

WILHELM BARTHLOTT

Morphologie der Samen von Orchideen im Hinblick auf taxonomische und funktionelle Aspekte

Summary: Scanning Electron Microscopic Survey of Seed Morphology in Orchidaceae and its Taxonomic and Functional Significance

A scanning electron microscope survey of form and surface structure of dust-seeds of *Orchidaceae* is given; some 150 species of 58 genera have been examined. The highly varied characteristics of the seed coats are illustrated by a schematic drawing and 10 SEM micrographs. The functional morphology with regard to the dispersal of orchidaceous dust-seeds is discussed.

A taxonomic and micromorphological evaluation of the seed coat characteristics is made; the following criteria are found to be of diagnostic value: size and form of the whole seed; size and form of single testa cells; structure of anticlinal walls of testa cells (e. g. thickness, undulation, etc.); structure of outer periclinal walls of testa cells (smooth or with submicroscopic granular layers); structure of inner periclinal walls of

testa cells (with varied patterns of secondary wall thickenings of great taxonomic significance). Some of the micromorphological features are described for the first time.

The taxonomic-phylogenetic significance of the morphological characteristics described is discussed in detail. On the species level the application of seed morphological criteria seems to be rather limited. Seed morphology can be used to separate genera; but the most important phylogenetic evidence is found on the subtribe and tribe level. Several examples discussed show, that the comparative seed coat morphology will contribute to a clearer understanding of the suprageneric classification of the family. The functional morphology of seed coats is discussed with regard to the aerodynamic properties and wettabilities of the seeds; a rather complex functional interaction can be demonstrated.

Die *Orchidaceae* bilden die größte Familie des Pflanzenreiches; zehn Prozent aller beschriebenen Blütenpflanzen sind Orchideen. Trotz einer Fülle regionalfloristischer und taxonomischer Literatur kann man die überraschende Feststellung machen, daß die Familie recht einseitig und auf supragenerischer Ebene sogar sehr ungenügend untersucht ist (vgl. DRESSLER & DODSON 1960). Einem der klassischen taxonomischen Merkmale, der Morphologie der Samen, hat man z. B. beinahe keine Beachtung geschenkt. Die einzige größere Arbeit über die Samen der Orchideen erschien vor über 110 Jahren (BEER 1863).

Die winzig kleinen, im Durchschnitt etwa 0,6 mm langen Samen der Orchideen können geradezu zur Charakterisierung der Familie dienen; man bezeichnete die Gruppe früher

auch als „Microspermae“. Orchideensamen werden, von der Gattung *Vanilla* als einzige Ausnahme abgesehen, durch die Luft verbreitet. Solche winzigen anemochoren Diasporen: – bei den Orchideen handelt es sich um einzelne Samenkörner – bezeichnen wir als Staubsamen. Bedingt durch ihre Kleinheit haben sie im Verhältnis zum Gewicht eine so große Oberfläche, daß sie aufgrund ihrer niedrigen Sinkgeschwindigkeit wie atmosphärische Staubteilchen schweben können. Der Begriff „Staubsamen“ (engl. dust-seed) wird auch noch in der neuesten Literatur mit dem Terminus „Feilspannsamen“ (oder „Sägespansamen“, „scobiforme“ Samen) synonym gebraucht. Das ist nicht korrekt, denn der Begriff „Staubsamen“ ist funktionell definiert; der Ausdruck „Feilspannsamen“ beinhaltet eine morphologische Wer-

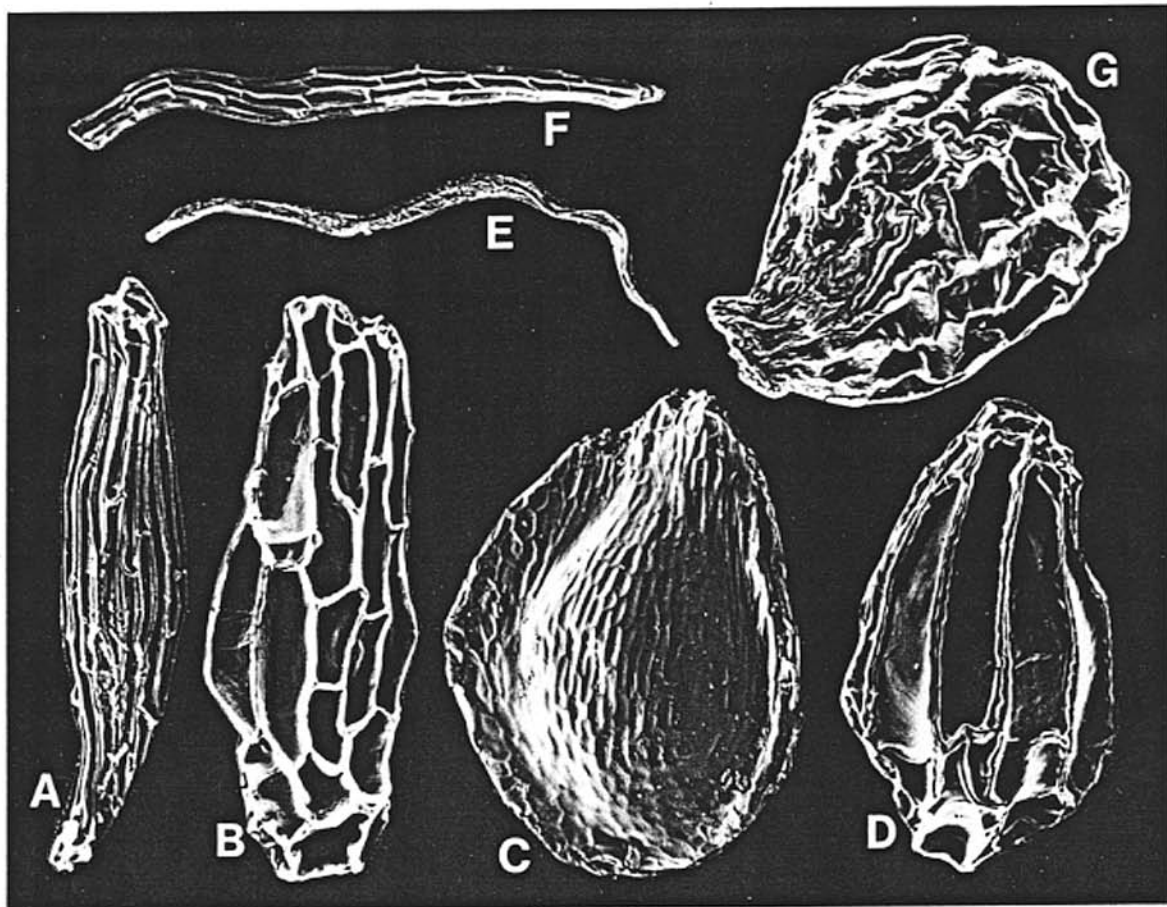


Abb. 1: Samenformen bei Orchideen. a) *Oncidium sphacelatum* LINDL. (Vergr. ca. 350 \times), b) *Orchis militaris* L. (Vergr. ca. 350 \times), c) *Galeola septentrionalis* RCHB. f. (Vergr. ca. 70 \times), d) *Satyrium odorum* SOND. (Vergr. ca. 350 \times), e) *Sobralia* spec. (Vergr. ca. 35 \times), f) *Paphiopedilum barbatum* PFITZ. (Vergr. ca. 70 \times), g) *Apostasia* spec. Borneo/Clemens No. 30484 (Vergr. ca. 350 \times).

tung: beim scobiformen Samen ist der kugelförmige Embryo von einer losen, feilspanförmigen Samenhülle umgeben. Die *Nepenthaceae* haben z. B. Feilspansamen, die mit bis zu eineinhalb Zentimetern Länge aber keinesfalls Staubsamen sind. Bei den Orchideen findet man nicht nur feilspanförmige, sondern auch z. B. geflügelte und scheibenförmige Staubsamen. (vgl. *Galeola*, Abb. 1c).

Vegetative Merkmale oder Farbe und Größe von Blüten können innerhalb nahe verwandter Sippen recht unterschiedlich sein. Diese Merkmale mußten sich im Lauf der Evolution unter dem unmittelbaren Druck der Selektion an spezifische Biotope und ökologische Nischen anpassen. Andere Kriterien dagegen, wie die Morphologie von Pollen und Samen, sind weniger abhängig von der Umwelt und gelten als konservativ. Konservative Merkmale bilden oftmals ausgezeichnete Leitlinien zum Erkennen verwandtschaftlicher Beziehungen. Über die Morphologie von Orchideensamen liegt, wie schon eingangs erwähnt, beinahe keine Literatur vor, wenn man von den entwicklungs- geschichtlich-embryologischen Arbeiten absieht. Einen Eindruck von der Vielgestaltigkeit geben die Tafelabbildungen bei BEER (1863); morphologisch-funktionelle Beobachtungen an Orchideensamen wurden von RACIBORSKY

(1898) durchgeführt. Zusammenfassende Darstellungen der Biologie und Morphologie feilspanförmiger Samen haben HIRT (1906) und FLEISCHER (1929) publiziert, ohne jedoch auf taxonomische Probleme einzugehen. Erst CLIFFORD & SMITH (1969) haben sich mit der systematischen Verwendbarkeit von Orchideensamen beschäftigt; bei den Untersuchungen von 49 Arten aus 38 Gattungen kamen sie zu dem Ergebnis, daß es Übereinstimmungen zwischen der supragenerischen Gliederung und der Morphologie der Samen gibt. Mit der Samenmorphologie europäischer Orchideen hat sich in neuester Zeit WILDHABER (1972, 1974) beschäftigt; am Beispiel der Gattung *Orchis* konnte er zeigen, daß sich diese Merkmale auch zur infragenerischen Gliederung, u. U. bis zur Bestimmung der Art, verwenden lassen.

Mit Hilfe der Raster-Elektronenmikroskopie (REM) ist es möglich, Orchideensamen auch bei hohen Vergrößerungen plastisch und mit großer Tiefenschärfe darzustellen. Elektronenmikroskopische Methoden liefern in zunehmendem Maße Daten zur Lösung taxonomischer Probleme (vgl. COLE & BEHNKE 1975); somit ist es auch wenig überraschend, daß die ersten Untersuchungen an Orchideensamen (BARTHOLOTT 1974; RAUH, BARTHOLOTT & EHLER 1975) zeigen, daß die Mikromorphologie ihrer Testa noch komplexer und vielgestaltiger ist als man bisher aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen annahm. Die folgenden Ergebnisse beruhen auf REM-Untersuchungen der Samen von etwa 150 Arten aus 58 Gattungen; bei einer etwa 25000 Arten umfassenden Familie muß diese Arbeit weit entfernt von einer vollständigen Darstellung bleiben.

Dank

Der größte Teil der untersuchten Samen wurde von im Botanischen Garten der Universität Heidelberg kultivierten und von Dr. K. SENGHAS bestimmten Pflanzen geerntet; einige Samen erhielten wir durch den Samenaustausch von anderen Botanischen Gärten. Samen europäischer Erdorchideen stellten freundlicherweise D. u. U. RÜCKBRODT (Lampertheim) und O. WILDHABER (Zürich) zur Verfügung, einige isolierte und seltene tropische Gattungen erhielten wir durch F. BUTZIN (Berlin-Dahlem) und R. DRESSLER (Panama); für die Überlassung des Materials sei an dieser Stelle vielmals gedankt.

Zur Untersuchung wurde der reife Samen mit Tesa-Film auf den Probenteller gebracht

und im Sputtering-Verfahren mit Gold beschichtet. Untersucht wurde in einem Raster-Elektronenmikroskop „Stereoscan 600“ der Fa. Cambridge Instr. Co. bei Vergrößerungen zwischen 50- und 20000-fach.

MIKROMORPHOLOGIE DER SAMENSCHALE

Einige taxonomisch-diagnostische mikromorphologische Kriterien wurden lichtmikroskopisch schon von CLIFFORD & SMITH (1969) und WILDHABER (1972; 1974) herausgearbeitet; die REM-Aufnahmen zeigen, daß die Samen von Orchideen noch vielgestaltiger sind, als man aufgrund dieser Untersuchungen annahm. Dabei lassen sich zwei grundsätzliche Typen unterscheiden, nämlich die diskusförmigen bis geflügelten Staubsamen der *Vanillinae* und die feilspanartigen Staubsamen aller übrigen *Orchidaceae*. Vorab soll die isolierte Splittergruppe der *Vanillinae* behandelt werden und dann die Formenmannigfaltigkeit und deskriptive Terminologie der eigentlichen Feilspannsamen dargestellt werden.

Die Samen der *Vanillinae* besitzen eine feste, oft mehrschichtige Testa, die dem Embryo dicht anliegt. Die Form des Samens ist eine abgeplattete Kugel (*Vanilla*), diskusförmig (*Galeola*, Abb. 1c) oder die eines Diskus mit schwach (*Galeola spec.*) bis stark (*Galeola altissima* REICHB. f., *Epistephium spec.*) ausgezogenen Flügelrändern. Die Zellen der Testa über dem Embryo sind im Gegensatz zu allen übrigen *Orchidaceae* tabular (*Vanilla*, Abb. 4); nur auf den ausgezogenen Flügelrändern sind sie aus funktionellen Gründen wie bei der Feilspanntesta der übrigen Orchideen konkav eingesenkt (Schema Abb. 10).

Die Samen der *Vanillinae* sind meist kräftig braun bis schwarz pigmentiert; die Feilspannsamen der übrigen Orchideen sind meistens weißlich, selten gelb bis intensiv gelb (manche *Dendrobium*-Arten) oder braun (manche *Cypripedium*-Arten) gefärbt. Orchideensamen vom Feilspanntyp sind recht mannigfaltig ausgebildet, folgende taxonomisch-diagnostische Kriterien bzw. mikromorphologische Strukturen lassen sich feststellen:

1. Größe und Form der Samen.

a) Länge und Breite. Die kleinsten Orchi-

deensamen sind knapp 0,3 mm lang (z. B. *Pleurothallis racemiflora* LINDL.; *Satyrium odorum* Sond. Abb. 1d); die fadenförmigen Samen mancher *Sobralia*-Arten (Abb. 1e) werden dagegen bis zu 5 mm lang. Diagnostisch gut brauchbar ist der Quotient aus Breite und Länge der Samenschale, der auch etwas über die Form des Samens aussagt: bei den beinahe kugeligen, birnenförmigen Samen von *Satyrium* (Abb. 1d) beträgt er beinahe 1 : 1, bei den lang fadenförmigen Samen von *Sobralia* (Abb. 1e) etwa 1 : 22.

b) Relative Größe des Embryos. Bei Feilspansamen liegt der Embryo lose etwa in der Mitte der meist langgestreckten Samenhülle. Der Quotient Embryolänge : Samenlänge ist diagnostisch verwendbar; die Extremwerte schwanken von 2 : 3 (z. B. *Pleurothallis*) bis zu 1 : 10 (z. B. *Sobralia*).

c) Form des Samens. Bei den *Orchidaceae* unterscheiden wir, im Gegensatz zu CLIFFORD & SMITH (1969), nur zwei Grundformen: die \pm diskusförmigen Samen der *Vanillinae* und die Feilspansamen der übrigen Vertreter. Die Form der Feilspansamen ist meistens gattungsspezifisch; der Umriß einzelner individueller Samenkörner schwankt innerhalb einer Art aber beträchtlich. Man kann Feilspansamen bei Orchideen etwa in folgende Formen einteilen, zwischen denen es alle Übergänge gibt:

- birnenförmig (z. B. *Graphorkis lurida* KRZE.; *Satyrium odorum* Sond. Abb. 1d)
- sackförmig (z. B. bei der Gattung *Ophrys*)
- gurkenförmig (z. B. viele Arten der Gattungen *Epidendrum*, *Oncidium*; vgl. Abb. 1a)
- spindelförmig (z. B. bei *Catasetum*, *Ornithocephalus*)
- fadenförmig (z. B. *Paphiopedilum barbatum* PFITZ. Abb. 1f; *Sobralia* spec. Abb. 1e)

Es gibt eine Anzahl von gattungsspezifischen Sonderbildungen der Samenform, die nur kurz erwähnt werden sollen: bei *Stanbopsea* ist der etwa birnenförmige Samen stark abgeplattet und erhält dadurch eine charakteristische Form, die man bei der bezeichnenderweise zur gleichen Subtribus gehörenden Gattung *Gongora* wiederfindet. Viele Samen zeigen eine Torsion der Samenhülle, wie sie z. B. für viele *Burmanniaceae* (vgl. Abb. 12 in RAUH, BARTHLOTT & EHLER 1975) typisch ist. Tordierte Samen findet man z. B. in den Gattungen *Epidendrum* und *Ornithocephalus*; ihre Spiralstruktur erleichtert vielleicht

ein Einbohren in feinste Substratlücken. Schließlich können die Enden der fadenförmigen Samen mancher Arten (z. B. bei *Sobralia lowii* ROLFE) hakenförmig gekrümmt sein und ermöglichen so wahrscheinlich ein Festhalten am Substrat.

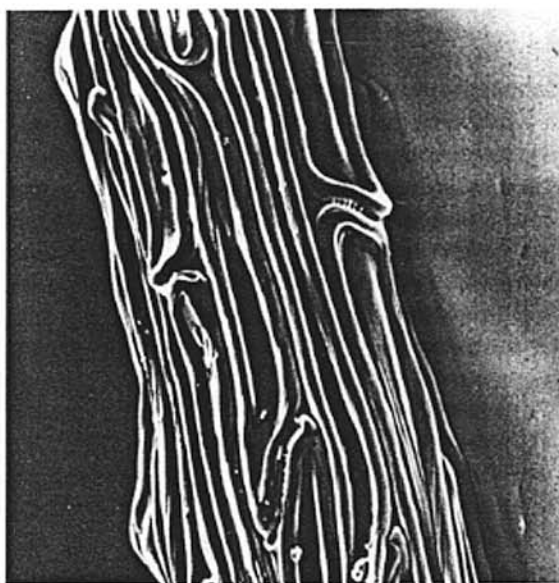
2. Größe und Form der einzelnen Testazellen. Form und Größe hängen von der Lage der Zelle in der Samenhülle ab: in der Mitte des Samens, also über dem eingeschlossenen Embryo, finden sich große Zellen; gegen die Samenenenden werden die Zellen kleiner und haben oft stärker gewellte Antiklinalwände. Trotzdem lassen sich entsprechende Zellen verschiedener Arten miteinander vergleichen und als taxonomisches Merkmal zur Unterscheidung von Sippen auf unterster systematischer Ebene (oft zur Differenzialdiagnose einzelner Arten) verwenden. Die Testazellen sind alle tot, die membranartig dünne äußere Periklinalwand (Abb. 10/II) ist nach innen kollabiert und liegt der inneren Periklinalwand (Abb. 10/III) oftmals dicht an. Das charakteristische Netzmuster der Oberflächen von Orchideensamen (Abb. 1b; 3; 5) wird durch die dicken reliefartig erhabenen Antiklinalwände (Abb. 10/I) gebildet. Taxonomisch verwendbar sind:

- a) Umriß der Testazellen. Die Zellen sind entweder
- isodiametrisch, also gleich lang und breit (z. B. bei *Limodorum abortivum* Sw. Abb. 5) oder
 - prosenchymatisch, also in einer Richtung (nämlich der Längsachse des Samens) gestreckt (z. B. bei *Eulophia guineensis* LD. Abb. 3).

Die Zellen sind dabei meist polygonal (oft hexagonal wie bei *Limodorum*, Abb. 5), nur selten aber tetragonal (etwa rechteckige Testazellen hat z. B. *Wulfschlaegelia aphylla* REICH. f.).

b) Länge und Breite der Zellen. Die isodiametrischen Zellen von *Limodorum* haben einen Durchmesser von etwa 40 μ m; die prosenchymatischen Zellen von *Eulophidium* sind bei einer Breite von 40 μ m zwischen 80 und 130 μ m lang.

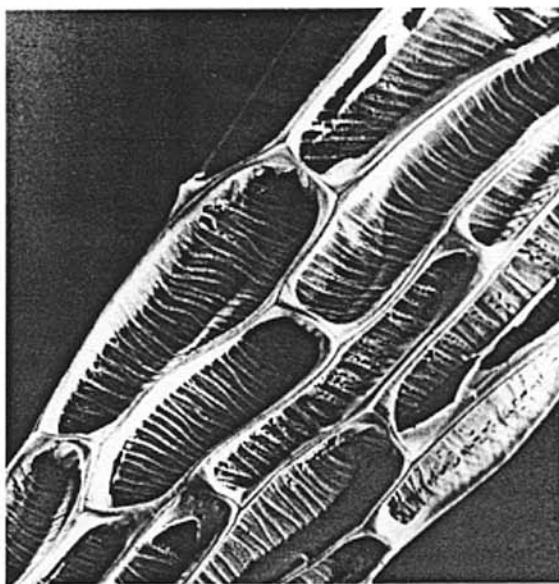
c) Zahl der Testazellen pro Länge und Breite des Samens. Dieses Merkmal ist diagnostisch sehr gut verwendbar und wurde schon von WILDHABER (1972) benutzt. Die Zahl der Testazellen schwankt etwa zwischen folgenden Extremen: bei *Satyrium odorum* SOND.



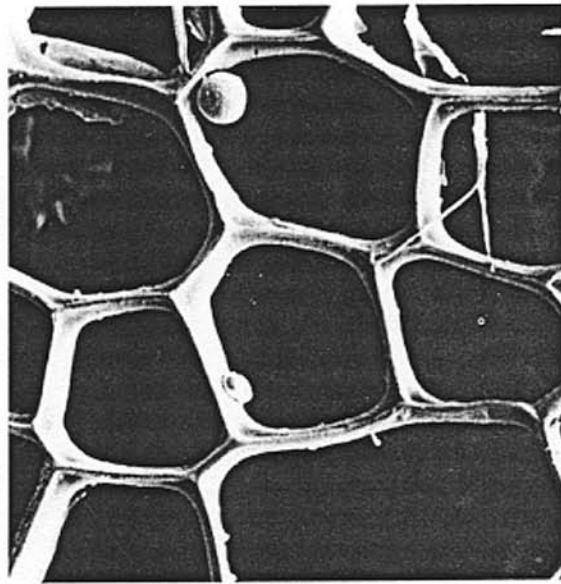
2



4



3



5

Abb. 2: *Thrixspermum arachnites* RCHB. f., mit den für viele Gattungen charakteristischen verdickten Antiklinalwänden. Vergr. 1000fach.

Abb. 3: *Eulophia guineensis* LINDL. mit dem Netz-muster der reliefartig erhabenen Antiklinal-wände und der mit feinen Leisten skulpturierten eingesenkten Periklinalwänden der Testa; Ver-gr. 350fach.

Abb. 4: *Vanilla* spec. (Panama/DRESSLER No. 4740) mit der für die Gattung charakteristischen glatten Oberfläche der Samen; man erkennt an den schwach eingesenkten Nähten den ge-schwungenen Verlauf der Antiklinen. Vergr. 700fach.

Abb. 5: *Limodorum abortivum* Sw., Testa eines wenige Tage auf feuchter Erde angequollenen Samens. Die Periklinalwände sind völlig durch-gebrochen, der freie Embryo ist nur von dem Netz der Antiklinen umhüllt. Vergr. 700fach.

(Abb. 1d) ist die Testa nur knapp 2 Zellen lang, bei *Sobralia spec.* (Abb. 1e) dagegen über 40 Zellen lang. Bei manchen *Paphiopedilum*-Arten ist die Testa nur 3 Zellen breit, bei vielen *Stanhopea*-Arten dagegen bis zu 15 Zellen breit.

3. Ausbildung der Antiklinen

Die verschiedenartige Ausbildung der reliefartig erhabenen Antiklinalwände, die das Netzmuster der Samenoberfläche bilden, kann diagnostisch verwendet werden:

a) Verlauf der Antiklinen in Aufsicht, der die Zellform mitbestimmt.

- gerade Antiklinen (z. B. bei *Eulophia*, Abb. 3)
- unregelmäßig geschwungene Antiklinen (z. B. bei *Catasetum*; *Vanilla*, Abb. 4)
- regelmäßig undulierte Antiklinen. Solche miteinander verzahnte Testa-Zellen sind bei Orchideen recht selten; die Undulation kann dabei S-förmig oder sehr selten V-förmig („zickzackförmig“ verzahnte Zellen) sein. Auffällige Antiklinalundulationen finden sich z. B. bei *Orchis provincialis* BALBIS, ganz feingewellte Antiklinen z. B. bei *Spiranthes sinensis* AMES.

b) Dicke der Antiklinen. Die Antiklinen sind grundsätzlich dicker als die Periklinalwände der Testa. Bei allen europäischen Orchideen beträgt die Antiklinaldicke weniger als 10 µm, also nur einen Bruchteil der Breite der Zelle. Bei anderen Gattungen beträgt die Stärke der verdickten Antiklinen etwa die Hälfte der Testazellen (z. B. bei *Thrixspermum arachnites* REICHB. f., Abb. 2), bei den *Vanillinae* können sie nach CLIFFORD & SMITH (1969) noch stärker sein.

Feilspernsamen mit verdickten, meist unregelmäßig geschwungenen Antiklinen ergeben in der Merkmalskombination eine außerordentlich charakteristische Oberflächenstruktur, wie sie in Abb. 2 für *Thrixspermum* dargestellt ist. Dieser Samentyp findet sich bei einer Anzahl von Gattungen innerhalb der *Epidendroideae-Vandoideae* (z. B. bei *Cyrtorchis*; *Diaphanthe*; *Ornithocephalus*); weitere Untersuchungen können hier vielleicht bemerkenswerte systematische Zusammenhänge ergeben.

c) Struktur der Antiklinalnaht. Die Antiklinalnaht kann versenkt und damit sichtbar; oder nicht sichtbar sein. Versenkte Nähte haben die allermeisten Vertreter der Familie (z. B. *Eulophia*, Abb. 3). Nicht versenkte, also im

REM nicht sichtbare Antiklinalnähte finden sich bei manchen *Vanillinae*; auch die *Apostasiaceae* scheinen sich durch nicht versenkte Antiklinalnähte von den meisten *Orchidaceae* zu unterscheiden. Bei der Gattung *Goodyera* R. BR. ist die Verwachsung der Antiklinalnähte nur unvollständig, es entstehen freie Interzellularen an der reifen Samenschale.

d) Ausbildung der Antiklinalnischen. An den Ecken der Testazellen sind die Antiklinen oftmals ausgezogen, der ganze Samen erscheint somit fein bestachelt (z. B. bei *Graphorkis lurida* KTZE., vgl. Abb. 14 in BARTHLOTT 1974). Bei den unter Punkt 3b) besprochenen *Epidendroideae-Vandoideae* mit verdickten Antiklinen können die Zellen sogar extrem lang ausgezogen sein; auf dieses Verhalten hat erstmals RACIBORSKY (1898) bei *Aerides* LOUR. aufmerksam gemacht. Bei *Thrixspermum arachnites* REICHB. f. sind die Antiklinalnischen an beiden Enden des Samens (Abb. bei RAUH, BARTHLOTT & EHLER 1975) zu widerhakenähnlichen Anhängseln ausgebildet und erleichtern somit vermutlich ein Festhalten an der Baumrinde. Bemerkenswert ist die morphologische Natur dieser Gebilde: als ausgezogene verstärkte Antiklinen handelt es sich weder um Haare noch um Emergenzen; Gebilde ähnlicher morphologischer Natur scheinen bislang nicht beschrieben zu sein.

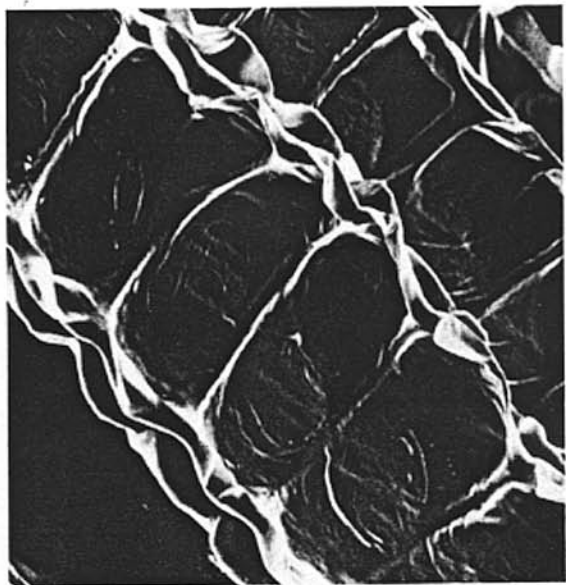
e) Perlschnurartig strukturierte Antiklinen. Auf diese Ausbildungsform machten zuerst CLIFFORD & SMITH (1969) bei Vertretern der Gattungen *Acianthus*, *Caladenia*, *Diuris* und *Glossodia* aufmerksam und sprachen von „beaded longitudinal walls“. Ähnliche Strukturen werden im REM an den Samen von *Satyrium* und *Cynorkis* sichtbar. Besonders ausgeprägt findet man sie bei *Cynorkis fastigiata* TH. (Abb. 8), hier haben die beiden aneinandergrenzenden Wandportionen zweier Zellen eine gegenläufige feine Wellung; von den einzelnen Ausbuchtungen laufen Falten der äußeren Periklinalwand über die Breite der Testazelle und täuschen leistenartige sekundäre Zellwandverdickungen (siehe Punkt 4b u. 4c) vor. Diese Antiklinalwandstrukturen bedürfen weiterer Untersuchung.

4. Ausbildung der Periklinen

Bei den flächigen dünnen Periklinalwänden unterscheiden wir entsprechend Abb. 10 zwischen der inneren und äußeren Wand; Struk-



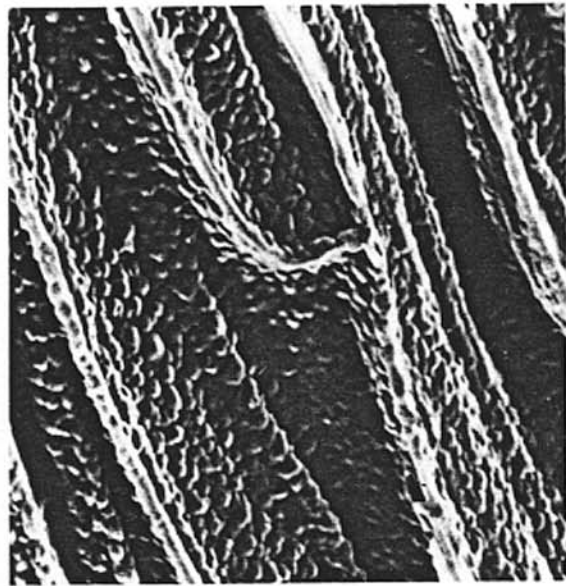
6



8



7



9

Abb. 6: *Calypso bulbosa* (L.) AMES, Testa mit netzartig verflochtenen Periklinalwand-Leisten. Diese Skulpturierung der Samenwand fand sich bei 58 untersuchten Gattungen nur noch bei *Corallorhiza* R. BR., die mit *Calypso* SALISB. nahe verwandt ist. Vergr. 1400fach.

Abb. 7: *Serapias vomeracea* (BURM. f.) BRIQ.; Oberfläche des Samens nach Entfernung der periklinalen Außenwand durch Oxydation mit hochfrequenzaktiviertem Sauerstoff. Man erkennt nunmehr die regelmäßigen dichtliegen-

den Leisten auf der periklinalen Innenwand der Testazelle besonders deutlich. Vergr. 1000fach.

Abb. 8: *Cynorkis fastigiata* TH., Testazellen mit fein undulierten Antiklinalwänden und durch regelmäßige Falten strukturierte äußere Periklinalwände. Vergr. 1400fach.

Abb. 9: *Epidendrum nocturnum* JACQ. zeigt wie viele Vertreter dieser Gattung bei hohen Vergrößerungen eine feine Granulierung der Testa durch submikroskopische Wachs-Körnchen. Vergr. 4000fach.

turen der inneren Periklinalwand zeichnen sich dabei auf der dicht aufliegenden Außenwand ab.

a) Eigenstruktur der periklinalen Außenwand. Die Außenfläche der Testazellen ist bei den allermeisten der untersuchten *Orchidaceae* glatt und zeigt selbst bei 20000-facher Vergrößerung keine Eigenstruktur. Bei manchen *Dendrobium*- und *Epidendrum*-Arten aber (*Epidendrum nocturnum*, Abb. 9) ist die Testa mit submikroskopischen Warzen strukturiert. Der Durchmesser der einzelnen Granulae beträgt etwa 0,5 µm, nach einer kurzen Behandlung der Samen mit Xylol oder Petroläther lösen sie sich auf und sind nicht mehr feststellbar; vermutlich handelt es sich um einen submikroskopischen Wachsbelag, keinesfalls aber um echte Cuticular-Strukturen.

b) Faltungen der periklinalen Außenwand. Feinste Streifenmuster, die wahrscheinlich submikroskopische Falten der periklinalen Außenwand darstellen, finden sich u. a. bei den Gattungen *Graphorkis*, *Gongora* und *Stanhopea*. Auf die von den Antiklinen ausgehenden periklinalen Falten von *Cynorkis* wurde schon unter Punkt 3e hingewiesen.

c) Leistenartige Wandverdickungen. Schon im lichtmikroskopischen Bild sind die Periklinalwände vieler Orchideen fein gestreift (vgl. WILDHABER 1972); diese Streifung ist meistens für Untergattungen oder für ganze Gattungen charakteristisch. Über die morphologische Natur dieser „Streifung“ war bisher nichts bekannt, die REM-Untersuchungen haben hier weitgehend die Verhältnisse geklärt: bei den Streifen handelt es sich um leistenartige sekundäre Zellwandverdickungen, die immer auf der inneren Periklinalwand (Abb. 10/IV) liegen. Auf der äußeren Periklinalwand, die als feine Haut über den Leisten liegt (Abb. 10), zeichnen sich diese Strukturen ab und sind so im REM-Bild (z. B. bei *Eulophia guineensis* LDL., Abb. 3) scheinbar auf der Außenseite der Testazellen gelegen. Die morphologischen Verhältnisse sind hier ähnlich wie bei der Samenoberfläche der Scrophulariaceen-Gattung *Cordylanthus* C. (CHUANG & HECKARD 1972). Die Leisten sind, ähnlich wie bei den Wandstrukturen von Velamen radicum-Zellen bei Orchideen, immer einfach oder höchstens gabelig-dichotom verzweigt. Die genaue Analyse von Netzmustern ergab immer, daß es sich um den unabhängigen,

sich überkreuzenden Verlauf von Leisten auf zwei verschiedenen Seiten einer Zellwand handelt. Eine besonders auffällige netzartige Struktur findet man bei den Gattungen *Calypso* und *Corallorhiza*, die lichtmikroskopisch erstmals an *Calypso bulbosa* Oakes von WILDHABER (1974) beschrieben wurde. Diese „Netzmuster“ bedürfen weiterer Untersuchung. Den Verlauf der Wandleisten auf der inneren Periklinen kann man deutlich erst nach der Entfernung der Außenwand der Testazellen darstellen. Bei dem abgebildeten Präparat von *Serapias vomeracea* BRIQ. (Abb. 7) wurde die äußere Periklinalwand durch Oxydation mit hochfrequenzaktiviertem Sauerstoff (Methode in BARTHLOTT et al. 1976) abgetragen.

Die Periklinal-Leisten bilden ein ausgezeichnetes taxonomisches Merkmal. Ihre Dicke schwankt zwischen 0,8 µm (z. B. bei *Orchis ustulata* L.) und etwa 1,2 µm (z. B. bei *Ophrys insectifera* L.); allein aufgrund der Leistenstärke lassen sich manche Arten unterscheiden. Die Leisten verlaufen \pm parallel über die Zellwand, ihr Abstand voneinander, d. h. die Anzahl pro Längeneinheit, ist recht variabel und ergibt ein weiteres diagnostisches Kriterium: pro 20 µm Länge liegen auf der Testa bei *Ophrys* etwa 3 Leisten, bei *Serapias* aber etwa 10 Leisten. Aufgrund dieses Merkmals kann man z. B. die Gattungen *Ophrys* und *Serapias* mikroskopisch unterscheiden.

TAXONOMISCH-SYSTEMATISCHE VERWENDBARKEIT DER SAMEN-MORPHOLOGIE

Aus der Beschreibung der mannigfaltigen Mikrostrukturen an Samen von *Orchidaceae* geht hervor, daß sie sich zum Erkennen verwandtschaftlicher Zusammenhänge verwenden lassen. Man muß diese Feinstrukturen aber mit großer Vorsicht interpretieren; funktionell bedingte Konvergenzen können hier leicht zu unhaltbaren phylogenetischen Spekulationen führen. Im REM-Bild ist es z. B. kaum möglich, den Samen von *Cypripedium* und *Epipactis* zu unterscheiden; eine Trennung der nahe verwandten Gattungen *Paphiopedilum* und *Cypripedium* ist aber ohne weiteres möglich. Unsere REM-Untersuchungen lassen folgende taxonomischen und systematischen Aussagen zu:

1. Auf der Spezies-Ebene, d.h. zur Differenzialdiagnose einzelner Arten, ist die Samenmorphologie nur beschränkt anwendbar. Hier können vor allem quantitative Kriterien (wie Samen- und Zellgrößen; Zahl von Leisten pro Längeneinheit usw.) in manchen Fällen eine Unterscheidung zulassen. Samen einzelner Arten der Gattungen *Ophrys*, *Eulophidium*, *Eulophia* kann man nicht mit Sicherheit trennen. Bei der Gattung *Orchis* scheint dagegen eine Bestimmung bis zur Art (WILDHABER 1972) möglich zu sein. Im infragenerischen Bereich lassen sich manchmal einzelne Arten zu Verwandtschaftsgruppen innerhalb der Gattung zusammenfassen: bei *Orchis* kann man eine Gruppe von Arten mit feinen Leisten auf den Testazellen (z.B. *Orchis ustulata* L.) unterscheiden von einer anderen Gruppe, denen diese Leisten anscheinend gänzlich fehlen (z.B. *Orchis militaris* L.); innerhalb der Gattung *Catasetum* gibt es Arten mit nicht ausgezogenen Antiklinalecken und glatten Periklinalwänden (z.B. *Catasetum atratum* LDL.) und Arten mit etwas ausgezogenen Antiklinalecken und feingefaltelten Periklinalwänden (z.B. *Catasetum russellianum* Hook.).
2. Gattungen haben im allgemeinen gleiche Samenformen und gleiche qualitative Merkmale in ihren Mikrostrukturen. Die Gattungen *Ophrys* und *Serapias* sind z.B. samenmorphologisch jeweils recht einheitlich und geschlossen; gemeinsame qualitative Merkmale (der Besitz von Leisten, vgl. Abb. 7) zeigt auch ihre nahe Verwandtschaft. Aufgrund der Gesamtform der Testazellen und der Leistenanordnung lassen sich die Gattungen aber trotzdem trennen.
3. Auf Subtribus- und Tribus-Ebene eignet sich die Morphologie und Mikromorphologie von Samen oftmals ausgezeichnet zum Erkennen phylogenetischer Zusammenhänge. In diesem Bereich – der gerade bei den Orchideen eine große Zahl systematischer Probleme hat – wird man die Samenmorphologie zu systematischen Forschungen heranziehen müssen und darf sich die Lösung bestimmter Probleme erhoffen. Die Menge des hier untersuchten Materials ist zu klein, um endgültige Aussagen zu machen. Aber einige Beispiele mögen trotzdem die Anwendbarkeit auf dieser systematischen Ebene zeigen:
 - innerhalb der europäischen Orchideen gibt es nur zwei samenmorphologisch durch den Besitz netzartig strukturierter Periklinen ausgezeichnete Vertreter: *Calypto bulbosa* OAKES (Abb. 6) und *Corallorhiza trifida* CHÂT.; samenmorphologisch erkennt man sofort ihre nahe Verwandtschaft und ihre isolierte Stellung innerhalb der europäischen Orchideen, der ja auch mit der Stellung der beiden Gattungen in der ansonsten beinahe rein tropischen Tribus der *Vandeeae* innerhalb der *Epidendroideae* (DRESSLER & DODSON 1960) Rechnung getragen wird.
 - die Morphologie der Samen von *Apostasia* und *Neuwiedia* spricht gegen die Wiedereingliederung in die Familie der *Orchidaceae*, wie sie z.B. von DRESSLER & DODSON (1960) vorgenommen wurde und für die von BRIEGER & SENGHAS (SCHLECHTER ab 1970) vertretene Abtrennung als eigene Familie.
 - die *Cypripedioideae* bilden eine relativ einheitliche Gruppe, die in ihren Samenmerkmalen an viele *Neottoideae* erinnert. Aufgrund der Samenmorphologie scheint die Einstufung der einzelnen Gattungen als eigene Tribus (BRIEGER & SENGHAS in SCHLECHTER) kaum gerechtfertigt und die Behandlung als geschlossene Tribus (DRESSLER & DODSON 1960) realistischer. Überraschend ist die Ähnlichkeit der Samen von *Cypripedium* und *Epipactis*, auf bestimmte Gemeinsamkeiten dieser Gattungen wurde schon von MANSFELD (1937) hingewiesen.
 - die *Vanillinae* sind samenmorphologisch (und durch viele andere mikromorphologische Merkmale) außerordentlich isoliert. Ihre Einstufung im Range einer Subtribus sowohl bei DRESSLER & DODSON (1960) als auch bei BRIEGER & SENGHAS (SCHLECHTER ab 1970) entspricht wohl kaum dieser isolierten Stellung.

VERBREITUNGSBIOLOGISCHE UND FUNKTIONELLE ASPEKTE DER SAMENMORPHOLOGIE

Staubsamen vom hier beschriebenen Feilspan-Typ finden sich außer bei den *Orchidaceae* bei Monocotylen (*Burmanniaceae*, *Geosiridaceae*, *Philydraceae*) und Dikotylen (*Pyrolaceae*, *Orobanchaceae*; *Drosera*, *Pinguicula*) aus den verschiedensten Verwandtschaftskreisen. Die durch das Netz der Antiklinalwände stabilisierte lose Samenhülle zeigt auch bei nicht miteinander verwandten Gruppen oftmals bis in submikroskopische Details gehende Konvergenzen (RAUH, BARTHLOTT & EHLER 1975). Aber außer der Samenmorphologie haben alle diese Taxa eine weitere ökologische Gemeinsamkeit: es

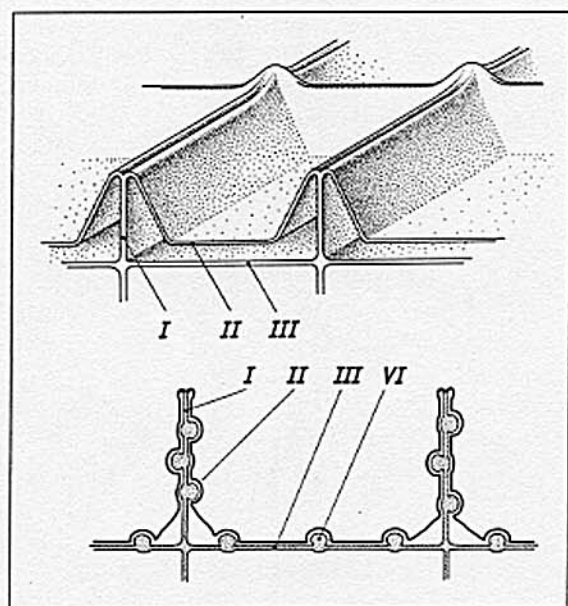


Abb. 10: Bau der Testa eines Orchideensamens, schematisch. Oben in räumlicher Darstellung eine „glatte“ Testazelle, wie sie z. B. für die Gattung *Cypripedium* typisch ist; unten im Schnitt eine durch Wandleisten „gestreifte“ Testa, wie sie z. B. für die Gattung *Serapias* (Abb. 7) typisch ist. I=Antiklinalwand, II=membranartig dünne periklinale Außenwand der Zelle, die nach innen kollabiert und oftmals dicht der periklinalen Innenwand (=III) anliegt; IV=Leisten.

handelt sich durchweg um mykotrophe, parasitische oder sonst ernährungsphysiologisch spezialisierte Gruppen, die an ökologisch ganz spezifische Keimungsbedingungen gebunden sind.

Diese Saprophyten und Parasiten können ihren spezifischen Keimungsbiotop grundsätzlich auf zwei verschiedenen Wegen erreichen. Entweder es werden nur wenige relativ große Samen produziert, die durch Tiere „gezielt“ (z. B. bei *Viscum album* L.) auf die für die Samenkeimung geeignete Unterlage gebracht werden. Oder aber es werden so extrem viele kleine Staubsamen produziert, daß auch bei der „ungezielten“ anemochoren Verbreitung wenigstens einige Diasporen mit statistischer Wahrscheinlichkeit den spezifischen Keimungsbiotop erreichen. Somit wird es auch verständlich, daß eine Orchidee zur Erzeugung auch nur eines einzelnen blühfähigen Nachkommens (also zur Erhaltung der Art) viele Millionen keimfähiger Samen produziert. Verbreitungsbiologisch dienen Orchideensamen also zum Erreichen des höchst spezifischen Keimungsbiotopes und nicht, wie schon FLEISCHER (1929) für feilspanförmige Samen feststellt, zum Erreichen großer Flugweiten. Dies schließt nicht aus, daß diese kleinen Verbreitungseinheiten nicht auch über große Entfernungen verfrachtet werden können. Eine Liste der *Orchidaceae*, die weit vom Festland liegende isolierte Inseln bewohnen, hat RIDLEY (1930) zusammengestellt. Ein Ferntransport von Orchideensamen kann verbreitungsbiologisch sogar unerwünscht sein. DODSON (in VAN DER PIJL 1972) beschreibt den ungewöhnlichen Fall von Orchideensamen, die anemochor von den Westindischen Inseln nach Florida transportiert werden und dort auch zu blühfähigen Pflanzen heranwachsen, sich aber durch das Fehlen geeigneter Bestäuber nicht vermehren können.

Funktionell sind die Samen der Orchideen durch zwei Besonderheiten ausgezeichnet: durch ihre Schwebefähigkeit in der Luft und ihre schwere Benetzbarkeit im Wasser. Diese Eigenschaften hängen mit der Morphologie ihrer Samenschale zusammen, die vermutlich kaum etwas mit dem Schutz des Embryos (vor Wasserverlust oder mechanischen Verletzungen) zu tun hat. Die dünnen Periklinalwände sind dazu auch denkbar wenig geeignet; oftmals brechen sie schon

am intakten Samen, meist aber nach der Benetzung mit Wasser vor der Keimung (z. B. bei *Limodorum*, Abb. 5) durch. Der Embryo liegt dann völlig frei und ungeschützt im Gitternetz der Antiklinalwände. Seine Zellen sind aber durch andere Mechanismen, die wir noch nicht kennen, so vor Wasserverlust geschützt, daß sie selbst bei Austrocknen im Hochvakuum eines Rasterelektronenmikroskopes turgeszent bleiben und erst nach längerer Zeit kollabieren.

Die gute Flugfähigkeit – d. h. die niedere Sinkgeschwindigkeit in der Luft – resultiert aus verschiedenen morphologischen Besonderheiten der Samen. Der offensichtlichste Faktor ist dabei das Prinzip der Verkleinerung der Diaspore zur Erzeugung einer im Verhältnis zum Gewicht möglichst großen Oberfläche. Ein einzelner Samen von *Stanhopea* wiegt nach KERNER (1891) nur 0,03 Milligramm, trotzdem ist er durch die ballonartig abgehobene Testa relativ groß und bietet dem Wind genügend Angriffsfläche. Die sehr dünne, also aus flugtechnischen Gründen sehr leichte Samenschale wird durch das Netz der Antiklinalwände mechanisch stabilisiert und biegefest, die Oberflächenskulptur erhöht zudem noch den Reibungswiderstand mit der Luft. Das Absinken von Orchideensamen in der Luft kann man als Strömungsvorgang mit sehr kleinen Reynold-Zahlen betrachten. Ihre Fallgeschwindigkeit ist teilweise geringer als 4 cm/sec (BURGEFF 1936) und liegt damit im Bereich der Pollen mancher Windblütler; die Sinkgeschwindigkeit großer Wolkenteilchen ist höher als die von Orchideensamen (vgl. MÜLLER 1955). Der Flügelsamen von *Ulmus glabra* HUDS. fällt zum Vergleich nach MÜLLER (1955) mit einer Geschwindigkeit von 67 cm/sec.

Die zweite bemerkenswerte funktionelle Eigenschaft vieler Orchideensamen ist ihre schwere Benetzbarkeit im Wasser; schon HIRT (1906) hat festgestellt, daß sie u. U. monatelang auf einer Wasseroberfläche schwimmen können. Heute weiß man, daß die Wasserabstoßung von Oberflächen nicht nur von deren chemischer Struktur, sondern ebenso von der Skulpturierung der Oberfläche abhängt (Literatur bei ADAM 1958). Ist eine glatte Oberfläche von ihrer Chemie her leicht benetzbar, so wird diese Benetzbarkeit durch eine Skulpturierung (z. B. „Aufrauhnen“ von Leder) noch erhöht. Ist die glatte Ober-

fläche von ihrem Chemismus her aber schwer benetzbar, so wird diese Unbenetzbarkeit durch eine Oberflächenskulptur stark erhöht. Die am schwersten benetzbaren glatten künstlichen Oberflächen, wie z. B. bestimmte Paraffinwaxe; Kunststoffe wie „Teflon“ usw. sind weit weniger abstoßend als biologische Oberflächen wie die von Entenfedern oder die Blätter vieler Pflanzen. Diese biologischen Oberflächen haben, außer ihrer von der Chemie her hydrophoben Natur, noch eine mikroskopische Skulpturierung, die im Bereich der Größenordnung des Antiklinalnetzmusters von Orchideensamen liegt. Experimentell hat sich ZIEGENSPECK (1934) mit der physikalischen Chemie der wasserabstoßenden Oberflächen von Staubsamen befaßt. Er konnte zeigen, daß sie von der chemischen Natur ihrer Oberfläche her schwer benetzbar sind. Es gelingt aber, das chemische Verhalten in Lösungen mit Dipol-Körpern zu ändern; am natürlichen Keimungshorizont werden z. B. oberflächenaktive Humusstoffe angelagert, die Samenschale wird benetzbar. Einen Zusammenhang zwischen Benetzbarkeit und morphologischer Struktur konnte ZIEGENSPECK allerdings noch nicht nachweisen. Verbindet man aber die eingangs dargestellte Mikromorphologie der Samenoberflächen mit den chemisch orientierten Ergebnissen von ZIEGENSPECK und den mehr theoretischen Arbeiten zur Abhängigkeit der Benetzbarkeit von der Skulpturierung der Oberfläche (Übersicht bei ADAM 1958), so ergibt sich für das Verhalten von Orchideensamen in Luft und Wasser folgendes komplexes funktionelles System:

1. Orchideensamen sind in Wasser außerordentlich schwer benetzbar; die Wasserabstoßung resultiert durch die hydrophobe chemische Natur ihrer Oberfläche, die Unbenetzbarkeit wird durch die skulpturelle Komponente des Antiklinalnetzmusters noch erhöht: in den wabenförmigen Vertiefungen (vgl. Abb. 3) wird Luft festgehalten, die Periklinalflächen kommen somit mit der Flüssigkeit überhaupt nicht in Kontakt. Dadurch kann eine undurchlässige Samenschale außerordentlich dünn und leicht angelegt werden; eine wenig molekulare hydrophobe Schicht kann die Unbenetzbarkeit lange aufrechterhalten.

2. Die Samen bleiben in der geöffneten Kapsel auch bei Regen trocken und können durch plazentale Elateren über längere Zeiträume verstaubt werden. Nunmehr dient die Samenschale als Flugapparat; die gleichen Strukturen, die die schwere Benetzbarkeit verursachen, ermöglichen die Konstruktion einer leichten und dennoch mechanisch stabilen Ballonhülle um den Embryo. Nach erfolgter anemochorer Verbreitung haftet der Samen an irgendeiner Substratoberfläche, jetzt ermöglicht die Samenhülle, z. B. die Widerhaken bei *Thrixspermum*, u. U. sogar ein Festhalten an glatter Baumrinde. Bei Regen schwimmt der schwer benetzbare Samen und wird mit dem Wasser in feinste Rinden- oder Bodenspalten gespült; die spiralig gedrehten Samenhüllen mancher Arten (z. B. *Epidendrum*) ermöglichen vielleicht ein Einbohren in engste Substratlücken.

3. Ist der spezifische Keimungshorizont erreicht, so ändert sich die Benetzbarkeit des Orchideensamens durch die in der Lösung vorhandenen Humusstoffe schlagartig: die oberflächenaktiven Stoffe lagern sich an der Testa an, die Skulptur des Antiklinalnetzes ermöglicht jetzt umgekehrt eine rasche Benetzbarkeit und Durchdringung der Samenschale mit Wasser. Die Samenhülle wird in Gegenwart gelöster Humusstoffe schnell absorptionsfähig. Oftmals schon nach wenigen Tagen werden die dünnen Periklinalwände abgebaut, der Embryo liegt entsprechend der Abb. 5 frei in einem Netz von Antiklinalwänden. Nunmehr kann leicht die Infektion mit dem Pilzsymbionten und damit die Keimung erfolgen.

Die raster-elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden durch Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht. Für kritische Diskussionsbeiträge und wichtige Hinweise und Anregungen sei Herrn Prof. Dr. W. RAUH und Frau Dr. N. EHLER gedankt.

Literatur

- ADAM, N. K.: Wasserabweisende Oberflächen. - *Endavour* 17, 37-41, 1958.
- BARTHLOTT, W.: Morphologie der Samen. in: SENGHAS, K., EHLER, N., SCHILL, R. & BARTHLOTT, W., Neue Untersuchungen und Methoden zur Systematik und Morphologie der Orchideen. - *Die Orchidee* 25, 157-169, 1974.
- BARTHLOTT, W., EHLER, N. & R. SCHILL: Abtragung biologischer Oberflächen durch hochfrequenz-aktivierte Sauerstoff für die Raster-Elektronenmikroskopie, *Mikroskopie* 32, München/Wien 1976 (im Druck).
- BEER, J. G.: Beiträge zur Morphologie und Biologie der Familie der Orchideen. Wien 1863.
- BURGEFF, H.: Samenkeimung der Orchideen und die Entwicklung ihrer Keimpflanzen. Jena 1936.
- CHUANG, T.-I. & HECKARD, L. R.: Seed coat morphology in *Cordylanthus* C. (Scrophulariaceae) and its taxonomic significance. - *Amer. J. Bot.* 59, 258-265, 1972.
- CLIFFORD, H. T. & SMITH, W. K.: Seed Morphology and Classification of Orchidaceae. - *Phytomorphology* 19, 133-139, 1969.
- COLE, G. T. & BEHNKE, H.-D.: Electron Microscopy and Plant Systematics. - *Taxon* 24, 3-15, 1975.
- DRESSLER, R. L. & DODSON, C. H.: Classification and Phylogeny in the Orchidaceae. - *Ann. Missouri Bot. Gard.* 47, 25-68, 1960.
- FAHN, A. & WERKER, E.: Anatomical mechanisms of seed dispersal. in: *Seed Biology* (ed. T. T. KOZŁOWSKI) 1, 151-221. New York-London 1972.
- FLEISCHER, E.: Zur Biologie feilspanförmiger Samen. - *Bot. Arch.* 26, 86-132, 1929.
- HIRT, W.: Semina scobiformia, ihre Verbreitung im Pflanzenreich, Morphologie, Anatomie und biologische Bedeutung. - *Mitt. Bot. Mus. Zürich* 30 (Diss. Breslau), 1906.
- KERNER VON MARILAUN, A.: Pflanzenleben. Leipzig-Wien 1891.
- MANSFELD, R.: Über das System der Orchidaceae. - *Blumea*, Suppl. 1, 25-37, 1937.
- MÜLLER, P.: Verbreitungsbiologie der Blütenpflanzen. - *Veröff. Geobot. Inst. Rübel/Zürich*, 3, Bern 1955.
- PIJL, L. van der: Principles of Dispersal in Higher Plants. Berlin-Heidelberg-New York 1972.
- RACIBORSKY, M.: Biologische Mitteilungen aus Java. *Flora* 1898, 341. 1898.
- RAUH, W., BARTHLOTT, W. & EHLER, N.: Morphologie und Funktion der Testa staubförmiger Flugsamen. - *Bot. Jahrb. Syst.* 96, 353-374, 1975.
- RIDLEY, H. N.: The Dispersal of Plants throughout the World. Reeve, Ashford, Kent 1930.
- SCHLECHTER, R.: Die Orchideen. 3. Aufl. (ed. BRIEGER, F. G., MAATSCH, R. & SENGHAS, K.), Berlin-Hamburg, ab 1970.
- WILDHABER, O. J.: Zur Karpologie von *Orchis*. in: Probleme der Orchideengattung *Orchis* (ed. SENGHAS, K. & H. SUNDERMANN), Jahresber. Naturwiss. Verein Wuppertal 25, 61-66, 1972.
- WILDHABER, O. J.: Zur Karpologie von *Calypso bulbosa* (L.) OAKES. *Die Orchidee* 25, 225-230, 1974.
- ZIEGENSPECK, H.: Die Physikalische Chemie der schwer benetzbaren Sporen und sägespanförmigen Samen. - *Biologia Generalis* 10, 614-656, 1934.

Dr. Wilhelm Barthlott,
Institut f. Systematische Botanik u. Pflanzen-
geographie d. Universität
D-6900 Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 280.