

Für die Unterlagenzüchtung haben *Malus*-Artkreuzungen noch Bedeutung. Wie zur Zeit laufende Arbeiten zeigen, besitzen sie bei guter Frosthärte bis jetzt eine bessere Verträglichkeit mit Edelsorten als Nachkommen von reinen Wildarten.

In Tab. 14 sind die untersuchten Merkmale zusammengefaßt mit den früheren Untersuchungsergebnissen dargestellt. Bedingt durch die genetische Natur der Äpfel tritt in vielen Merkmalen eine breite Aufspaltung ein, während in anderen, vor allem wirtschaftlich wichtigen Merkmalen, immer noch ein starker Einfluß des Wildelters vorhanden ist.

E. Zusammenfassung

1. An zwei F'_2 -Generationen zwischen *Malus zumi* × Kultursorten wurden insgesamt 25 Merkmale genetisch analysiert.

2. Es wurde festgestellt, daß *Malus zumi* in einigen Eigenschaften nicht nur in der F_1 , sondern auch in der F'_2 stark dominiert.

3. Die in der F'_2 beobachtete frühe Blüte wird auf den genetischen Einfluß von *Malus zumi* zurückgeführt, wie an einer aus freier Abblüte hervorgegangenen Nachkommenschaft dieser Art hervorgeht.

4. Bei den untersuchten Blütenmerkmalen (Blütentyp, Gestalt der Kelchzipfel, Gestalt der Blütenblätter, Gestalt der Narben) war eine breite Aufspaltung zu beobachten.

5. Bei wirtschaftlich wichtigen Merkmalen wie Beginn der Genußreife, Haltbarkeit der Frucht, Fruchtdurchmesser, Fruchtgewicht und Fruchtgüte konnte auch in der F'_2 keine wesentliche Verbesserung der Eigenschaften erzielt werden.

6. Die Spaltungsergebnisse zeigen, daß alle Merkmale kompliziert vererbt werden und der Erbgang auf polygener Grundlage erfolgt.

7. Die Sorte Jonathan vererbt ihre Fruchtfarbe (Deckfarbe, Vorkommen und Ausbildung der Deckfarbe, Ausbreitung der Deckfarbe) dominant.

8. Zwischen Fruchtgröße und Stiellänge konnte keine Beziehung gefunden werden. Beide Merkmale werden unabhängig voneinander vererbt.

Die erforderlichen Bonitierungen wurden von den technischen Assistentinnen Frau ADELHEID PRESTIN und Fräulein IRMGARD WEBERS durchgeführt. Ihnen sei für ihre Hilfe herzlichst gedankt.

Literatur

1. CRANE, M. B., and W. J. C. LAWRENCE: Genetical studies in cultivated apples. *J. Genet.* **28**, 265—296 (1934).
2. Deutschlands Obstsorten. Stuttgart: Eckstein und Stähle 1905—1934.
3. HENNING, W.: Morphologisch-systematische und gametische Untersuchungen an Arten und Artbastarden der Gattung *Malus*. *Der Züchter* **17/18**, 289—349 (1947).
4. o. A.: Horticultural colour chart (1938).
5. KRUMBHOLZ, G.: Beiträge zur Morphologie der Apfelblüte. II. Über die Eignung der Blütenmerkmale zur Sortenbeschreibung. *Gartenbauwiss.* **13**, 1—65 (1939).
6. KRUMBHOLZ, G. u. N. WOLODKIEWITSCH: Festigkeitsmessungen an Früchten und ihre Anwendungsmöglichkeiten. I. Mitteilung: Die Bestimmung der Fruchtfleischfestigkeit. *Gartenbauwiss.* **17**, 543—590 (1943).
7. KRÜMMEL, GROH u. FRIEDRICH: Deutsche Obstsorten. Berlin: Deutscher Bauernverlag 1956.
8. LINDER, A.: Statistische Methoden. Basel: Birkhäuser 1957.
9. SCHMIDT, M.: *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderhold. VIII. Weitere Untersuchungen zur Züchtung schorf-widerstandsfähiger Apfelsorten. (Erste Mitteilung). *Der Züchter* **10**, 280—291 (1938).
10. SCHMIDT, M.: Beiträge zur Züchtung frostwiderstandsfähiger Obstsorten. *Der Züchter* **14**, 1—19 (1942).
11. SCHMIDT, M.: Beiträge zur Züchtungsforschung beim Apfel. I. Phänologische und genetische Studien an Nachkommen von Kultursorten. *Der Züchter* **17/18**, 161—264 (1947).
12. SCHMIDT, M.: Beiträge zur Züchtungsforschung beim Apfel. II. Morphologisch-pomologische Studien an F_1 -Sämlingen der Kreuzung einer Kultursorte mit *Malus niedzwetzkyana*. *Der Züchter* **23**, 327—334 (1953).
13. SCHMIDT, M.: Mehrjährige Beobachtungen über den Blühbeginn von Apfelsorten. *Arch. f. Gartenbau* **II**, 355—384 (1954).
14. SCHMIDT, M.: Beiträge zur Züchtung frostwiderstandsfähiger Obstsorten. *Der Züchter* **14**, 1—19 (1942).
15. WELLINGTON, R.: An experiment in breeding apples II. *New York State Agr. Exp. Stat. Techn. Bull.* **106**, 1—149 (1924).
16. ZWINTZSCHER, M.: Beiträge zur Vererbung des Frostverhaltens der Obstgehölze. *Gartenbauwiss.* **22** (4), 50—70 (1957).

Aus der Zweigstelle Rosenhof des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung, Ladenburg a. N.
(Leiter: Prof. Dr. EDGAR KNAPP)

Die praktische Ermittlung des Ploidiegrads von Zuckerrüben durch Zählen der Schließzellen-Chloroplasten

Von THEODOR BUTTERFASS

Mit 4 Abbildungen

MOCHIZUKI und SUEOKA (1955) haben gezeigt, daß diploide, triploide und tetraploide Zuckerrüben verschieden viel Chloroplasten in den Schließzellen der Stomata besitzen. Die Unterschiede sind recht beachtlich: Diploide Pflanzen haben etwa 12—14—16, triploide 17—20—22 und tetraploide 22—25—28 Chloroplasten im Schließzellenpaar. Diese Unterschiede können für die Praxis dann nützlich sein, wenn sie die Bestimmung des Ploidiegrads mit hinreichender Sicherheit und in kürzerer Zeit ermöglichen als dies auf andere Weise der Fall ist.

Einen Fortschritt in dieser Hinsicht bedeutete schon die Zählung der Trabantenchromocentren im Ruhekern durch REITBERGER (1956). So wertvoll dieses Verfahren ist und bleibt, so erfordert es doch Fixation und Färbung in Arbeitsgängen, die von der Präparation getrennt sind und daher zusätzliche Zeit bean-

spruchen. Außerdem stellt es an die Gewissenhaftigkeit und Beobachtungsgabe der untersuchenden Person ziemlich große Ansprüche, so daß sich nicht jede Hilfskraft dafür eignet. Die Pflanzen dürfen ferner im Wachstum nicht stagnieren und nicht stärker von Viren befallen sein. Es wäre sehr erwünscht, wenn man ein Verfahren hätte, für das diese Einschränkungen nicht im gleichen Umfang gelten. Auf alle Fälle aber könnte eine weitere Möglichkeit der Ploidiegradbestimmung zur wahlweisen Anwendung nur willkommen sein.

Bisher liegen keine Angaben darüber vor, ob die Chloroplastenzählungen bei der Züchtungsarbeit in rationeller Weise eingesetzt werden können und welche Gesichtspunkte die Verwendbarkeit bestimmen. Es erscheint daher zweckmäßig, die bisherigen Erfahrungen darüber zu veröffentlichen.

Damit ein wirklicher Fortschritt erzielt wird, sollte man schneller zu einem hinreichenden Ziel kommen als bisher. Da in der unbehandelten Epidermis die Chloroplasten nur schlecht hervortreten und Färbungen, die eine vorherige Fixation erfordern, aus zeitlichen Gründen ausscheiden, müssen die Chloroplasten unmittelbar auf dem Objektträger besser sichtbar gemacht werden.

MOCHIZUKI und SUEOKA (1955) legten die Epidermisstückchen in eine 1%ige Lösung von Silbernitrat. Dieses Salz wird von den Chloroplasten reduziert, wobei sie sich bräunlich bis schwarz färben (MOLISCH-Reaktion: MOLISCH 1918). Die Konturen treten meist sehr deutlich hervor, so daß man die Chloroplasten recht genau zählen kann. Manchmal allerdings bleibt die Färbung ganz aus, wenn der physiologische Zustand der Chloroplasten dafür ungünstig ist. Sind die Pflanzen mit Leitungswasser begossen worden, so kommt es vor allem bei Gewächshauspflanzen auch vor, daß die auf der Epidermis angehäuften Chloride Silber ausfällen, ehe es an die Chloroplasten gelangen kann. — Die schlechte Benetzbarkeit der Epidermis kann man durch Zusatz eines Netzmittels verbessern. Hierfür eignen sich von 23 geprüften Stoffen Marlon-Paste (Hüls) und Rapidnetzer BASF. Eine 1—2%ige Lösung davon in dest. Wasser vermischt man 1:1 mit einer 2%igen Silbernitratlösung. Es empfiehlt sich, die gebrauchten Präparate in einem abgedunkelten Gefäß zu sammeln, damit die Reinigung hernach allein mit Wasser erfolgen kann.

Eine zweite Möglichkeit ergibt sich daraus, daß die Chloroplasten der Schließzellen fast immer viel Stärke enthalten. In Jod-Jodkalium-Lösung färbt sich die Stärke dunkel, und die Chloroplasten treten meist sehr deutlich hervor. Allerdings färben sich nur die Stärkekörner und nicht die Umrisse der Chloroplasten wie beim Einlegen in Silbernitrat; meist stört das aber nicht. Die Gefahr von Fehlzählungen nimmt erst dann zu, wenn die Stärkekörner kleiner werden, also in einem Chloroplasten weiter auseinander liegen, und man die lockeren Stärkekörnergruppen zählen muß. Die Zählungen werden dadurch zwar erschwert, meist aber nicht ernstlich beeinträchtigt; es macht auch nicht viel aus, wenn man sich einmal um 1—2 Chloroplasten verzählt. Zur ausreichenden Benetzung der Cuticula setzt man wieder ein Netzmittel zu: Eine Mischung (1:1) aus 10%iger Pril-Lösung (abfiltrieren) und einer schwachen Jod-Jodkalium-Lösung (2 g Kaliumjodid und 0,5 g Jod in 100 ml Wasser, oder noch schwächer) bildet einen leicht abfiltrierbaren Niederschlag, ist sonst aber in brauner Flasche monatelang beständig. Statt Pril eignen sich auch hierfür die oben empfohlenen Netzmittel Marlon-Paste (Hüls) und Rapidnetzer BASF, jeweils 1:50 bis 1:200. Sehr gut brauchbar ist außerdem eine Lösung von Jod in Paraffinöl, die unmittelbar als Einbettungsmedium dient. Paraffinöl benetzt die Cuticula ausgezeichnet und hat einen günstigen Brechungsindex; nur sind die Objektträger und Deckgläser dann weniger leicht zu reinigen. Wegen der entstehenden Joddämpfe hält man die Jodkonzentration in der Lösung möglichst niedrig und läßt die unge reinigten Objektträger nicht längere Zeit offen umherliegen.

Schließlich sei noch eine weitere Möglichkeit erwähnt. Bestrahlt man Chlorophyll mit blauem Licht, so fluoresciert es bekanntlich leuchtend rot. Durch die Benützung eines Fluoreszenzmikroskops kann man die Chloroplasten

deutlicher sichtbar machen als durch jede andere Methode. Wo überhaupt noch unzerstörte Chloroplasten vorhanden sind, leuchten diese rot auf dunklem Grund und sind so mit Leichtigkeit zählbar, auch noch in stark vergilbten Blättern. Aus verschiedenen Gründen ist es ratsam, die Epidermisstückchen in Paraffinöl zu untersuchen. Da die erforderliche Lichtquelle in der Anschaffung und im Gebrauch (Dauerbetrieb!) recht kostspielig ist, lohnt sich der kleine Vorteil, den sie sonst bietet, für den praktischen Züchter kaum. Außerdem führt auch dieses Verfahren nicht in allen Fällen zum Erfolg: Die Zellwände der Epidermis können gelegentlich so stark gelblich fluorescieren, daß die Chloroplasten nicht mehr sichtbar sind. Für rein wissenschaftliche Zwecke ist die Chlorophyllfluoreszenz sonst das sicherste Mittel, um genaue Zahlen zu bekommen, wenn man einige Vorsichtsmaßnahmen beachtet.

Für die Praxis kommen somit vor allem das Jod-Jodkalium- und das Silbernitrat-Verfahren in Betracht. Es hängt weitgehend von den Umständen (Anzuchtbedingungen, Alter der Pflanzen, Tageszeit, Jahreszeit, Belüftung des Arbeitsraums (Joddämpfe!), vielleicht auch von der Rübensorte) und überdies von der persönlichen Ansicht ab, welche Methode man bevorzugen will. Die Jod-Jodkalium-Methode war z. B. im Winter bei Gewächshauspflanzen morgens weniger gut geeignet als mittags. Am besten stellt man sich beide Lösungen zurecht; versagt die eine, so kommt man meist mit der anderen zum Ziel.

Die Zahlen der vorliegenden Arbeit sind durchweg mit Jod-Jodkalium-Pril gewonnen worden. Eine mögliche Arbeitsvorschrift wird weiter unten mitgeteilt.

Das untersuchte Material ist in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Anzucht erfolgte im Gewächshaus im Winter 1957/58 teilweise zu etwas verschiedener Zeit. Primärblätter konnten nach 8—10, Folgeblätter nach 10—12 Wochen verwendet werden. Die hier besprochenen Zählungen wurden an Folgeblättern durchgeführt. Die chromosomalen Kontrollen erfolgten hinterher in dem bei den einzelnen Posten angegebenen Umfang an ganz jungen, 2—4 mm langen Blättchen.

Tabelle 1. Die untersuchten polyploiden Gemische.

Pflanzen-Nr.	
1—76	Versuchsposten 1 Rosenhof, von 2x geerntet
77—177	Versuchsposten 1 Rosenhof, von 4x geerntet
401—450	Kleinwanzlebener Polybeta, Handelsaatgut
501—575	Versuchsposten 2 Rosenhof
601—650	Maribo Poly, polyploides Handelsaatgut
701—800	Versuchsposten 3 Rosenhof
801—900	Versuchsposten 4 Rosenhof
901—1000	Versuchsposten 5 Rosenhof

Nach MOCHIZUKI und SUEOKA (1955) und eigenen Erfahrungen ist es für die Chloroplastenzahl nicht sehr wesentlich, von welcher Stelle ausgewachsener Blätter das zu untersuchende Epidermisstück stammt. Es wurde von der Blattunterseite etwa aus der Mitte einer Spreitenhälfte entnommen. Nur die Epidermis über den Haupt- und Nebenrippen und in ihrer Nähe darf man nicht verwenden, weil die Chloroplastenzahl hier viel höher sein kann und manchmal sogar die der nächsthöheren Ploidiestufe übersteigt. In nicht ausgewachsenen Schließzellen können sich die Chloroplasten noch vermehren. Am besten verwendet man daher nur einigermaßen ausgewachsene Primär- und

Folgeblätter, während sich Keimblätter weniger eignen. Primärblätter kann man als hinreichend ausgewachsen ansehen, wenn die ersten Folgeblätter größer geworden sind als jene. Die Untersuchungen können auch an voll ausgewachsenen Rüben noch unmittelbar vor der Ernte mit bestem Erfolg ausgeführt werden. Stagnierendes Wachstum (langer Aufenthalt im Gewächshaus) beeinträchtigt die Zählbarkeit nicht grundlegend, und in vielen Fällen waren auch vollkommen gelbe Blätter noch gut zu gebrauchen. Gelbe, überständige Primärblätter eines darauf geprüften Postens enthielten z. B. viel mehr Stärke in den Chloroplasten als die grünen Folgeblätter derselben Jungpflanzen und eigneten sich daher sogar wesentlich besser für Zählungen mit der Jod-Jodkalium-Methode als die grünen Blätter.

Als Beispiel für die Verteilung der Chloroplastenzahlen in polyploiden Gemischen diene Abb. 1. Pro Pflanze wurden in 10 Schließzellenpaaren die Chloroplastenzahlen gezählt und dann gemittelt. Nur die markierten Pflanzen wurden hinterher chromosomal untersucht. Vorausgesetzt war dabei zunächst, daß jedes Maximum der Verteilung nur Pflanzen der hierher gehörenden Ploidiestufe enthält. Die Gruppen der triploiden und der tetraploiden Pflanzen überschneiden sich ein wenig, wenn man, wie im Beispiel, die Mittelwerte aus 10 Zählungen bildet. (Eine größere Zahl von Zählungen vermindert die Überschneidungen, hebt sie aber nicht ganz auf.) Ob die Überschneidungen wirklich nur auf die Zwischenzonen beschränkt sind, kann man dem Beispiel nicht entnehmen.

In einem weiteren Beispiel dieser Art (Abb. 2) wurden ebenfalls nur die markierten Pflanzen chromosomal nachuntersucht. Die Mittelwerte stammen diesmal aus 20 Zählungen. Von den Pflanzen Nr. 1—76 sind offenbar nur 4 triploid. Bei den Pflanzen Nr. 77—177 müßten zunächst auf Grund der Chloroplastenzahlen einige Pflanzen der Übergangszone zwischen Triploiden und Tetraploiden als unsicher gelten.

Bei den hinterher vollständig chromosomal untersuchten Pflanzen Nr. 401—450, 501—575 und 601 bis 650 wurden die Chloroplasten von 20 Schließzellen gezählt und gemittelt. Nach MOCHIZUKI und SUEOKA (1955) nimmt die Sicherheit, den wirklichen Wert der Pflanze erfaßt zu haben, erst oberhalb von 25—30 Zählungen nicht mehr wesentlich zu. Aber schon 20 Zählungen sind für praktische Zwecke etwas viel, weil der Arbeitsaufwand, auch für die Additionen, schon recht groß wird. Oft spielen andererseits 1—2% Fehler gar keine Rolle. Daher wurden die 20 Zählungen zusätzlich so verrechnet, als ob es sich um zwei ganz getrennte Versuche mit je 10 oder um vier ganz getrennte Versuche mit je 5 Zählungen am gleichen Material gehandelt hätte (Abb. 3). Die Verteilungen der Pflanzen Nr. 401—450 auf Abb. 3 sind also nicht unabhängig voneinander. Die triploide Pflanze mit der

besonders niedrigen Chloroplastenzahl ist z. B. in allen 7 Fällen der Abb. 3 dieselbe; wiederholtes Auftreten einer solchen Pflanze hat also keine statistische Bedeutung, weil aus den ersten 20 vielleicht zufällig niedrigen Meßzahlen die folgenden 6 Meßreihen entnommen sind. Abb. 3 und Tab. 2 zeigen das (überraschend geringe) Ausmaß, in dem sich die Ergebnisse im vorliegenden Beispiel allein durch die

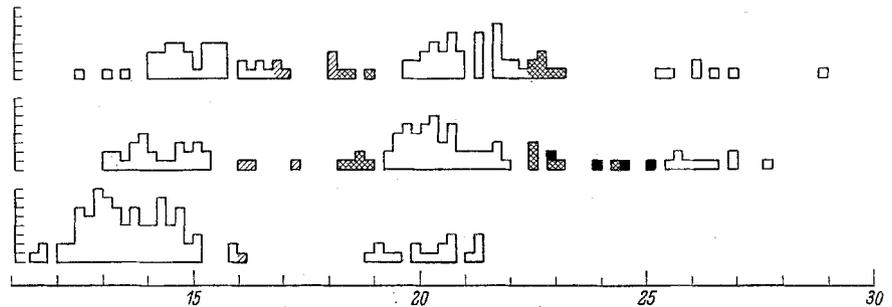


Abb. 1. Häufigkeitsdiagramm der Chloroplastenzahlen bei den Pflanzen Nr. 701—800 (oben), 801—900 (Mitte) und 901—1000 (unten).

Mittelwerte aus 10 Zählungen.

□ nicht chromosomal untersucht ▨ mit triploidem Chromosomensatz
▩ mit diploidem Chromosomensatz ■ mit tetraploidem Chromosomensatz

Waagrecht: Chloroplasten im Schließzellenpaar. Senkrecht: Pflanzenzahlen.

Aus Gründen der optischen Vergleichbarkeit aller Abbildungen wurden die Chloroplastenzahlen beim Übertragen in die Zeichnungen überall auf gerade Dezimalen aufgerundet.

Verminderung des Meßreihenumfanges verschlechtert hätten.

Die Pflanzen Nr. 601—650 verhielten sich ähnlich wie die Pflanzen Nr. 401—450 (vgl. Tab. 2). Als weiteres Beispiel werden die entsprechenden Verteilungen der Pflanzen Nr. 501—575 in gleicher Weise aufgeführt (Abb. 4, oben). Daß dieses Material keine Diploiden enthält, war vorher nicht bekannt. Es ist aber günstig,

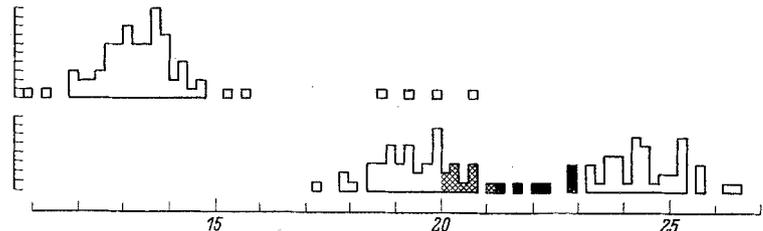


Abb. 2. Häufigkeitsdiagramm der Chloroplastenzahlen bei den Pflanzen Nr. 1—76 (oben) und Nr. 77—177 (unten). Zeichenerklärung s. Abb. 1.

denn die meisten Unklarheiten treten ohnehin zwischen Triploiden und Tetraploiden auf.

Die Verteilungen der Chloroplastenzahlen diploider und tetraploider Pflanzen überschneiden sich in keinem Fall und lassen mindestens im Bereich 19—21 Chloroplasten eine Zone völlig frei.

An den Diagrammen kann man noch Korrekturen anbringen (Abb. 4, unten), indem man die unsicheren Pflanzen nochmals bestimmt. Dazu muß man zunächst wissen, welche Pflanzen als unsicher zu werten sind. Im Beispiel der Abb. 1 kann man auf eine unsichere Zuordnung der Pflanzen mit etwa 17—18,5 und 22,5 bis 25 Chloroplasten schließen. Auf Abb. 2 liegt die Unsicherheitszone mindestens zwischen den Chloroplastenzahlen 21 und 22,5, auf Abb. 4 zwischen 22 und 23,5. Ihre Lage ist also etwas veränderlich, und man muß sie für jedes Material neu ermitteln. Dazu werden z. B. die ersten 100 Pflanzen graphisch ausgetragen; aus dem Diagramm entnimmt man, welche Werte keinen siche-

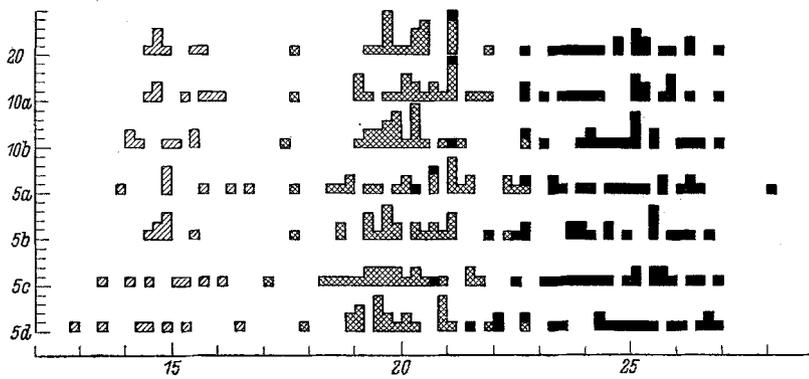


Abb. 3. Häufigkeitsdiagramm der Chloroplastenzahlen bei den Pflanzen Nr. 401—450 je nach Umfang und Beschaffenheit der Meßreihen. Links die Anzahl der Zählungen pro Meßreihe a, b usw. Näheres hierzu im Text. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

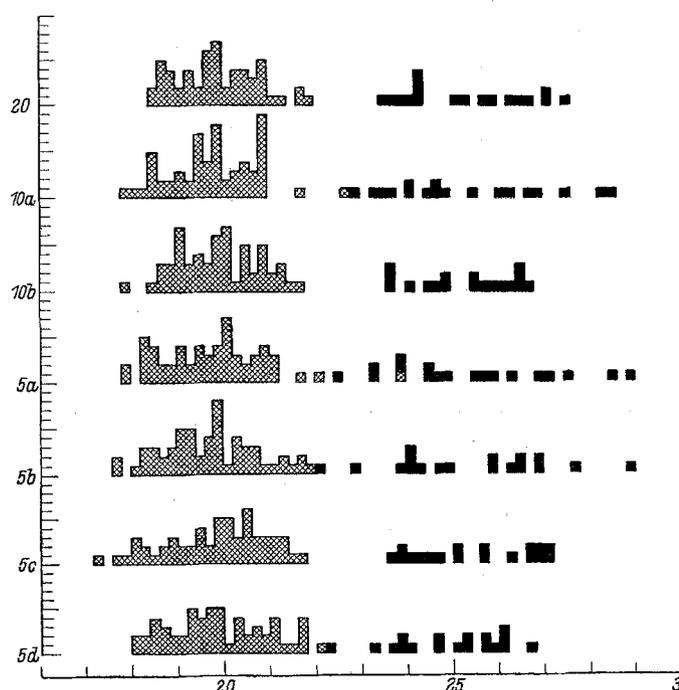
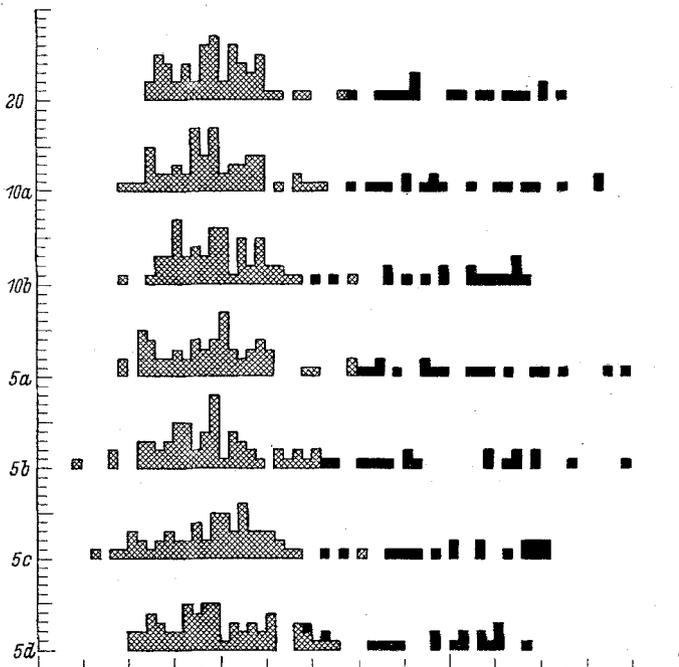


Abb. 4. Häufigkeitsdiagramm der Chloroplastenzahlen bei den Pflanzen Nr. 501—575. Oben: Nicht korrigierte Werte. Unten: Korrigierte Werte. Sonst wie Abb. 3. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

ren Schluß erlauben. Je nach den Genauigkeitsansprüchen und dem wirtschaftlich vertretbaren Zeitaufwand können diese Zonen weiter oder enger gefaßt werden. Vereinzelte falsche Einstufungen sind aber nicht zu vermeiden; so würde man etwa auf Abb. 3 eine Tetraploide ohne weiteres als triploid werten und nicht als unsicher. (Die betreffende Tetraploide war auch in der Epidermis tetraploid, wie durch Zählung der Trabantenchromocentren erwiesen wurde.) Die Korrektur kann die Zahl der falsch Bestimmten unverändert lassen oder erhöhen, nicht aber vermindern, denn von vornherein falsch eingestufte Pflanzen sind nicht zu erkennen und werden daher

auch nicht nachbestimmt. Man kann eine Zunahme der Fehlbestimmungen weitgehend vermeiden und die Unsicherheiten stärker herabsetzen, wenn die Wiederholungswerte aus einer größeren Zahl von Schließzellen als vorher gebildet werden. Geht man von 10 Zählungen pro Pflanze aus, dann wären bei der Wiederholung z. B. 20 zu machen, am besten, falls der Zeitaufwand tragbar ist, zweimal 10 von zwei verschiedenen Blättern.

Tabelle 2 faßt die Untersuchungen zusammen und gibt eine ungefähre Vorstellung von der erzielten Genauigkeit. Die Unsicherheitszonen wurden, soweit überhaupt Korrekturen erfolgten (Werte in Klammern), graphisch ermittelt. Bei den Wiederholungen wurden, entgegen der oben gegebenen Empfehlung, nur ebensoviele Schließzellen eines Blatts ausgezählt wie dem unsicheren Mittelwert zugrundegelegt hatten.

In guter Übereinstimmung mit MOCHIZUKI und SUEOKA (1955) ergaben sich aus den Pflanzen Nr. 401—1000 Mittelwerte der Chloroplastenzahl, wie sie in Tabelle 3 zusammengestellt sind. Dort ist zum Vergleich auch eine Pflanze (aus der Sorte Kleinwanzlebener Polybeta) aufgenommen, deren hohe Chloroplastenzahl auf Pentaploidie deutete. Die Bestimmung der Chromosomenzahl bestätigte diese Vermutung.¹

Da der Ploidiegrad somit in vielen Fällen durch Chloroplastenzählungen hinreichend genau bestimmt werden kann, wird empfohlen, nach folgender Arbeitsvorschrift zu verfahren:

Von einer größeren Zahl markierter Pflanzen wird je ein Blatt oder Blattstück in den Untersuchungsraum geholt. Man fertigt dann jeweils am besten 5 Präparate gleichzeitig an. Ein Stückchen der unteren Epidermis, etwa aus der Mitte einer Spreitenhälfte, wird abgezogen und in die gewünschte Lösung gelegt. Blattstücke dürfen ruhig am Epidermishäutchen hängen; man läßt sie seitlich über das Deckglas herausragen, damit dieses gut aufsitzt. Ein Objektiv mit 45facher Eigenvergrößerung reicht für die Zählungen aus. Die Zahlen diktiert man am besten einer Hilfskraft. Von den Anforderungen und vom Material (siehe unten) hängt es ab, wieviele Zählungen man machen will. Am Ende der Zählerarbeit werden die nochmals zu prüfenden Pflanzen ermittelt. Von diesen entnimmt man Stücke anderer Blätter und zählt nun eine größere Anzahl von Schließzellenpaaren als vorher aus. Liegt der neue Wert immer noch in der Unsicherheitszone, so sind die herkömmlichen Methoden (Zählung der Trabanten-

¹ Nach Abschluß des Manuskripts wurde eine Pflanze mit 7,9 Chloroplasten gefunden, die sich als haploid erwiesen hat.

Tabelle 2. Der Einfluß des Meßreihenumfangs auf die Ergebnisse. (): Werte nach der Korrektur.

Pflanzen-Nr.	Pflanzenzahl		Wahre Zusammensetzung			Zahl der unsicheren und falsch bestimmten Pflanzen nach Mitteln der Auszählung von					
	insgesamt	chromosomal untersucht	2x	3x	4x	20 Schließzellen		10 Schließzellen		5 Schließzellen	
						unsicher	falsch	unsicher	falsch	unsicher	falsch
1—76	76	0	72	4	0*	0					
77—177	92	17	0	45	47*	5					
701—800	100	12	45	48	7*			2		2	
801—900	100	12	29	57	14*			2		1	
901—1000	100	1	82	18	0*			0		2	
401—450	50	50	7	23	20	3(2)	1(1)	4(3)	1(1)	6(3)	2(2)
								4(2)	1(1)	5(3)	1(1)
										4(2)	1(1)
										9(5)	0(1)
501—575	75	75	0	57	18	2(0)	0(0)	6(1)	0(0)	7(3)	0(1)
								3(0)	0(0)	9(2)	0(0)
										3(0)	0(0)
										10(3)	0(0)
601—650	50	50	8	26	16	7(2)	0(0)	5(0)	0(0)	4(0)	0(0)**
								5(0)	2(2)	6(1)	2(3)**
										6(1)	2(3)**
										7(2)	3(4)**
401—650	175	175	15	106	54	12(4)	1(1)	15(4)	1(1)	17(6)	2(3)
								12(2)	3(3)	20(6)	3(4)
										13(3)	3(4)
										26(10)	3(5)
401—650 in % ***	100	100	9	60	31	7,6(2,7)	Mittel 0,7(0,7)	13,5(3)	2(2)	18(6)	3(4)
								8,0(1,9)	1,3(1,3)	11,6(3,7)	1,7(2,4)

* Angenommene Zusammensetzung, da nicht vollständig chromosomal untersucht.

** Hier wurden Primärblätter untersucht. Zum Vergleich die Werte aus Folgeblättern (Auszählung von je 5 Schließzellen): 10(1) unsicher, 1(2) falsch.

*** Unter Berücksichtigung der verschiedenen Postengröße.

chromocentren oder der Chromosomen) anzuwenden, falls man nicht einfach auf diese Pflanzen verzichten kann.

Hat man diploide, triploide und tetraploide Pflanzen in einem Gemisch vor sich, so kann man auch bei 20 Zählungen pro Epidermisstück noch mit weniger Zeit auskommen als bei den Chromosomen- und auch

Tabelle 3. Die durchschnittliche Chloroplastenzahl im Schließzellenpaar in Abhängigkeit vom Ploidiegrad.

Ploidie	Pflanzenzahl	Mittelwert	mittlerer Fehler
2x	171	14,23	0,10
3x	229	20,34	0,07
4x	75	25,36	0,17
5x	1	32,1	—

den Chromocentrenzählungen, jeweils sämtliche Nebenarbeiten eingerechnet. Die Zahl der zu Wiederholenden kann von Fall zu Fall schwanken, und auch der Zustand des Materials und seine Zusammensetzung beeinflussen die Zählgeschwindigkeit. Meist werden indes 10 Zählungen ausreichen, und wo man sich nur gröber orientieren will, genügen auch schon 5. Bei 10 Zählungen kann man mit einem erheblichen Zeitgewinn gegenüber anderen Verfahren rechnen.

Sind nur diploide und tetraploide, nicht jedoch triploide Pflanzen vorhanden, so kann man auf Meßreihen überhaupt verzichten und nur den Ploidiegrad notieren, den man beim schnellen Durchmustern des Präparats mit wenigen Blicken erkennt. Die Arbeitsgeschwindigkeit steigt dabei beträchtlich.

Je höher im übrigen der Anteil der Diploiden neben Triploiden und Tetraploiden ist, desto schneller kommt man voran. Am meisten Zeit erfordern die Tetraploiden; man muß bei diesen auch größere Sorgfalt aufs

Zählen verwenden, denn ihre Chloroplasten liegen öfter ganz oder teilweise übereinander, so daß es zu genauen Zählungen einiger Erfahrung bedarf. Ein Chloroplast mehr oder weniger macht auch hier in der Praxis nichts aus. Die Unsicherheiten nehmen mit steigender Uneinheitlichkeit des Materials zu (Gebrauchssaatgut als Mischung oder aus gemeinsamem Abblühen zahlreicher Stämme!), denn es ist schwer vorstellbar, daß Unterschiede in der genetischen Konstitution ohne Einfluß auf die Chloroplastenzahl sein sollten.

Die Ansprüche an die untersuchende Person und den Zustand des Materials sind bei Chloroplastenzählungen geringer als bei Zählungen der Trabantenchromocentren im Ruhekern. Fixierung und Färbung in getrennten Arbeitsgängen fallen ebenso weg wie der Gebrauch der Ölimmersion. Führen die Chloroplastenzählungen bei manchen Pflanzen nicht zum Erfolg, so kann man die Trabantenchromocentren zählen, denn Unsicherheiten beim ersten Verfahren beruhen meist nicht auf schlechtem Materialzustand. Ganz unentbehrlich aber bleibt die REITBERGERSCHE Methode für eine Anzahl wissenschaftlicher Fragen.

Einen grundsätzlichen Nachteil haben alle Zählungen in der Epidermis: Pollenkörner und Eizellen sind subepidermalen Ursprungs und können daher in manchen Fällen (frisch colchicinierte Pflanzen!) einen anderen Ploidiegrad besitzen. Dennoch bedeutet das geschilderte Verfahren auch für diese Fälle einen Fortschritt, weil man damit schon lange vor der Blüte den größten Teil der Diploiden ausmerzen kann.

HEINRICH DR. A. REITBERGER danke ich für seine Anleitung zu den karyologischen Untersuchungen. Der Badischen Anilin- & Soda-Fabrik AG in Ludwigshafen und den Chemischen Werken Hüls AG in Marl danke ich für Proben ihrer Netzmittel.

Zusammenfassung

Die von MOCHIZUKI und SUEOKA (1955) mitgeteilte Tatsache, daß sich diploide, triploide und tetraploide Zuckerrüben in der Zahl ihrer Chloroplasten in den Schließzellen der Spaltöffnungen unterscheiden, läßt sich dazu verwenden, die Ploidiegrade schneller zu bestimmen als auf andere Weise.

Die Chloroplasten müssen zum Zählen stärker hervorgehoben werden. Dies geschieht in der Praxis durch Einlegen der frisch abgezogenen Epidermisstückchen in Silbernitratlösung (MOLISCH-Reaktion; MOCHIZUKI und SUEOKA 1955) oder Jod-Jodkalium-Lösung auf dem Objektträger. Ein Zusatz von Rapidnetzer BASF oder Marlon-Paste, oder zur Jod-Jodkalium-Lösung auch von Pril, erhöht die Benetzung der Cuticula.

Ein Gemisch diploider, triploider und tetraploider Zuckerrüben kann man durch Auszählen der Chloroplasten von 10 Schließzellenpaaren auf einem Epidermisstück soweit trennen, daß zunächst höchstens 10% der Pflanzen unsicher bleiben, von denen man noch je ein zweites Blatt untersucht. Etwa 2% der Pflanzen

bleiben auch dann noch unsicher, während 1—2% dem falschen Ploidiegrad zugeordnet worden sind. Die Genauigkeit reicht für viele Zwecke vollkommen aus.

Ein Gemisch aus nur diploiden und tetraploiden Pflanzen kann durch kurzes Durchmustern jedes Präparats leicht und mit Sicherheit richtig getrennt werden.

Eine pentaploide Pflanze wurde durch ihre auffallend hohe und eine haploide Pflanze durch ihre auffallend niedrige Chloroplastenzahl entdeckt.

Das beschriebene Verfahren, den Ploidiegrad durch Zählen der Chloroplasten in den Schließzellen zu ermitteln, stellt nur geringe Ansprüche an die untersuchende Person und den Zustand des Materials.

Literatur

1. MOCHIZUKI, A., and N. SUEOKA: Genetic studies on the number of plastid in stomata. I. Effects of autopolyploidy in sugar beets. *Cytologia* (Tokyo) **20**, 358—366 (1955). — 2. MOLISCH, H.: Das Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan. *Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Abt. I*, **127**, 449—472 (1918). — 3. REITBERGER, A.: Ruhekerntuntersuchungen bei gesunden und viruskranken Diploiden und Polyploiden von *Beta vulgaris*. *Der Züchter* **26**, 106—117 (1956).

Aus dem Institut für Pflanzenbau, Düngung und Bodenkunde Pulawy (Polen)

Über den Einfluß der Jarowisation und des Kurztages auf die Entwicklung des Roggens

Von ANATOL LISTOWSKI

Mit einer Abbildung

I.

Bereits im Jahre 1939 erschien die Arbeit von Voss (1), die die Analyse der Entwicklung der deutschen Winterweizensorten zwecks Bestimmung des Zusammenhangs zwischen Licht- und Temperatureinfluß enthielt.

Voss kam zum Schluß, daß das Wintergetreide in den ersten Stadien seiner Entwicklung sich als Kurztagpflanze verhalten kann. Auch nach PURVIS (1937 — zit. nach Voss) wird im kurzen Tag die Bildung von Blütenprimordien beim Roggen beschleunigt. In den Feldversuchen über den Einfluß der Aussaattermine auf jarowisierten Roggen kam KRESS (2) zum Schluß, daß jarowisiertes Wintergetreide so früh wie möglich (bis Mitte März) ausgesät werden soll, da nur in diesem Fall gute Bestockung, gleichmäßiges Ährenschieben und normaler Ertrag erwartet werden können. Das soll nach KRESS bedeuten, daß das Wintergetreide nach Durchführung der künstlichen Jarowisation „für das beginnende Lichtstadium eine bestimmte Zeit Kurztagverhältnisse benötigt“. Auf Grund des Vergleichs mit den frühen Saatzeiten des nicht jarowisierten Getreides kam KRESS zu der Schlußfolgerung, daß der Roggen etwa 6 Wochen Jarowisationsdauer und anschließend etwa 4 Wochen Kurztagbelichtung braucht.

AZZI (3) zitiert den Versuch von SALVATORI über Ährenschieben des typischen Winter- und Sommergetreides bei verschiedenen Aussaatterminen. Nach der Keimung werden die jungen Pflanzen 30 Tage der Wirkung des Kurztages unterworfen.

Unter diesen Umständen wiesen die Sommerweizensorten verzögerte, die Winterweizensorten beschleunigte Entwicklung auf, wobei die Winterweizensorten in Kurztagserien zu 100% und im normalen Tag zu 40% zum Ährenschieben kamen.

AZZI ist der Meinung, daß sowohl Kurztag als auch niedrige Temperatur auf die Entwicklung des Wintergetreides determinierend wirken können.

Die oben angeführten Ergebnisse führen zu folgenden Schlüssen:

1. Bei der Winterung hat der Kurztag ähnliche Folgen wie die Jarowisation, bzw. er kann auch ohne Jarowisation die Entwicklung gewissermaßen beschleunigen,
2. die Winterpflanzen verhalten sich unmittelbar nach der Jarowisation wie Kurztagpflanzen.

Die erste Schlußfolgerung ist natürlich nicht als allgemeine Regelmäßigkeit zu betrachten. HARDER und VON DENFFER (4) haben z. B. im Laufe ihrer Untersuchungen über den Einfluß der Tageslänge auf die Entwicklung von *Sinapis alba*, *Agrostemma githago* und Wintergerste bei verschiedenen Aussaatterminen festgestellt, daß die beiden ersten Pflanzenarten nach Jarowisation beim Kurztag eine schnellere Entwicklung aufwiesen, während die Wintergerste sich gerade umgekehrt verhielt. Diese unterschiedliche Reaktion der Wintergerste auf die Tageslänge im Vergleich mit Roggen und Weizen ist auch durch meine (nicht veröffentlichten) Versuche bestätigt worden.

In Anlehnung an die Voraussetzungen von Voss (und AZZI), unterwarf ich die nichtjarowisierte Wintergerste der Wirkung des Kurztages. Der Erfolg war negativ: die Gerste wies keine Entwicklungsbeschleunigung auf, ging nicht in die generative Phase über und starb schließlich nach längerer Wachstumsperiode ab.

Über die Entwicklung des Roggens ist eine ganze Reihe von Untersuchungen durch PURVIS und GREGORY durchgeführt worden. Die Angaben der kürzlich erschienenen Arbeit (1955), welche gewissermaßen eine Synthese darstellt, habe ich erst nach Be-