

Kallose in Phloemzellen als Reaktion auf Außeneinflüsse berichten. Die eine Beobachtung ist 1930 von SCHUMACHER veröffentlicht: er fand bei Vitalfärbungen mit Eosin, daß 2—4 Tage nach dem Eindringen und Weiterleiten dieses Farbstoffes das Phloem mit der Bildung dicker Kallosepolster auf den Siebplatten reagiert hatte. Die zweite Arbeit, die hier heranzuziehen ist, betrifft die Reaktion junger Zuckerrübensämlinge auf die Infektion mit curly-top-virus, das wie das Blattrollvirus für phloemspezifisch gehalten wird. Das Phloem in den Wurzeln der Sämlinge zeigte anfärbbare Strukturen, die sehr ähnlich den auf Abb. 4 wiedergegebenen warzenartigen Vorwölbungen sind. Die Autoren, ARTSCHWAGER und STARRET 1936, bezeichnen die Ablagerung als „Pseudocallus“, da auch sie die Identität mit Kallose nicht nachweisen konnten. Das Erscheinen von „Pseudocallus“ in den Wurzeln soll vor allem eine Reaktion resistenter Zuckerrüben auf die Infektion hin sein.

Über die Fortführung dieser Untersuchungen vor allem in Zusammenhang mit Fragen der Resistenzzüchtung soll zusammen mit Dr. SCHWARZE berichtet werden. Doch schien es aus gegebener Veranlassung angezeigt, die Technik des Färbeverfahrens vorher zu veröffentlichen.

#### Zusammenfassung

1. In einer mit Netzmitteln versetzten Resoblau-lösung läßt sich prämortales Phloem in Kartoffelsprossen und -knollen anfärben.

2. Längsschnitte in den obersten beiden Internodien enthalten nur dann absterbendes Phloem, wenn es sich um Blattroll-infizierte Pflanzen handelt.

3. Phloemzellen, die in gesunden Pflanzen altern, und solche, die infolge einer Blattrollinfektion absterben, zeigen die gleichen Degenerationserscheinungen.

4. Mit Hilfe des Resoblauverfahrens gelingt es, junge Pflanzen, die weder Symptome noch Nekrosen

gebildet haben, mit etwa 95%iger Sicherheit als gesund oder infiziert zu erkennen. Orientierende Untersuchungen an Knollen erbrachten Hinweise, daß auch hier eine Unterscheidung kranker und gesunder Knollen mit Hilfe von Resoblau möglich ist.

#### Literatur

1. ARTSCHWAGER, E. and R. C. STARRETT: Histological and cytological changes in sugar-beet seedlings affected with curly top. *J. Agric. Res.* **53**, 637—657 (1936).
2. BAERECHE, M.-L.: Untersuchungen zur Blattrollresistenz. *Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases*, Lisse-Wageningen, June 25th—29th, 1954 (im Druck).
3. BALD, J. G.: Additional methods for fixing and staining viruses in infected plant tissues. *Am. J. Bot.* **36**, 335—342 (1949).
4. BODE, O.: Beitrag zum frühzeitigen Nachweis der Blattrollkrankheit der Kartoffel durch Anfärbung des Phloems. *Festschr. Otto Appel, Biol. Zentralanst. für Land- u. Forstwirtschaft Berlin-Dahlem*, 34—36 (1947).
5. BREHMER, W. V. und E. ROCHLIN: Histologische und mikrochemische Untersuchungen über pathologische Gewebsveränderungen viruskranker Kartoffelstauden. *Phytopathol. Ztschr.* **3**, 471—498 (1931).
6. ESAU, K.: Development and structure of the phloem tissue. *Bot. Rev.* **5**, 373—432 (1939).
7. HEILMANN, U.: Über den Nachweis von Blattrollvirus in Kartoffelknollen mit Hilfe eines Fluoreszenzfarbstoffes. *Nachr. bl. dtsh. Pflschutzdienst* **7**, 44—45 (1955).
8. HUTTON, E. M.: The significance of the necrotic phloem reaction in the potato to the leafroll-virus. *Austr. J. of Scient. Res. Ser. B.* **2**, 249—270 (1949).
9. KLING, W.: Wasserlösliche grenzflächenaktive Stoffe. (Wasch-, Netz- und Emulgiermittel). *Angew. Chemie* **65**, 201—212 (1953).
10. MACWORTHER, F. P.: Plant virus differentiation by trypan-blue reactions within infected tissue. *Stain. Techn.* **16**, 143—149 (1941).
11. RUDORF, W.: Der augenblickliche Stand und die Aussichten der Züchtung resistenter Sorten der Kartoffel. *Züchter* **24**, 48—55 (1954).
12. SCHAEDE, R.: Hilfsbuch für die botan. Mikroskopie. Georg Thieme Verlag-Stuttgart, 1949.
13. SCHNEIDER-ZIMMERMANN: Die bot. Mikrotechnik. Verlag G. Fischer, Jena 1922.
14. SCHUMACHER, W.: Untersuchungen über die Lokalisation der Stoffwanderung in den Leitbündeln höherer Pflanzen. *Jahrb. wiss. Bot.* **77**, 770—823 (1930).
15. TUNMANN-ROSENTHALER: Pflanzenmikrochemie. Verlag Gebrüder Bornträger, Berlin 1931.

Eingang des Manuskriptes: 7. 4. 1955.

(Aus dem Institut für Obstbau der Technischen Universität Berlin)

## Künstliche Zwillingsbildung bei Äpfeln durch Samenteilung

Von ILSE THIELE

Mit 5 Textabbildungen

Für die Durchführung mancher obstbaulicher Versuche — vor allem auf dem Gebiet der Grundlagenforschung — ist es notwendig, erbgleiches, unveredeltes Gehölzmaterial zur Verfügung zu haben. Da autovegetativ vermehrte Edelsorten zu diesem Zweck meist nicht bereitstehen, arbeitet man nach wie vor mit Sämlingsklonen. Sie werden üblicherweise durch Wurzelstecklinge oder Abrisse gewonnen. Dabei ist es meistens belanglos, daß man mit diesen Vermehrungsmethoden erst verhältnismäßig spät zu selbständigen Klonpflanzen kommt, nämlich frühestens nach 1½ Jahren, von der Aussaat der Sämlinge an gerechnet. Versuche, die am hiesigen Institut zur Klärung von Entwicklungsfragen bei Apfelsämlingen laufen, ließen es aber wünschenswert erscheinen, bereits in der ersten Vegetationsperiode nach der Aussaat unterschiedliche Behandlungen an Sämlingsklonen durchzuführen. Außerdem sollten die Klonpflanzen alle Primär-Organen eines echten Sämlings besitzen (Keimwurzel und Keim-

sproß), die nicht wie bei Wurzlungen oder Abrissen durch Adventiv-Organen ersetzt sind. Da die üblichen Vermehrungsmethoden also weder der einen noch der anderen Forderung gerecht werden konnten, haben

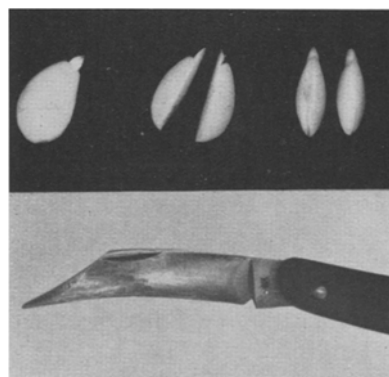


Abb. 1, oben: Apfel-Embryo vor und nach der Teilung; unten: Spezialmesser.

wir versucht, Sämlingsklone aus geteilten Samen zu ziehen. Das Ergebnis war im Verhältnis zur Erwartung so günstig, daß über das Verfahren kurz berichtet werden soll.

Unsere erstmalig im Frühjahr 1953 durchgeführten Teilungsversuche sollten zunächst klären, ob halbierte

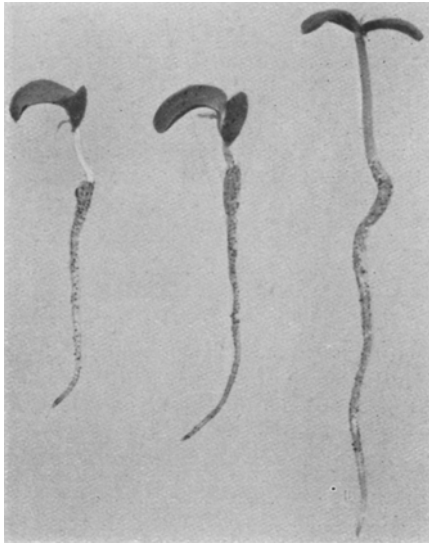


Abb. 2. Apfelzwillinge und Kontrollsämling 10 Tage nach der Aussaat.

Apfelsamen grundsätzlich fähig sind, sich zu vollwertigen Individuen zu entwickeln. Nachdem dies feststand, wurden technische Fragen in Angriff genommen mit dem Ziel, möglichst hohe Ausbeuten zu gewinnen. Dabei wurden Vorbehandlung der Kerne, Schnitttechnik, Art des Keimbettes und sonstige Anzuchtmaßnahmen mehrfach variiert. Als günstigste Methode,

Stadium zu einer flotten Weiterentwicklung bereit sind. Beides ist von entscheidender Bedeutung, denn der ganze Erfolg hängt davon ab, daß beim Teilen der Keim des Embryos in der Mitte getroffen wird und daß hernach sofort eine rege Lebenstätigkeit einsetzt, die Fäulnis und Schimmelgefahr weitgehend ausschließt.

Um den Keim einigermaßen zuverlässig in der Mitte zu treffen, entfernt man zunächst die Samenschalen. Der Schnitt erfolgt dann unter der Lupe, am besten mit einem Messer, dessen Klinge zur Spitze hin stark abgeschragt ist, so daß die Sicht beim Schneiden nicht durch den Messerrücken behindert wird. Man kann sich eine kleine Hippe oder ein Kopuliermesser für diesen Zweck selbst zurechtschleifen. Der Embryo liegt beim Schneiden flach; die entstehenden Teilstücke er-



Abb. 3. Apfelzwillinge und Kontrollsämling nach Ausbildung der ersten Laubblätter.

halten auf diese Weise je einen halben Keim und zwei halbe Keimblätter (Abb. 1).

Die Samenhälften werden in feingesieberten Sand gesät und während der ersten 10 Tage bei hoher Temperatur (+ 20° C) regelrecht angetrieben. Sie entwickeln in dieser Zeit kräftige Pfahlwurzeln; die Keimblätter spreizen und ergrünen (Abb. 2). Nach



Abb. 4. Apfelzwillinge und Kontrollsämling (ganz rechts) am Ende der ersten Vegetationsperiode.

bei der etwa jede 10. Teilung zu einem Zwillingpaar mit gleichwertigen Partnern führte, hat sich die folgende herausgestellt.

Die Kerne werden zunächst — wie üblich — in feuchtem Sand stratifiziert. Unmittelbar vor dem „Spitzen“ werden sie zum Teilen verwendet. Man erfaßt damit insofern den besten Zeitpunkt, als die Samen erstens schon dick geschwollene, aber noch ganz ungekrümmte Keime besitzen und zweitens in diesem

10 Tagen wird in Erde pikiert und die Temperatur langsam gesenkt.

Es folgt eine kritische Periode, in der sich meist endgültig entscheidet, ob die Teilungen gelungen sind oder nicht. Dabei ist die Ausbildung des ersten Laubblattes das sicherste Kriterium. Erfolgt sie bei den zusammengehörigen Zwillingen einigermaßen gleichzeitig (Abb. 3), so kann man ziemlich sicher mit einer weiterhin gleichmäßigen Entwicklung rechnen. Bleibt da-

gegen ein Partner zu diesem Zeitpunkt zurück, so geht er entweder ganz zugrunde, oder er gerät so ins Hintertreffen, daß es nicht mehr zu gleichwertigen Klonpartnern kommt.

Nach 4—5 Wochen, von der Teilung an gerechnet, kann man die Samenhälftlinge in Freilandbeete pflanzen. Für ihre weitere Entwicklung ist kennzeichnend, daß sie den anfänglich gegebenen Vorsprung gleichzeitig ausgesäeter, normaler Kontrollsämlinge schnell einholen und am Ende der Vegetationsperiode mit ihnen gleichwertig sind. Nur an dem völlig übereinstimmenden Habitus von je zwei Gehölzen erkennt man dann noch, daß es sich bei ihnen nicht um normale Sämlinge, sondern um Samenhälftlinge handelt (Abb. 4). Auch das Wurzelbild läßt über den Zwillingscharakter der Gehölze meist keinen Zweifel (Abb. 5).

Die Bedeutung der beschriebenen Samenteilungsmethode für Versuchszwecke auf dem Gebiet der Grundlagenforschung liegt auf der Hand, weil sie bereits in einem sehr frühen Entwicklungsstadium zu erbgleichem Pflanzenmaterial führt. Von besonderem praktischen Vorteil ist die Tatsache, daß die Entscheidung über das Entstehen gleichwertiger bzw. ungleichwertiger Zwillingspartner bereits

bei der Bildung des ersten Laubblattes fällt. Sobald also dieses Stadium überschritten ist (etwa 3 Wochen nach der Aussaat), stehen die Pflanzen für Experimente zur Verfügung. Die Methode hat sich übrigens auch bei Birnen bewährt.

Nach Ablauf der ersten Vegetationsperiode kann man — wenn erwünscht — mit einem Längsschnitt

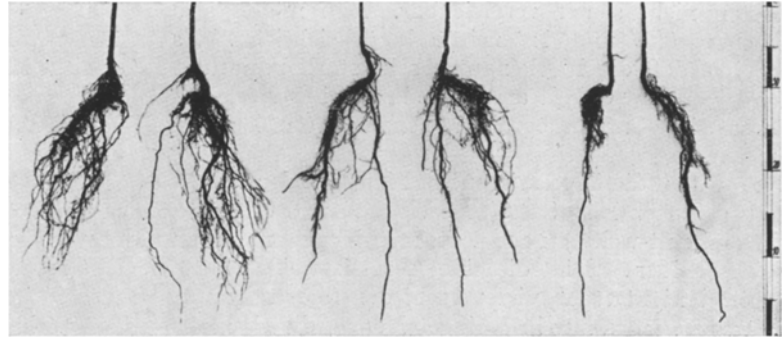


Abb. 5. Wurzelbilder von Apfelzwillingen nach der ersten Vegetationsperiode.

durch Trieb und Wurzel die Zwillinge noch weiter teilen und auf diese Weise Vierlinge erhalten. Wenn die Schnittflächen gut verschmiert werden, entwickeln sich die halbierten Gehölze, von einer zunächst geminderten Triebkraft abgesehen, normal weiter.

(Aus dem Institut für Botanik, Gärungsphysiologie und Hefereinzucht der Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau, Geisenheim/Rh.)

## Über eine chemische Methode, dominant=weiße und rezessiv=weiße hohe Garteniris zu unterscheiden

Von PETER WERCKMEISTER

In einer früheren Arbeit wurden neben anthozyan-gefärbten Garteniris auch weiße Formen von ihnen papierchromatographisch auf zellsaftlösliche Pigmente untersucht. Dabei konnten verschiedene farbig fluoreszierende chymochrome Pigmente aufgezeigt werden, deren Gehalt nach Art und Menge bei den einzelnen Sorten verschieden ist. Inzwischen erschien eine umfangreiche Arbeit von SEYBOLD (1), aus der hervorgeht, daß es kaum eine weiße Blüte geben dürfte, die frei von Pigmenten ist, wenn sie auch im Bereich des sichtbaren Lichtes farblos erscheint. Nun war für die hohen weißen Garteniris durch A. H. STURTEVANT (2) bekannt geworden, daß es bei diesen 3 Typen gibt, die sich erblich verschieden verhalten: 1. die diploiden rezessiv-weißen Sorten, 2. die tetraploiden dominant-weißen, und 3. tetraploide rezessiv-weiße Sorten, deren Ausprägung einem „All-White“-Gen zugeschrieben wird, das nach STURTEVANT als multiples Allel zu dem plicata-Gen angesehen werden muß. Diese „All-White“-Typen unterscheiden sich von allen anderen weißen Sorten dadurch, daß bei ihnen in den Blüten auch nicht der leiseste Anflug von Anthozyan mehr zu erkennen ist, während die beiden anderen Typen zumindest am Schlund noch geringe Reste von anthozyan-gefärbten Adern erkennen lassen. Da die Farben der Garteniris auch durch Carotinoide bestimmt werden, so können weiterhin auch gelbe Sorten die entsprechenden Gene für Anthozyanbildung

enthalten. Diese wurden also in die Untersuchungen einbezogen.

Die Verschiedenheit der einzelnen weißen Sorten im Pigmentgehalt ließ erwarten, daß sich die vorgenannten drei Typen papierchromatographisch unterscheiden lassen würden. Die Arbeiten wurden deshalb mit dieser Methode im Sommer 1954 fortgesetzt, ohne daß jedoch die Ergebnisse durchschaubar wurden.

Diese Unterschiede konnten, wie bereits aus den früheren Versuchen (3) hervorging, nur quantitativer Natur sein. Deshalb sollte eine wenigstens halbquantitative Auswertung der Papierchromatogramme versucht werden. Hierfür wurden abgewogene Mengen der zu untersuchenden Blütenblätter in der entsprechenden Menge Lösungsmittel extrahiert. Für je 2 g frisches Blütenblattmaterial wurden 5 ccm Lösungsmittel benötigt. Als Extraktionsmittel wurde diesmal nicht wäßrige, sondern 3%ige methylalkoholische Salzsäure verwendet. Der Verwendung von Methylalkohol lag die Erfahrung zugrunde, daß die chymochromen fluoreszierenden Pigmente durchweg höhere Rf-Werte aufweisen, also weniger wasserlöslich sind als die Anthozyane. Jedoch lehren die Erfahrungen dieses Jahres, daß die Extraktion mit wäßriger HCl vorzuziehen ist, weil wässrige Blütenextrakte wesentlich haltbarer sind. Eine quantitative Auswertung könnte nach der Fleckengröße wie auch nach der Intensität des Fluoreszenzlichtes erfolgen. Doch er-