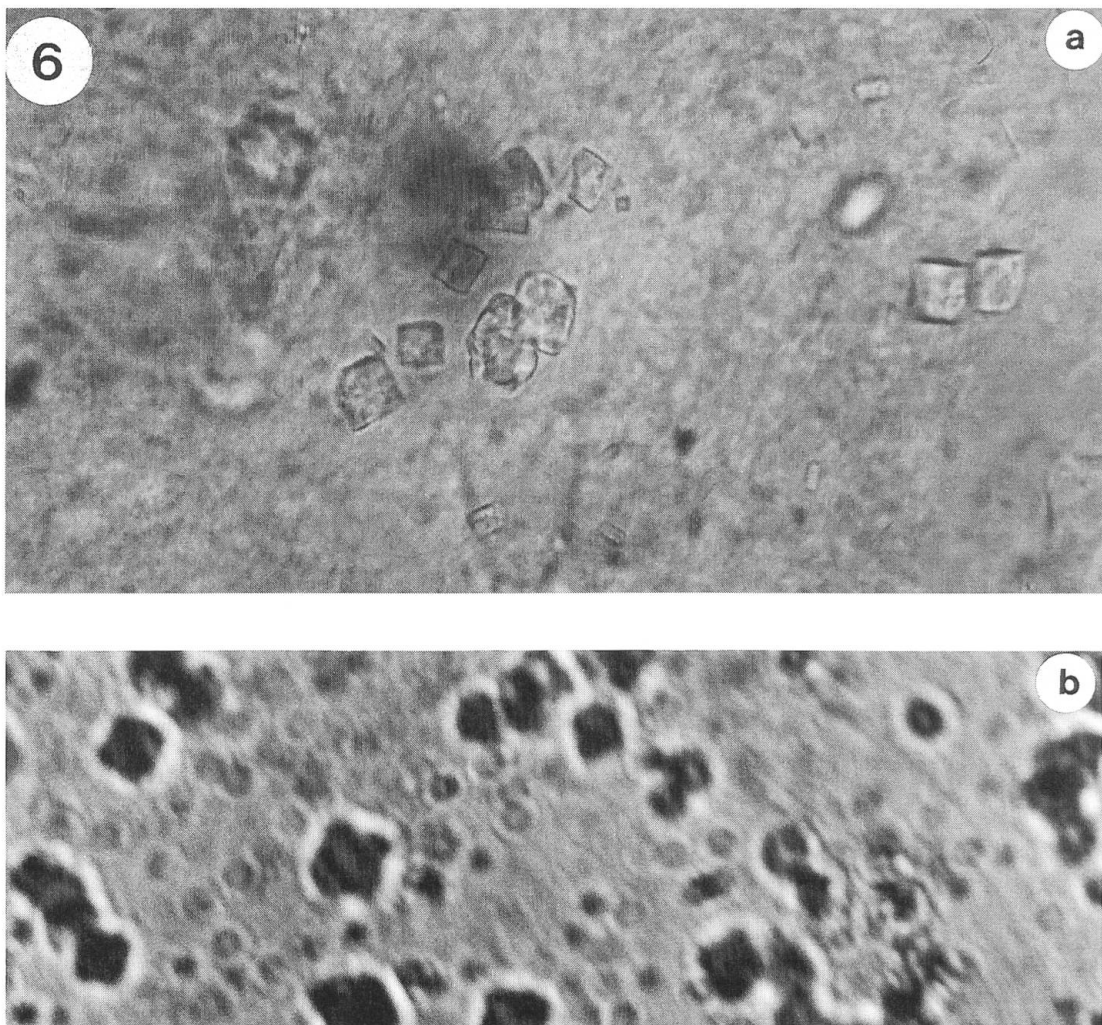


Abb. 6: Kristallquadrate im 2PL-Dunkelfeld bleiben in allen Azimuten dunkel. a – *S. esculentus* – Kristalle, isoliert im Lamellentrama (500 : 1). b – Kristallquadrate aus einem Harnsediment zeigen den gleichen Dunkeleffekt (500 : 1).

3.2.2 Auswertung der Beobachtungen

Diese erfolgen nach kristallographischen Gesichtspunkten und führen zur Identifizierung. Das aber erfordert die Feststellung der Symmetrie und eine Erfassung der stoffbedingten optischen Eigenschaften.

Symmetrie:

Der Ansatz einer Bestimmung liegt bei den dunklen Quadraten (Abb. 6a). Die Normale auf das Umrissquadrat ist eine optische Achse und mit Bezug auf das Quadrat vierzählig. Beide Beobachtungen verweisen auf das tetragonale Kristallsystem. Der nächste Hinweis ergibt sich aus der Beobachtung im Hellfeld (Abb. 4). Die Quadratdiagonalen des sog. «Briefkuverts» sind die Projektionen von Pyramidenkanten, genauer einer Bipyramide im Grundriss. Somit können die *Strobilurus*-Kristalle vorläufig der tetragonal-bipyramidalen Klasse zugeordnet werden.

Diskussion:

Die Bipyramidenform ist nicht nur aus dem Grundriss von Kristallisolaten zu erschliessen; sie wird direkt sichtbar als Raute oder Halbraute im Kristallkreis der Cystide. Bipyramiden treten auch im rhombischen System auf. Dies würde aber, kristalloptisch gesehen, Zweiachsigkeit voraussetzen. Eine zweite optische Achse konnte jedoch nicht gefunden werden. Andere Klassen des tetragonalen Systems können im Hinblick auf Kristallform und Grundriss ausgeschlossen werden.

Vorläufiges Ergebnis: Die *Strobilurus*-Kristalle besitzen tetragonale Symmetrie. Sie gehören zur tetragonal-bipyramidalen Klasse ($4/m$ nach HERMANN-MAUGUIN). Die aus dieser Symmetrie resultierende Kristallform ist in Abb. 7 skizziert. Eine vierzählige Hauptachse c steht senkrecht auf der einzigen Symmetrieebene $ABCD$. In dieser Ebene verlaufen die beiden gleichlangen Nebenachsen a_1 und a_2 . Flächen, welche eine Achse schneiden oder zu ihr parallel laufen, werden entsprechend indiziert, z.B. die Pyramidenflächen $ADE = (101)$ oder $CDE = (011)$. Aus Symmetriegründen repräsentiert eine Fläche auch den entsprechenden Körper, z.B. (101) die Bipyramide.¹

Die bisher festgestellten Eigenschaften liefern Auswahlkriterien für eine ganze Gruppe von Mineralien, unter denen sich auch das tetragonale Calciumoxalat vorfindet. Gegenüber den anderen Gruppenmineralien sind aber die bipyramidale Form und die biogene Entstehung ein Indiz für das Vorliegen des Polyhydrats. Zur Absicherung dieser Annahme sollen im folgenden

¹ Flächensymbole geben die Abstände an, in denen eine Fläche die drei Kristallachsen schneidet (in 1, 2 usw. Abständen) oder zu ihnen parallel läuft (0). So bedeutet (101) eine Fläche, die im tetragonalen System die Achsen a_1 und c im Abstand 1 schneidet und zur a_2 -Achse parallel läuft.

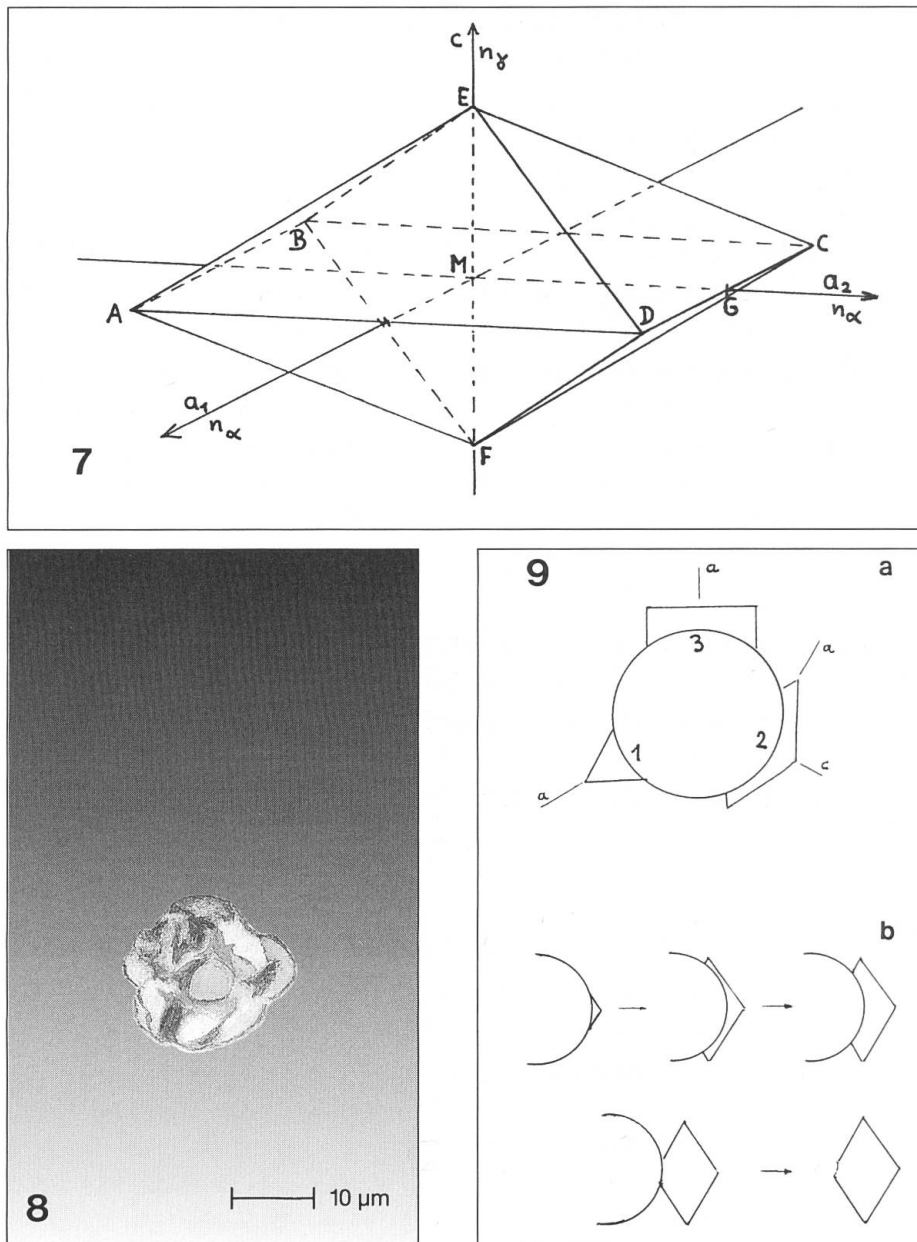


Abb. 7: Tetragonale Bipyramide mit den Achsen a und c sowie den zugehörigen Brechungsindices. Die stark reduzierten Prismenflächen sind weggelassen.

Abb. 8: Bestimmung der Doppelbrechung im Kristallkreis mit dem Drehkompensator. Der Kreis liegt im Bereich von 100–150 nm Gangunterschied, d.h. im Weiss I. Ordnung. Die dunklen Kristalle in Absorptionsstellung zeigen volle Kompensation. (Vergrößerte Kopie nach Originalaufnahme).

Abb. 9: a – Orientierung von Bipyramiden im Kristallkreis, d.h. am Cystidenquerschnitt. Position 1 und 2 – Halbrauten in verschiedener Orientierung; Position 3 – Halbquadrat. b – Kristallwachstum aus Position 2 kann zur Ablösung und Bildung von Isolat-Kristallen führen.

kristalloptische Eigenschaften dienen, die eine substantielle, d.h. kristallchemische Aussage ermöglichen.

Doppelbrechung (Δ):

Gemessen wird der Gangunterschied (Γ), den die beiden Lichtvektoren im Kristall bestimmter Dicke (d) erfahren. Dann ist $\Delta = \Gamma/d$. Man wählt nun einen Halbrautenkristall. Die maximal hohe Interferenzfarbe (weiss I. Ordnung) zeigt an, dass die Extrema der Lichtbrechung n_γ und n_α in der Azimutebene liegen (vgl. Abb. 5 und 7). Gemessen wurde mit dem Kompensator von Ehringhaus in Subtraktionsstellung. Durch Drehen eines Quarzplättchens verschwindet der Gangunterschied und die Kristalle erscheinen dunkel. Diese Situation ist in Abb. 8 festgehalten. Aus einer Reihe von 10 Messungen wurde eine Doppelbrechung von 0,025 ermittelt, ein Wert, der sehr genau das Polyhydrat anzeigt, das Monohydrat ($\Delta = 0,159$) aber sicher ausschliesst.

Lichtbrechung:

Die Lichtbrechung anisotroper Körper ist richtungsabhängig und muss deshalb im 1PL-Hellfeld für jede Richtung gesondert bestimmt werden und zwar durch Eintauchen in Immersionsflüssigkeiten bekannter Brechung. Dieses sehr aufwendige Verfahren mit unsicheren Resultaten wurde für *Strobilurus*-Kristalle durch eine verkürzte Version ersetzt, die später beschrieben wird. Ergebnis siehe Tabelle!

Die Lage der Indikatrix:²

Zu entscheiden ist, ob die grosse oder die kleine Halbachse, ob n_γ oder n_α mit der kristallographischen c -Achse übereinstimmt. Die Messung erfolgt, wie Abb. 5d zeigt, mit dem Kompensator RotI in Regelstellung. Demnach stimmt n_γ mit der c -Achse überein. Der Kristall besitzt einen optisch positiven Charakter ($Ch_m = +$).

Das Achsenverhältnis:

Der Quotient aus den Achsenabschnitten a/c ist ebenfalls eine Stoffkonstante. Gemessen wird der halbe Flächenwinkel (Abb. 7, Winkel EGM). Er kann im Halbrautenumriss direkt gemessen werden. Das Ergebnis ist

$$a : c = 1 : 0,432.$$

² Indikatrix: Optische Bezugsfigur. Im tetragonalen Kristallsystem ist die Indikatrix ein Rotationsellipsoid. Die Rotationsachse fällt mit der Hauptachse (c -Achse) des Kristalls zusammen. Die Halbachsen des Ellipsoides entsprechen zahlenmässig der im Kristall auftretenden maximalen (n_γ) und minimalen (n_α) Lichtbrechung.

Die folgende Tabelle zeigt die oben erzielten Befunde verglichen mit den Daten der beiden Calciumoxalat-Modifikationen Whewellit und Weddellit.

Tabelle: Vergleichswerte für Calciumoxalate

Name	Whewellit	Weddellit	Kristalle von <i>S. esculentus</i>
Kristallwasser	1 H ₂ O Monohydrat	2 H ₂ O Polyhydrat	–
Kristall-Klasse	monoklin-prismatisch	tetragonal-bipyramidal	tetragonal-bipyramidal
Symbole nach H.-MAUGIN	2/m	4/m	4/m
Brechungsindices	n _α = 1,490 n _β = 1,555 n _γ = 1,650	n _α = 1,526 – n _γ = 1,547	entspricht dem Weddellit (s. Text)
Doppelbrechung	0,159	0,021	0,025
Optischer Charakter	+	+	+
Winkel EGF s. Abb. 7	–	60,59°	59°
Achsenverhältnis	a : b : c 0,86 : 1 : 1,36	a : c 1 : 0,59	a : c 1 : 0,56

Ergebnis der tabellarischen Übersicht: Die Messwerte der *Strobilurus*-Kristalle stimmen sehr gut mit denen von Weddellit überein. Die Pilzkristalle sind als Weddellit das Polyhydrat des Calciumoxalates (COD). Monohydrat (COM), also Whewellit, konnte im Plektenchym von *S. esculentus* nicht nachgewiesen werden. Diese Feststellung erscheint taxonomisch bedeutsam, denn bei *Inocybe*-Arten dominiert eindeutig der Whewellit, wie die Untersuchungen von WATERKEYN et al. (1992) und von KOSTYRA (1993) belegen. Der Unterschied *Inocybe/Strobilurus* zeigt sich in der vielmal höheren Doppelbrechung der monoklinen *Inocybe*-Kristalle und in der Lichtbrechung, vorausgesetzt man bestimmt diese mit einer praktikablen Methode. Bewährt hat sich folgendes Vorgehen:

Halbrautenkristalle von *S. esculentus* werden in einer Immersionsflüssigkeit von $n = 1,650$ (= n_γ von Whewellit) im 1PL-Hellfeld untersucht. Bei einer Tischdrehung von 360° behalten nur Weddellite ihren Kontrast, während Whewellite, wie die Tabelle zeigt, in der n_γ -Richtung unsichtbar werden. Somit können *Strobilurus*-Kristalle auch im Hellfeld als Weddellit nachgewiesen werden.

Positionen, Formaspekte und Orientierung der Kristalle

Die Bipyramiden von Weddellit werden vorwiegend in der Apexregion der Cystiden abgeschieden. Dies erfolgt im Gegensatz zu *Inocybe lateral*, so dass ein kreisförmiger Innenraum, der Apexquerschnitt, um den die Kristalle angeordnet sind, frei bleibt. Mikroskopisch erscheint er als ein im Dunkelfeld auffälliger Kristallkreis (vgl. 3.1). An der Aussenseite der Cystidenmembran entstehen während einer Vegetationsperiode die Bipyramiden meist in halber Grösse. Vollformen sind selten. Intrazelluläre Kristallbildung, wie bei Gefäßpflanzen die Regel, konnte bei *Strobilurus* nicht beobachtet werden. Die Kristalle sind extrazelluläre «Aufsitzer» und ihre Bildung könnte als «epikristalin» bezeichnet werden.

Die Orientierung der Weddellite seitlich an der Apexmembran lässt drei Grundpositionen erkennen. Sie sind in Abb. 9a (Position 1–3) als idealisierter Kristallkreis gezeichnet. Je nachdem, ob die Symmetrieebene einer Bipyramide durch die Mittelachse einer Cystide geht, senkrecht oder parallel dazu orientiert ist, zeigen sich spitzwinklige, rechteckige oder stumpfwinklige Anwachsformen. Es sind die eingangs beschriebenen Halbformen von Raute und Rechteck. Vollformen von Kristallquerschnitten im Kontakt mit Cystiden sind selten zu beobachten, es sei denn als isoliert im Plektenchym vorkommende Individuen (vgl. 3.1). Eine Vorstellung ihrer Entstehung vermittelt Abb. 9b. Ausgangspunkt ist eine Kristalllage der Position 2 mit einer Symmetrieebene tangential zur Trägermembran. Man sieht, wie durch den Wachstumsvorgang die Anheftungsfläche ein Maximum erreicht, sich dann aber ständig verkleinert, so dass am Ende des Prozesses eine Raute entsteht, die auch den Kontakt mit der Cystide verlieren kann. Der Vorgang der Abtrennung bietet auch eine Erklärung für die im Lamellentrama beobachteten Isolat-Kristalle (vgl. 3.1 und Abb. 6a), die in keiner erkennbaren Beziehung zu den Pilzhypphen stehen. Einen deutlichen Gegensatz dazu bildet das Vorkommen hypphengebundener Kristallkrusten, die im Plektenchym von Nichtblätterpilzen durch Hypphenexkretion erzeugt werden (ARNOTT, 1982; GRAUSTEIN et al., 1977; HOLDENRIEDER, 1982; LAPEYRIE et al., 1983).

3.3 Andere Analysenverfahren

Zur Überprüfung der optischen Befunde wurden *Strobilurus*-Kristalle mikrochemisch auf ihr Löseverhalten untersucht. Einzelheiten des Verfahrens

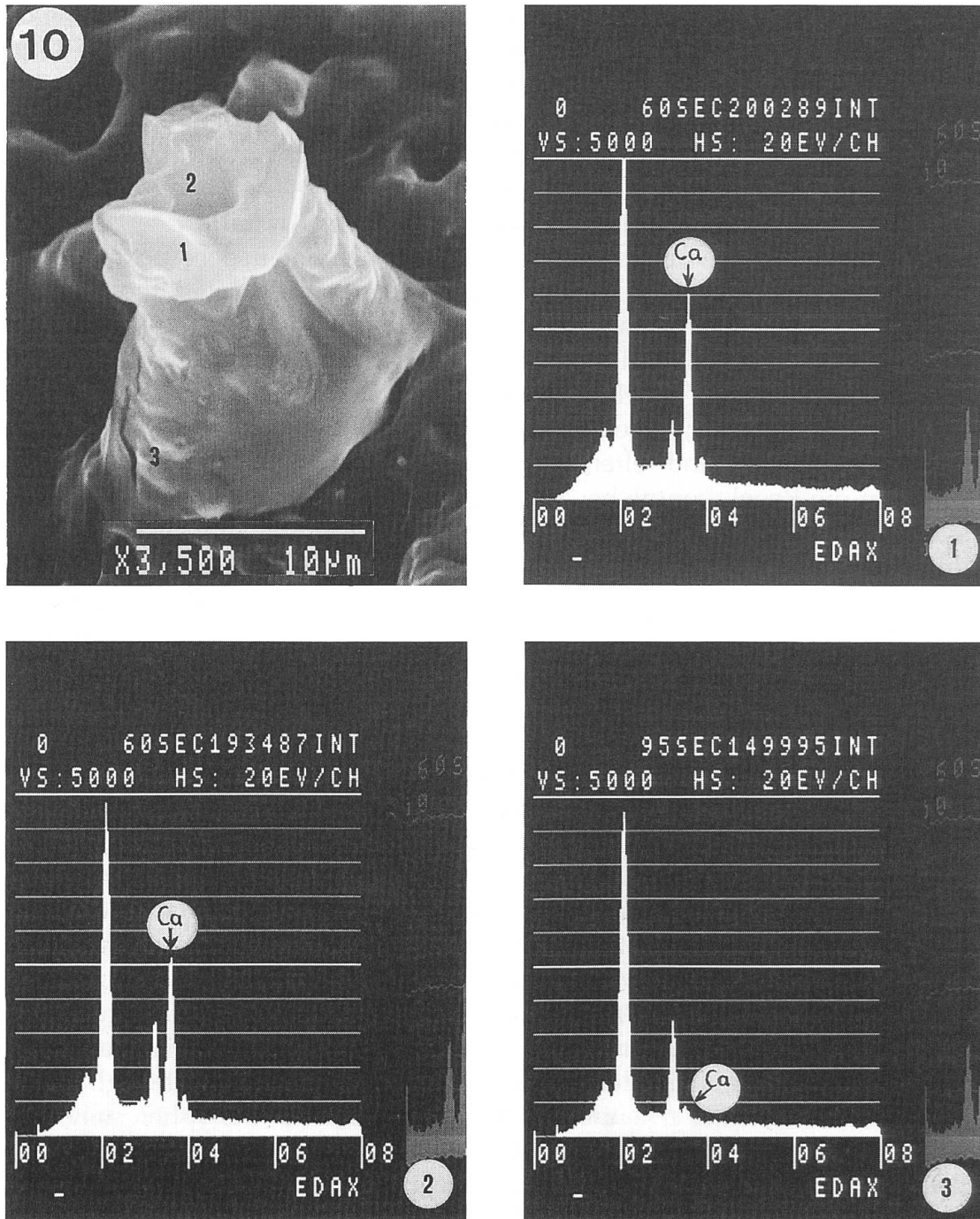


Abb. 10: Verteilung der Ca-Intensität auf verschiedene Cystidenareale (Punkt 1–3 im Rasterbild): 1 – Kristallkrone, 2 – Innenkreis des Apex, 3 – Fusspunkt der Cystide. Energiedisperse Röntgenanalyse (EDAX-Gerät), Dr. Rose.

siehe in KOSTYRA (1993). Die Kristalle erweisen sich als unlöslich im wässrigen und essigsauren Milieu. Bei Zugabe von Mineralsäuren lösen sie sich ohne Gasentwicklung, wobei durch Schwefelsäure lange Calciumsulfat-Nadeln ausgefällt werden. Dieser Umstand spricht für das Vorliegen von Calciumoxalat.

Im Vergleich zum Kation ist das Anion schwieriger zu erfassen. Der Nachweis kann nur chemisch geführt werden. Geprüft wurde das Verhalten von Cystidenkristallen in essigsaurer Permanganatlösung unter mikroskopischer Kontrolle. In diesem Redoxsystem wird Permanganat entfärbt sowie das Oxalat zu CO_2 oxidiert. Die Gasentwicklung setzt zuerst an den Apexkristallen voll ein und nur in dieser Phase können die gebildeten Gasblasen als Indiz für kristallgebundenes Oxalat gelten.

Der elektronenoptische Nachweis von Calcium wurde wellenlängendispersiv und energiedispersiv durchgeführt. Abb. 10 lässt die Verteilung der Ca-Intensität im Bereich einer Cystide erkennen. Die EDAX-Diagramme zeigen eine maximale Anhäufung von Calcium im Apex-Bereich, wobei nur das laterale Areal (Abb. 10/1) zur Kristallbildung befähigt erscheint. Der Cystidenfuss bleibt frei von Calcium. Die Flächenanalyse zweier Cystiden (Abb. 11a, b) ergibt, dass die Calcium- und Sauerstoffmaxima deckungsgleich sind und mit der Cystidenposition übereinstimmen. Damit ist das Calcium im Kristall nachgewiesen und die Bindung an ein sauerstoffhaltiges Anion deutlich gemacht, das in diesem Fall nur das Oxalation sein kann.

Ergebnis: Die mikrochemischen und elektronenmikroskopischen Befunde stimmen mit denen der optischen Analyse überein. Die *Strobilurus*-Kristalle sind Calciumoxalat. Beide Methoden versagen bei der Bestimmung der Hydratstufe, d.h. bei der Entscheidung ob Weddellit oder Whewellit im Kristall vorliegt. Diese kann nur morphologisch und kristalloptisch getroffen werden. Mit anderen, meist auf Färbung beruhenden Nachweisverfahren, wie die bekannte Pizzolato-($\text{AgNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$)-Methode oder eine Färbung mit Anthracengrün (Coerulein), lässt sich die Hydratstufe nicht bestimmen.

3.4 Rasterbilder in der Apexregion

Die vorliegenden Rasterbilder bestätigen im wesentlichen die kristalloptisch gewonnenen Ergebnisse. So erscheinen auch hier die Kristalle in Kreisen um das Apexzentrum angeordnet, diesmal in Seitenansicht und in sehr verschiedener Orientierung (Abb. 12 a) oder mit quadratischem Umriss (Abb. 12 b) die Cystide umschliessend.

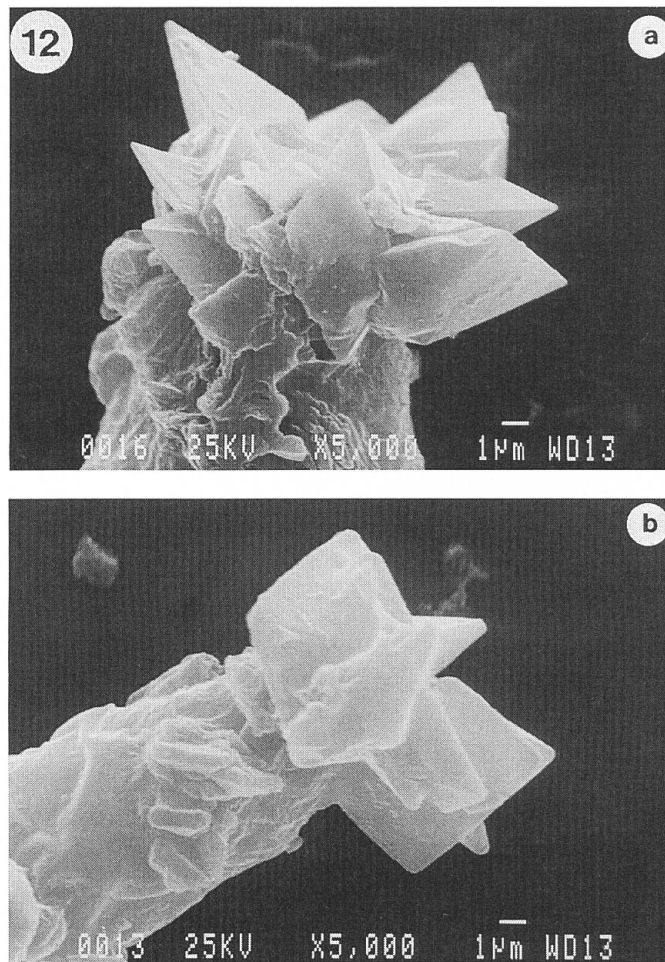
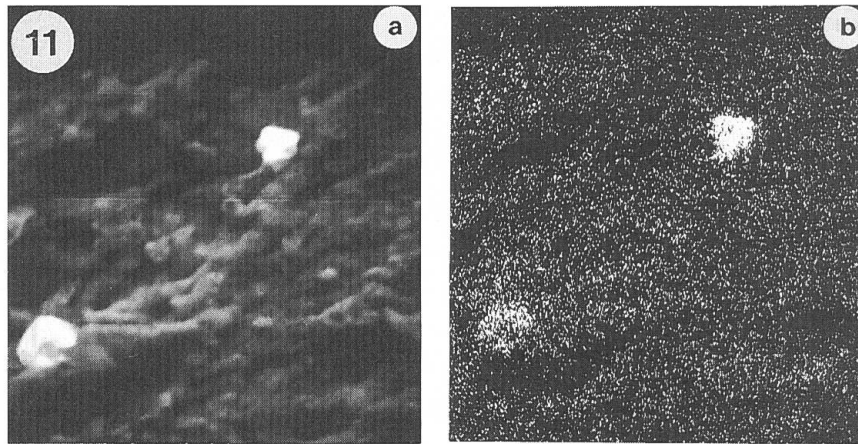


Abb. 11: Flächenverteilung der Intensität von Calcium (a) und Sauerstoff (b) im Bereich zweier Cystiden. Energiedisperse Analyse, Dr. Weyl.

Abb. 12: Rasteraufnahmen der Apexregion zeigen den Kristallkreis mit Weddelliten in verschiedener Orientierung (a) und quadratischem Aspekt (b). Aufnahmen Dr. Rose.

3.4.1. Habitus, Tracht und taxonomische Beziehung³

Auch im Rasterbild ist die tetragonale Bipyramide die vorherrschende Kristallform. Zusätzlich, und nur angedeutet, wird in den beiden Kristallen der Abb. 13 eine zweite Form als dunkler Saum (.) sichtbar. Ihre Flächen laufen zur c-Achse parallel. Es ist das Prisma mit der Ausgangsfläche (100). Diese sehr einfache Tracht der *Strobilurus*-Weddellit findet sich bei den Kristallen vieler Pilze. Der Unterschied zur Weddellit-Morphologie in höheren Pflanzen ist aber so deutlich, dass ein kurzer Hinweis zu einer taxonomischen Bewertung erforderlich wird. Auch bei höheren Pflanzen ist die Kombination von Prisma und Pyramide bei den intrazellulären Weddelliten sehr häufig, aber die Flächen beider Formen sind etwa gleich gross. Beispiele: *Allium*, *Tradescantia* u.v.a. (FREY, 1929). Weddellit-Kristalle von *Strobilurus* und vielen anderen Pilzen zeigen starke Habitusunterschiede, in dem durch Reduktion der Prismenflächen die Bipyramide zur bestimmenden Form wird. In der Literatur finden sich dafür zahlreiche Beispiele (DUCHESNE et al., 1989; GRAUSTEIN, 1977; HOLDENRIEDER, 1982; HORNER et al., 1983; KELLER, 1985; LAPEYRIE et al., 1983; MONTHOUX, 1983).

Eine Sonderstellung bei kristallproduzierenden Pilzen kommt der Gruppe der Aphylophorales zu. KELLER (1985) hat dort eine ausserordentliche Varianz der Oxalatkristalle in Habitus und Tracht nachweisen können. Auch das Fehlen bestimmter Kristallformen und Bildungsweisen kann taxonomisch bedeutsam sein. So ist die Zwillingsbildung bei Pilz-Weddelliten nirgends beschrieben worden.

3.4.2. Das Achsenverhältnis

Auffallend an den Bipyramiden ist ihre flache Form. Diese entsteht durch eine Verkürzung der c-Achse gegenüber der Achse a. Das Verhältnis beider Achsen a:c wird von HONEGGER (1952) mit 1:0,599 angegeben. Man bestimmt diesen Wert über den Winkel α (Winkel EGF in Abb. 7). Dann ist $c : a = \tan \alpha/2$ ein stoffspezifischer Wert für Weddellit. Die Messung des mit α bezeichneten Winkels einer Bipyramide in passender (symmetrischer) Lage ergab etwa 59° (Abb. 14). Daraus resultiert ein Achsenverhältnis von $a : c = 1 : 0,57$, was wiederum für Weddellit spricht (s. Tabelle). Eine weitere Kontrolle ergibt sich aus Bipyramiden, in denen der Winkel β (= Winkel EAF in Abb. 7) zwischen zwei Kanten messbar wird. Beispiel: Messwert 44° (Abb. 14). Der von A. FREY berechnete Wert von $44^\circ 51'$ führt wieder zum Weddellit.

³ Mineralogisch definiert: Als TRACHT bezeichnet man die Gesamtheit aller an einem Kristall vorhandenen Flächen, unabhängig von ihrer Ausbildung und Grösse. Unter HABITUS hingegen versteht man die Grössenverhältnisse der einzelnen Flächen des Kristalls zueinander. Beispiel: Ein Kristall der gleichen Tracht, z.B. Prisma mit Pyramide, kann je nach Habitus tafelig, isometrisch, prismatisch, nadelig oder haarförmig sein.

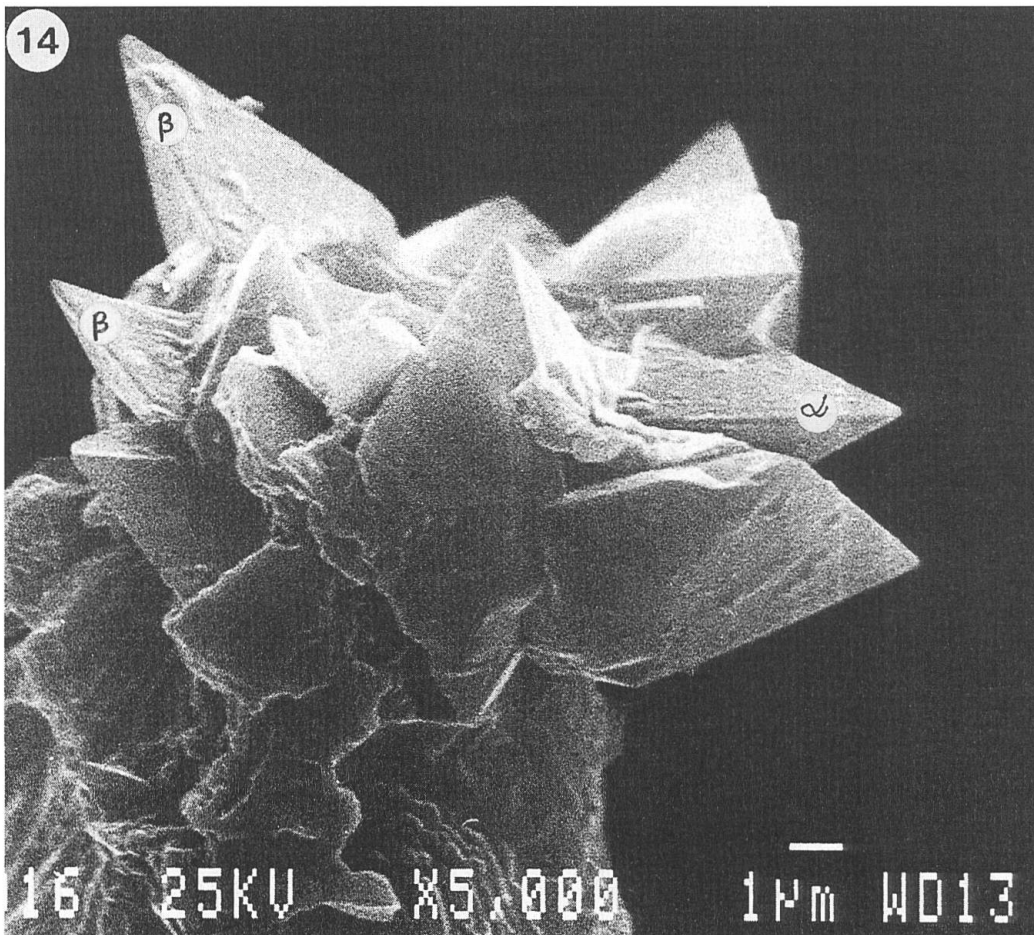
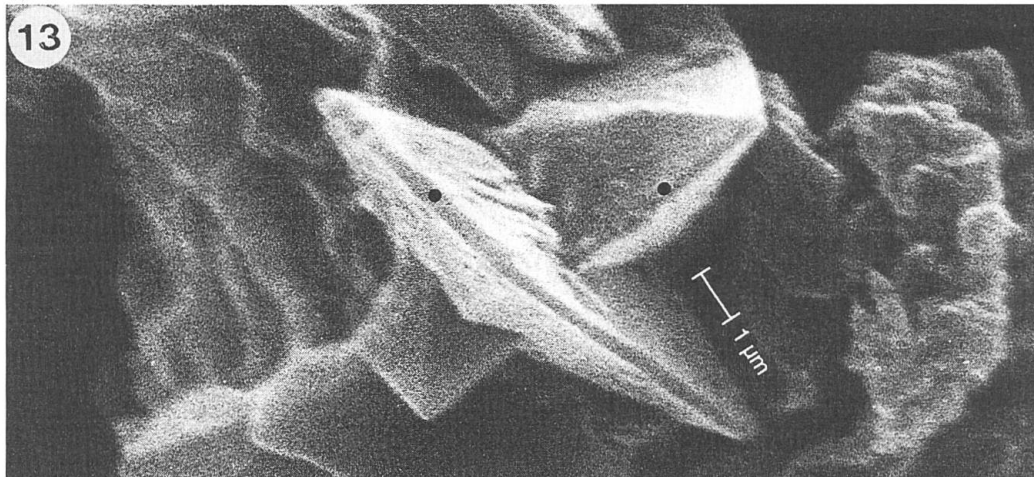


Abb. 13: Die beiden sehr flachen Bipyramiden zeigen reduzierte, aber für Weddellit charakteristische Prismenflächen (.). Ausgangsfläche: (100). (Vergrösserte Kopie nach Originalaufnahme).

Abb. 14: Eine vergrösserte Kopie von Abb. 12a erlaubt Winkelmessung. α ist ein Flächenwinkel, β ein Kantenwinkel.

Im Rasterbild ist es schwierig, eine Pyramidenlage zu finden, die eine genaue Winkelmessung ermöglicht. Verwendet man jedoch ein Polarisationsmikroskop, so ist die Achsenebene, die den Flächenwinkel EGF enthält, durch die maximale Interferenzfarbe (maximale Doppelbrechung) festgelegt und damit eine genaue Winkelbestimmung gesichert (vgl. Halbraute in Abb. 3).

3.5 Die metastabile Phase des Calciumoxalates

Die Modifikationen des Calciumoxalates weisen unterschiedliche Beständigkeit auf. Darauf haben bereits FREY (1929) und Philipsborn (1952) hingewiesen. Demnach ist nur die monokline Modifikation, der Whewellit, temperaturstabil, während die tetragonale, der Weddellit, bei etwa 70° unter Wasserabgabe in die stabile Modifikation übergeht. Diese Umwandlung konnte im Experiment auch für *Strobilurus*-Kristalle nachgewiesen werden. Dazu wurden Lamellenpräparate bei 70° elf Tage lang erwärmt und die Kristalle im 2PL-Dunkelfeld untersucht. Die Kristalle erschienen zunächst unverändert und in Kreisen positioniert, wie bei nicht erwärmten Proben. Prüft man mit einem RotI-Kompensator in Regelstellung (135°), so zeigen die Halbrautenkristalle eine gelbe Interferenzfarbe (= Subtraktion) an Stelle von additivem Blau wie in Abb. 5c. Bei starker Vergrößerung erscheinen die Kristallflächen von einem Netzwerk von Sprüngen durchzogen oder sogar blockartig bis krümelig aufgelöst, ohne dass der ursprüngliche Kristallumriss und die Position im Kristallkreis sich verändert haben. Die Bilder 15a, b zeigen Stadien der Umwandlung. Misst man die Doppelbrechung der temperierten Kristalle mit einem Drehkompensator, so ergibt sich eine signifikante Erhöhung des Delta-Wertes von ursprünglich 0,02 auf etwa 0,16. Das entspricht dem Wert von Monohydrat (vgl. Tab.). Das Umwandlungsprodukt ist also stabiler Whewellit. Der Vorgang dieser Umwandlung ist ein experimenteller Beweis für die weddellitische Natur der *Strobilurus*-Kristalle.

3.6 Lamellenquerschnitte im polarisierten Licht

Der Vorteil polarisationsoptischer Untersuchungen liegt in der Aufdeckung anisotroper Strukturen. Anisotrop können Kristalle sein, aber auch Zellbestandteile. Zellmembranen zeigen häufig Polarisierungseffekte. Von besonderem Interesse sind hier Hyphen- und Cystidenwände.

3.6.1 Plektenchym

Untersucht man Pilzlamellen in kreuzpolarisiertem Licht, so bleibt das Plektenchym dunkel wie ein isotroper Körper. Die Isotropie im Plektenchym ist aber nur scheinbar, denn bei entsprechend dünnen Lamellenquerschnitten (10–20 µm) erweisen sich viele Zellstrukturen in Trama und Hymenium als anisotrop. Die maximale Interferenzfarbe ist ein Weiss der I. Ordnung

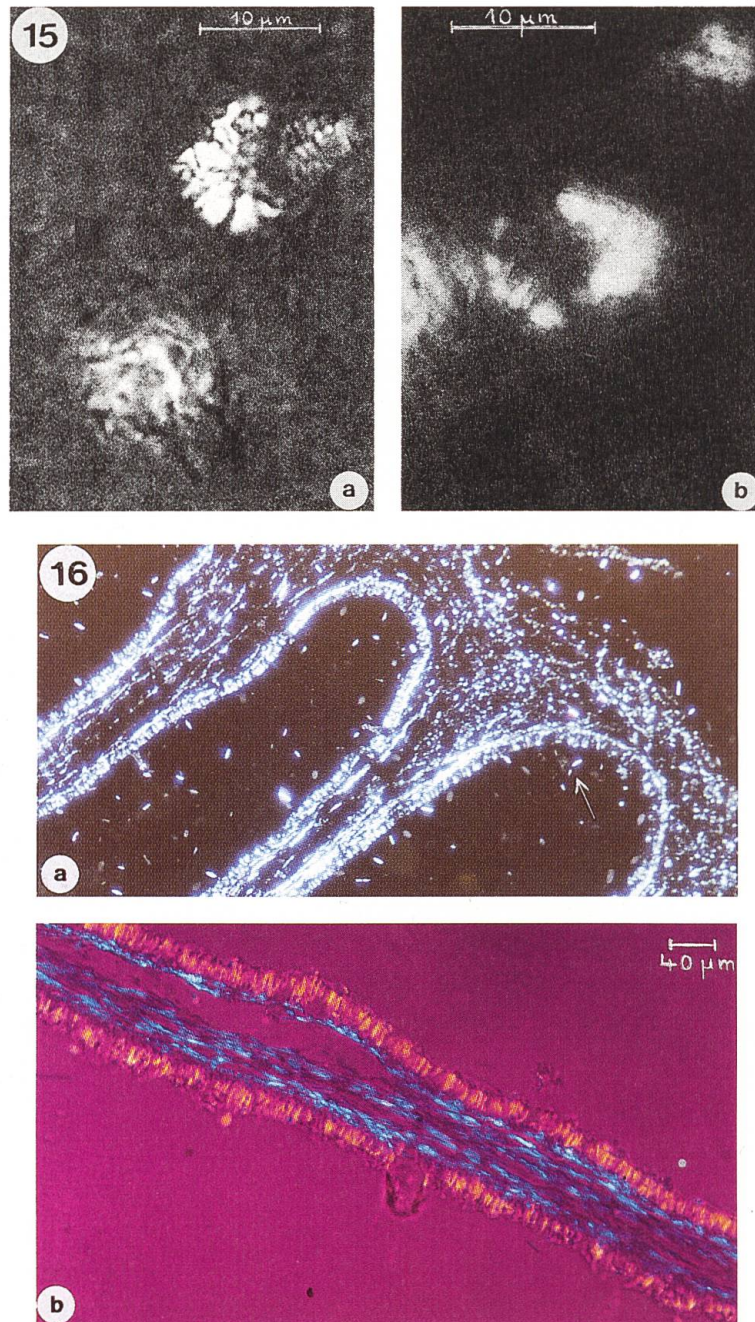


Abb. 15a,b: Metastabiler Weddellit zeigt Umwandlungsformen nach thermischer Behandlung. Der Kristallkreis und die äussere Form bleiben erhalten (Pseudomorphosen). Die inneren Teilstücke sind Whewellit.

Abb. 16: a – Lamellenquerschnitte im 2PL-Dunkelfeld zeigen Formdoppelbrechung. Pfeil: abgetrenntes, anisotropes Plektenchym. Mikrotomschnitt 10 μm. Objektiv 10X. b – Dieselben Querschnitte bei 2PL-RotI-Kompensation. Kompensator in Regelstellung (135°). Die Interferenzfarben sind richtungsabhängig und signifikant für bestimmte Zellwandstrukturen. Objektiv 20X.

(Abb. 16a). Dreht man die Lamellenquerschnitte in Regelstellung, so entstehen bei RotI-Kompensation eindrucksvolle Farbbilder, in denen das Lamellen-trama in Blau (Addition) von gelben Hymeniumsäumen (Subtraktion) eingeraht wird (Abb. 16b). Die Erklärung für die verschiedenen Interferenzfarben liegt in den gestreckten Zellelementen, deren Richtungen in Trama und Hymenium aufeinander senkrecht stehen. Kristalloptisch ergibt sich für die Faserrichtung ein negatives Vorzeichen.

Die Entstehung obiger Anisotropie ist im Gegensatz zu der bei Kristallen in submikroskopisch wirksamen Brechungsunterschieden der Zellwände zu suchen («Mischkörper»). Die daraus resultierende Interferenz der Lichtvektoren heisst Formdoppelbrechung (FREUND, 1957). Sie wird nur sichtbar in sehr dünnen Schnitten von Plektenchym. Andernfalls führt die wirre Lage der Hyphen zu einer «statistischen Isotropie». Eine Zuordnung der anisotropen Hyphen zu spezialisierten Typen (z.B. Skelett- oder Bindehyphen) war wegen der Verwendung von Exsikkaten nicht möglich.

Anmerkung:

Formdoppelbrechung entsteht nach einer Theorie von WIENER in sog. Mischkörpern aus submikroskopischen Elementen, die an einer Phasengrenze aneinanderstossen. Ein häufiger Typ ist der Stäbchenmischkörper aus gestreckten Makromolekülen, die in Substanzen mit abweichender Lichtbrechung eingelagert sind. In der Hyphenwand könnten z.B. Glutane die Rolle der Stäbchen übernehmen. Das Vorzeichen der Doppelbrechung gibt dann wichtige Hinweise über Richtung und Verlauf der Streckelemente innerhalb der Zellmembran. Mit Bezug auf langgestreckte Zellen, also Hyphen, ist kristalloptisch zu unterscheiden zwischen Paralleltextur (+) und Röhrentextur (-). Dementsprechend (s.o.) würden die anisotropen Hyphenwände von *S. esculentus* Röhrentextur besitzen. Genauere Aussagen erfordern aber noch eingehende Untersuchungen. Einzelheiten zur Theorie finden sich bei FREUND (1957) oder CZAJA (1974).

3.6.2 Pleurocystiden im polarisierten Licht

Unter den Strukturen des Hymeniums nehmen die Cystiden von *S. esculentus* wegen Grösse, Form und ihres Verhaltens in kreuzpolarisiertem Licht eine Sonderstellung ein. Bei jeder Tischdrehung bleiben sie in allen Azimuten dunkel. Ihre Zellwand verhält sich, im Gegensatz zu den oben beschriebenen Formen, isotrop, sodass, wie aus Abb. 17 ersichtlich, die Cystiden nur als dunkle Lücken in der leuchtenden Hymenium-Textur erscheinen. Erst über dem Niveau der Basidien wird die Cystidenwand durch einen kristallartigen Besatz auffällig markiert. Dieser Besatz ist eine weitere Besonderheit: Neben den grossen idiomorphen Kristallen der apikalen Region existiert ein subapikales, bis über die Mitte der Cystide reichendes Feld mit Partikeln, die optisch

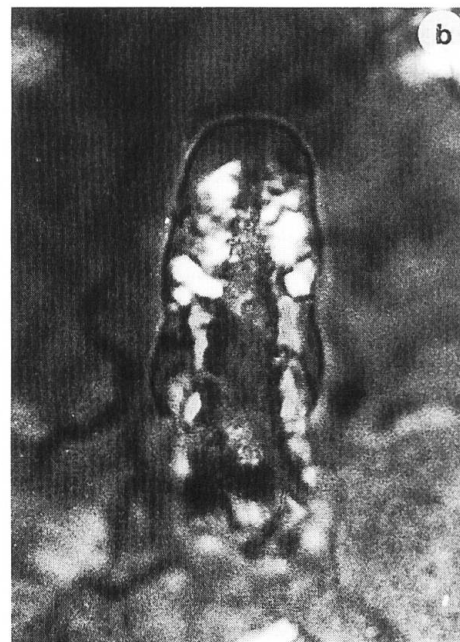
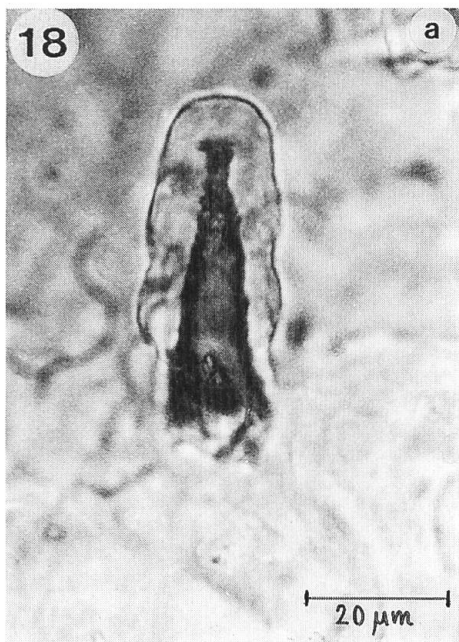
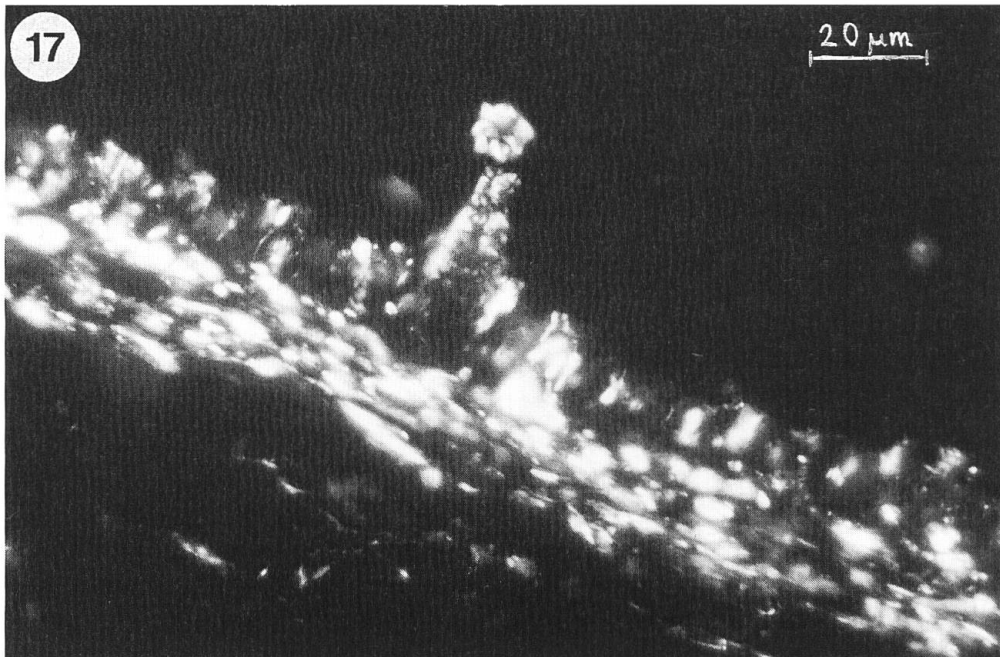


Abb. 17: Im kreuzpolarisierten Licht zeigt die Cystide zwei anisotrope Kristallfelder: Den apikalen Kristallkreis und ein subapikales Feld sehr kleiner Partikel unter Resten von Inkrusten. (Mikrotomschnitte).

Abb. 18: Cystidexkretion. a – 1PL-Hellfeld. Das luftgefüllte Lumen der Cystide bleibt dunkel. Die Hülle reicht bis an die Basis der Cystide. b – 1,5-PL-Dunkelfeld. Die im Exkret gebildeten Kristalle werden sichtbar. Aufnahmen Dr. Endlicher

kaum noch bestimmbar sind. Mikrochemisch können sie durch ihr Lösungsverhalten als Calciumoxalat nachgewiesen werden. Im Mikroskop entsteht der Eindruck, dass der subapikale Besatz sich zuerst innerhalb der Cystidenmembran entwickelt.

3.7 Beobachtungen zur Kristallgenese

Die Entstehung idiomorpher Kristallformen ist an bestimmte Bedingungen geknüpft, die bei *Strobilurus*-Weddelliten im Umfeld der Cystiden zu suchen sind. Dafür sprechen folgende Beobachtungen: Bei der Untersuchung junger Pilzexemplare findet man häufig Cystiden mit auffällig veränderten Formen. Die Hellfeldbeobachtung (Abb. 18a) zeigt eine solche Cystide. Das innere Lumen ist durch eingeschlossene Luft (Kunstharz-Einbettung) dunkel markiert, sodass die äussere Form als inkrustierendes Exkret gedeutet werden muss. Dieses wird apikal maximal, zur Basis hin mit abnehmender Stärke ausgeschieden. Ob aus dieser Verteilung auf eine entsprechende Durchlässigkeit der Zellmembran geschlossen werden kann, ist ohne Versuch nur zu vermuten.

Untersuchungen der Cystidenmembran mit speziellen Farbstoffen hinsichtlich ihrer Permeabilität und der Lichtabsorption (Dichroismus im 1PL-Hellfeld) konnten nicht durchgeführt werden. Näheres dazu findet sich bei WATERKEYN et al. (1992). Mikroskopisch ist auch schwer zu entscheiden, ob die Kristallbildung im subapikalen Bereich auf einer durchlässigen Membran beruht oder auf Ionen, die von den apikal ausströmenden Exkreten transportiert, subapikal auskristallisieren.

LENTZ (1954) hat Inkrustationen bei Blätterpilzen beschrieben. Seine Angaben zur Zusammensetzung der Exkrete lassen daraus schliessen, dass diese gelartige Konsistenz besitzen, was die idiomorphe Kristallbildung bei *Strobilurus* erklärt. Man vergleiche dazu die Versuche von HORNER et al. (1983) und FREY-WYSSLING (1981). Den Autoren ist durch Verwendung kolloidaler Intermedien (Bentonit, Gelatine) die Züchtung grosser, idiomorpher Calciumoxalat-Kristalle gelungen.

Die *Strobilurus*-Kristalle sind im linear polarisierten Licht nicht zu erkennen, werden aber schon bei mässiger Kreuzstellung der Polfilter sichtbar. Ihr Vorkommen ist ausschliesslich auf die ausgetretene Exkrehülle beschränkt (Abb. 18b). Dies wiederum ist ein Hinweis, dass die Exkrete ursächlich an der Ausbildung idiomorpher Kristalle beteiligt sind. Die Hülle selbst ist isotrop und deshalb im kreuzpolarisierten Licht nicht sichtbar.

Was geschieht nun mit den Inkrustationen? In den Rasterbildern der Abb. 12a, b fehlen die Exkrehüllen. Man kann beobachten, dass sie mit zunehmender Lamellenreifung abgebaut werden. Abb. 19a zeigt den Abriss einer Apexkappe, während die gebildeten Kristalle an der Cystidenmembran fixiert zu-

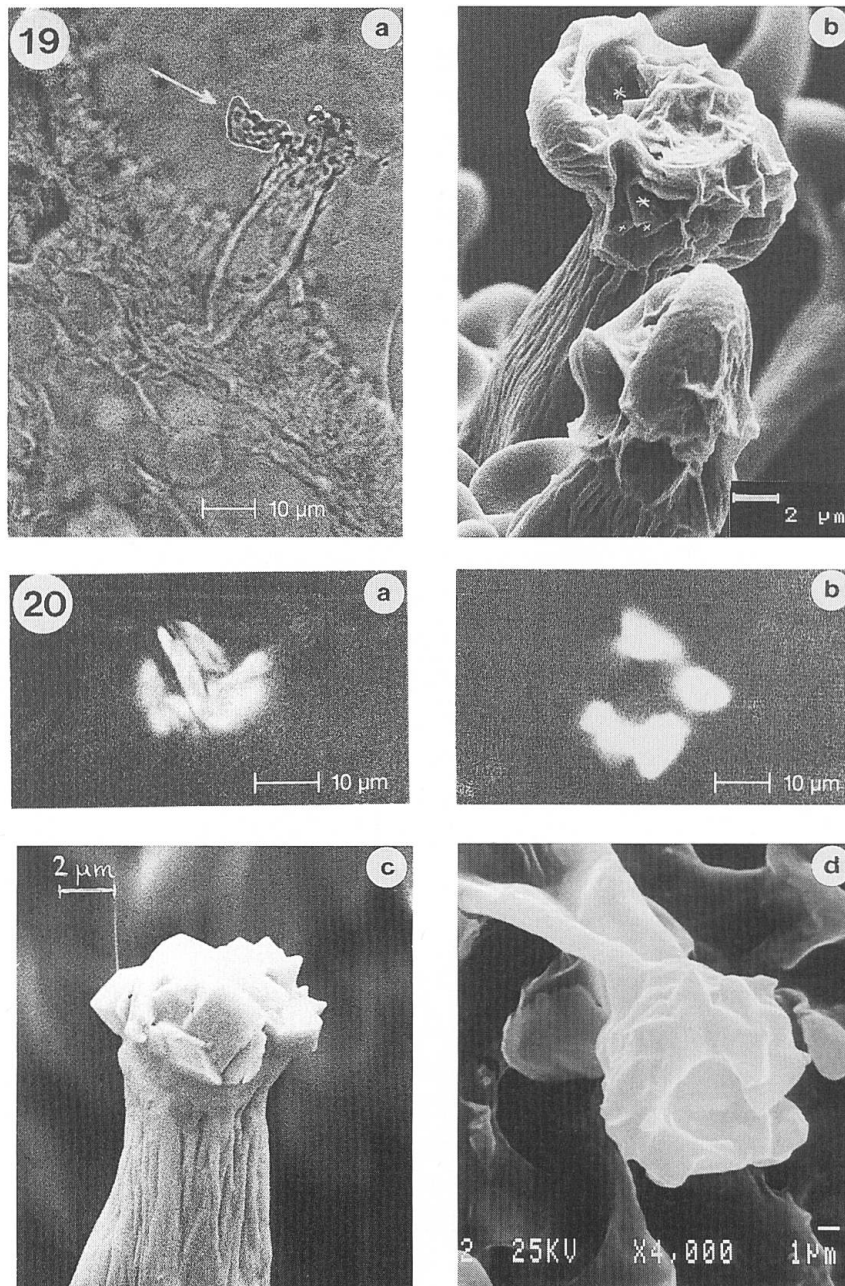
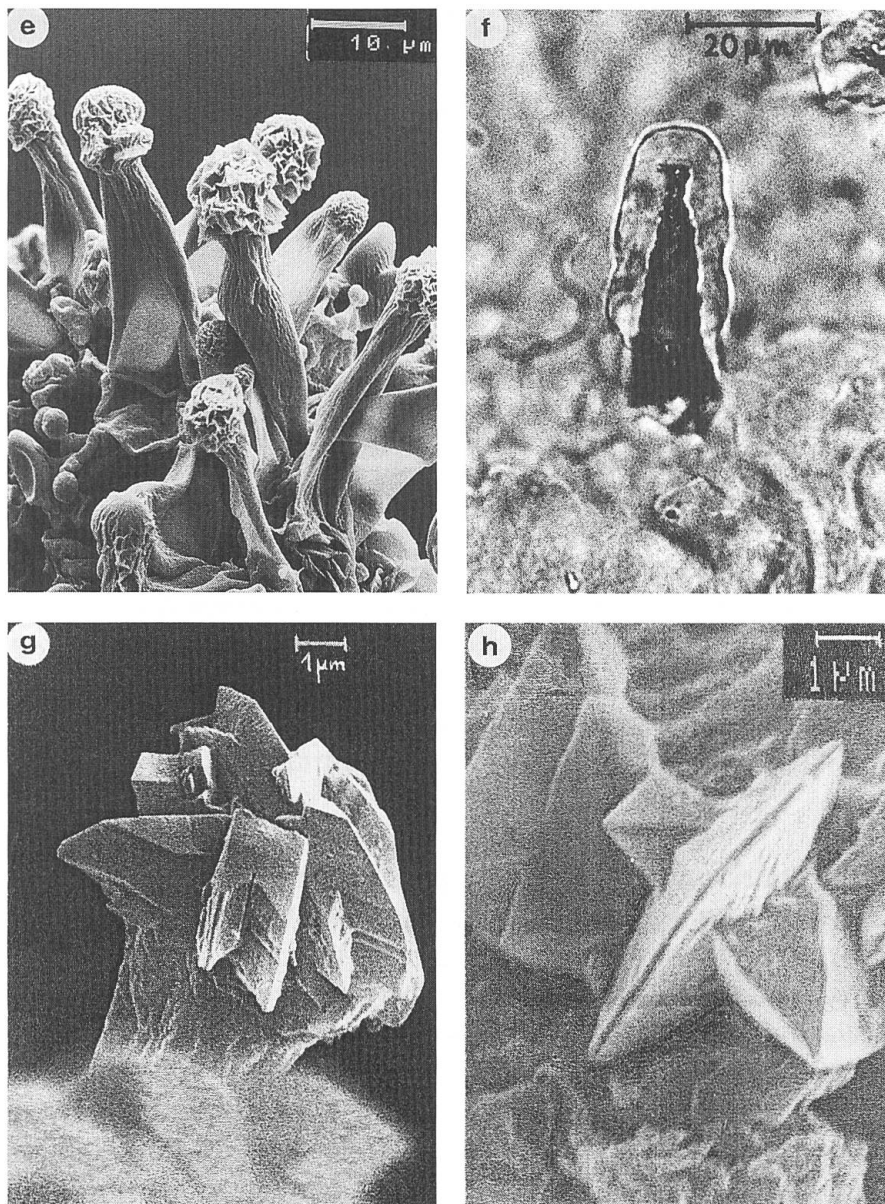


Abb. 19: Abbau der Exkrehülle. a – Beispiel für Kappenabriss (Pfeil!); 1,5 PL. b – Rasterbild einer austrocknenden Apex-Hülle (*Inocybe geophylla*), wie sie auch bei *Strobilurus* beobachtet wurde. Unter der Hülle werden Kristalle (*) sichtbar.

Abb. 20: Vergleich von Cystidieninkrusten in den Gattungen *Inocybe* (links) und *Strobilurus* (rechts). Die Unterschiede beziehen sich auf folgende Merkmale: Kristallanordnung im 2PL-Dunkelfeld (a und b), apikaler Kristallbesatz (c und d), Exkrehüllen (e und f), Habitus und Tracht von Einzelkristallen (g und h). Mikroskopaufnahmen: a,b,f; Rasterbilder: c,d,e,g,h. Arten: *Inocybe geophylla* und *godeyi* sowie *Strobilurus esculentus*.



rückbleiben. Das Auftreten isolierter kristallfreier Einzelkappen in manchen Präparaten ist ein Hinweis auf den lockeren Sitz der austrocknenden Exkrete. Der Abbau der Hüllen in situ konnte ebenfalls beobachtet werden. Ein Rasterbild (Abb. 19b) einer Exkrehülle von *Inocybe* kann dafür hinweisend sein. Man erkennt, wie der Trockenprozess Löcher und Höhlen in der sich ablösenden Hülle hinterlässt, unter der bereits die aufsitzenden Cystidenkristalle (*) hervortreten. Wegen der grossen Ähnlichkeit der Apex-Exkretion in beiden Gattungen dürfte obiger Prozess auch für *Strobilurus* gelten.

4. Diskussion

4.1. Taxonomische Unterscheidung

Es ist schon oft versucht worden, die Morphologie der Oxalatkristalle auf genetische Steuerfaktoren zurückzuführen. JACCARD & FREY (1928) haben in einer umfangreichen Arbeit die artspezifischen Variationen von Weddelliten in der Gattung *Allium* untersucht. Bei den Blätterpilzen fehlen noch entsprechende Beobachtungen. Trotzdem kann auch bei Pilzen der Vergleich über grössere Taxa hinweg signifikante Unterschiede ergeben. Im folgenden sollen Kristalle und Cystiden der Gattungen *Inocybe* und *Strobilurus* miteinander verglichen werden. Die Bilder 20a–h zeigen in ihrer Gegenüberstellung deutliche Unterschiede. Diese betreffen z. B. das mikroskopische Bild, die Verteilung der Kristalle über die Cystidenmembran, die Ausdehnung der Exkrehülle und den fundamentalen Unterschied zwischen monokliner (*Inocybe*) und tetragoaler Symmetrie (*Strobilurus*). Auffallend ist die Zwillingsbildung der Whewellite (Abb. 20g), welche in ihrer besonderen Form die Gattung *Inocybe* auszeichnet. Dagegen fehlen Weddellit-Zwillinge bei *Strobilurus*, obwohl tetragonale Zwillingsbildung im Gewebe höherer Pflanzen häufig zu beobachten ist. Eine weitergehende Untersuchung, etwa auf artspezifische Unterschiede der Kristallisate, erscheint nur bei der umfangreichen Gattung *Inocybe* lohnend.

4.2 Kristallvorkommen bei *Strobilurus* und anderen Gattungen

Im Gegensatz zu *Inocybe*-Arten scheint die Oxalatkristallisation in der Gattung *Strobilurus* speziell auf *S. esculentus* begrenzt zu sein. Die Cystiden von *S. stephanocystis* und *S. tenacellus* bleiben im kreuzpolarisierten Licht dunkel und zwar bei allen Azimuten. Kristalle waren nicht auszumachen. Allerdings standen nur sehr wenige Herbarexemplare zur Verfügung.

Weitere Untersuchungen auf der Grundlage vielfältiger Proben, die auch noch andere cystidengebundene Kristallisate von Blätterpilzen einbeziehen, stehen noch aus. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt im Methodischen.

4.3 Methodendiskussion

Zum Schluss mag es nützlich sein, Analysenverfahren, die in diesem Grenzgebiet angeboten werden, hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit zu qualifizieren. Zur Bestimmung wurden vor allem kristalloptische Verfahren angewandt, während mikrochemische und elektronenoptische Methoden lediglich zur Ergänzung und Absicherung dienen. Durch Anwendung der letzteren können für Pilz-Kristalle nur sehr partielle Ergebnisse erzielt werden. Rasteraufnahmen zeigen zwar eindrucksvoll die Kristallgestalt; die ausschliesslich morphologische Kristallbestimmung liefert aber keine sicheren Ergebnisse. Die Mikro-

sonde z.B. analysiert im μm -Bereich, erfasst jedoch nur das Kation, also Calcium. Dieses kann in biogenen Kristallen an sehr verschiedene Anionen gebunden sein. Die Bestimmung der Anionen in Mikrodimensionen ist in situ kaum möglich. Eine Anreicherung der Kristallpartikel, wie PHILIPSBORN (1952) vorschlägt, ist bei dem geringen Kristallgehalt im Plektenchym nicht durchführbar. Von Röntgenstrukturaufnahmen musste abgesehen werden. Die notwendige Kristallmenge von etwa 1 mg ist nicht zu beschaffen. Selbst wenn Einzelkristalle elektronenmikroskopisch analysiert werden könnten (TME-Verfahren), stünde der Präparationsaufwand für eine Aufnahme (Ultradünnschnitt) in keinem Verhältnis zu den erhofften Ergebnissen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass *Strobilurus*-Kristalle ein wenig geeignetes Probematerial für moderne Analysenverfahren abgeben. Viel effektiver ist in diesem Fall die mikroskopische Methode. Sie ermöglicht es, am unbekanntem Objekt in μm -Grösse gleichzeitig morphologisch und kristalloptisch zu identifizieren oder zumindest unterschiedliche Kriterien zu erarbeiten. In diesem Sinne ist die Polarisationsmikroskopie zwar ein klassisches, aber im Sonderfall ein durchaus brauchbares Verfahren der Analytik. Dieses am Beispiel von *Strobilurus*-Kristallen gezeigt zu haben, war der Sinn der vorliegenden Untersuchung.

Danksagung

Jede Untersuchung, vor allem in Grenzgebieten, bedarf der Arbeitsmöglichkeit, der Beratung und Förderung. Mein besonderer Dank gilt daher den Vorständen der Institute, Herrn Professor A. BRESINSKY, Direktor des Botanischen Institutes der Universität Regensburg, und Herrn Professor A. FORSTER, Direktor des Institutes für Angewandte Mineralogie der Universität Regensburg, sowie ihren Mitarbeitern. Danken möchte ich auch den Dres. A. Meyer und R. Weyl der Firma Siemens München, Abteilung Analytik.

Literatur

- ARNOTT, H. J. (1982) – Calcium oxalate (weddellite) crystals in forest litter. *Scanning Electron Microscopy* 3: 1141–1149.
- CZAJA, A. (1974) – Einführung in die praktische Polarisations-Mikroskopie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- DUCHESNE, L.C., B.E. ELLIS & R.L. PETERSON (1989) – Disease suppression by ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*: contribution of oxalic acid. *Canadian Journal of Botany* 67: 2726–2730.
- FREUND, H. (1957) – Handbuch der Mikroskopie in der Technik. Band I, Teil 1: Allgemeines Instrumentarium der Durchlichtmikroskopie. Umschau Verlag, Frankfurt am Main.
- FREY, A. (1929) – Calcium-Monohydrat und Trihydrat. In: Handbuch der Pflanzenanatomie III/1a. Verlag von Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- FREY-WYSSLING, A. (1981) – Crystallography of the two hydrates of crystalline calcium oxalate in plants. *American Journal of Botany* 68: 130–141.
- GRAUSTEIN, W.C., K. CROMACK, Jr. & P. SOLLINS (1977) – Calcium oxalate: occurrence in soils and effect on nutrient and geochemical cycles. *Science* 198: 1252–1254.
- GOLDSCHMIDT, V. (1923) – Atlas der Kristallformen 9. Verlag Winter, HEIDELBERG.
- HOLDENRIEDER, O. (1982) – Kristallbildung bei *Heterobasidion annosum*. (Fr.) Bref. (*Fomes annosum* P. Karst) und anderen holzbewohnenden Pilzen. *European Journal of Forest Pathology* 12: 41–58.
- HOLZNER, G. (1864) – Über die Kristalle in Pflanzenzellen. *Flora* 47: 273–304.
- HONEGGER, R. (1952) – Das Polyhydrat des Calciumoxalates. *Vierteljahresschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich* 97(1): 1–44.
- HORNER, H.T., L.H. TIFFANY & A.M. CODY (1983) – Formation of calcium oxalate crystals associated with apothecia of the discomycet *Dasyscypha capitata*. *Mycologia* 75(3): 423–435.
- JACCARD, P. & A. FREY (1928) – Kristallhabitus und Ausbildungsformen des Calcium-Oxalates als Artmerkmal. *Vierteljahresschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich* 73: 127–161.
- KELLER, J. (1985) – Les cystides cristallifères des Aphyllophorales. *Mycologia Helvetica* 1/5: 277–340.
- KOSTYRA, H. (1993) – Chemische und kristallographische Untersuchungen an Cystidenkristallen der Gattung *Inocybe*. *Zeitschrift für Mykologie* 59(1): 77–98.
- LAPEYRIE, F., R. PEPIN & G. BRUCHET (1983) – Formation de Weddellite ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) extracellulaire en culture in vitro par *Paxillus involutus*; signi-

fication de cette production pour la symbiose ectomycorhizienne. *Canadian Journal of Botany* 62: 1116–1121.

LENTZ, P. (1954) – Modified Hyphae of Hymenomycetes. *Botanique Revue* 20: 135–199.

MICHEL-LEVY (1982) – Farbtafeln. Carl Zeiss, Oberkochen.

MONTHOUX, O. (1983) – Nouvelles observations sur les cristaux du *Gastrosporium simplex* Matt. (Gasteromycetes). *Mycologia Helvetica* I(1).

MÜLLER, G. & M. RAITH (1981) – Methoden der Dünnschliffmikroskopie. *Clausthaler Tektonische Hefte* 14. Verlag Ellen Pilger, Clausthal-Zellerfeld.

PHILIPSBORN, H.V. (1952) – Über Calciumoxalat in Pflanzenzellen. *Protoplasma* Band XLI: 415–424.

PHILIPSBORN, H.V. (1954) – Calciumoxalat – 275 Jahre mikroskopischer Forschung. *Sudhofs Archiv* 38. Band Heft 4: 336–366. Franz Steiner Verlag, Wiesbaden.

URBANUS, J.F.L.N., VAN DER ENDE & B.KOCH (1978) – Calcium oxalate crystals in the wall of *Mucor mucedo*. *Mycologia* 70: 829–842.

WATERKEYN, L., A. BIENFAIT et T. MONNIEZ (1992) – Les cystides à cristaux des *Inocybes* (Agaricales): études histochimique et cristallographique. *Canadian Journal of Botany* 70: 910–920.

