

Die Feinstruktur der Trichom-Hydathoden von *Monarda fistulosa*

GEORG HEINRICH

Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg, Bundesrepublik Deutschland

Mit 6 Abbildungen

Eingegangen am 21. November 1972,
in revidierter Form am 18. Januar 1973

Summary

The Fine Structure of the Trichome Hydathodes of *Monarda fistulosa*

The trichomes of *Monarda* extrude up to $450 \mu\text{m}^3$ of an aqueous solution per minute. Their head cells contain nuclei of a volume more than twice that of common epidermal cells, up to 800 dictyosomes, and only a few mitochondria and plastids. The water is extruded by way of the Golgi vesicles. A dictyosome yields one cisterna per minute which is replaced by a new one on the opposite side, so that in about eight minutes the entire dictyosome is renewed.

Zusammenfassung

Die Trichome von *Monarda fistulosa* sezernieren bis $450 \mu\text{m}^3$ einer wäßrigen Flüssigkeit pro Minute. Ihre Köpfchenzellen besitzen Zellkerne, die mehr als doppelt so voluminös als die der normalen Epidermiszellen sind, nur wenige Mitochondrien und Plastiden und über 800 Dictyosomen. Die Dictyosomen-Vesikeln transportieren die Flüssigkeit nach außen. Dabei wird pro Minute eine Zisterne aufgelöst und eine neue produziert, so daß ein Dictyosom in ca. acht Minuten vollständig erneuert ist.

1. Einleitung

Es mehren sich die Befunde, daß Dictyosomen mit der Abgabe von Wasser beschäftigt sind, in dem der Anteil an gelösten Substanzen, z. B. von Kohlenhydratschleimen, zurücktritt. So entstehen die pulsierenden Vakuolen, die der Osmoregulation von *Glaucocystis* und *Vacuolaria* (SCHNEFF und KOCH 1966 a, 1966 b) dienen, aus Dictyosomen-Vesikeln, die miteinander verschmelzen. Im Gegensatz zu dieser granulokrinen Sekretion verläuft die Wasserausscheidung der Trichom-Hydathoden von *Cicer arietinum* (SCHNEFF 1965) ohne Beteiligung der Dictyosomen und wahrscheinlich eccrin, d. h. ein-

zelle Wassermoleküle würden, ohne von einer Vesikelmembran umschlossen zu sein, durch das Plasmalemma geschleust. An den Trichomen von *Monarda* soll festgestellt werden, wie die Flüssigkeitsausscheidung vor sich geht.

2. Material und Methode

Als Versuchspflanze diente *Monarda fistulosa* L. var. *fistulosa* aus dem Botanischen Garten Hamburg. Es handelt sich um eine perennierende Lamiacee, die in Kanada und in den östlichen und zentralen Teilen der U.S.A. heimisch ist. Die Gattung *Monarda* ist von SCORA monographisch (1967) und in zahlreichen Einzelarbeiten behandelt worden.

Zur Bestimmung der Zellkerngröße wurden Handschnitte 24 Stunden in Belling fixiert, ebensolange gewässert, 10 Minuten mit Karmin-Eisessig gefärbt und nach Chloralhydratbehandlung in Hoyer's Medium eingeschlossen. Die quer zur Blickrichtung verlaufenden Durchmesser von jeweils 50 Zellkernen sind mit dem Okularmikrometer, der dritte Durchmesser mit Hilfe der Skala an der Mikrometerschraube gemessen. Posttelophasische Zellkerne wurden herangezogen, um eine Größenzunahme, die auf Grund von Polyploidisierung erfolgt, nicht durch das intermitotische Wachstum zu überdecken (TSCHERMAK-WOESS und DOLEŽAL-JANISCH 1956, NAGL 1968). Die Wasserabgabe wurde lichtmikroskopisch in Paraffinöl beobachtet. Das Sekret der Drüsenhaare wurde 3 Stunden in 1 n HCl bei 105 °C unter Stickstoff hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde auf Celluloseplatten (Merck) im Fließmittel Benzol : n-Butanol : Pyridin : Wasser = 2 : 5 : 4 : 2 zweimal aufsteigend jeweils 3 Stunden entwickelt. Zum Nachweis von Polysacchariden diente nach RAMBOURG und LEBLOND (1967) Perjodsäure-Silbermethenamin (vgl. SCHNEPF 1968). Die Zahl der Dictyosomen wurde wie bei AMELUNXEN (1964) bestimmt. Für das EM wurden Blattstücke nach Glutaraldehyd-OsO₄-Fixierung, Aceton- oder Alkoholentwässerung in Epon eingebettet. Da eine genügend harte Eponeinbettung nach den Literaturangaben (z. B. LUFT 1961) nicht erreicht werden konnte, wurde nach UEDA (mündlich) aus zimmerwarmen Flaschen jeweils neu angesetzt: Epon : MNA : DDSA = 5 : 3 : 2 mit 2% Härter. Den nötigen Kontrast lieferten Uranylacetat und Bleicitrat.

3. Ergebnisse

Das hypostomatische Blatt von *Monarda* bildet Drüenschuppen, zwei Sorten von Drüsenhaaren und meist einzellige, selten bis siebengliedrige Borstenhaare aus. Neben terpenerzeugenden Drüsenhaaren (KLINK 1971) finden sich solche mit einem kugelförmigen Drüsenköpfchen. Ihre Exkrete werden zum Unterschied von den terpenerzeugenden Drüsenhaaren nicht in einen Subkutikular-

Abb. 1 a, b. Das Drüsenköpfchen (↓) der Hydathoden von *Monarda* scheidet ein bis zehn Tröpfchen einer wäßrigen Flüssigkeit aus, die mit Hilfe von Paraffinöl sichtbar gemacht werden. 1000×, 460×

Abb. 2 a, b. Dunkle Areale lassen sich nach Behandlung mit Perjodsäure-Silbermenthenamin, einem Polysaccharidnachweis, im Drüsenköpfchen darstellen. 1800×, 500×

Abb. 3. Junge Drüsenköpfchen enthalten ein stark ausgeprägtes granuläres ER, zahlreiche aktive Dictyosomen (D), wenige Mitochondrien (M) und Leukoplasten (P) und Vakuolen (V), die mehr oder weniger viel osmiophiles Material enthalten. 12 600×

Abb. 4. Ein Ausschnitt aus einer Köpfchendrüse zeigt granuläres ER (ER) und aktive Dictyosomen (D). 52 000×

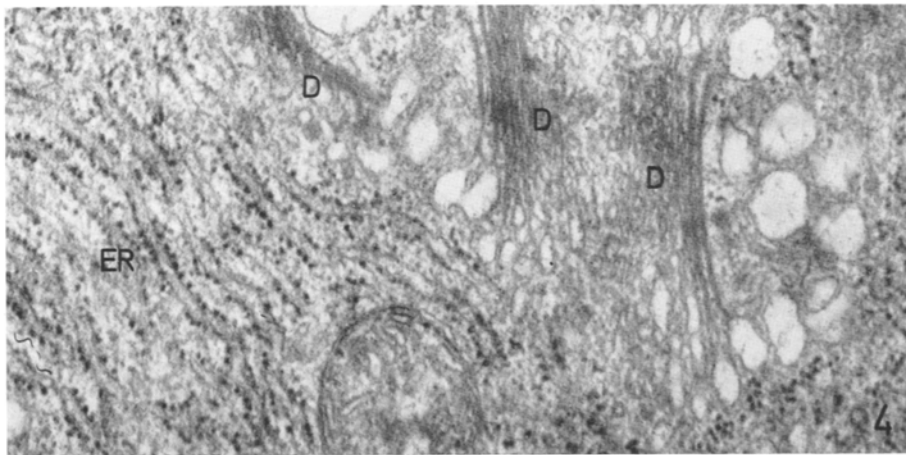
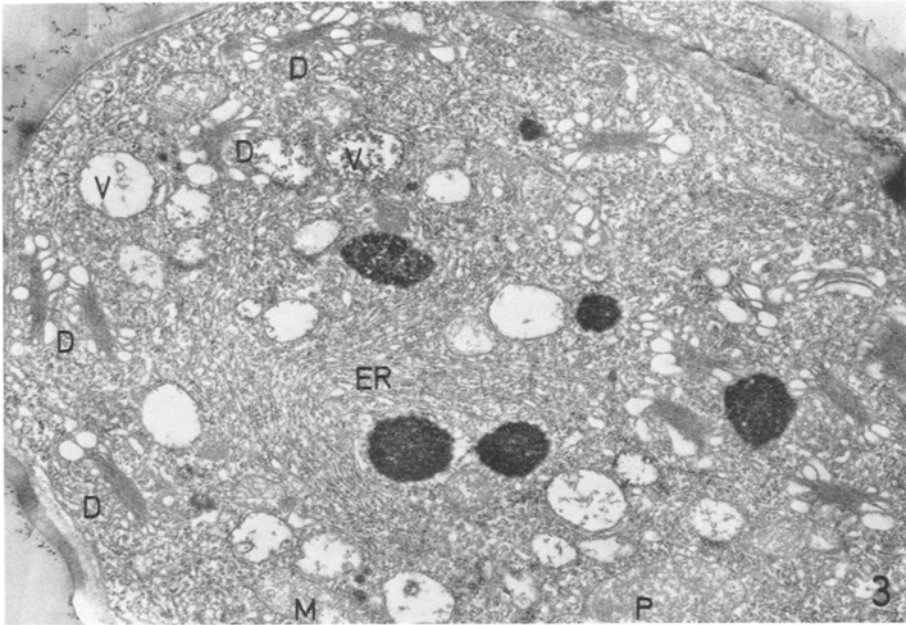
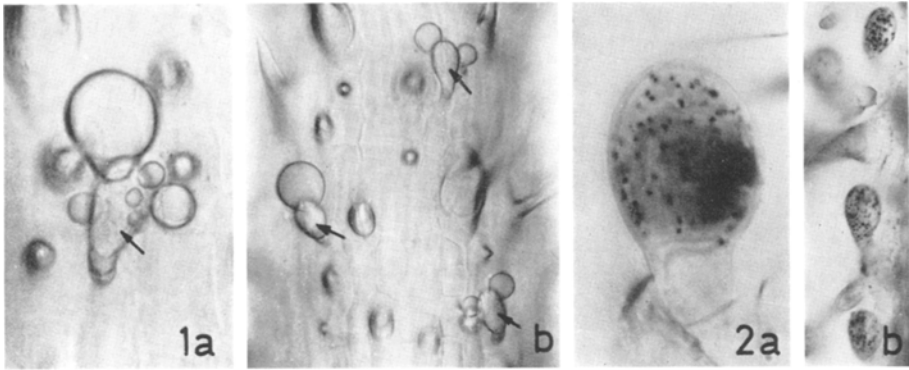


Abb. 1—4

raum ausgeschieden, sondern bleiben im Drüsenköpfchen. Diese Köpfchendrüsen sind auf der Blattober- und Unterseite, über den Blattrippen und im Interkostalfeld während der gesamten Vegetationsperiode anzutreffen, werden vor den Drüsenstüben angelegt und sezernieren meist bis zur dritten, manchmal auch vierten Insertion (von oben gezählt) eine wäßrige Flüssigkeit. Diese weist einen pH-Wert zwischen 6,4 und 6,9 auf und enthält keine freien Zucker. Im Hydrolysat ließen sich geringe Mengen von Galactose nachweisen. Die Ausscheidung erfolgt nicht nur am Drüsenstiel, wie das SCHNEPF (1965) für *Cicer* angibt, sondern durch verschiedene Stellen der Wand treten bis zu zehn kleine Tröpfchen aus (Abb. 1 *a* und *b*), die zu einem oder mehreren größeren Tropfen zusammenfließen. Die Extrusion ist nicht so hoch wie bei *Cicer* oder *Phaseolus* (LEPESCHKIN 1906), es wurden maximal $450 \mu\text{m}^3$ pro Minute durch eine Drüsenzelle ausgeschieden, d. h. innerhalb von 13 Minuten eine Flüssigkeitsmenge, die dem Drüsenvolumen entspricht. Die Zellkerne aus der Köpfchenzelle der Drüsenhaare ($275 \mu\text{m}^3$) sind mehr als doppelt so groß wie die undifferenzierter Epidermiszellen ($120 \mu\text{m}^3$), der Schließzellen ($118 \mu\text{m}^3$), der ein- und mehrzelligen Borstenhaare ($118 \mu\text{m}^3$), sowie die des Schwammparenchyms ($133 \mu\text{m}^3$). Die Zellkerne der ätherisches Öl sezernierenden Drüsenstübe fallen ebenfalls durch ihre Größe auf, von $242 \mu\text{m}^3$ zu Beginn der Sekretion schrumpfen sie bei ebenfalls noch sezernierenden älteren Drüsenzellen auf $186 \mu\text{m}^3$. Eine endomitotische Polyploidisierung trifft nach TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA (1954) für zahlreiche Trichome der Angiospermen zu. Die Zellkerne der Drüsenzellen könnten tetraploid sein, was WEBER und DEUFEL (1951) für die Drüsenhaare von *Achillea* vermuten. Als Hinweis dafür, daß es sich nur um eine funktionsbedingte Größenzunahme handeln könnte, ist der Umstand zu werten, daß die allerdings nicht posttelophasischen Zellkerne der Drüsenstübeninitiale mit $245 \mu\text{m}^3$ mehr als doppelt so voluminös wie die der Drüsenstielzellen ($122 \mu\text{m}^3$) sind. Da keine Chromosomenzählungen durchgeführt wurden und der Schluß von der Kerngröße auf den Polyploidiegrad gewagt ist, soll es dahingestellt bleiben, ob die Größe der Drüsenzellen durch Polyploidie oder auf Grund ihrer besonderen Aktivität zu erklären ist. Auffällig sind die zahlreichen aktiven Dictyosomen, die manchmal bis auf den vom Zellkern eingenommenen Raum die Köpfchenzelle weitgehend ausfüllen (Abb. 5). Ihre Zahl schwankt zwischen 600 und über 800 pro ausgewachsener Köpfchenzelle. Das ER ist granulär ausgeprägt (Abb. 4). Die Inhaltsstoffe sind von einer distinkten Membran umgeben (Abb. 3), stellen also wohl keine ätherischen Öle dar, wie AMELUNXEN (1964) für die ähnlich gebaute Köpfchendrüse von *Mentha piperita* annahm (vgl. SCHNEPF 1972). Es handelt sich höchstwahrscheinlich auch nicht um Gerbstoffe, was dem e-optischen Aspekt nach zu erwarten wäre, denn mit Hilfe von FeCl_2 kann man in den Epidermiszellen, den Borstenhaaren und den Schließzellen sehr wohl Gerbstoffe nachweisen, in den Drüsenstüben und Köpfchendrüsen aber keine. Acridinorange-Fluoreszenz zeigt nur Vakuolen

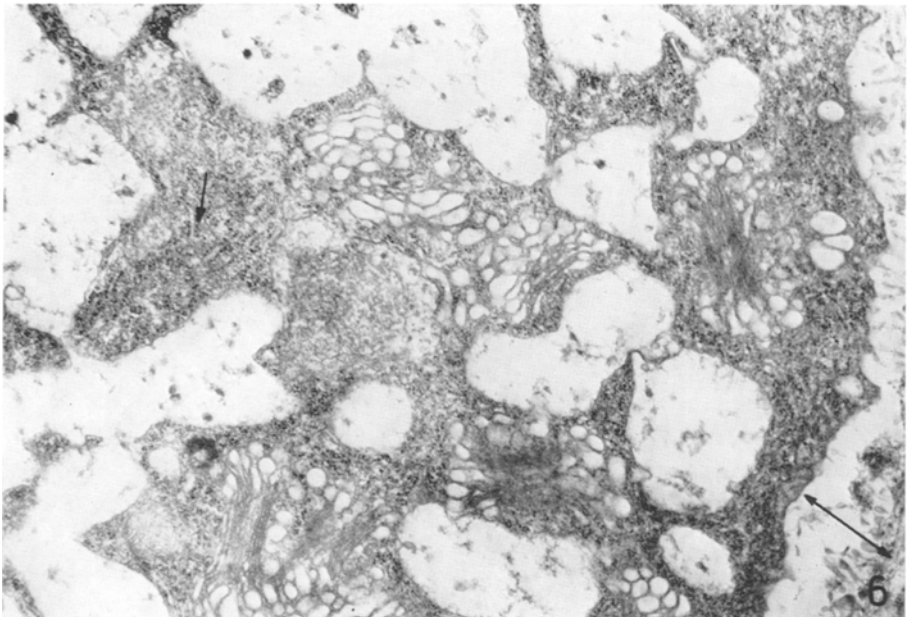
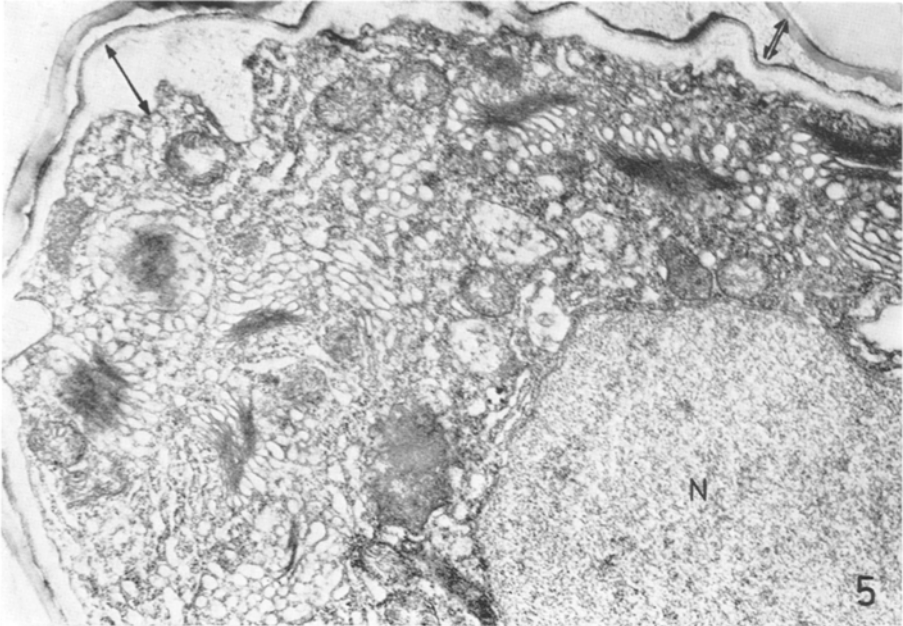


Abb. 5 und 6. In älteren aktiven Drüsenköpfchen sind ebenfalls die Dictyosomen die häufigsten Organellen. Vakuolen, die vollständig mit osmiophilem Material erfüllt sind, fehlen meist. Den ER-Zisternen haften auch jetzt noch Ribosomen an (\downarrow). Das Plasmalemma hat sich wohl als Folge der Fixierung artifiziell von der Zellwand retrahiert (\Leftrightarrow), die Kutikularschicht löst sich häufig von der Pektinschicht (\Leftrightarrow). N = Zellkern. 12 600 \times , 18 000 \times

mit leeren Zellsäften. Mit Rutheniumrot färbt sich nicht nur die Zellwand, sondern auch der Inhalt des Köpfchens zunächst homogen an, nach längerer Zeit heben sich $0,5\text{--}0,8\ \mu\text{m}$ messende Areale durch stärkere Färbbarkeit ab. Nach Anwendung von Perjodsäure-Silbermethenamin erscheinen bis $0,7\ \mu\text{m}$ große, dunkel gefärbte Gebilde (Abb. 2 *a* und *b*). Allerdings gelingt es nicht regelmäßig, diese Areale darzustellen, meist reagieren alle Drüsenköpfchen, auch die Zellwände, auf den Polysaccharidnachweis negativ. Eine Zuordnung dieser Niederschläge zu bestimmten Zellstrukturen ist daher nicht möglich. Der ganze Drüseninhalt färbt sich stark mit Sudan III, wobei keine Speicherung in einzelnen Tröpfchen stattfindet, sondern die Färbung wohl auf Grund des Membranreichtums zustande kommt. Kutikula und kutinisierte Schicht der Trichome sind zum Unterschied von den Borstenhaaren nur sehr schwach tingiert, was wegen der geringen Dicke dieser Schichten zu erwarten ist. Die Querwände zwischen Stiel- und Köpfchenzelle sind nicht kutinisiert. Alle älteren Drüsenköpfchen sind dadurch charakterisiert, daß das Plasmalemma der Zellwand nicht glatt anliegt, sondern entweder vollständig oder zumindest stellenweise abgehoben ist (Abb. 5 und 6). Es handelt sich dabei meist um eine artifizielle Retraktion der Protoplasten infolge der Fixierung (Abb. 5). Der Raum zwischen Plasmalemma und Zellwand enthält flockiges Material, dessen naheliegende Polysaccharidnatur aber nicht sicher bewiesen werden konnte. Bei der Exocytose durch Golgi-Vesikel werden die Vesikelmembranen in das Plasmalemma eingebaut, dieses wird aber nicht vergrößert. Ein Rückfluß von Membranen konnte nicht beobachtet werden, läßt sich aber, sollte er überhaupt über distinkte Vesikel erfolgen, wegen des Fehlens geeigneter Markierungen (z. B. in Form eines Membran-„coats“) nur schwer feststellen.

Die Regenerationszeit eines Dictyosoms kann aus der Anzahl der Dictyosomen pro Zelle und aus der von ihnen nach außen abgegebenen Wassermenge errechnet werden. Unter Regenerationszeit wird die Zeit verstanden, die von der Bildung einer Zisterne auf der Regenerationsseite bis zu ihrer Vesikulation auf der Sekretionsseite vergeht. Das Volumen des Drüsenköpfchens ohne Zellkern beträgt $5100\ \mu\text{m}^3$ (diese und die folgenden Angaben stellen jeweils das Mittel aus zehn Messungen dar). Auf $100\ \mu\text{m}^2$ wurden 19,9 Dictyosomen gezählt. Da deren Durchmesser $1,2\ \mu\text{m}$ beträgt, kommen auf $100\ \mu\text{m}^3$ 16,6 Dictyosomen, auf das gesamte Drüsenköpfchen danach 846. Setzt man pro Köpfchendrüse 846 Dictyosomen zu jeweils 8 Zisternen und eine durchschnittliche Wassersekretion von $300\ \mu\text{m}^3$ pro Minute ein, so gäbe eine Zisterne $0,04\ \mu\text{m}^3$ pro Minute ab. Das Volumen eines Dictyosoms beträgt $0,7\ \mu\text{m}^3$. Nimmt man an, daß davon 50% auf die wässrige, von den Zisternen eingeschlossene Phase entfallen, was wahrscheinlich zu niedrig gegriffen ist, so enthielte eine Zisterne $0,04\ \mu\text{m}^3$ Flüssigkeit. Danach würde von einem Dictyosom pro Minute eine Zisterne abgegeben und gleichzeitig eine andere restituiert, so daß die Regenerationszeit des gesamten Dictyosoms ca. acht Minuten betrüge.

4. Diskussion

Die Drüsenhaare von *Monarda* gleichen in ihrer Feinstruktur weitgehend den schleimsezernierenden Trichomen von *Rumex* and *Rheum* (SCHNEPF 1968). Da die von den *Monarda*-Trichomen sezernierte Flüssigkeit aber zumindest in den Wintermonaten nur Spuren von Galactose (nach Hydrolyse) und auch keine anderen Stoffe in größerer Menge enthält, sind die Trichome als Hydathoden zu bezeichnen. HABERLANDT (1894) verlegt die Pumpen für die Wasserabgabe der Trichom-Hydathoden in das Drüseninnere selbst. LEPESCHKIN (1906) stimmt darin überein, daß zahlreiche Trichom-Hydathoden aktiv Wasser ausscheiden. Er zeigt, daß der osmotische Wert bei den Trichomen von *Phaseolus multiflorus* von den Stielzellen über die wasserleitenden zu den wasserausscheidenden Köpfcenzellen ansteigt und vermutet weiter, daß die Wasserausscheidung auf Grund polarer Permeabilitätsunterschiede im Sinne von PFEFFER (1877) zustande käme (vgl. CURRAN und MACINTOSH 1962). Es wäre wohl möglich, daß bei einigen Trichomen die Wasserausscheidung auf diesem Weg vor sich geht. Eine eccrine Wasserausscheidung mit Hilfe von Carriern hält ZIEGLER (1965) für unwahrscheinlich. Bei *Monarda* liegt offensichtlich ein Beispiel einer granulokrinen Wasserausscheidung durch den Golgi-Apparat vor. Die für die Köpfcendrüse von *Monarda* errechnete Dictyosomenzahl erscheint sehr hoch, AMELUNXEN (1964) gibt aber für die fast gleich große *Menthadrüse* ebenfalls über 800 Dictyosomen an. Bei *Monarda* braucht die Abgabe bzw. Neubildung einer Zisterne etwa ebenso lang wie bei *Pleurochrysis scherffellii* (BROWN 1969). Die Angaben über *Drosophyllum* (SCHNEPF 1961), *Glaucocystis* (SCHNEPF und KOCH 1966 a) und *Vacuolaria* (SCHNEPF und KOCH 1966 b) lassen eine ähnlich hohe Kinetik des Golgi-Apparates wie bei *Monarda* erkennen.

Fräulein G. EIKENBERG danke ich für wertvolle Mitarbeit, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Unterstützung.

Literatur

- AMELUNXEN, F., 1964: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Drüsenhaaren von *Mentha piperita* L. *Planta med.* **12**, 121—139.
- BROWN, R. M., 1969: Observations on the relationship of the Golgi apparatus to wall formation in the marine chrysophycean alga, *Pleurochrysis scherffellii* Pringsheim. *J. Cell Biol.* **41**, 109—123.
- CURRAN, P. F., and J. R. MACINTOSH, 1962: A model system for biological water transport. *Nature* **193**, 347—348.
- HABERLANDT, G., 1894: Über Bau und Function der Hydathoden. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **12**, 367—378.
- KLINK, R., 1971: Über die Epidermisdifferenzierungen des Blattes von *Monarda fistulosa* (*Lamiaceae*). Hausarbeit in Biologie, Univ. Hamburg.
- LEPESCHKIN, W. W., 1906: Zur Kenntnis des Mechanismus der aktiven Wasserausscheidung der Pflanzen. *Beih. Bot. Ctrbl.*, I. A. **19**, 409—452.

- LUFT, J. H., 1961: Improvements in epoxy embedding methods. J. biophys. biochem. Cytol. **9**, 409—414.
- NAGL, W., 1968: Der mitotische und endomitotische Kernzyklus bei *Allium carinatum*.; Struktur, Volumen und DNS-Gehalt der Kerne. Öst. bot. Z. **115**, 322—353.
- PFEFFER, W., 1877: Osmotische Untersuchungen. Studien zur Zellmechanik. Leipzig: Engelmann.
- RAMBOURG, A., and C. P. LEBLOND, 1967: Electron microscope observations on the carbohydrate-rich cell coat present at the surface of cells in the rat. J. Cell Biol. **32**, 27—53.
- SCHNEPF, E., 1961: Quantitative Zusammenhänge zwischen der Sekretion des Fangschleimes und den Golgi-Strukturen bei *Drosophyllum lusitanicum*. Z. Naturforsch. **16 b**, 605—610.
- 1965: Licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Trichom-Hydathoden von *Cicer arietinum*. Z. Pflanzenphysiol. **53**, 245—254.
- 1968: Zur Feinstruktur der schleimsezernierenden Drüsenhaare auf der Ochrea von *Rumex* und *Rheum*. Planta (Berl.) **79**, 22—34.
- 1969: Sekretion und Exkretion bei Pflanzen. Protoplasmatologia VIII/8, Wien-New York: Springer-Verlag.
- 1972: Tubuläres endoplasmatisches Reticulum in Drüsen mit lipophilen Ausscheidungen von *Ficus*, *Ledum* und *Salvia*. Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP) **163**, 113—125.
- und W. KOCH, 1966 a: Golgi-Apparat und Wasserausscheidung bei *Glaucozystis*. Z. Pflanzenphysiol. **55**, 97—109.
- — 1966 b: Über die Entstehung der pulsierenden Vacuolen von *Vacuolaria virescens* (*Chloromonadophyceae*) aus dem Golgi-Apparat. Arch. Mikrobiol. **54**, 229—236.
- SCORA, R. W., 1967: Interspecific relationship in the genus *Monarda* (*Labiatae*). Univ. Calif. Publ. Bot. **41**, 1—59.
- TSCHERMAK-WOESS, E., and G. HASITSCHKA, 1954: Über die endomitotische Polyploidisierung im Zuge der Differenzierung von Trichomen und Trichozyten bei Angiospermen. Öst. bot. Z. **101**, 79—117.
- und DOLEŽAL-JANISCH, 1956: Rhythmisches Kernwachstum während der mitotischen Interphase von *Vicia faba*. Öst. bot. Z. **103**, 588—599.
- WEBER, U., and J. DEUFEL, 1951: Zur Cytologie der Drüsenhaare von *Achillea millefolium*. Arch. Pharmaz. **284**, 318—323.
- ZIEGLER, H., 1965: Die Physiologie pflanzlicher Drüsen. Ber. dtsh. bot. Ges. **78**, 466—477.

Anschrift des Verfassers: Prof. Dr. G. HEINRICH, Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg, Jungiusstraße 6, D-2000 Hamburg 36, Bundesrepublik Deutschland.