

UBER DIE ENTHOLZUNG VON LIBRIFORM UND BILDUNG VON LIGNININKLUSEN IM WUNDGEWEBE

(Mit 1 Tafel und 2 Textfiguren)

Von B. VRTAR

Die verschiedenen Formen von Entholzung.

Es sind bereits in der Literatur mehrere Fälle bekannt, dass die verholzten Membranen der Pflanzen ihre Lignininkruste verlieren, und in den Zellulosezustand zurücktreten können. Die Ursachen eines solchen Entholzungsvorganges sind verschieden. Entweder handelt es sich um solche Entholzungsvorgänge die durch verschiedene pathologische Ursachen bedingt werden, oder um solche die spontan, in gewissem physiologischen Zustande des betreffenden Pflanzenorganismus während seiner normalen Entwicklung entstehen.

Die Fälle der pathologischen Entholzung sind ziemlich häufig. Sie kommen besonders oft bei den Holzgewächsen vor, welche durch verschiedene parasitische Pilze angegriffen werden. R. Hartig (1891, 1900) beschreibt parasitische Pilze (*Basidiomycetes*), die eine Umwandlung der verholzten Membranen in Zellulose bei den Nadelhölzern verursachen. Die parasitischen Pilze *Trametes pini* und *Trametes radiciperda* können durch enzymatische Wirkung ihrer Hyphen die Lignininkruste der Tracheiden im Holze zerstören und resorbieren. Diese Zerstörungsarbeit beginnt in der innersten Schichte der Membranen und schreitet langsam gegen die Mittellamelle fort, bis zuletzt auch diese resorbiert wird. Die einzelnen Tracheiden verlieren dadurch ihre Verbindungslamelle und werden isoliert.

Solche Entholzungserscheinungen treten bei verschiedenen Gehölzen in verschiedenen Variationen auf, wie das B. Rudau untersucht und beschrieben hat. Der Vorgang der Entholzung bleibt jedoch in seinem Grunde immer jenem, von Hartig für *Trametes radiciperda* beschriebenen, ähnlich.

Neben den Fällen der Entholzung, welche durch den Angriff der infektiösen Hyphen auf das verholzte Gewebe verursacht werden, sollen die Untersuchungen F. Weidels

(1911), über die Entholzung von Steinzellen bei den Cynipidengallen auf den Eichenblättern nicht unerwähnt bleiben. Die Umwandlung der Steinzellen in das zellulose Ernährungsgewebe wurde in diesem Falle wahrscheinlich durch die Enzymwirkung der in der Galle vorhandener Larve bedingt.

Ganz verschieden von diesen pathologischen Fällen ist die spontane physiologische Entholzung. F. Küster in seinen »Vorträgen über die normale und pathologische Zytomorphologie und Zytogenese« (1935) hält solche physiologische Entholzung, bei welcher die verholzte Membran in der normalen Zytogenese den Charakter reiner Zellulose wiederannimmt für eine sehr seltene Erscheinung. C. v. Wisselingh (1925) in seiner monographischen Bearbeitung der Pflanzenmembran beschreibt die Verholzung als einen irreversiblen Prozess. Auch A. Frey (1928) lehnt in der letzten Zeit den Gedanken ab, dass die Verholzung ein reversibler Prozess wäre, da eben Fälle der spontanen physiologischen Entholzung sehr selten sind.

Im Gegensatz zu dieser Meinung über die Irreversibilität des Entholzungsvorganges steht besonders die Auffassung W. G. Alexandrovs und seiner Mitarbeiter, nach welcher nicht nur die durch pathologische Ursachen bedingte, sondern auch die spontane physiologische Entholzung eine verbreitete Erscheinung ist. Alexandrov beruft sich ausser auf eigene, auf die Untersuchungen von G. Chauveaud und F. Schilling. W. G. Alexandrov und L. I. Djaparidze beobachteten in den Sklerenchymzellen der Birne und der Quitte regelmässige Entholzung, die parallel dem Reifen dieser Früchte fortschreitet.

F. Schilling untersuchte die Vorgänge, welche auf einem geknickten Stengel des Hanfes vorkommen, und konstatierte, dass die verholzten Membranen der Parenchymzellen des Xylems auf der Stelle der Knickung wieder den Zellulosecharakter annehmen.

W. G. Alexandrov und O. G. Alexandrova (1929) haben im Anschluss auf die Untersuchungen Schillings die Entholzungsvorgänge der trachealen Elemente in den Blattstielen des Hanfes geprüft. Nach ihren Resultaten kommt es in ältesten Gefässen unzweifelhaft auch zu einer spontanen physiologischen Entholzung, welche zuletzt in einer vollkommenen Resorption und Obliteration der Gefässmembranen endet. Auf Grund dessen konstatieren Alexandrov und Alexandrova, dass man im allgemeinen die Entholzung der lebendigen verholzten Zellen von der Entholzung der toten Zellen unterscheiden muss. Im ersten Falle wird die Membran bedeutend dünner und tritt zurück in den Zustand der reinen Zellulose, während die Zelle aber auch

weiter leben kann. Im zweiten Falle wird die Membran nach der Verdünnung vollkommen resorbiert, wie dies z. B. bei den Gefässen des Hanfes beobachtet wurde.

Direkte Ursachen der Entholzung bei den letzterwähnten Objekten sind schwer zu finden. Nach Küster handelt es sich auch hier um besondere chemische Agenzien, Lösungsmittel oder Fermente, die in denselben verholzten Zellen, oder in benachbartem Gewebe entstehen, und die an Zellulosemizellen der Membranen angehäuften Ligninsubstanz zerstören und lösen. Im Zusammenhange mit dieser Meinung soll bemerkt werden, dass es sich bei allen diesen Fällen hauptsächlich um die chemische Metamorphose und Resorption der Lignininkruste handelt, und der ganze Entholzungsvorgang den Charakter eines chemischen Prozesses bekommt.

Wir hielten es für notwendig diese verschiedenen Meinungen über das Wesen und den Verlauf des Entholzungsvorganges als Einleitung zur Betrachtung eines besonderen Falles vorzuschicken. Der hier beschriebene Fall ist umso interessanter da es sich nicht um die Entholzung des Parenchyms, oder des Gefässsystemes, sondern um die Entholzung des festen mechanischen Libriforms handelt. Ausserdem liegt das Interessante nicht allein in dem Ausbleiben der Erscheinungen der chemischen Resorption der Ligninsubstanz, sondern vielmehr in der Ablagerung dieser Substanz in die Faserlumina des Libriforms, wo sie starre Ligninkörper bzw. Lignininklusen bildet.

Das untersuchte Objekt.

Das Objekt, auf welchem die besondere Entholzung beobachtet wurde, ist eine Wundholzbildung auf einem älteren Buchenstamme. Beim Spalten dieses Stammes wurde in seinem Inneren eine grössere, schon längst vernarbte Wunde in der Form von gekreuzten, ziemlich tiefen Einschnitten, welche wahrscheinlich durch Hackenschläge verursacht wurden, aufgefunden. Die Wunde, welche etwa 1—2 cm. tief unter das Cambium in den Xylemteil des Stammes reichte, wurde bei weiterem Dickenwachstum des Stammes allmählich geschlossen und durch das typische Wundholz ausgefüllt. An der Stelle, wo das pathologische Gewebe des Wundholzes im Kontakt mit der verletzten Zone geblieben ist, entstand dadurch die Fläche des kleinsten Widerstandes, und gerade an dieser Stelle zersprang zuerst der Stamm beim Spalten auf. Das Relief des später entstandenen Wundholzes hat sich aus der vernarbten Wunde ausgeschält, und die Wunde wurde dadurch nach vielen Jahren wieder geöffnet. Die äussere Form der Wunde hat sich nicht verändert, und nur in der Zone des

s. g. Schutzholzes war die Oberfläche und die unmittelbare Umgebung der Wunde, etwas dunkler gefärbt, als das übrige normale Holz. Auch das Relief des kambialen Wundholzes, welches sich aus der Wunde ausgeschält hat, zeigte eine dunklere, sepia bis schwarzbraune Färbung.

Wie bereits bemerkt, ist auch das ältere verwundete Holz, das s. g. Schutzholz an der verletzten Stelle ebenfalls von dunklerer Färbung, jedoch nicht so dunkel wie die Oberfläche des ausgeschälten Reliefs. An der Oberfläche der Wunde kann man das Holz viel leichter schneiden, als in der normalen Zone. Die Ursache dieser weicheren Konsistenz erklärte sich später durch die besonderen anatomischen Strukturen des Schutzholzes. Bei einem durch die Wunde geführten Querschnitt welcher bis zu einer Tiefe von etwa 2 cm. bereits die normalen Holzpartien erreicht, war die ganze Schicht des Holzes, genau so wie die Wunde selbst dunkler gefärbt.

Die verwundete Zone des untersuchten Objektes unterscheidet sich viel mehr anatomisch als morphologisch vom normalen Holze. In dieser ganzen, cca 1 cm. breiten Zone ist die Mehrzahl der Gefäße mit zahlreichen Thyllen verstopft. Ausserdem sind die Gefäße mit Körnchen einer braunen Substanz, welche genau wie die Thyllen bei mikrochemischen Untersuchungen gar keinen Holzcharakter zeigt aber auf Gerbstoffreagenzien reagiert, ausgefüllt. Aehnliche Einschlüsse, neben dem Wundgummi, sind allgemein charakteristisch für Gefäße im älteren Holz, besonders an verwundeten Stellen. Die übrige Hauptmasse des Holzes dieser Zone besteht wie auch im normalen Buchenholz aus Libriformgewebe, auf dessen Geschlossenheit die mechanische Festigkeit beruht. Im normalen Holze sind die einzelnen Libriformfasern ausnahmslos verlängerte verholzte Prosenchymzellen mit engen und vollkommen leeren Lumen, wogegen in Libriform, des durch Verwundung veränderten Holzes, s. g. Schutzholzes die Lumina der einzelnen Fasern fast durchwegs mit einer gelbbraunen Substanz, welche neben den erwähnten Einschlüssen in den Gefäßen eine dunklere Färbung dieser Holzzone verursacht, ausgefüllt sind. (Vgl. Taf. I, 1).

Anatomisch-mikroskopische Untersuchungen allein konnten uns über den wahren Charakter dieser Füllmasse des Libriforms nicht aufklären, nur stellenweise wird an radialen und tangentialen Schnitten bemerkt, dass sie eine feste Konsistenz besitzt. An den Schnitten des Libriforms zeigt sie sich oft in Form fester gelblichen oder bräunlichen Stäbchen, welche genau nach dem Lumen aus dem sie herausgefallen sind, formiert sind. Der richtige Charakter dieser Substanz konnte nur durch mikrochemische Untersuchungen, welche zu charakteristischen Resultaten geführt haben, festgestellt werden. Sie reagiert ausnahmslos mit charakteristischen

Holz- bzw. Ligninreagenzien (z. B. Phlorogluzin + HCl, Anilinsulfat u. s. w.), wogegen Membranen der Libriformfasern überhaupt nicht, oder nur sehr schwach reagieren. Der Unterschied der Reaktion der Membranen und der Füllmasse zeigt sich am deutlichsten nach Verfahren mit Phlorogluzin und Salzsäure. In diesem Reagens bleiben die Membranen der Libriformfasern vollkommen ungefärbt, oder nehmen in sehr seltenen Fällen, namentlich beim Übergang in das normale Holz, nur ein wenig rötlichen Farbton an. Die festen stabartigen Bildungen der Füllmasse, welche die Zelllumina vollkommen ausfüllt, nehmen im Reagens ausnahmslos eine intensive purpurrote Färbung an. Es soll aber doch hervorgehoben werden, dass die Mittellamelle zwischen den Libriformfasern eine deutliche Holzreaktion zeigt. Die Membranen der Gefäße reagieren auf Holz vollkommen normal.

Bei der Betrachtung dieser besonderen morphologischen und mikrochemischen Erscheinungen an Libriformzellen in der schmalen Zone des Schutzholzes, drängen sich folgende Fragen auf:

1) ist die Füllmasse der Libriformfasern eine Ligninsubstanz, und im Falle sich dies durch mikrochemischen Untersuchungen bestätigt,

2) ist diese Füllsubstanz der Libriformfasern durch den Entholzungsprozess der Membranen entstanden?

Die in weiterem beschriebenen mikrochemischen und anatomischen Untersuchungen sollen uns die auf diese Fragen Antwort geben.

Die mikrochemische Untersuchung.

Durch mikrochemischen Untersuchungen der festen Füllmasse des Libriforms wurde zweifellos festgestellt, dass sie sich wie gegen Phlorogluzin + HCl, so auch gegen andere charakteristischen Ligninreagenzien verhält. Alle sicheren und nichtproblematischen Ligninreaktionen, welche regelmässig in den verholzten Membranen eintreten, fallen bei dieser Substanz positiv aus. Sie zeigen sich jedoch gleichzeitig bei Fasermembranen sehr schwach oder vollkommen negativ. Diese Membranen geben hingegen regelmässig positive Reaktion auf Zellulose mit Chlorzinkjod, oder unter Einwirkung von $J + H_2SO_4$. In folgender Tabelle wird der Überblick über einige charakteristische Reaktionen auf Holz und Zellulose, wie sie im Libriform des Schutzholzes eingetreten sind, gegeben:

REAGENS		REAKTION:	
		Membranen des Libriforms	Füllmasse des Libriforms
Ligninreagentien	Phlorogluzin + HCl	nicht oder schwach rötlich	intensiv dunkel-rot
	Anilinsulfat	nicht oder schwach gelb	intensiv gelb
	Diphenylamin + HCl	nicht oder schwach gelb	intensiv orange-gelb
	Resorcin + HCl	nicht oder schwach bläulich	intensiv rot-violett, violett, blau-violett
	Thymol + KClO ₃ + HCl	nicht oder schwach gelblich-grün	intensiv grün, blaugrün
	KMnO ₄ + HCl + NH ₃ (Mäule)	intensiv rot	keine Reaktion
Zellulosereagentien	Schweizer-Reagens (Kupferoxydammoniaklösung)	langsame Quellung und Auflösung	keine Reaktion
	Chlorzinkjod	blauviolett, violett, braunviolett	keine Reaktion
	J + H ₂ SO ₄ (66%)	intensiv blau oder grünlich-blau, langsame Quellung	dunkelgelb oder braun, Quellung erst nach längerer Einwirkung

Es zeigten sich aber naturgemäss in der Intensität und in der Schnelligkeit des Auftretens der Reaktionen manigfache Übergänge. Man konnte dies insbesondere gut bei der Reaktion mit Phlorogluzin beobachten. Wenn man die Schnitte nach der Reaktion in Glyzerin einlegt, bemerkt man auf den Querschnitten in Faserlumina eine dicke rote Substanz, welche diese vollkommen ausfüllt, ja sogar sich in die feinen Tüpfel der Membranen einpresst, wo sie in Form feiner roten Fädchen an Plasmodesmen erinnert. Die Reaktionsintensität der Füllmasse ist in allen Libriformfasern nicht gleich, und sie hängt von der Dichte und Dicke dieser Masse ab. Ebenso fällt die Phlorogluzinreaktion in den Membranen nicht überall gleich aus. Insbesondere fällt diese ungleichmässige Reaktion an der Grenze der Jahresringe auf.

Die Reaktionen mit Anilinsulfat, Diphenylamin, Resorcin, Thymol, Phenol u. s. w. fallen ebenso gut wie die Phlorogluzinreaktion aus.

Die Mäulesche Reaktion mit Kaliumpermanganat ist die einzige, die mit anderen Reaktionen nicht übereinstimmt,

sondern gerade den anderen entgegengesetzt verläuft. Die Libriformfasermembranen nehmen nach der Behandlung mit KMnO_4 und Ammoniak eine intensiv rote Farbe an, während die Füllmasse, die ursprüngliche braungelbe Färbung behaltend, überhaupt nicht reagiert. Dieses Resultat mit der Mäuleschen Reaktion, fällt gerade deswegen, weil es negativ und entgegengesetzt den Erwartungen ist, besonders auf. Die Meinungen über die Mäulesche Reaktion sind noch geteilt. C. Mäule meint selbst dass die Phlorogluzin- und Hypermanganreaktionen nicht auf einen und denselben Bestandteil der verholzten Membranen hinweisen, weil schon solche Fälle bekannt sind, wo bei einem positiven Ausfall der Phlorogluzinreaktion die Mäulesche Reaktion nur schwach, oder überhaupt negativ ausfällt, und umgekehrt. Nach E. Siersch kann man die Mäulesche Reaktion für die verholzte Membranen nicht als charakteristisch betrachten. In seiner kritischen Studie über Holzreaktionen, führt H. Schindler die Mäulesche Reaktion in Zusammenhang mit dem Vorkommen der Pentosane in der Pflanze an. Nach seinen Untersuchungen fällt diese Reaktion desto besser aus, je mehr Pentosane in den reagierenden Membranen vorhanden sind. Die Intensität der Phlorogluzinreaktion wächst dagegen in der umgekehrten Richtung d. h. je grösser der Pentosanengehalt des Holzes ist, desto schwächer wird die Phlorogluzinreaktion. Dies könnte man nach Schindlers Meinung als Ursache der Nichtübereinstimmung dieser beiden Reaktionen betrachten. Weiter untersuchte Schindler, wie sich die Mäulesche Reaktion gegen verschiedene systematische Pflanzengruppen verhält, und konnte konstatieren, dass sie in der roten Färbung nur bei Gnetaceen und Angiospermen auftritt, bei Gymnospermen und Pteridophyten in der braunen Farbe. Auch K. Lohwag stellt fest, dass die typische rote Färbung der Mäuleschen Reaktion bei den Koniferen nicht zustandekommt. Es besteht auch die Meinung, dass die Mäulesche Reaktion für das chemisch reine Lignin charakteristisch ist. Bevor uns jedoch die genaueste chemische Zusammensetzung des Lignin nicht bekannt ist, kann man dieser Meinung kaum beistimmen.

Nach dem Ausfalle der erwähnten Reaktionen kann man unzweifelhaft auf den Lignincharakter der Füllmasse schliessen. Der Unterschied, welcher sich zwischen der Mäuleschen und den anderen Reaktionen zeigte, könnte vielleicht nach Schindlers Angaben auf der Empfindsamkeit der Mäuleschen Reaktion gegenüber Pentosane basieren, so dass die, in feste Füllmasse formierte Substanz einen Mangel der Pentosane, zum Unterschied von den Fasermembranen zeigt. Es ist eine wichtige Tatsache, welche noch aus der Tabelle ersichtig ist, dass gleichzeitig mit dem positiven Ausfall der Ligninreaktionen bei der Füllmasse, die positive Zellulosereaktion auf Membranen auftritt. Nach v. Wisselingh

reagieren stark verholzte Membranen mit Chlorzinkjod oder mit $J + H_2SO_4$ gelb oder braun. In unserem Falle reagierten auf diese Weise nur die Membranen der Gefässe und auch die Füllmasse der Libriformfaser, was auf ihren Lignincharakter hinweist. Man kann zwar in den Libriformmembranen auch Übergänge von reiner Zellulose- bis zu Holzreaktionen finden, doch sind Zellulosereaktionen bei den meisten am häufigsten. Eine ganz reine Zellulosereaktion zeigen die Membranen erst dann, wenn die letzten Spuren des Lignins beseitigt werden.

Im Zusammenhange mit anderen Zellulosereagentien soll auch die besonders charakteristische Wirkung des Kupferoxydammoniaks (Schweizer-Reagens) auf das untersuchte Libriform besprochen werden. Dieses Reagens löst langsam und allmählich aber sicher die Fasermembranen auf, was unzweifelhaft auf ihren zellulosen Charakter hindeutet. Die Füllmasse der Lumina bleibt dagegen vollkommen indifferent und ändert sich überhaupt nicht, so dass sie im Verlaufe des Quellungs- und Lösungsprozesses der Membranen in der Form von freien Stäbchen aus den Fasern ausfällt.

Das Verhalten der Libriformfasern gegenüber verschiedenen anderen Chemikalien ist verschieden, zum Teil aber sehr charakteristisch. In HCl , HNO_3 und in anderen Säuren zeigt sich keine bemerkbare Veränderung, weder bei den Membranen, noch bei der Füllsubstanz, obgleich die Säuren sehr konzentriert waren. Erst in konzentrierter Schwefelsäure (über 70%) kommt es zu einer allgemeinen Zersetzung des ganzen Gewebes, bei welcher die Membranen nach einer Gelbfärbung zur Auflösung kommen, während die Füllmasse eine dunkelbraune Farbe annimmt und lange noch Widerstand leistet. C. v. Wisselingh (pag. 118) gibt über die Wirkung der Schwefelsäure folgendes an: »Nach Hinzufügung von konzentrierter Schwefelsäure lösen sich die zellulosereicheren Schichten auf, während die ligninreicheren noch Widerstand leisten.« Im unseren Falle verbleibt von den Querschnitten nach Zugabe der Schwefelsäure teilweise ein dünnes polygonales Netz der Mittellamellen, in welchem sich die freien Stäbchen der Füllmasse aufhalten. Es ist daraus — wie auch aus dem Auftreten der Holzreaktionen klar ersichtlich, dass die Mittellamelle stärker verholzt ist, die übrige Hauptmasse der Membran dagegen fast aus reiner Zellulose zusammengesetzt ist, und deswegen in der Säure zerstört und aufgelöst wird. Nach J. König, Klason und Ungar beschreibt v. Wisselingh das Wirken von konzentrierter Schwefelsäure auch mit folgenden Worten: »Mit konzentrierter Schwefelsäure werden die ligninhaltige Membranen momentan dunkelbraun bis schwarz gefärbt, während Zellulosemembranen sich farblos lösen. Zuerst werden die Kohlenhydrate des Holzes gelöst, und erst nach

wochenlanger Berührung mit konzentrierter Schwefelsäure geht auch der schwarzgefärbte Ligninrückstand in Lösung. (pag. 118). Auch diese Beobachtung entspricht einerseits der erwähnten Wirkung der H_2SO_4 an die gelbe Füllmasse und an die Mittellamellen, welche klare Holzeigenschaften zeigen, andererseits der Wirkung an die Hauptmasse der Libriformmembranen, die einen zellulosen Charakter zeigt.

Besonders charakteristisch war auch die kombinierte Wirkung von konzentrierter HNO_3 und H_2SO_4 , im Gemische 1:1. In diesen Säuren lösen sich die Membranen fast ohne irgendeiner Farbenänderung sehr rasch auf, und die eingeschlossene Füllsubstanz der Libriformfasern wird dadurch befreit, und tritt nun in der Form von plastischen Stäbchen oder feinen Bändchen auf. Durch dieses Verfahren gelingt die Isolation der Füllmasse viel besser als mit Kupferoxydammoniaklösung, mit dem Unterschiede, dass die Holzreaktionen nach letzterem Isolationsverfahren positiv, und nach der Behandlung mit den Säuren negativ oder seltener schwach positiv ausfallen. Die isolierten festen Stäbchen dieser Substanz geben vollkommenen Abdruck der Faserlumina, so dass stellenweise kleine Ausstülpungen, welche früher die Membrantüpfel ausfüllten, sichtbar sind. (Vgl. Taf. I, 2).

Durch das Kochen im Schulzeschem Gemische ($KClO_3 + HNO_3$), wird das Libriformgewebe mazeriert, und die stärker verholzten Mittellamellen werden aufgelöst. Gleichzeitig kommt es aber zu vollkommener Auflösung der Füllmasse in den Fasern.

In Laugen und anderen Reagentien zeigt das verwundete Gewebe bzw. das ganze Schutzholz keine unerwarteten und besonderen Veränderungen. So z. B. nimmt die Füllmasse in KOH eine Gelbfärbung wie das Holz an, die Membranen verbleiben dagegen ungefärbt.

Im Anschlusse an diese rein mikrochemischen Angaben muss man noch bemerken, dass alle Membranen des Schutzholzlibriforms im polarisierten Lichte eine Doppelbrechung zeigen. Die gelbe Füllmasse dagegen zeigt keine Doppelbrechung und ist somit amorphen Charakters.

Die Ligninanhäufung im Schutzholze als Folge des Entholzungsprozesses.

Im normalen Holze des untersuchten Objektes sind die Fasermembranen überall vollkommen verholzt, was man durch mikrochemische Reaktionen feststellen kann, die Lumina dagegen leer. Auf Grund der erwähnten mikrochemischen Untersuchungen des Schutzholzlibriforms kann man mit Gewissheit behaupten, dass in dessen Fasermembranen eine Entholzung eingetreten ist, was zuerst durch das Wieder-

auftreten der Zellulosereaktionen ersichtig wurde. Die Entholzung ist eine vollkommene oder unvollkommene, wie es der Lage und der Entfernung einzelner Fasern vom Rande der Wunde entspricht. Fast immer ist die ganze Membran gleichmässig entholt, und die Mittellamelle zwischen einzelnen Fasern bleibt stärker verholzt. Die Lumina der entholtten Librifasern sind mit einer festen Masse erfüllt. (Vgl. Taf. I, 2). Diese abgelagerte Substanz in den Fasern zeigt Holzeigenschaften und ist auch gegen die stärksten Reagenzien sehr widerstandsfähig. Es ist kein Zweifel, dass die Ablagerung dieser amorphen Holz- bzw. Ligninsubstanz in die Faserlumina des Schutzholzes die Folge der Verwundung ist. Die Veränderung des verwundeten Holzgewebes zeigt sich in solchen Fällen gewöhnlich in sehr reicher Bildung von Wundgummi, welches sich in den Zelllumina anhäuft. Aus diesem Grunde stellte man auch hier die Frage auf, ob es sich vielleicht um Gummianhäufungen, und nicht um Ligninsubstanz handelt, umso mehr, da einige mikrochemische Reaktionen den beiden Substanzen gemeinsam sind (E. Küster, pag. 117). Küster gibt nach Beobachtungen von H. Molisch, Temme und Herse an, dass das Gummi in den Gefässen des verwundeten Holzes mikrochemisch sich nicht immer gleich verhält. Wahrscheinlich kommen im Gummi einige auch dem Lignin gemeinsame Substanzen vor, welche die gleichen Reaktionen verursachen. Andererseits sind jedoch gerade im Gummi grössere Mengen verschiedener Pentosane gefunden. Demnach, falls die gelbe Füllmasse des Librifasern eine Ablagerung des Wundgummi wäre, so müsste sie nach den vorher erwähnten Schindlers Angaben sehr empfindlich gegen das Mäulesche Reagens sein. Mit diesem Reagens reagiert sie aber überhaupt nicht.

Aus allen bisherigen Ergebnissen geht hervor, dass die Entholzung der verholzten Membranen nur bei denselben Librifasern (im Schutzholze), bei denen auch die abgelagerte Ligninsubstanz vorkommt, stattgefunden hat. Es drängt sich daher von selbst die Frage auf, ob diese beiden Erscheinungen nicht in irgendwelchen Zusammenhange stehen.

Bevor man in diese Frage eingeht, muss man bemerken, dass jede Membran bei der Verholzung an ihrer Dicke stark zunimmt. C. v. Wisselingh, A. Frey u. a. versuchten diese Erscheinung erklären. Hauptsächlich wird die Verdickung der Membran durch die Adsorption der Ligninsubstanzen erklärt. Frey gibt an, dass die Verdickung der Zellulosemembran beim Verholzen eine Art — durch das Eindringen des Lignins in Intermizellarräume der Membranen verursachte Quellung ist. Im Gegensatz zu dieser Zunahme der Membrandicke bei der Verholzung, beobachtete bereits Hartig die Verschnälerung der Membran bei pathologi-

scher Entholzung, und Alexandrov bemerkte dasselbe später auch bei spontaner physiologischer Entholzung des Birnen- und Quittensklereenchyms.

Durch genaue Messungen einer grösseren Anzahl der Libriformfasern im Schutzholze, stellte man auch in unserem Falle fest, dass die Membranen der — mit Ligninsubstanz gefüllten Fasern, die gleichzeitig entholzt waren — viel schmaler sind, als die Membranen der Fasern des normalen Holzes. Bei systematischer Untersuchung wurden an unserem Objekte insgesamt 120 einzelnen Messungen der Membranbreite durchgeführt, und zwar 60 an Libriformfasern des Schutzholzes, die mit Ligninsubstanz ausgefüllt waren, und zum Vergleiche 60 an den Fasern des normalen Holzes, in einer vom Schutzholze etwas 5 cm. entfernter Zone. Die Messungen wurden an den Querschnitten und zwar in radialer wie auch in tangentialer Richtung durchgeführt, da die einzelnen Faser in tangentialer Richtung gewöhnlich ein wenig abgeplattet sind. Die Resultate dieser Messungen sind in folgender Tabelle angeführt:

	Breite der Membran	Durchschnitt der Membranbreite (M)	Breite des Lumens	Durchschnitt der Lumenbreite (L)
Libriformfasern des Schutzholzes	1,4—5,6 μ	Ms = 3,4 μ	4,2—11,2 μ	Ls = 7,9 μ
Libriformfasern des normalen Holzes	2,8—7,7 μ	Mn = 5,7 μ	2,8—7,0 μ	Ln = 5,2 μ

Nimmt man aus den Ergebnissen der 60 Messungen den Mittelwert der Membranbreite aller Libriformfasern der verwundeten Zone, ohne Berücksichtigung deren Lage beim Messen, so kommen wir zum Durchschnitt von 3,4 μ . Der ihm entsprechende Lumenbreitendurchschnitt beträgt 7,9 μ . Oder kürzer erklärt:

(Schutzholz) Ms = 3,4 μ ; Ls = 7,9 μ .

Bei den Libriformfasern aus normalen Holz mit leeren Lumina stehen die Verhältnisse anders. Die Durchschnittsbreite der Membranen dieser Fasern beträgt 5,7 μ , und die Durchschnittsbreite der entsprechenden Lumina 5,2 μ . Oder:

(Normalholz) Mn = 5,7 μ ; Ln = 5,2 μ .

Es ist daraus ersichtlich, dass im ersten Falle (im verwundeten Holze, bzw. Schutzholze) die Membranen durchschnittlich viel schmaler als Lumendurchmesser, respektive als Durchmesser der Ligninstäbchen, sind. (Ms < Ls). Im zweiten Falle sind die Membranen durchschnittlich sogar etwas breiter als die entsprechende Lumina (Mn > Ln), und in der Mehrzahl sind sie von gleicher Breite.

In abgerundeten Zahlen kann man die Durchschnittswerte der Membran- und Lumenbreite im ersten und zweiten Falle wie folgt gegenüberstellen:

$$M_s : L_s = 3,4 : 7,9 \text{ oder } \underline{M_s : L_s = 1 : 2,3}$$

$$M_n : L_n = 5,7 : 5,2 \text{ oder } \underline{M_n : L_n = 1 : 0,9}$$

Durchschnittlich beträgt die Breite der ganzen Librifaser im Schutzholz $14,7 \mu$, und im normalen Teile des Holzes $16,6 \mu$. Dieser Unterschied ist wahrscheinlich dadurch entstanden, weil sich die gemessenen Fasern des normalen

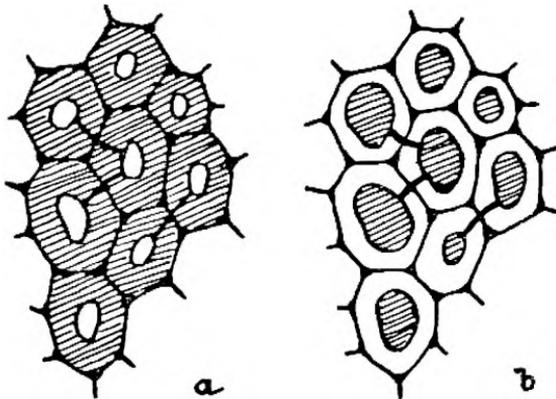


Fig. 1. Schematische Darstellung der Membranverhältnisse des Libriforms im Schutzholze : a) vor —, und b) nach der Entholzung. Die schraffierten Stellen zeigen die Holzsubstanz an.

Holzes etwas näher dem Anfange des Jahresringes befinden, und deswegen besser entwickelt sind. Dafür gibt es keine andere Erklärung, denn auch die Fasern des verwundeten Holzes waren vor der Verwundung normal. Demnach kann man ruhig annehmen, dass die Faserbreiten im normalen und verwundeten Holze gleich waren (cca 15μ), und doch ergibt es sich aus den oben angeführten Messungen, dass die Faserlumina im normalen Holze fast von gleicher Breite sind wie ihnen entsprechende Membranen ($L^n = M^n$), die Lumina im Schutzholze dagegen 2,3 mal breiter sind als die Membranen ($L^s = 2,3 \cdot M^s$). Diese Vergrößerung des Lumens erfolgte ausschliesslich auf Rechnung der Verschmälerung der Membran infolge des Entholzungsprozesses, und keinesfalls durch Vergrößerung des Durchmessers der ganzen Librifaser. Diese Verhältnisse sind in der schematischen Abb. 1 dargestellt.

Beim Zusammenfassen dieser Untersuchung können wir feststellen, dass sich die Entholzung der Librifasermembranen sehr deutlich im folgenden äussert:

a) im Ausbleiben der typischen mikrochemischen Ligninreaktionen, statt welcher Zellulosereaktionen eintreten,

b) in starker Verschmälerung der Fasermembranen.

Der eben beschriebene Fall der Entholzung unterscheidet sich von den, durch Alexandrov und andere beobachteten Entholzungsprozesse nur dadurch, dass hier keine Resorption oder chemische Metamorphose des Lignins eingetreten ist, sondern dass die Ligninsubstanz aus der Membranen in die Faserlumina ausgepresst wird, wo sie chemisch unverändert bleibt.

Der morphologische Charakter der dekrustierten Holzsubstanz.

Nach der Form und nach der Art und Weise, wie die aus Membranen dekrustierte Holz- bzw. Ligninsubstanz die Lu-

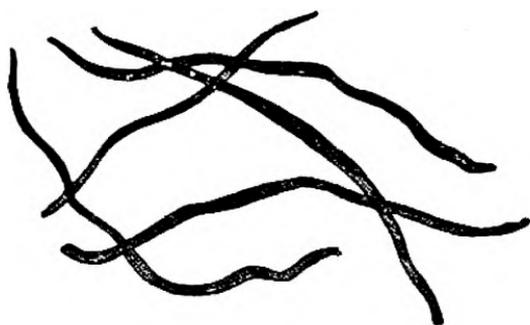


Fig. 2. Isolierte Lignininklusen aus Libriform im Schutzholze nach Behandlung mit $H_2SO_4 + HNO_3$.

mina der Fasern ausfüllt, entspricht sie vollkommen jenen Bildungen, die in der Pflanzenanatomie als Inklusen bekannt sind. Inklusen sind nach Küster alle feste Bildungen, welche die Lumina der Zellen ausfüllen, ohne Rücksicht darauf, ob es sich um gummosse Bildungen, Anhäufungen von Philoroglykotannoiden, Kieselsäure, oder andere Bildungen handelt. In seinen Vorlesungen sagt Küster: »Liegt statt des flüssigen Zallsaftes eine starre Füllmasse in der Zelle, so spricht man seit Tichomirow von Inklusen.« (pag. 366). Nach H. Molisch können Kieselsäureinklusen die Zellumina so vollkommen ausfüllen, dass sogar die Tüpfel der Membran mit Masse der Kieselsäure ausgefüllt sind.

Für die Entstehung unserer Lignininklusen, und parallel damit für die Verschmälerung der Membranen, gibt es keine andere Erklärung als dass es sich hier um eine Auspressung der Ligninsubstanz aus den Membranen, und um die Ablagerung derselben in die Zellumina in Form von festen Lignininklusen handelt. Diese Erscheinung ist vollkommen analog den

von Molisch beobachteten Fällen der Kieselsäureinklusen, bei welchen die Kieselsäuresubstanz ebenso die kleinsten Membrantüpfel verstopft, wie in unserem Falle die aus Membranen abgelagerte Holzsubstanz. Es ist schwer zu glauben, dass die Substanz der Lignininklusen in die Faserlumina auf irgendeine andere Weise, als durch Dekrustation des verholzten Libriforms selber, eingedrungen ist, denn stärkere Kommunikationen der Säfte in diesem ausdrücklich mechanischen Gewebe gibt es nicht. Es ist nur fraglich wie dieser Ablagerungsprozess dieser amorphen Substanz in die Lumina stattgefunden hat. Der ganze Vorgang wurde jedenfalls durch die Verwundung des Holzes eingeleitet, und man kann diese Verstopfung der Libriformfaser und Entstehung von Inklusen als Reaktion des Pflanzenorganismus auf den starken, durch die Wunde verursachten Reiz betrachten, ebenso, wie auch die Entstehung zahlreicher Thyllen in den Gefässen, und das Ansammeln der Gummi- und Gerbstoffe in den Gefässen und im Parenchym der verwundeten Zone, bzw. des s. g. Schutzholzes als Folge der Verwundung gedeutet wird. Durch Lignininklusen werden die an die Wunde grenzenden unverwundeten Teile des Stammes gut verstopft, und es entsteht eine kompakte Zone des Schutzholzes, durch welche sich der Stamm von den ungünstigen Einflüssen der Umgebung schützt.

Zusammenfassung.

Im Schutzholze einer alten vernarbten Wunde an einem Buchenstamme wurde folgendes beobachtet und nachgewiesen:

1) Die Libriformmembranen zeigten fast ausschliesslich die Zellulosereaktion; die Faserlumina desselben Libriforms waren mit einer gelblichbrauner Masse, die sich mikrochemisch als Ligninsubstanz erwies, dicht erfüllt.

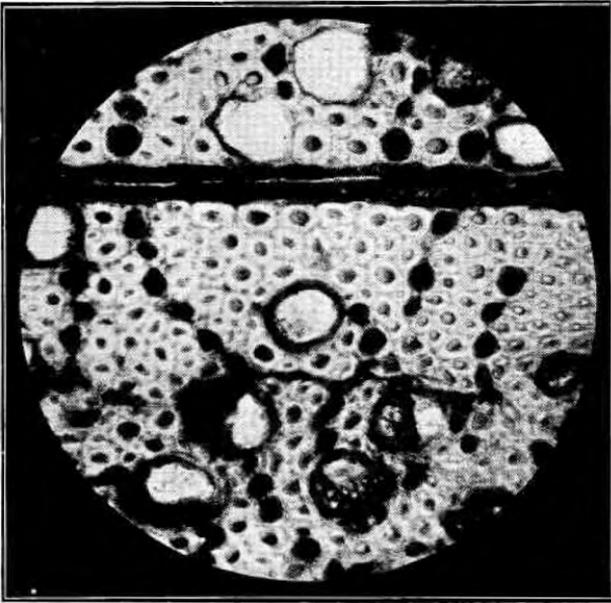
2) Das Libriform desselben Schutzholzes hatte dünnere Membranen, und dementsprechend grössere Lumina als das normale Libriform.

3) Diese Veränderungen in der Chemie und Struktur des Libriforms im Schutzholze werden als eine — durch Membrandekrustation entstandene — Entholzung gedeutet.

4) Die aus Membranen in Zelllumina abgelagerte Ligninsubstanz hat den morphologischen Charakter der Inklusen, die in diesem Falle als Lignininklusen bezeichnet werden.

Es sei mir am Schlusse gestattet meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. V. V o u k für die Anregung zu dieser Arbeit sowie auch für die liebenswürdige Unterstützung bei ihrer Durchführung, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Fig. 1



Querschnitt durch das Schutzholz. Die dunkleren Stellen in Libriformfasern sind Ligninablagerungen. (Mikrophoto.)

Fig. 2



Die isolierten Lignininklusen nach Behandlung mit $H_2SO_4 + HNO_3$ (Mikrophoto.)

L I T E R A T U R:

- Alexandrov W. G. u. Djaparidze L. I.: Über das Entholzen und Verholzen der Zellhaut. *Planta* 4, 1927.
- Alexandrov W. G. u. Alexandrova O. G.: Ist die Verholzung ein reversibler oder irreversibler Vorgang? *Planta* 7, 1929.
- Frey A.: Über die Intermzellarräumen in Zellmembranen. *Ber. d. D. Bot. Ges.* 46, 1928.
- Hartig R.: *Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten*. Berlin 1900.
- Jäger M.: Untersuchungen über die Frage des Wachstums und der Entholzung verholzter Zellen. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 68, 1928.
- Küster E.: *Pathologische Pflanzenanatomie*. II Aufl., Jena 1916.
- Küster E.: *Die Pflanzenzelle*. Jena 1935.
- Molisch H.: Zur Kenntniss der Thyllen nebst Beobachtungen über Wundheilung in der Pflanze. *Sitzber. Ak. Wiss. Wien, Abt. I.*, 1888.
- Rudau B.: Vergleichende Untersuchungen über die Biologie holzzerstörender Pilze. *Beitr. Biol. d. Pfl.* 13, 1917.
- Schilling E.: Ein Beitrag zur Physiologie der Verholzung und des Wundreizes. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 62, 1923.
- Schindler H.: Kritische Beiträge zur Kenntniss der sogenannten Holzreaktionen. *Ztschr. f. wiss. Mikr.*, 48, 3, 1931.
- Tunmann O.: *Pflanzenmikrochemie*. Berlin 1931.
- Weidel F.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und vergleichenden Anatomie der Cynipidengallen der Eiche. *Flora* 102, 1911.
- Wisselingh C. v.: Die Zellmembran. *Linsbauer's Handb. d. Pflanzenanatomie*, I. Abt., Bd. III/2, Berlin 1925.
-