

treten immer nur einige Schichten mit besonderer Schärfe hervor. Ausgetrocknete Körner zeigen keine oder nur schwache Schichtung. Vom Kern gehen meist einige radiale Spalten aus, die nach innen zu breiter sind; sie erstrecken sich oft, an den Seiten des Kornes sich hinziehend, bis an dessen unteren Rand.

Die Excentricität steigt von $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{9}$, meist beträgt ihr Wert $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{7}$. Die drei Dimensionen der Fritillariastärkekörner sind sehr variabel. Die Länge beträgt bei den muschel- und bohnenförmigen $32\cdot2$ — $71\cdot3 \mu$, die Breite $27\cdot6$ — $55\cdot2 \mu$. Die dreieckigen haben eine Länge von $16\cdot1$ — $42\cdot5 \mu$, eine Breite von 23 — 46μ . Die Höhe, auf Durchschnitten bestimmt, schwankt bei den drei genannten Formen zwischen $9\cdot2$ — 23μ . Die Grösse der kugeligen Körner steigt von $4\cdot6$ — $17\cdot25 \mu$.

Die Verkleisterung der Fritillariastärke beginnt zwischen 60° bis 62° , und äussert sich in einer Rissbildung an der Peripherie des Kornes. Später gehen vom Kern in radialer Richtung eigenthümliche, fast pyramidenförmige Bildungen aus, die sich nahe bis an den Rand des Kornes erstrecken. Die Verkleisterung ist bei $77\cdot8^{\circ}$ zum grössten Theil, bei 79° ganz vollendet.

Kleinere Arbeiten des pflanzenphysiologischen Institutes der k. k. Wiener Universität. XXV.

Zur Verbreitung des Lignins bei Gefässkryptogamen.

Von Dr. Karl Linsbauer (Wien).

Auf Anregung Herrn Professor Wiesner's unterzog ich, vom phylogenetischen Gesichtspunkte ausgehend, die Verbreitung der Verholzung bei Gefässkryptogamen einer eingehenderen Untersuchung im Anschlusse an die Abhandlung von G. Gjokič: „Ueber die chemische Beschaffenheit der Zellhäute bei den Moosen“. ¹⁾

Es handelt sich dabei vorzüglich um die Entscheidung folgender Fragen: Auf welcher Stufe pflanzlicher Organisation tritt die Verholzung auf und wie vertheilt sich dieselbe auf die einzelnen Organe und Gewebe?

Zum qualitativen Nachweise der Verholzung bediente ich mich hauptsächlich der Wiesner'schen Holzstoffreaction mit Phloroglucin und Salzsäure ²⁾ und nahm nur in zweifelhaften Fällen auch zu anderen Reagentien und Tinctionsmethoden meine Zuflucht.

Die Versuche hingegen, auf Grund dieser Reaction eine quantitative Bestimmung der Lignification mit einiger Sicherheit zu erzielen, gaben kein befriedigendes Resultat, da zu viele Factoren dabei im Spiele sind.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Jahrg. 1895, Nr. 9.

²⁾ Wiesner, „Ueber das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellmembran“. Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch., Wien, Bd. LXXVII, 1878.

Ich prüfte in dieser Hinsicht die beiden von Zetsche¹⁾ angegebenen Methoden, welche er mit Recht als die einzigen bezeichnet, die es überhaupt erlauben, aus dem Grade der hervorgerufenen Färbung auf die Stärke der Verholzung zu schliessen. Er sagt l. c. pag. 234: „Zur quantitativen Bestimmung (d. Lignins) nimmt man entweder eine bestimmte Concentration der Lösung und lässt die Zeit variiren, oder man setzt eine bestimmte Einwirkungs-dauer fest und variirt die Concentration der Lösung.“

Beide Methoden gehen von dem Gedanken aus, dass die durch Anwendung des Reagens eintretende Färbung auf einer blossen Speicherung desselben durch die Ligninsubstanz bedingt sei, die umso schneller und intensiver erfolge, je grösser die die Verholzung bedingende Substanz wäre. Die Schnelligkeit der Speicherung scheint mir aber in gewissen Fällen nicht bloss von der Quantität der Holzsubstanz abhängig zu sein. So konnte ich, um nur ein Beispiel anzuführen, auf Radialschnitten durch einen jungen *Picea*-Zweig nach 4—6 Minuten den Eintritt der Rothfärbung der Tracheidenwände constatiren, während sich unter völlig gleichen Bedingungen auf Querschnitten durch dasselbe Stämmchen eine Färbung erst nach 20 Minuten bemerkbar machte. Zudem lassen dickere Zellwände oder dickere Schnitte den Eintritt der Reaction bedeutend leichter erkennen, so dass sie sich schneller und intensiver zu färben scheinen. Die Methode erfordert mithin auch gleichmässige dicke, also Mikrotomschnitte, und wie Zetsche selbst erwähnt, Beobachtung bei gleicher Vergrösserung, wodurch sie, wenn überhaupt brauchbar, äusserst complicirt wird.

Bei Pilzen und Flechten wurde das Vorkommen von Lignin in der Membran wiederholt behauptet. Burgerstein²⁾ führt schwache Verholzung auf Grund der Reaction mit schwefelsaurem Anilin³⁾ für einige Flechten (*Bryopogon ochroleucus*, *Cladonia furcata*, *Imbricaria physodes* u. A.) an, fand sie jedoch niemals bei Pilzen, Niggli⁴⁾, welcher Indol und Schwefelsäure als Reagens in Anwendung brachte, gibt sie für eine Reihe von Pilzen und Flechten an, während Harz⁵⁾ unter 33 Pilzspecies bloss bei *Elaphomyces* mit Phloroglucin und Salzsäure „Lignin“ nachweisen konnte.

Forssell⁶⁾ und später Gjökič (l. c.), welche diese Angaben nachuntersuchten (beide wandten Phloroglucin und Salzsäure an),

¹⁾ Zetsche Fr., „Beiträge zur Untersuchung der verholzten Membran“. Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie, Bd. II, 1896.

²⁾ „Untersuchungen über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffes in den Geweben der Pflanzen“. Sitzungsber. d. kais. Ak. d. Wiss., Wien, Bd. LXX, 1874.

³⁾ Eingeführt von Wiesner in Karsten's botanischen Untersuchungen, Bd. I, Berlin 1867, und „Technische Mikroskopie“, Wien 1867, p. 64.

⁴⁾ „Das Indol als Reagens auf verholzte Membranen“. Flora, Regensburg 1881, Nr. 35.

⁵⁾ „Ueber das Vorkommen von Lignin in der Pilzmembran“. Botan. Centralbl. Bd. XXIII, 1885, p. 371 f.

⁶⁾ „Beiträge zur Mikrochemie der Flechten“. Sitzungsber. d. kais. Ak. d. Wissensch., Wien, Bd. XCIII, 1886.

fanden jedoch keinen einzigen Fall bestätigt. Schellenberg¹⁾, dem wohl die Arbeiten der beiden letztgenannten Autoren unbekannt waren, führt neuerlich auf Grund derselben Reaction Verholzung bei *Penicillium glaucum*, *Cetraria islandica* und *Cladonia furcata* an, bemerkt jedoch, dass das Auftreten von Lignin in diesen Fällen nicht constant sei. Ich selbst konnte aber weder bei den letztgenannten noch bei anderen Pilzen und Lichenen eine Holzreaction mit Phloroglucin und Salzsäure wahrnehmen²⁾, so dass ich zur Annahme genöthigt bin, dass Lignin hier nirgends constant auftritt oder — was mir wahrscheinlicher dünkt — dass es sich um Ausscheidungs- oder Umwandlungsproducte handelt, welche unter gewissen Verhältnissen auftreten und mit Phloroglucin und Salzsäure, respective Indol und Schwefelsäure Rothfärbung geben.³⁾

Bezüglich der Moose äussert sich Schellenberg l. c. pg. 249 folgendermassen: „Bei Moosen tritt die Verholzung ebenfalls auf. Im Stengel sind es gewöhnlich die Zellen des mechanischen Ringes, welche verholzen. So z. B. bei *Polytrichum*.“ Gjokič hingegen hat in der Eingangs citirten Arbeit an zahlreichen Moosen (auch bei *Polytrichum*) den Nachweis geführt, dass bei denselben in keinem Theile Verholzung auftritt. Ich untersuchte selbst *Polytrichum commune* L. und *P. juniperinum* Hedw. von verschiedener Provenienz, sowie eine Reihe anderer Moose (von solchen, welche Gjokič nicht untersuchte, erwähne ich: *Cinclidotus aquaticus* L., *Anomodon viticulosus* Hook., *Thuidium recognitum* Schpr., *Brachythecium plicatum* Lebp., *Barbula unguiculata* Hedw., *Plagiothecium pulchellum* Br. et Sch.), kann aber nur die Angaben Gjokič' vollinhaltlich bestätigen.

Alle von mir untersuchten Gefässkryptogamen erwiesen sich hingegen, einen einzigen Fall ausgenommen, constant verholzt. Es zeigt sich also nach meinen Untersuchungen in Bezug auf die Verholzung der Membran ein gewisser Gegensatz zwischen Thallophyten und Bryophyten einerseits und Pteridophyten (und Phanerogamen) andererseits, wie er auch nach unseren bisherigen Kenntnissen in morphologischer speciell entwicklungs-geschichtlicher Hinsicht besteht. Das (constante) Auftreten der Verholzung tritt also mit der Ausbildung der Gefässstracheiden (im Sinne Strasburger's) in Erscheinung, ohne aber allein auf diese beschränkt zu sein, wie aus den folgenden Untersuchungen hervorgeht.

1) „Beiträge zur Kenntniss der verholzten Zellmembran“. Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. XXIX, 1896, pg. 249. Dasselbst auch zahlreiche Beiträge zur Kenntniss der Verbreitung der Holzsubstanz.

2) Bei einigen *Cetraria*-Individuen trat allerdings stellenweise eine rosa, bald in gelbbraun umschlagende Färbung auf, die aber mit Verholzung wohl nichts zu thun hat.

3) Algen habe ich selbst in Bezug auf Verholzung nicht näher geprüft. Nach Burgerstein kommt sie denselben nicht zu, was nach der geringen Tendenz zu verholzen, welche submerse Pflanzen besitzen, auch wahrscheinlich ist. Niggli findet unter zahlreichen Algen nur zwei *Cosmarium*-Arten durch Indol und Schwefelsäure roth gefärbt.

Ich will nun in Kürze den Antheil der wichtigsten Gewebearten der Pteridophyten am Verholzungsprocesse betrachten.

Die Xylemelemente weisen bekanntlich fast durchwegs Lignin in der Membran auf.¹⁾ Eine sichere Ausnahme macht nur *Isoëtes lacustris* Dur.²⁾, das überhaupt in keinem Theile verholzt, worauf schon Burgerstein³⁾ hinwies. Bei *Salvinia* konnte ich zwar im Stamme eine schwache Röthung der tracheidalen Elemente constatiren, vermisste jedoch eine Verholzung im Xylem des Blattes.⁴⁾ Alle anderen untersuchten Hydropterideen (*Marsilia*, *Pilularia*, *Azolla*) verhalten sich jedoch in dieser Beziehung wie die übrigen Pteridophyten.

Eine andere Ausnahme machen gewisse *Lycopodien*, insoferne als bei ihnen Antheile des Phloëms verholzen können. Ich fand eine solche partielle Verholzung namentlich im Protophloëm von *Lycop. volubile* Forst.⁵⁾ Häufiger verholzen die Phloëmpartien des Blattes (*Lyc. Phlegmaria* L., *L. filiforme* Roxbgh., *L. annotinum* L. u. a.).

Eine grössere Mannigfaltigkeit der chemischen Beschaffenheit der Zellwand zeigt sich an den Elementen des Grundgewebes.

Die mechanischen Elemente, die alle Uebergänge von Sclerenchymfasern zum typischen Parenchym aufweisen können, zeigen zumeist deutliche Verholzung. In den Blattstielen der Farne im engeren Sinne sind die Wände der Sklerenchymfasern nicht selten farblos und geben dann deutliche Reaction mit Phloroglucin-Salzsäure. Als typische Beispiele führe ich von den von mir untersuchten Species an: *Drynaria coronans* J. Sm.⁶⁾, *Platyserium alcicorne* Desd., *Lonchitis hirsuta* L., *Acrostichum aureum* L., *Doodia caudata* R. Br., *Asplenium celtidifolium* Mett., *Phegopteris prolifera* Mett., *Gleichenia dichotoma* Hook.⁷⁾ u. a.

Häufig jedoch nehmen die Wände dieser Zellen einen gelben bis bräunlichen Farbenton an. In diesem Falle kann man hin und wieder (namentlich bei Anwendung intensiver Beleuchtung und geringer Blendung) die durch das Reagens hervorgerufene Röthung als Mischfarbe deutlich erkennen (z. B. *Blechnum occidentale* L.). In der Regel ändern aber die Zellwände ihre Färbung auf Zusatz des Reagens nicht, was besonders an älteren Blattstielen der Fall

¹⁾ Vergl. u. a. Schellenberg l. c. pg. 249. Ich kann mich natürlich weder hier noch in der Folge auf die gesammte diesbezügliche Literatur einlassen, ohne den Rahmen dieser kleinen Mittheilung unnöthig zu überschreiten.

²⁾ Ich untersuchte ein völlig submers vegetirendes Individuum.

³⁾ l. c. pg. 9, Anm.

⁴⁾ Mir stand leider nur mangelhaftes Material zur Verfügung, so dass ich das Fehlen der Verholzung im Blatte nicht unbedingt sicher behaupten kann.

⁵⁾ Vergl. meine Arbeit: „Beiträge zur vergleichenden Anatomie einiger tropischer Lycopodien“. Sitzungsber. d. Ak. d. Wissensch., Wien, Bd. CVII, Abth. 1, 1898. Aus dieser Arbeit stammen auch die Angaben, welche ich in der Folge über Verholzung bei Lycopodien anführe.

⁶⁾ Das Farnmaterial stammte zumeist aus dem botanischen Universitätsgarten, dessen Director, Herrn Prof. v. Wettstein, ich hiefür meinen ergebensten Dank abstatte.

⁷⁾ Weitere Beisp. bei K. Thomaë „Die Blattstiele der Farne“. Jahrb. für wiss. Bot., Bd. XVII. 1886, pg. 99 ff.

ist.¹⁾ Geht man auf solche Entwicklungsstadien zurück, wo die Membranen noch farblos sind, dann kann man aber auch hier oft Verholzung constatiren (*Chrysodium crinitum* L., *Pteris crenata* Sw.). Diese Thatsache spricht entschieden für die Annahme Thomae's, der zufolge die Gelbfärbung dieser Membranen in einem nahen Zusammenhange mit der Verholzung steht.²⁾

Ganz ähnlich verhält sich unter den Hydropterideen *Marsilia*, wo die mechanischen Elemente einen peripheren Mantel und das gesammte Mark bilden. Auch hier tritt die Verholzung auf, sobald die Zellen ihre definitive Dicke erreicht haben, aber noch farblos sind, während sich in älteren Stämmen die Membranen bräunen und keine Ligninreaction mehr geben.

Bei den Equiseten sind die mechanischen Elemente der oberirdischen Stämme durchwegs farblos und unverholzt (z. B. *Equ. limosum* L., *E. arvense* L., *E. hiemale* L.).

Bei den Lycopodien erweisen sich die mechanischen Elemente hingegen (bisweilen nur in der Mittellamelle) verholzt (z. B. *Lyc. complanatum* L., *L. clavatum* L., *L. annotinum* L., *L. volubile* Forst.), oder sie bleiben unverholzt und sind dann oft gelbbraun tingirt (*L. nummularifolium* Blume, *L. Phlegmaria* L., *L. filiforme* Roxbgh.).

Die von mir untersuchten Arten der Gattung *Selaginella* besaßen sämmtlich farblose Sclerenchymfasern, welche nur in den Mittellamellen verholzt waren (*Sel. Martensii* Spring, *S. Willdenovi* Baker, *S. grandis* Moore, *S. erythropus* Spring).

Das Parenchym verholzt viel seltener. Ich nenne als Beispiele von Farnen *Polypodium ireoides* Poir., von Lycopodiaceen *Lyc. annotinum* L., *L. volubile* Forst. und *L. clavatum* L.

Bei einigen Lycopodien (*L. complanatum* L., *L. clavatum*, *forma divaricatum* Wall.) gibt selbst das Mesophyll deutliche Ligninreaction.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass in zahlreichen Fällen bei allen Familien der Pteridophyten die Radialwände (bei vielen Lycopodien auch die übrigen Wände) der Endodermis (im Sinne de Bary's) Holzreaction geben.³⁾

Die Epidermis verholzt im Allgemeinen bei den Pteridophyten in viel ausgedehnterem Masse als bei Phanerogamen, wo dies nur in Ausnahmefällen anzutreffen ist.⁴⁾

Bei Farnen wurde dieses Verhalten der Oberhaut der Blattstiele schon mehrfach beschrieben [Lemaire⁵⁾, Thomae (l. c.),

¹⁾ Die gelbbraune Farbe als solche schliesst das Erkennen der Phloroglucin-Salzsäure-Reaction nicht aus, wie später an Sporangien gezeigt werden soll.

²⁾ l. c. pg. 104.

³⁾ Vergl. hierüber auch Niggli l. c. pg. 554 f. und Schellenberg l. c. pg. 254.

⁴⁾ Burgerstein fand sie bei seinen ausgedehnten Untersuchungen nur in den Samenflügeln der Coniferen, l. c. Sep.-A. pg. 7.

⁵⁾ Ad. Lemaire, „De la lignification de quelques membranes epidermiques“. Ann. de sc. nat., Sér. VI, T. XV.

Gjokič (l. c.]). Die Epidermiszellen verholzen hier meist in ihrem ganzen Umfange (z. B. *Phegopteris prolifera* Mett., *Gleichenia dichotoma* Hook., *Polypodium glaucophyllum* Kze., *Acrostichum aureum* L.). Merkwürdigerweise traf ich jedoch in der Lamina stets unverholzte Oberhautzellen an.

Bei den Lycopodien habe ich schon bei früherer Gelegenheit (l. c.) auf das häufige Vorkommen von Lignin in den Epidermiselementen hingewiesen. Hier tritt die Holzreaction gleichfalls an sämtlichen Wänden hervor, oder sie bleibt auf Innen- und Seitenwände beschränkt.

Die Oberhaut der Blätter ist in dieser Familie ebenfalls sehr häufig verholzt. Dabei weist bei den vegetativen Blättern in der Regel die morphologische Unterseite Lignin in grösserem Masse auf als die Oberseite, während sich diese Verhältnisse in den Sporophyllen meist umkehren.

Von Selaginellen mit verholzter Epidermis des Stammes seien als Beispiele genannt: *Sel. grandis* Moore und *S. Martensii* Spring.

Am interessantesten und zu wenig gewürdigt scheint mir die Verholzung der Schliesszellen zu sein, ein Verhalten, das meines Wissens nur für Cycadeen¹⁾ und Coniferen²⁾ bekannt ist.

Bei den Farnen treten mehrere diesbezügliche Typen auf. Im einfachsten Falle verholzen die Schliesszellen nur soweit sie einander berühren. Dies ist der Fall bei: *Aspidium Filix mas* Sw., *Blechnum occidentale* L., *Platynerium alaicorne* Desv., *Acrostichum aureum* L. u. a.

Bei anderen Arten ist das Lignin namentlich auf die Umgebung der Centralpalte beschränkt, z. B. *Osmunda regalis* L., *Gleichenia semivestita* Labill.

Endlich können auch sämtliche Wände Holzreaction geben, wofür als Beispiel *Gleichenia dichotoma* Hook. genannt sei.

Bei den Lycopodien sind gleichfalls verholzte Schliesszellen verbreitet. Gewöhnlich findet man in die den Hinterhof oder Vor- und Hinterhof bildenden Membranen eine verholzte Lamelle eingelagert. Die Verholzung erstreckt sich meist bis zum inneren Hautgelenk. Beispiele hiefür finden sich in meiner ausführlicheren Arbeit über tropische Lycopodien.

Unter den übrigen Arten Lycopodiaceen fand ich nur noch bei *Psilotum* Lignin in den Schliesszellen.

Dass in manchen Fällen nur der Spaltöffnungsapparat theilweise verholzt ist, während die übrige Epidermis holzfreie Membranen besitzt, scheint darauf zu deuten, dass die Verholzung in diesen Fällen in einer gewissen Beziehung mit der Function der Spaltöffnungen steht, worüber derzeit freilich nichts Bestimmtes ausgesagt

¹⁾ G. Kraus, „Ueber den Bau der Cycadeenfidern“. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. IV, 1865—1866. — Ad. Lemaire, l. c.

²⁾ Mahlert, „Beiträge zur Kenntniss der Anatomie der Laubblätter der Coniferen etc.“. Bot. Centralbl. Bd. XXIV, 1885. — Klemm P., „Ueber den Bau der beblätterten Zweige der Cupressineen“. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XVII, 1886, pg. 532.

werden kann. Jedenfalls reicht die Theorie, welche Schellenberg zur Erklärung der physiologischen Bedeutung der Verholzung aufstellt, in unserem Falle kaum aus. Wenn dieser Forscher sagt: „Die physiologische Bedeutung der Verholzung ist in der Thatsache zu suchen, dass eine verholzte Membran kein Wachsthum mehr zeigen kann“, so lässt sich dadurch der Grund der partiellen Verholzung einer Zelle nur sehr gezwungen erklären.

Eine theilweise Verholzung fand ich auch in den Haaren von *Acrostichum aureum* L., bei denen nur etwa zwei Drittel von der Basis an verholzt sind.

Ich erwähne noch, dass sich bei einigen Lycopodien und Farnen (namentlich deutlich im Blattstiel von *Drynaria coronans* J. Sm.) auch die Cuticula mit Phloroglucin und Salzsäure roth färbt.¹⁾

Von Interesse ist auch die allgemeine Verbreitung des Lignins in den Aussenwänden der Sporangien. Bei Farnen sind sie meist ziemlich dunkel gelbbraun bis braun tingirt, lassen aber den Eintritt der Rothfärbung nach längerer Einwirkung des Reagens deutlich erkennen. Verholzt erweisen sich dann sämmtliche Wände der äusseren Zellschichte, namentlich die Verdickungsmassen jener Zellen, welche den Annulus bilden, sowie die obersten, d. h. die dem Sporangium zunächst stehenden Stielzellen.

Bei den Equiseten und Lycopodien finde ich gleichfalls bei der überwiegenden Mehrzahl die Zellen der äusseren Sporangiumwand verholzt.²⁾

Aus den vorhergehenden Untersuchungen, die sich auf eine verhältnissmässig geringe Anzahl von Pteridophyten erstrecken, ergibt sich doch zur Genüge, dass bei dieser Pflanzengruppe der Verholzungsprocess ausserordentlich verbreitet ist und sich auf nahezu sämmtliche Gewebeformen erstrecken kann. Berücksichtigt man namentlich das häufige Vorkommen von Lignin in der Epidermis und den Spaltöffnungen, so erscheint die Annahme nicht unberechtigt, dass die unvollkommenere Arbeitstheilung, welche auf dieser Organisationsstufe in morphologischer Beziehung nachweisbar ist, auch im Chemismus der Zellwand zum Ausdrucke kommt.

¹⁾ Niggel fand gleichfalls Rothfärbung der Cuticula mit Indol und Schwefelsäure an jungen Sprossen von *Aesculus Hippocastanum* L., *Acer Pseudoplatanus* L. und *Hippuris vulgaris* L., ohne jedoch Verholzung anzunehmen (l. c. pg. 549, 562 Note). Schellenberg sagt hingegen l. c. pg. 254: „Die Epidermiszellen haben eine verholzte Cuticula“. Dass suberinhältige Membranen, welche mit cuticularisirten eine gewisse Aehnlichkeit haben, gleichzeitig auch verholzt sein können, hat zuerst Wiesner nachgewiesen. Vergl. „Technische Mikroskopie“, Wien 1867, pg. 120.

²⁾ Auch bei höheren Pflanzen sind bisweilen die Wände der Mikrosporangien (Pollensäcke) verholzt, z. B. bei *Ceratozamia mexicana*, *Pinus austriaca*, *Helleborus niger*.