

ELEKTRONENMIKROSKOPIE DER SPORODERMIS VON MEGASPOREN DER GATTUNG *SELAGINELLA* (PTERIDOPHYTA)

EUGEN K. KEMPF

Geologisches Institut der Universität, Köln (Deutschland)

(Eingegangen den 16. Mai 1969)

SUMMARY

Electron microscopy of the sporoderm of megaspores of the genus Selaginella (Pteridophyta)

Recent megaspores of *Selaginella galeottii*, *S. selaginoides*, and *S. usta* have been investigated in ultrathin sections with the aid of an electron microscope. The sporoderm is composed of three layers, which are named intine, exine, and perine. A mesine does not exist. The intine shows a lamellar fine structure. The exine consists of a remarkable thin and quite homogeneous membrane, which until now has been regarded as the mesine or endexine. By far the largest part of the sporoderm is formed by the perine, which shows a monozonal (*S. selaginoides*), bizonal (*S. usta*), or trizonal (*S. galeottii*) kind of formation. The fine structure of the perine is composed of a network of threads and looks different from species to species. In addition to this the sculpture of the spore surface is formed by the perine alone. Therefore, it is possible to use the fine structure of the perine as well as the ornamentation of the spore surface for taxonomical purposes.

ZUSAMMENFASSUNG

Ultradünnschnitte rezenter Megasporen von *Selaginella galeottii*, *S. selaginoides* und *S. usta* wurden im Elektronenmikroskop untersucht. Die Sporodermis besteht aus drei Schichten, die als Intine, Exine und Perine bezeichnet werden. Eine Mesine existiert nicht. Die Intine zeigt eine lamellare Feinstruktur. Die Exine besteht aus einer bemerkenswert dünnen und ziemlich homogenen Membran, die bisher als Mesine oder Endexine angesprochen wurde. Der bei weitem grösste Teil der Sporodermis wird von der Perine aufgebaut, welche eine monozonale (*S. selaginoides*), bizonale (*S. usta*) oder trizonale (*S. galeottii*) Art der Ausbildung zeigt. Die Feinstruktur der Perine wird von einem Netzwerk von Fäden aufgebaut und sieht von Art zu Art verschieden aus. Ferner wird die Skulptur der Sporenoberfläche ausschliesslich von der Perine gebildet. Es ist deshalb möglich, die

Feinstruktur der Perine ebensogut wie die Oberflächenskulptur der Spore für systematische Zwecke zu benutzen.

EINFÜHRUNG

In mehreren Arbeiten ist schon versucht worden, die Feinstruktur der Sporodermis von Megasporen der Gattung *Selaginella* anhand von Ultradünnschnitten und mit Hilfe des Elektronenmikroskops zu erschliessen (AFZELIUS et al., 1954; STAINIER, 1965, 1967; PETTITT, 1966). Besonders Stainier gelang es dabei, in der Megasporenwand von *S. myosurus* (Sw.) ALSTON (Synonym: *S. scandens* (BEAUV.) SPRING) hochinteressante Differenzierungen nachzuweisen.

Diese an *Selaginella* gewonnenen Ergebnisse waren jedoch zunächst mit eigenen elektronenmikroskopischen Untersuchungen an rezenten und fossilen Megasporen der Gattungen *Azolla* (KEMPF, 1969) und *Salvinia* (KEMPF, in Druckvorbereitung) nicht in Übereinstimmung zu bringen. Vielmehr musste angenommen werden, dass bei den bisherigen Arbeiten über *Selaginella* entweder nur Teilbereiche der Sporodermis untersucht oder die erzielten Ergebnisse falsch interpretiert worden waren.

Zur Klärung der anstehenden Fragen führte ich deshalb ebenfalls elektronenmikroskopische Untersuchungen an Megasporen einiger *Selaginella*-Arten durch. In einer früheren Arbeit (KEMPF, 1969) ist bereits kurz über Teilergebnisse berichtet worden. Nachfolgend werden die Resultate dieser Untersuchungen ausführlich dargestellt und diskutiert.

MATERIAL

Es wird in dieser Arbeit über Ergebnisse berichtet, die an Megasporen von folgenden drei Arten der Gattung *Selaginella* gewonnen wurden:

Selaginella galeottii SPRING (Tafel I, E, F, Sammlung GIK 9599)

Die reifen Megasporen besitzen einen Durchmesser von $575 \pm 75 \mu$ (alle Messungen an 20 Exemplaren). Kleinere Megasporen kommen ebenfalls vor; diese sind jedoch offensichtlich abortiert oder noch nicht ausgereift.

Die Form der Megasporen ist nahezu kugelig. Der proximale Bereich lässt die Anlage der dreistrahligen Keimöffnung deutlich erkennen. Die Strahlen dieser Y-Marke bilden hohe, gratförmige Germinalrücken oder Tecta, erreichen den Äquator der Spore aber nicht. Die Skulptur der Sporenoberfläche besteht aus einem Reticulum. Die Netzleisten sind nur etwas weniger erhaben als die Strahlen der Keimöffnungsmarke. Sie schliessen meist annähernd gleichgrosse grubenförmige Zwischenräume ein. Nur im Bereich der Kontaktareen werden die

Zwischenräume zum Apex hin stärker ausgelängt und dadurch grösser. Durch diese Veränderung in der Ausbildung der Skulptur erscheinen die Kontaktareen oft wie durch mauerartige Curvaturae gegen den übrigen Teil der Sporenoberfläche abgegrenzt.

TAFEL I (S. 102–103)

A–F. Auflichtmikroskopische Aufnahmen.

G–I. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

Abkürzungen: *EX* = Exine, *IN* = Intine, *PE* = Perine, *SI* = Silifizierung, *GS* = Germinalsutur.

A, B. Rezente Megasporen von *Selaginella selaginoides* (L.) LINK, gesammelt vom natürlichen Standort nahe Enontekiö, Nord-Finnland. A. Proximalansicht mit Y-Marke und Kontaktareen. B. Seitenansicht. Distaler Bereich bei allen zur Untersuchung verfügbaren Sporen eingefaltet. Ursprünglicher Verlauf des Aussenrandes durch gestrichelte Linie angedeutet.

C, D. Rezente Megasporen von *S. usta* VIEILLARD aus dem Botanischen Garten von Antwerpen, Belgien. C. Proximalansicht mit Y-Marke, Kontaktareen und Äquatorsaum (Zona). D. Seitenansicht. Zona wellig.

E–I. Rezente Megasporen von *S. galeottii* SPRING aus dem Botanischen Garten von Antwerpen, Belgien. E. Proximalansicht mit Y-Marke und Kontaktareen. F. Seitenansicht. Netzskulptur deutlich. G. Kompletter Längsschnitt. Sehr niedrige Vergrößerung infolge unterfokussierter Zwischenlinsen-Abbildung. Ein Strahl der Y-Marke wurde nahe dem Aussenrand durchschnitten. H. Fokussierte Zwischenlinsen-Abbildung. Sporoderms aus drei Schichten bestehend: Intine, Exine und Perine. In der Germinalrücken-Region zeigt die Intine durch Quellung eine enorme Verdickung. Exine von konstanter Dicke. Perine aus drei Zonen bestehend und Germinalsutur zeigend. Die äussere Zone der Perine bildet im wesentlichen die Oberflächenskulptur, welche aus Netzleisten besteht. An ihrem Innenrand ist die äussere Zone stark silifiziert. I. Ausschnitt aus der Perine. Mittlere Zone mit mehrfach orientierten Strukturelementen. Äussere Zone sehr dünn und völlig silifiziert.

PLATE I (pp.102–103)

A–F. Photomicrographs by reflected light.

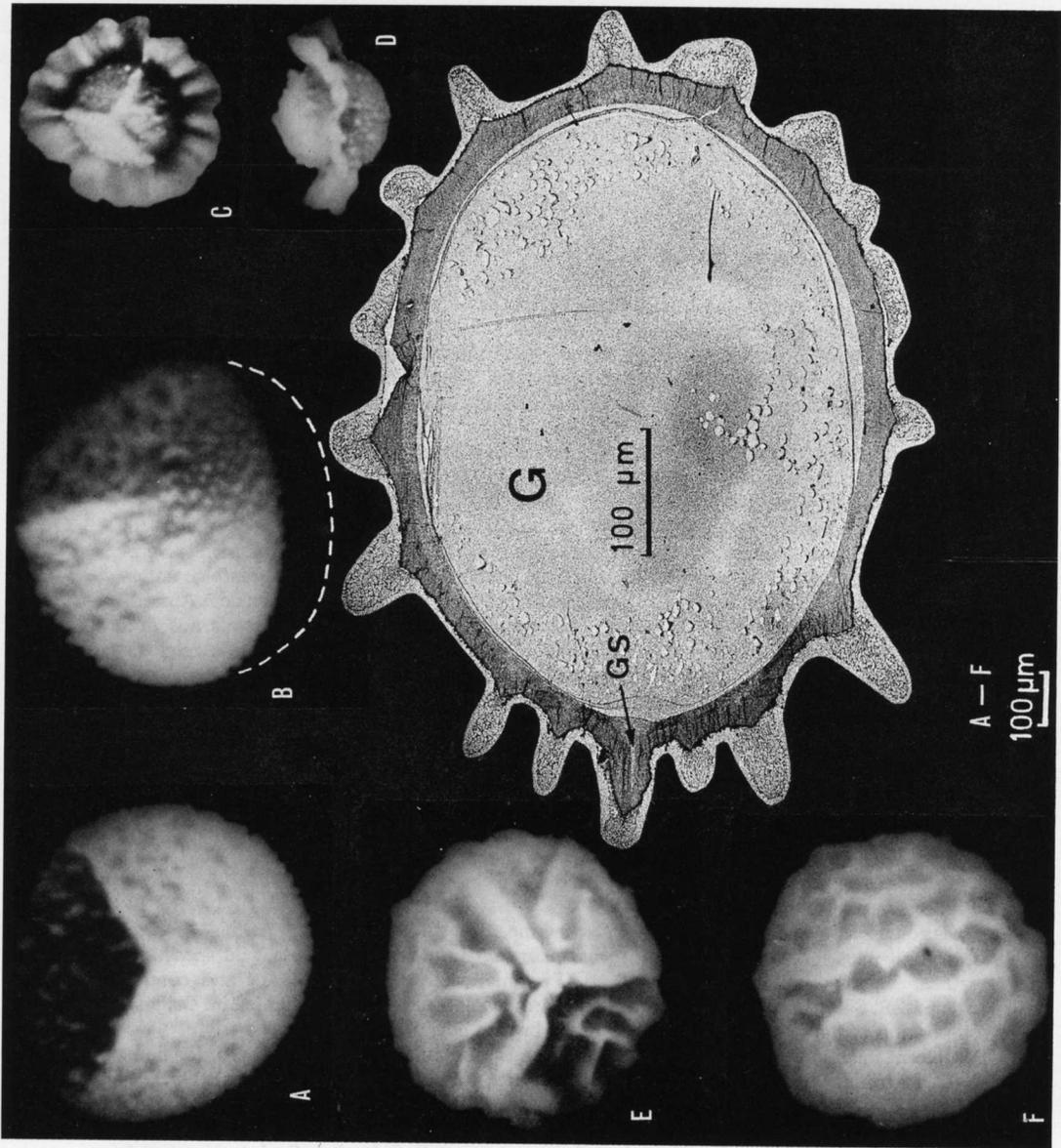
G–I. Electron photomicrographs.

Abbreviations: *EX* = exine, *IN* = intine, *PE* = perine, *SI* = silification, *GS* = germinal suture.

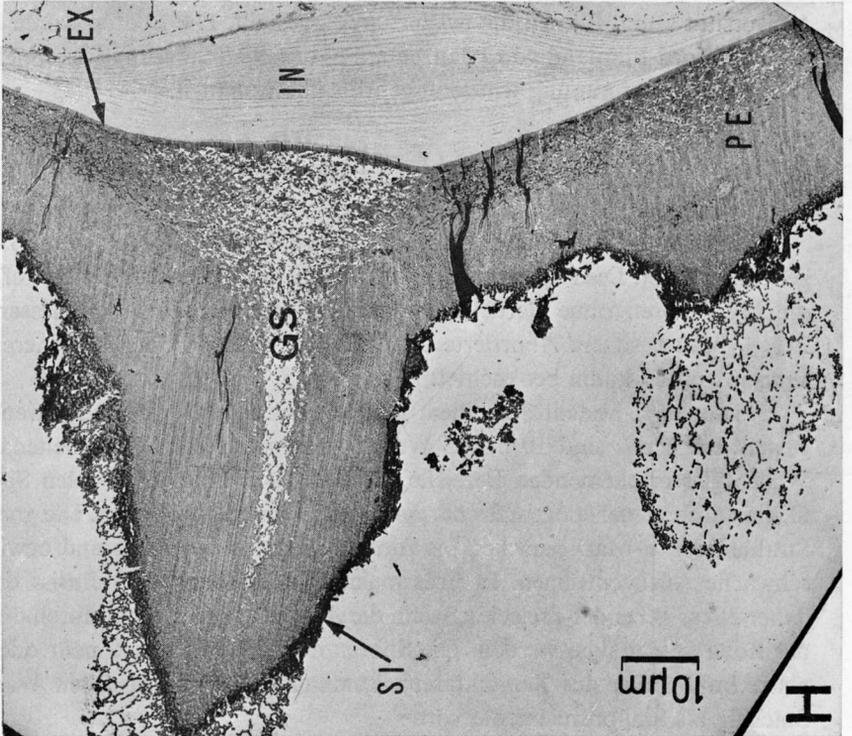
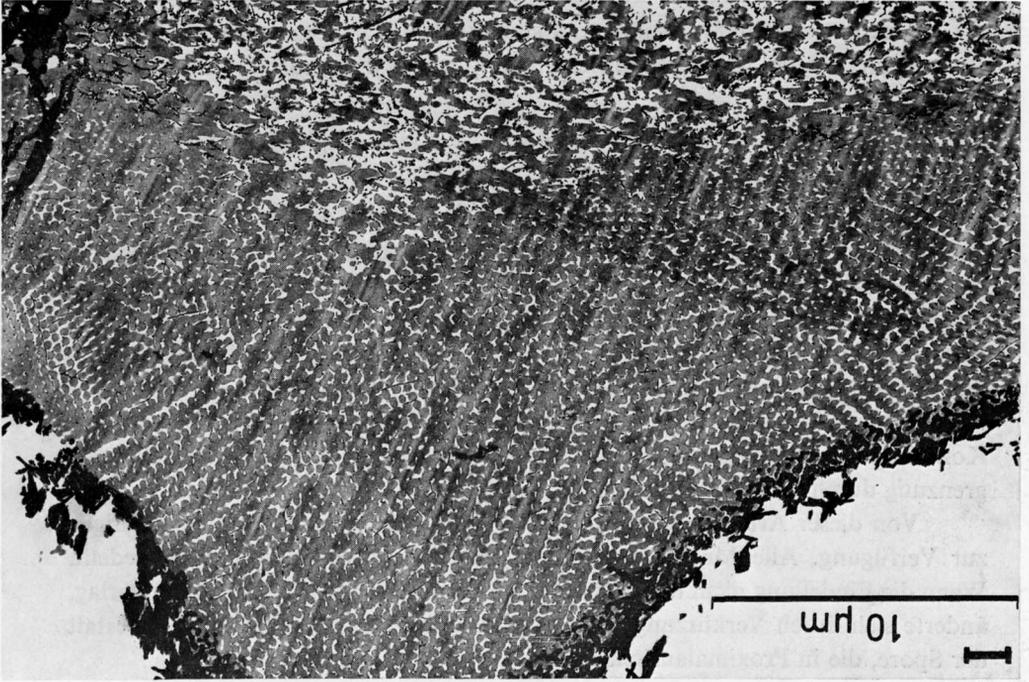
A, B. Recent megaspores of *Selaginella selaginoides* (L.) LINK, collected from wild specimens near Enontekiö, Northern Finland. A. Proximal view, showing Y-mark and contact areas. B. Side-view. The distal part of all spores available for study was folded in. Original position of the outer margin indicated by a broken line.

C, D. Recent megaspores of *S. usta* VIEILLARD from the Botanical Garden, Antwerp, Belgium. C. Proximal view, showing Y-mark, contact areas, and equatorial ring (zona). D. Side-view. Zona undulose.

E–I. Recent megaspores of *S. galeottii* SPRING from the Botanical Garden, Antwerp, Belgium. E. Proximal view, showing Y-mark and contact areas. F. Side-view. Sculptural network distinct. G. Complete longitudinal section. Very low magnification; photographed with the intermediate lens below focus. One ray of the Y-mark has been cut near the outer margin. H. Photographed with the intermediate lens in focus. Sporoderm consisting of three layers: intine, exine, and perine. In the region of the germinal ridge the intine has swollen to form an enormous thickening. Exine of a constant thickness. Perine trizonal and showing germinal suture. It is principally the outer zone of the perine which forms the sculpture of the surface; this consists of a network of ridges. On its inner border, the outer zone is strongly silified. I. Part of the perine. Middle zone showing structural elements orientated in various complex fashion. Outer zone very thin and wholly silified.



TAFEL I
PLATE I



TAFEL I — PLATE I (continued)

Das untersuchte Sporenmateriale stammt aus dem Botanischen Garten von Antwerpen, Belgien. Die artliche Bestimmung wurde ungeprüft übernommen.

Selaginella selaginoides (L.) LINK (Tafel I, A, B, Sammlung GIK 9844)

Der Durchmesser reifer Megasporen beträgt $560 \pm 60 \mu$. Auch hier wurden abortierte oder unreife Sporen mit kleineren Abmessungen mehrfach beobachtet.

Die Megasporen haben kugelige bis ovale Form. Die Strahlen der Y-Marke bilden schmale, gratförmige Rücken. Diese verlieren sich nach aussen hin allmählich; der Äquator der Spore wird aber oft noch erreicht. Die Sporenoberfläche trägt als Skulpturelemente kleine Coni; diese sind im Bereich der Kontaktareen sehr kräftig, im distalen Bereich der Spore jedoch schwächer entwickelt. Die Kontaktareen weisen gegen den übrigen Anteil der Sporenoberfläche keine Begrenzung durch Curvatur auf.

Von dieser Art standen mehr als 100 Megasporen für die Untersuchungen zur Verfügung. Alle Megasporen waren jedoch im distalen Bereich eingedellt. Wenn die Eindellung nicht in kreisrunder sondern in länglicher Ausbildung vorlag, änderte sich durch Verkürzung einer Äquatorachse auch die allgemeine Gestalt der Spore, die in Proximalansicht dann oval bis elliptisch erschien.

Das Sporenmateriale von *S. selaginoides* wurde vom Botanischen Institut der Universität Oulu, Finnland, zur Verfügung gestellt. Die Sporen waren bei Enontekiö in Nord-Finnland von Pflanzen am natürlichen Standort gesammelt worden. Die artliche Bestimmung wurde ungeprüft übernommen.

Selaginella usta VIEILLARD (Tafel I, C, D, Sammlung GIK 9603)

Die Megasporen dieser Art sind durch einen Äquatorring (Zona) besonders gekennzeichnet. Die Äquatorachse weist eine Länge von $350 \pm 50 \mu$ auf, während die Megasporen ohne Berücksichtigung der Zona einen Durchmesser von nur $215 \pm 35 \mu$ besitzen. Abortierte oder unreife Megasporen mit kleineren Abmessungen wurden kaum beobachtet.

Die Zona besteht aus einem häutigen Saum, der mehr oder weniger stark gewellt ist. Meist sind 10 bis 15 Wellen zu beobachten. Die in Seitenansicht als Wellentäler erscheinenden Bereiche der Zona sind mit der distalen Sporenoberfläche durch mauer- oder stelzenartige Verstrebungen verbunden. Die gratförmigen Strahlen der Y-Marke reichen bis zum Aussenrand der Zona und bewirken dort schwache Ausbuchtungen. In Proximalansicht erscheint der Umriss der Sporen daher etwas gerundet-dreieckig, wenn die Ausbuchtungen nicht durch die Wellung der Zona aufgehoben werden. Die Sporenoberfläche ist meist mehr oder weniger glatt. Im Bereich der Kontaktareen kommen jedoch gelegentlich Warzen oder Stacheln als Skulpturelemente vor.

Das Sporenmaterial stammt aus dem Botanischen Garten von Antwerpen, Belgien. Die artliche Bestimmung wurde ungeprüft übernommen.

METHODE

Die Megasporen wurden in Äthanol stufenweise entwässert und in Methacrylat eingebettet. Es erfolgte keine Fixierung, keine Azetolyse und keine Kontrastierung, weil dadurch Veränderungen aufgetreten wären, welche die Ausdeutung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen erschwert hätten.

Ultradünnschnitte wurden unter Verwendung von Diamantmessern mit dem Leitz-Ultramikrotom hergestellt. Die Schnitte wurden auf Lochblenden von 800 sowie 1000 μ Durchmesser übertragen, die zuvor mit einem Formvar-Film versehen worden waren. Auf diese Weise war im Elektronenmikroskop ein ungestörtes Studium kompletter Schnitte von Megasporen möglich.

Die Auswertung erfolgte im Elektronenmikroskop Zeiss EM 9 A. Als Negativmaterial für die EM-Aufnahmen dienten Planfilme Scientia 23-D-56 der Firma Agfa-Gevaert.

ERGEBNISSE

Die *Sporodermis* der Megasporen von *Selaginella* ist dreischichtig; sie besteht aus Intine (Endospor), Exine (Exospor) und Perine (Perispor). Eine Mesine (Mesospor) existiert nicht.

Die *Intine* besitzt bei *S. galeottii* im Normalzustand meist eine Dicke von 1,4–1,7 μ (Tafel II, B); im Bereich der triletten Keimöffnung verdickt sie sich bis zu 4 μ . Bei den untersuchten Exemplaren war die Intine—wahrscheinlich durch die Präparation bedingt—an einigen Stellen entweder teilweise oder ganz aufgequollen (Tafel I, H; Tafel II, A, C, D). Hierdurch nahm sie bedeutend an Dicke zu, die im Bereich der Keimöffnung Werte von 10 μ erzielte (Tafel I, H). Durch die Quellung wurde der lamellare, parallel zur Aussenfläche texturierte Aufbau der Intine deutlich sichtbar. Die einzelnen Lamellenstränge sind etwa 25–35 Nanometer (nm) dick, besitzen also den Durchmesser von Mikrofibrillen. Bei sehr starker Vergrößerung (nicht abgebildet) lassen die Lamellen in ihrer Mitte eine weisse Linie erkennen, wodurch der feinere Aufbau aus Micellarsträngen zu erahnen ist. Im freien Raum zwischen den Lamellen sind dunkle Punkte von 5–10 nm Durchmesser erkennbar (Tafel II, C, D), welche die Lage von Pektinmolekülen kennzeichnen dürften.

Bei *S. selaginoides* wurde die Intine durchweg im gequollenen Zustand in einer Dicke von 2,5–4,7 μ angetroffen (Tafel III, A–C). Auch hier ist der lamellare Aufbau gut erkennbar.

Bei *S. usta* wurde die Intine bisher ausschliesslich im Normalzustand in einer Dicke von nur 0,17–0,23 μ vorgefunden (Tafel III, D).

Es sei noch besonders darauf hingewiesen, dass die Dichte der Intine gegenüber dem Elektronenstrahl bedeutend geringer ist, als diejenige von Exine und Perine.

Die Exine erweist sich bei den *Selaginella*-Megasporen als sehr dichte aber ansonsten auffallend dünne Membran. Ihre Dicke beträgt bei *S. galeottii* und bei *S. selaginoides* meist 0,4–0,65 μ , bei *S. usta* hingegen nur 0,15–0,35 μ .

Meistens ist eine Verschmelzung von Exine und Perine zu beobachten, welche es erschwert, die Exine als selbständige Schicht zu erkennen. Deutlich fassbar wird die Exine jedoch im Bereich der Keimöffnung (Tafel I, H) und dort, wo sie sich gemeinsam mit der Intine völlig von der Perine gelöst hat (Tafel II, B).

Die Perine nimmt bei *Selaginella* ähnlich wie bei der Gattung *Azolla* (vgl. KEMPF, 1969) den grössten Teil der Sporodermis ein. Sie weist ausserdem die verschiedenartigsten Differenzierungen auf und ist für die Skulpturierung der Sporenoberfläche allein verantwortlich. Die Feinstruktur der Perine besitzt bei *Selaginella* wie bei *Azolla* artdiagnostischen Wert.

Bei *S. galeottii* ist die Perine in drei Zonen gegliedert und besitzt meist eine Dicke von 15–20 μ , die aber im Bereich der skulpturbildenden Netzleisten und den Strahlen der Y-Marke auf etwa 100 μ anschwillt.

Die innere Zone von 5–15 μ Dicke besteht aus fadenförmigen Gebilden ungleichmässiger Dicke (0,1–0,4 μ), die häufig miteinander verschmolzen sind. Diese Zone zeigt dadurch im Schnitt ein unregelmässig-poröses Aussehen. Die grösste Dicke erreicht diese Zone—wie alle übrigen auch—im Bereich der Keimöffnungstrahlen.

In der zwar dichteren aber gleichfalls porösen und etwa 10–20 μ dicken mittleren Zone kommen dann mehrfach orientierte Strukturen vor. Solche wurden in überaus ähnlicher Form von MARTENS (1960) und STAINIER (1965, 1967) bei *S. myosurus* nachgewiesen, deren Megasporen auch eine trizonale Perine besitzen.

Die mittlere Zone erweckt im Schnitt zuweilen den Eindruck, als habe man Längshälften von Reissverschlüssen nebeneinandergereiht und diese Reihen dann nochmals in prismatischer Form angeordnet. Die faden- oder vielleicht eher drahtförmigen Bauelemente von etwa 0,2 μ Dicke zeigen im Querschnitt einen sechseckigen Umriss, der mehr oder weniger stark gerundet sein kann. Eine Erschliessung des dreidimensionalen Bauplans dieser Zone bereitet grosse Schwierigkeiten; sie könnte vielleicht mit Hilfe des Elektronenraster-Aufstrahlmikroskops möglich sein.

Die äussere Zone bildet im wesentlichen die aus Netzleisten bestehende Skulptur der Sporenoberfläche. Ihre Dicke schwankt deshalb ausserordentlich; im Bereich der Leisten kann sie 70 μ , zwischen den Leisten dagegen nur 1–3 μ betragen. Strukturell besteht die äussere Zone aus einem unregelmässigen und weitmaschigen Netz von Sporoninfäden, die einen Durchmesser von etwa 0,1 μ besitzen.

Der an die mittlere Zone des Perisporis angrenzende Bereich erscheint im Elektronenmikroskop in einer Breite von 1–3 μ fast opak. Da bei den zuerst untersuchten Megasporen eine Stückkontrastierung mit Phosphorwolframsäure durchgeführt worden war, wurde zunächst eine Einlagerung von Kontrastmittel vermutet. Ultradünnschnitte von nicht kontrastierten Megasporen zeigen jedoch die gleiche Erscheinung (Tafel I, G–I; Tafel II, A, B). Sie kann demnach nur mit der natürlichen Verkieselung in Verbindung gebracht werden, die bereits früher für die Megasporen dieser Art festgestellt worden ist (FITTING, 1900, S.112, 139) und die auch die Abweichungen im optischen Verhalten der Sporodermis verursachen dürfte (SITTE, 1960, S.25). Bau-Elemente der Silifizierung sind stäbchenförmige Gebilde, die meist 0,5–1,0 μ lang und etwa 0,03 μ breit sind. Diese Stäbchen sind zwar überwiegend auf die schmale Zone am Aussenrand konzentriert, finden sich aber vereinzelt auch in den übrigen Teilen der Perine (Tafel II, A, C, D). Dort kann man in ihnen bei starker Vergrößerung eine schmale weisse Mittellinie von etwa 5 nm Breite erkennen (Tafel II, D), die wahrscheinlich als zentraler Zellulosestrang zu deuten ist. Hier ergeben sich Anhaltspunkte dafür, auf welche Art und Weise die Kieselsäure in die Sporodermis eingebaut wird.

TAFEL II (S.108–109)

A–D. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von *S. galeottii*.

Abkürzungen: *EX* = Exine, *IN* = Intine, *PE* = Perine, *LA* = Lamelle, *SI* = Silifizierung.

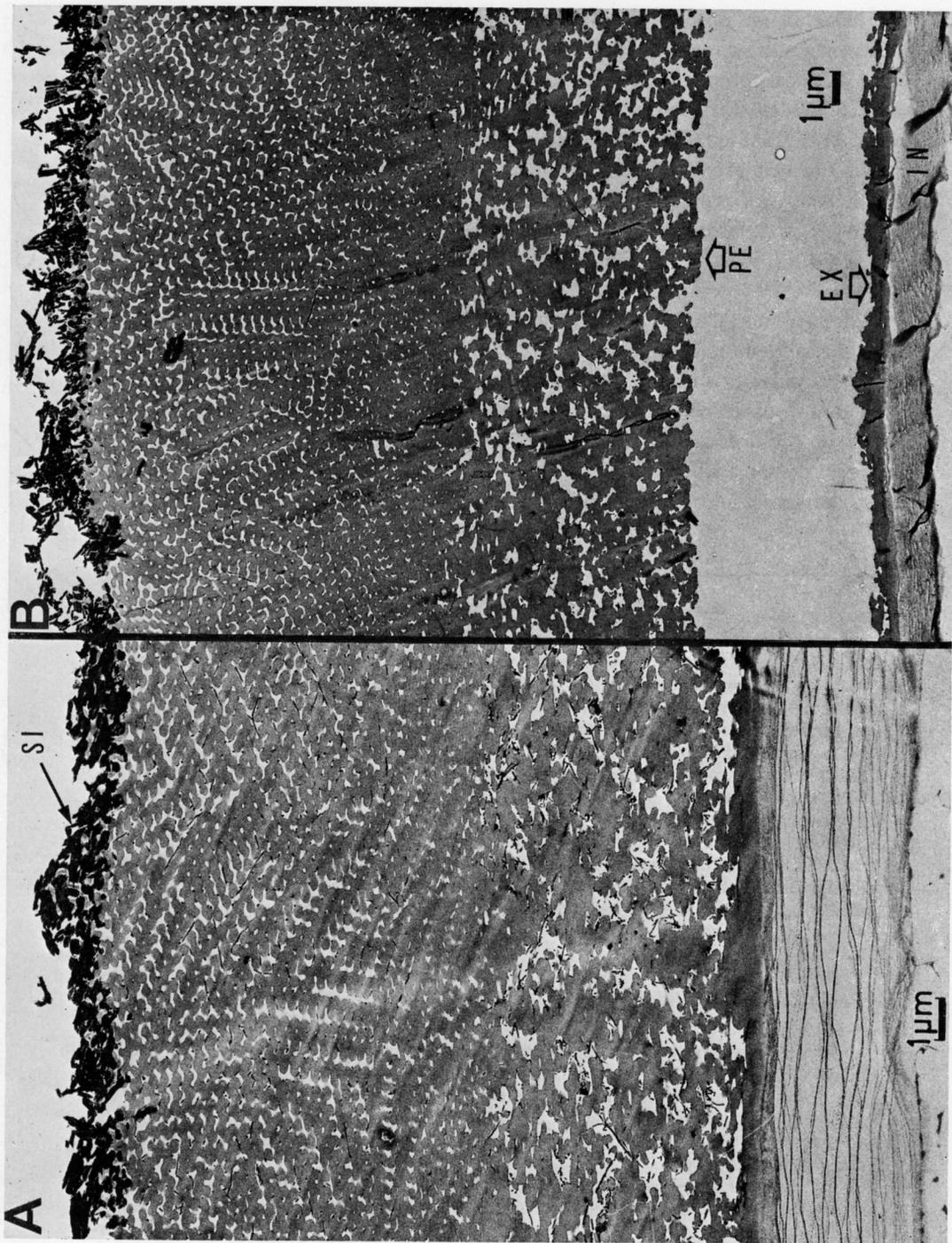
- A. Ausschnitt aus der Sporodermis zwischen den Netzleisten. Intine teilweise gequollen. Exine und Perine miteinander verschmolzen. Aussenzone der Perine sehr dünn und völlig silifiziert.
- B. Wie A. Exine und Perine voneinander getrennt, wodurch die Grenze zwischen diesen beiden Schichten der Sporodermis sehr deutlich dokumentiert wird. Intine nicht gequollen.
- C. Sektor aus A in stärkerer Vergrößerung mit Intine (teilweise gequollen), Exine und Teil der inneren Zone der Perine.
- D. Sektor aus C in stärkerer Vergrößerung. Intine teils im gequollenen teils im nicht gequollenen Zustand. Innerhalb der inneren Zone der Perine sind stäbchenförmige Strukturen mit weisser Mittellinie längs und quer durchschnitten worden. Diese Stäbchen werden als Kristallite gedeutet und mit der Silifizierung der Perine in Verbindung gebracht.

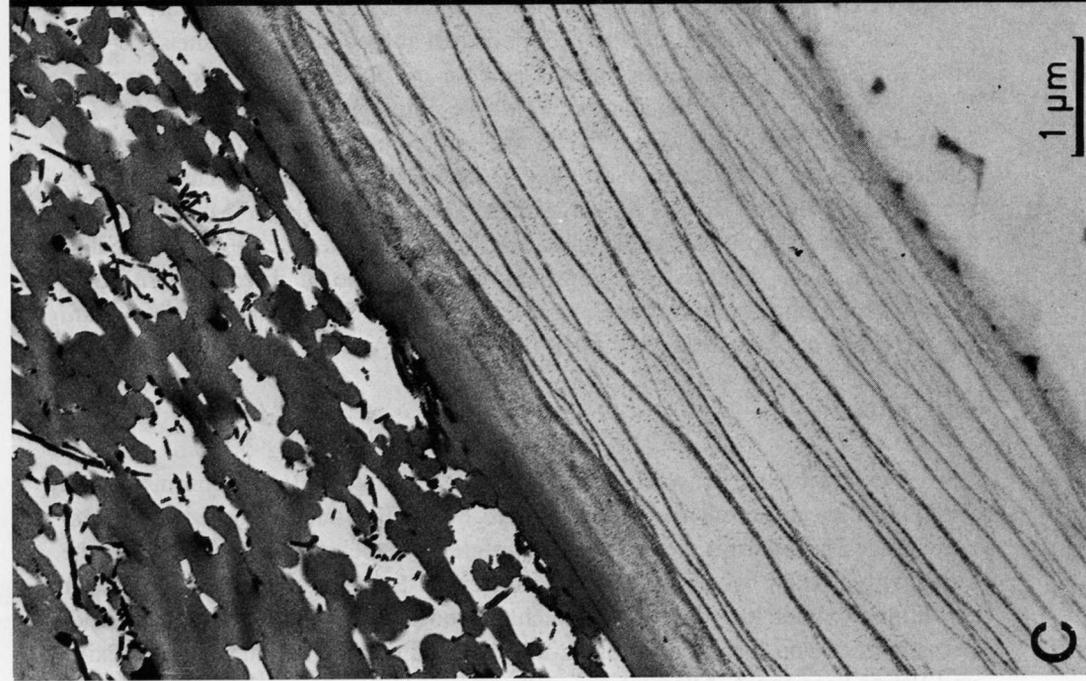
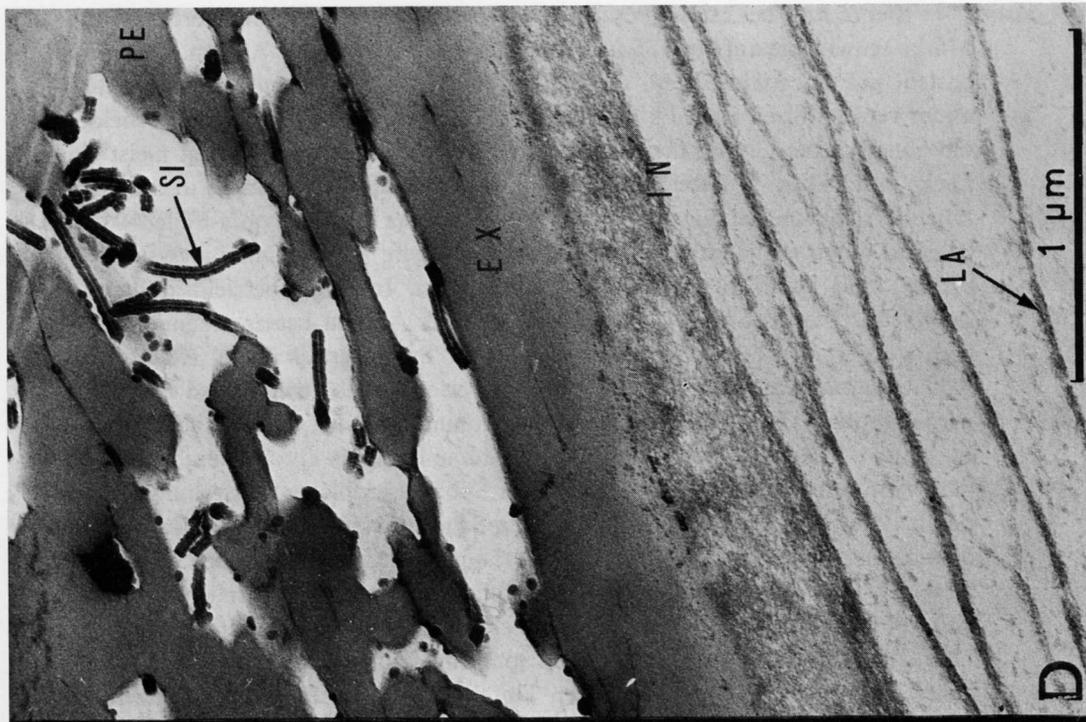
PLATE II (pp.108–109)

A–D. Electron photomicrographs of *S. galeottii*.

Abbreviations: *EX* = exine, *IN* = intine, *PE* = perine, *LA* = lamella, *SI* = silification.

- A. Part of the sporoderm between the ridges of the sculptural network. Intine partly swollen. Exine and perine are fused together. Outer zone of the perine very thin and wholly silified.
- B. As A. Exine and perine divided from each other; the boundary between these two layers of the sporoderm is thus shown quite clearly. Intine not swollen.
- C. Sector from A at larger magnification, showing intine (partly swollen), exine, and part of the inner zone of the perine.
- D. Sector from C at larger magnification. Intine in both conditions, partly swollen and partly not swollen. Within the inner zone of the perine rod-like structures; they are sectioned longitudinally and transversely and show a white line in their middle. These rodlets are interpreted as crystallites, produced in association with the silification of the perine.





Bei *S. usta* besitzt die Perine meist eine Dicke von $10\ \mu$. Im Bereich der Y-Marke schwillt sie auf etwa $35\ \mu$, im Bereich der Zona gar auf $70\ \mu$ an. Die Perine besteht aus Sporonin-Fäden, die labyrinthisch verschlungen und häufig miteinander verschmolzen sind. Es lassen sich zwei Zonen in der Perine unterscheiden, die ohne scharfe Grenze ineinander übergehen. Die innere Zone zeigt meist eine Dicke von $2\text{--}3\ \mu$, im Bereich der Y-Marke eine solche von etwa $10\ \mu$. Sie unterscheidet sich von der äusseren Zone (Durchmesser der Sporonin-Fäden $0,065\text{--}0,085\ \mu$) durch etwas gröbere und ungleichmässige Fäden (Durchmesser $0,085\text{--}0,15\ \mu$) und durch ein grösseres Porenvolumen. In den Übersichtsaufnahmen kompletter Längsschnitte lässt sich der bizonale Aufbau besser erkennen als in dem stärker vergrösserten Ausschnitt aus der Sporodermis (Tafel III, D). Der Äquatorsaum wird allein von der äusseren Perinen-Zone gebildet und zeigt überwiegend deren Feinstruktur. Vereinzelt kommen in der Zona auch grössere Lumina vor. Manche dieser grossen Hohlräume kommen aber dadurch zustande, dass zwischen der Zona und der distalen Sporenoberfläche Verstrebungen existieren. Weil die Erscheinungsbilder in den Schnitten stark variieren, ist eine eindeutige Interpretation der grossen Hohlräume nicht immer möglich. Eine Verkieselung der Perine ist bei *S. usta* ebenfalls zu beobachten. Ähnlich wie bei *S. galeottii* befindet sich ein elektronenmikroskopisch fast opaker Streifen am Aussenrand. Ausserdem sind die Flanken der Sporonin-Fäden perlschnurartig mit runden Körperchen besetzt, die einen Durchmesser von $20\text{--}30\ \text{nm}$ besitzen. Im Vergleich zu *S. galeottii* liegen hier also bedeutend kürzere Stäbchen vor.

Bei *S. selaginoides* ist die Perine monozonal ausgebildet. Sie ist meist $20\text{--}30\ \mu$ dick; im Bereich der kegelförmigen Elemente der Oberflächenskulptur werden Werte von $40\text{--}50\ \mu$, im Bereich der Y-Marke solche von $65\text{--}80\ \mu$ erreicht. Die Feinstruktur besteht aus einem Netzwerk von Sporonin-Fäden, deren Durchmesser von $0,2\text{--}0,9\ \mu$ reichen. Werte über $0,3\ \mu$ werden wahrscheinlich durch Verschmelzung dünnerer Fäden hervorgerufen. Die Strahlen der Y-Marke und die kegelförmigen Skulpturelemente stellen kontinuierliche Auswüchse der Perine dar. Werden die Coni zentral durchschnitten, so zeigen sie in ihrem Innern einen grossen Hohlraum. Eine Verkieselung in der Form wie bei *S. galeottii* oder *S. usta* konnte bei *S. selaginoides* bisher nicht nachgewiesen werden.

DISKUSSION

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erweitern unsere Kenntnisse vom Aufbau der Megasporenwand bei *Selaginella*. Sie fordern zudem für den Schichtenaufbau der Sporodermis eine neue Interpretation. Dabei wurde von der Tatsache ausgegangen, dass bei offensichtlich ausgereiften Sporen trotz unterschiedlicher Strukturen immer nur drei Wandschichten voneinander zu unterscheiden sind. Diese wurden von innen nach aussen mit den traditionellen Namen Intine, Exine und Perine bezeichnet. Alle weiteren vorhandenen Differenzierungen der Substanz

stellen nur Zonierungen innerhalb einer der vorstehend genannten Schichten dar.

Die elektronenmikroskopischen Bilder der Megasporenwand von *Selaginella* lassen erkennen, dass die Intine aufgrund ihrer Struktur und ihrer geringen Elektronendichte weitgehend aus Zellulose und Pektinen aufgebaut ist. Sie wird deshalb fossil nicht erhaltungsfähig sein. Die grosse Elektronendichte von Perine und Exine weist dagegen auf den Einbau entsprechender Mengen von Sporonin hin.

Trotz zahlreicher Untersuchungen hat man immer noch nicht restlos geklärt, auf welche Weise sich der Aufbau von Sporodermen vollzieht. Meine elektronenmikroskopischen Studien an fertigen Megasporenwänden der Gattungen *Azolla*, *Salvinia* und *Selaginella* führen mich zu der Annahme, dass die Strukturmuster aller drei Schichten der Sporodermis vom Cytoplasma der Spore vorgezeichnet werden, wobei als Bausteine vorwiegend Hemizellulose und Zellulose, Pektin und Kallose verwendet werden dürften. Vom Tapetum her erfolgt dann erst der Einbau von Sporonin. Für diese Annahme sprechen auch die sorgfältigen Untersuchungen von GODWIN et al. (1967), welche die Bildung der Mikrosporenwand bei *Ipomoea purpurea* elektronenmikroskopisch verfolgten, wobei allerdings einige entscheidende Stadien vor der Reife leider nicht erfasst wurden.

Bei *Selaginella* und *Azolla* findet sich Sporonin nur in der Perine und in der Exine eingelagert. Bei *Salvinia* weist dagegen auch die Intine eine Einlagerung von Sporonin auf. Darauf ist es zurückzuführen, dass bei fossilen Megasporen von

TAFEL III (S.112–113)

A–D. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

Abkürzungen: *EX* = Exine, *IN* = Intine, *PE* = Perine, *GS* = Germinalsutur, *GR* = Germinalrücken.

A–C. *Selaginella selaginoides*. A. Teil der Sporodermis mit Intine, Exine und Perine. Intine völlig gequollen. Perine monozonal. B. Sektor von A in stärkerer Vergrößerung mit Intine, Exine und innerstem Teil der Perine. C. Fokussierte Zwischenlinsen-Abbildung. Ein Strahl der Y-Marke wurde nahe dem Aussenrand durchschnitten. Germinalsutur in Perine und Intine teilweise erkennbar.

D. *Selaginella usta*. Teil der Sporodermis, bestehend aus Intine, Exine und Perine. Intine von sehr geringer Dichte gegenüber Elektronen. Grenze zwischen Exine und Perine undeutlich. Perine bizonal.

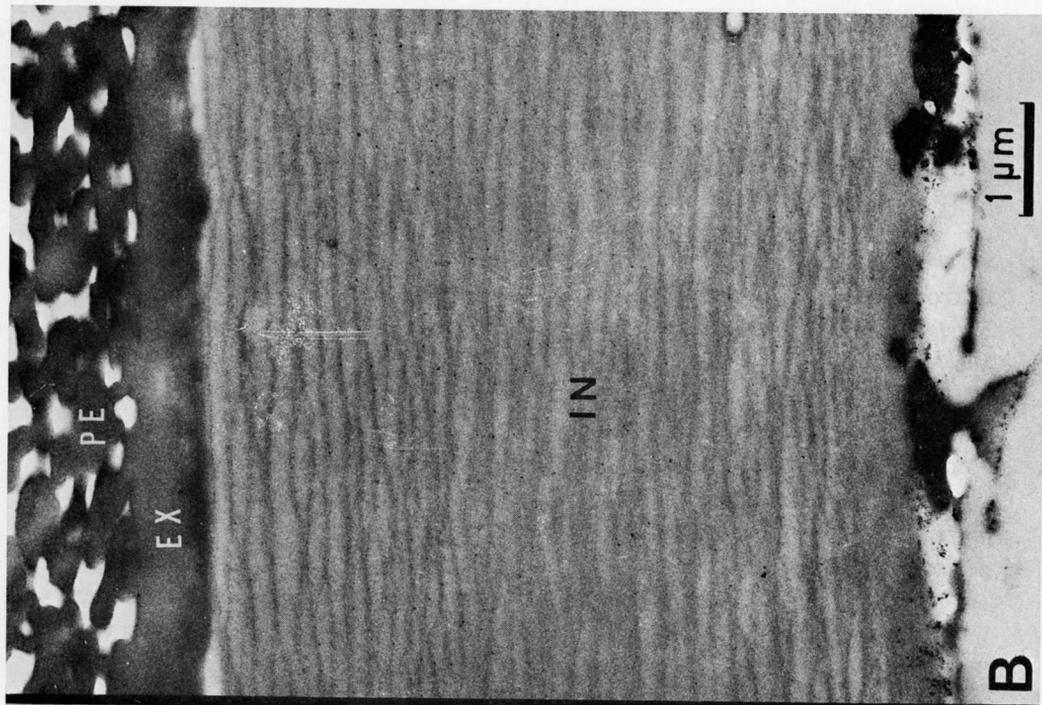
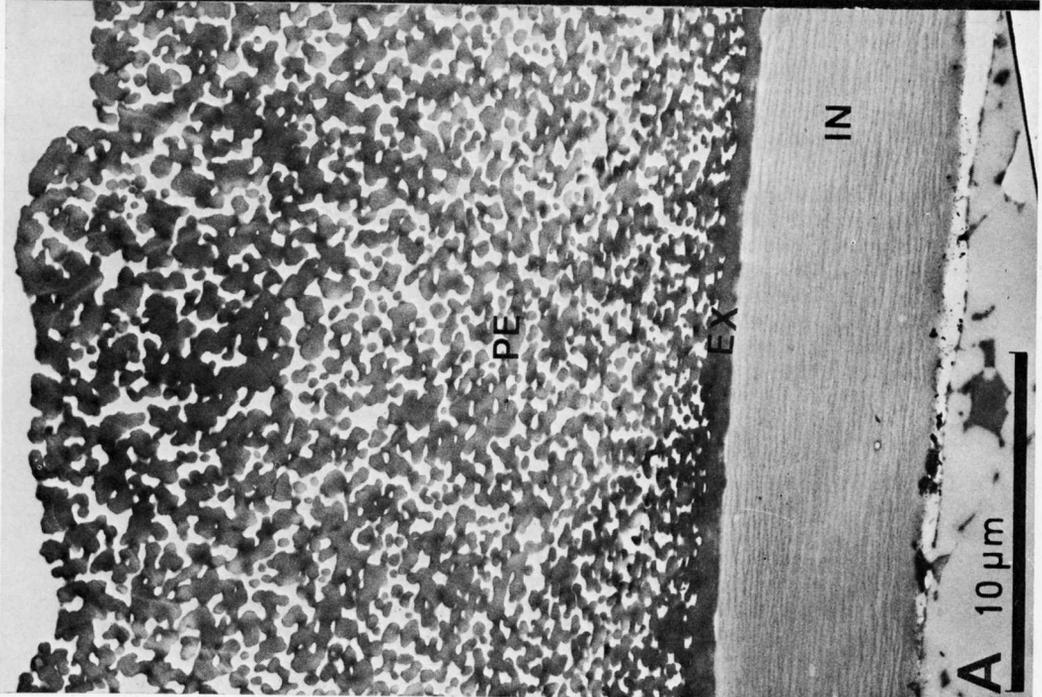
PLATE III (pp.112–113)

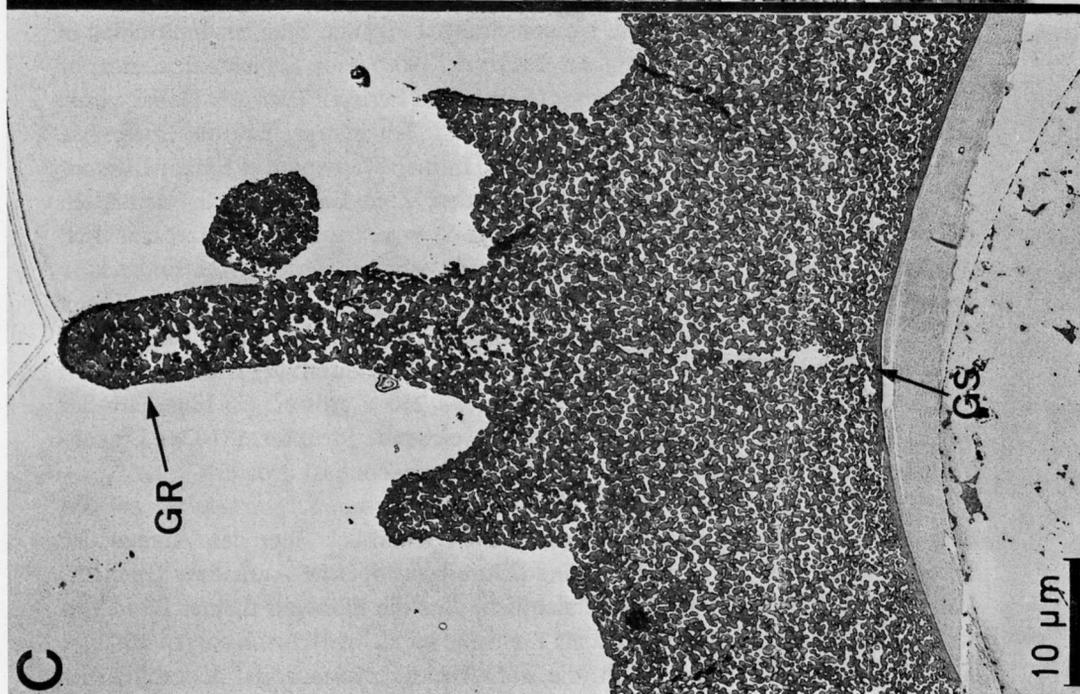
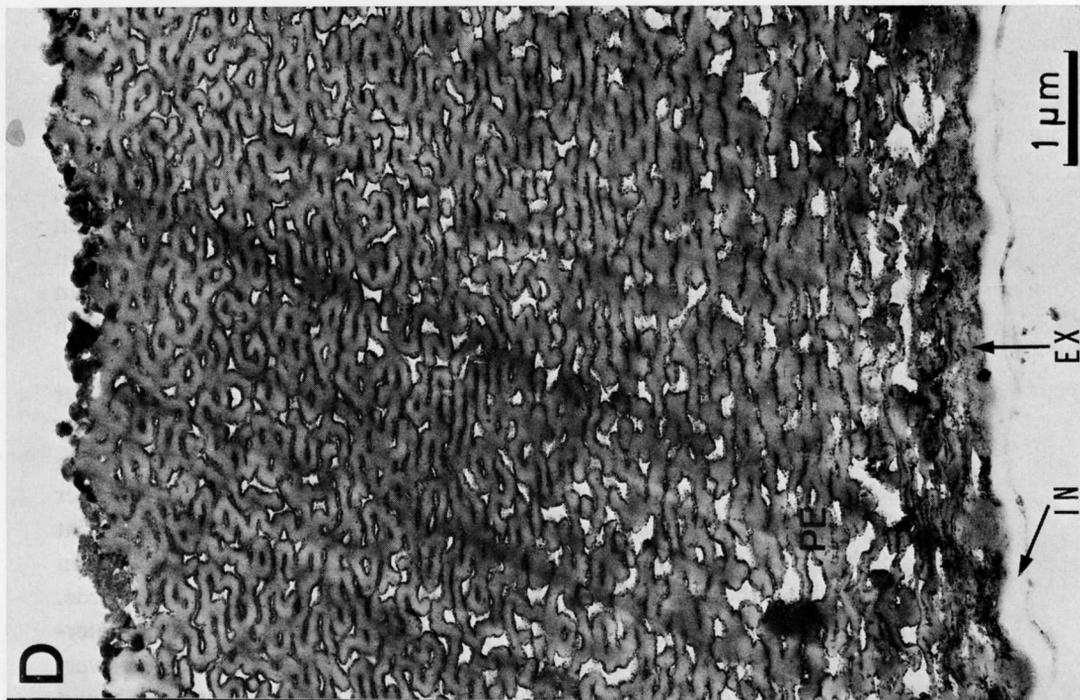
A–D. Electron photomicrographs.

Abbreviations: *EX* = exine, *IN* = intine, *PE* = perine, *GS* = germinal suture, *GR* = germinal ridge.

A–C. *Selaginella selaginoides*. A. Part of the sporoderm, showing intine, exine, and perine. All parts of the intine are swollen. Perine monozonal. B. Sector from A at larger magnification, showing intine, exine, and innermost part of the perine. C. Photographed with the intermediate lens in focus. One ray of the Y-mark has been cut near the outer margin. Germinal suture partly visible in perine and intine.

D. *Selaginella usta*. Part of the sporoderm, consisting of intine, exine, and perine. Intine of very low electron density. Boundary between exine and perine indistinct. Perine bizonal.





Salvinia selbst die Intine elektronenmikroskopisch noch nachweisbar ist.

Am Beispiel der Verkieselung bei *Selaginella* konnte man ferner sehen, dass nach der Einlagerung von Spononin der Einbau von weiteren Substanzen folgen kann.

Die in dieser Arbeit durchgeführte neue Interpretation hat zur Folge, dass in der Megasporenwand von *Selaginella* keine Mesine (Mesospor) mehr vorkommt, dafür aber stets eine Perine vorhanden ist. Dies steht im Gegensatz zu den meisten bisherigen Auffassungen. Nachfolgend wird ein Vergleich mit den Ergebnissen von einigen der früheren elektronen- und lichtmikroskopischen Untersuchungen an Megasporenwänden von *Selaginella* durchgeführt, wobei die Unterschiede deutlich gemacht werden.

AFZELIUS et al. (1954) haben bereits Ultradünnschnitte von Megasporen der *S. selaginoides* elektronenmikroskopisch untersucht und einen Ausschnitt aus der Sporodermis abgebildet, der als Teil der Exine gedeutet wurde. Die Abbildung zeigt nach meiner Ansicht einen Schnitt durch das dreidimensionale Netzwerk der Perine in starker Vergrößerung, so dass Innen- und Aussengrenze dieser Schicht nicht sichtbar sind. Die Feinstruktur ist identisch mit derjenigen, welche im Rahmen der vorliegenden Arbeit an anderem Material der gleichen Art erschlossen wurde.

MARTENS (1960) hat vorläufige Ergebnisse von lichtmikroskopischen Untersuchungen der Megasporenwand von *S. myosurus* (Synonym: *S. scandens*) veröffentlicht. Diese wurden von STAINIER (1965, 1967) ausführlicher dargestellt und durch elektronenmikroskopische Untersuchungen ergänzt. Stainier unterschied in der Sporodermis in Anlehnung an FITTING (1900) vier Schichten: Endospor (Intine), Mesospor (Mesine), Exospor (Exine) und Perispor (Perine). Dabei wurde das Exospor nochmals in fünf Zonen unterteilt. Ich interpretiere die Ergebnisse von Stainier folgendermassen: Endospor = Intine; Mesospor = Exine; Exospor und Perispor = trizonale Perine, deren mittlere Zone die mehrfach orientierten Feinstrukturen aufweist. Es handelt sich bei *S. myosurus* offenbar um eine Art, welche der *S. galeottii* sehr nahe steht. Die Megasporen beider Arten sind relativ gross, besitzen eine netzgrubige Oberflächenskulptur und eine in drei Zonen differenzierte Perine. Aufgrund der Angaben von Stainier kann man für *S. myosurus* folgende Unterschiede gegenüber *S. galeottii* anführen: (1) Die Megasporen sind im Durchmesser durchschnittlich um etwa 250 μ grösser. (2) Innerhalb der Perine zeigt die äussere Zone eine etwas abweichende Struktur. (3) Das Dicken-Verhältnis von mittlerer gegenüber innerer Perinen-Zone ist grösser.

PETTIT (1966) untersuchte die Megasporen von *S. pulcherrima* sowohl licht- als auch elektronenmikroskopisch. Den Überblick über den Aufbau der Sporodermis dieser Art vermittelt eine lichtmikroskopische Aufnahme (PETTIT, 1966, Taf. 5, Fig.1). Daraus wird ersichtlich, dass die Exine als dichtes Band von etwa 1 μ Dicke vorliegt (von Pettitt als Endexine bezeichnet). Nach aussen schliesst sich die 30–40 μ dicke Perine an, die wahrscheinlich monozonal ausgebildet ist und von Pettitt als Ektexine angesprochen worden ist. Die kontrastreiche Zone am

Aussenrand von etwa 1 μ Dicke dürfte mit einer Silifizierung in Verbindung gebracht werden. Die Intine lässt sich in der Abbildung nicht ausmachen; es muss angenommen werden, dass sie durch die durchgeführte Azetolyse zerstört wurde. Die beiden Elektronenbilder zeigen Ausschnitte aus der Perine. Sie erwecken den Eindruck, dass die Sporodermis während der Präparation Veränderungen erlitten hat, besonders im Bereich des Aussenrandes.

Pettitt diskutierte auch ziemlich ausführlich die vor allem für die Paläobotanik wichtige Frage, ob es bei den *Selaginella*-Megasporen wirklich ein Mesospor im Sinne von FITTING (1900) gibt, was bereits von LYON (1905) angezweifelt worden war. Pettitt führte hierzu an Dünnschnitten zahlreiche Versuche mit Farbreagenzien durch und kam zu dem Schluss, dass zumindest bei normal ausgebildeten Megasporen das Mesospor von Fitting in Wirklichkeit der Endexine entspricht. Diese Folgerung wird durch die elektronenmikroskopischen Befunde der vorliegenden Arbeit klar bestätigt, wobei die Endexine allerdings als komplette Exine gedeutet wird.

FITTING (1900) war es, der den Ablauf der Megasporen-Bildung bei den Gattungen *Isoetes* und *Selaginella* besonders eingehend studiert hat. Er wurde zu dem Ergebnis geführt, dass die Megasporenwände von den zehn untersuchten Arten der Gattung *Isoetes* aus vier Schichten aufgebaut sind (Endospor, Mesospor, Exospor und Perispor). Bei *Selaginella* konnte er den vierschichtigen Bauplan nur bei *S. galeottii* und verwandten Formen beobachten; die übrigen Arten zeigten nur einen dreischichtigen Aufbau, was er durch das Fehlen des Perisporis zu erklären versuchte.

Wir können nunmehr sagen, dass Fitting durch die unterschiedliche Zonierung der Megasporen-Perine zu falschen Schlussfolgerungen geführt worden ist. Was er bei *S. galeottii* als Perispor angesprochen hat, stellt nur die äussere Zone der trizonalen Perine dar. Die beiden übrigen Zonen der Perine bezeichnet er als Exospor. Folgemässig wurde die Exine als Mesospor, die Intine aber richtig als Endospor erkannt.

Es erscheint nicht ratsam, sich an dieser Stelle noch eingehend mit den Beobachtungen auseinanderzusetzen, die Fitting im Verlauf der Sporenwandbildung gemacht hat, zumal Pettitt darauf schon näher eingegangen ist. Dagegen möchte ich abschliessend empfehlen, dass man von botanischer Seite her die Bildungsgeschichte der Megasporenwände bei *Selaginella* oder anderen Gattungen heterosporer Pteridophyten einmal elektronenmikroskopisch verfolgen sollte. Hierdurch wird man sicherlich bessere und eindeutigeren Daten über die einzelnen Vorgänge bei der Sporenwandbildung erhalten können als sie bisher bei entsprechenden Untersuchungen an Mikrosporen erzielt wurden.

DANK

Die vorliegende Studie wäre nicht möglich gewesen ohne die grosszügige Unterstützung von zahlreichen Seiten.

Das Elektronenmikroskop (Zeiss EM 9 A) und die Geräte für die Präparation (Leitz-Ultramikrotom, etc.) wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft bereitgestellt. Professor Dr. U. Jux erlaubte und förderte die Untersuchungen. Die präparativen Arbeiten sowie die Auswertung im Elektronenmikroskop besorgte in bewährter Weise und mit viel Geschick unser wissenschaftlicher Präparator W. Mackowiak, während Frau K. Nengelken die Arbeiten im Fotolabor sorgfältig durchführte.

Die Megasporen von *S. selaginoides* vermittelte das Botanische Institut der Universität Oulu (Direktor: Prof. Dr. N. Söyrintki), Finnland, wogegen ich die Megasporen von *S. galeottii* und *S. usta* vom Dienst voor Parken en Plantsoenen in Antwerpen (Direktor: J. Lauwers), Belgien, erhielt.

Dr. W. A. S. Sarjeant war so freundlich, anlässlich eines kurzen Besuches in Köln meine englische Übersetzung der Tafelerläuterungen zu korrigieren.

Allen Beteiligten möchte ich an dieser Stelle herzlich danken.

LITERATUR

- AFZELIUS, B. M., ERDTMAN, G. and SJÖSTRAND, F. S., 1954. On the fine structure of the outer part of the spore wall of *Lycopodium clavatum* as revealed by the electron microscope. *Svensk Botan. Tidskr.*, 48: 155–161.
- FITTING, H., 1900. Bau und Entwicklungsgeschichte der Makrosporen von *Isoetes* und *Selaginella* und ihre Bedeutung für die Kenntnis des Wachstums pflanzlicher Zellmembranen. *Botan. Ztg.*, 58(1. Abt.): 107–165.
- GODWIN, H., ECHLIN, P. and CHAPMAN, B., 1967. The development of the pollen grain wall in *Ipomoea purpurea* (L.) ROTH. *Rev. Palaeobotan. Palynol.*, 3: 181–195.
- KEMPF, E. K., 1969. Elektronenmikroskopie der Sporodermis von känozoischen Megasporen der Wasserfarn-Gattung *Azolla*. *Paläontol. Z.*, 43: 95–108.
- LYON, F. M., 1905. The spore coats of *Selaginella*. *Botan. Gaz.*, 40: 285–295.
- MARTENS, P., 1960. Sur une structure microscopique orientée dans la paroi mégasporale d'une sélaginelle. Nouvelles observations sur la structure des parois mégasporales de *Selaginella myosurus* (Sow.) ALSTON. *Compt. Rend.*, 250: 1599–1602, 1774–1775.
- PETTIT, J. M., 1966. Exine structures in some fossil and recent spores and pollen as revealed by light and electron microscopy. *Bull. Brit. Museum, Geol.*, 13(4): 221–257.
- SITTE, P., 1960. Die optische Anisotropie von Sporodermen. *Grana Palynologica*, 2(2): 16–37.
- STAINIER, F., 1965. Structure et infrastructure des parois sporales chez deux sélaginelles (*Selaginella myosurus* et *S. kraussiana*). *Cellule*, 65: 220–244.
- STAINIER, F., 1967. Morphological study of the walls of the mega- and micro-spores of *Selaginella myosurus* (Sw.) ALSTON. *Rev. Palaeobotan. Palynol.*, 3: 47–50.