

Aus der Station Centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes, Versailles,
und dem Institut für Botanik, Gärungsphysiologie und Hefereinzucht
der Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau, Geisenheim am Rhein

Ein Colchicin-induzierter amphiploider Sektionsbastard zwischen *Iris Hoogiana* Dykes (Sektion *Regelia* Foster et Baker) und *Iris chamaeiris* Bert. (Sektion *Pogoniris* Spach, series *Pumilae* Lawr.)

Von MARC SIMONET und PETER WERCKMEISTER

Mit 3 Abbildungen

In der Gattung *Iris* sind innerhalb der Sektionen verschiedentlich spontane Naturbastarde nachgewiesen worden, jedoch wurden spontane Sektionsbastarde bisher nicht beobachtet. Sie ließen sich dagegen in erstaunlichem Umfang künstlich herstellen. Unter diesen sind diejenigen Sektionsbastarde von besonderem Interesse, die bereits in der ersten

Chromosomen entstanden. Es handelt sich also nicht nur um eine partielle, sondern um eine vollständige Autosyndese.

Daß der Bastard trotz normal ausgebildeter Mikrosporen im Tetradenstadium und mit zu 95 bis 99% keimfähigem Pollen zunächst keine Nachkommenschaft lieferte, lag daran, daß der einzige erhaltene Klon wie seine Eltern selbststeril war. Daraufhin wurde er mit dem Pollen einer anderen *Pogoregelia*-Hybride der gleichen Chromosomenkombination bestäubt, der Hybride *Leichmac* (*I. Leichtlini*, $n = 22$, \times *I. macrantha*, $n = 24$), worauf Früchte mit reichlichen Samen erhalten wurden, die intermediär zwischen den Eltern waren, im besonderen einen mit dem Samen von *Iris Hoogiana* verglichen deutlich kleineren Arillus aufwiesen (während die Samen der *Pogoniris* keinen Arillus besitzen) (SIMONET 1935a). Wir haben dann auf die Fertilität dieser *Pogoregelia*-Hybriden und deren Bedeutung für die Züchtung hingewiesen, da diese in den von zahlreichen Züchtern hergestellten *Pogoregeliocyclus*-Bastarden sofort die tetraploide Stufe erreichen lassen. Da die Sektion *Oncocyclus* nur diploide Vertreter kennt (SIMONET 1932, 1952), so wurde hier bisher die tetraploide Stufe nur durch gelegentliche zufällige Verdoppelung der Chromosomengarnitur erreicht. Es erschien also sicherer, von vornherein von diesen Typen auszugehen und diese für die Züchtung zu verwenden (SIMONET 1953).

Eine von den *Pogoregelia*-Kreuzungen der tetraploiden Stufe hat sich jedoch bisher immer als vollkommen steril erwiesen. Es ist die Kreuzung zwischen der turkestanischen *Regelia*-Iris *I. Hoogiana* ($n = 22$) und der westmediterranen *I. chamaeiris* ($n = 20$). Alle untersuchten Bastarde hieraus, besonders derjenige von CAYEUX 1927, zeigten sich völlig steril. Er zeigte höchstens 10 bis 16 bivalente Konfigurationen und einige trivalente (0 bis 2), davon im Mittel 13,8 Univalente, 13,1 Bivalente und 0,6 Trivalente, d. h. 28,0 konjugierte Elemente auf 13,7 Chromosomen-Konfigurationen (SIMONET 1950b).

Die Kreuzung *Hoogiana* \times *chamaeiris* ist vermutlich sehr oft hergestellt worden, da beide Arten gleichzeitig blühen und bei vielen Züchtern in Kultur sind. Auch der andre von uns hat ihn schon 1932 hergestellt (Abb. 1); er ging jedoch durch die Zeitereignisse verloren. Die beiden damals aus dieser Kreuzung hervorgegangenen und durch Embryokultur erzeugten Klone waren vollständig steril und zeigten verkümmerte Antheren. Ihre Chromosomenverhältnisse konnten nicht untersucht werden. Sie fielen jedoch durch eine außerordentlich große Vermehrungsfähigkeit auf; während normalerweise bei Sämlingen im zweiten Jahre 1 Blütentrieb und höch-



Abb. 1. Steriler Sektionsbastard *I. Hoogiana* Dykes ♀ \times *I. chamaeiris* Bert. v. *alba hort.* von 1932.

Generation in hohem Grade fertil sind. Das sind vor allem Bastarde, die von autotetraploiden Elternarten ausgehen. Da sowohl die Sektion *Pogoniris* wie die Sektion *Regelia* solche autotetraploiden Arten besitzt, so konnte der eine von uns schon 1934 zeigen, daß diese Fertilität auf Autosyndese der jeweiligen *Regelia*- und *Pogoniris*-Chromosomen zurückgeht. Der Bastard *I. Hoogiana* ($n = 22$) \times *I. macrantha* ($n = 24$), *I. autosyndetica* M. Simonet (SIMONET 1934), besitzt 46 somatische Chromosomen und bildet konstant 23 bivalente Elemente in der Meiosis (l. c., p. 315). Die Chromosomen beider Eltern sind morphologisch sehr verschieden, und so konnte gezeigt werden, daß die 23 Gemini durch autosyndetische Bindung der 22 mütterlichen und der 24 väterlichen

stens 4 bis 6 Kurztriebe zu beobachten sind, hatte der eine Klon zwei Blüentriebe und über 20 Kurztriebe. Zur Zeit ist aus diesem Kreuzungstyp noch eine amerikanische Sorte unter dem Namen „Spotless“ im Handel. Auch wir haben diese Sorte noch in Kultur, und sie ist uns als völlig steril bekannt.

Es interessierte nun die Frage, ob es möglich ist, diesen und einige andere stets als steril bekannte Sektionsbastarde noch einmal herzustellen und durch Colchicinbehandlung Amphiploidie und Fertilität zu erreichen. Neben wenigen anderen ist dies bei einem Sämling aus der Kreuzung *I. Hoogiana* × *I. chamaeiris* v. *alba* gelungen, über den hier berichtet werden soll. Der Sämling wurde 1952 in Geisenheim erhalten und hat 1954 zum ersten Male geblüht. Eine erste cytologische Untersuchung ergab die somatische Zahl von 84 Chromosomen (SIMONET 1955). Der Bastard wird im folgenden als *Hoog-cham 84* bezeichnet.

Embryokultur und Colchicinbehandlung

Es war von vornherein zu erwarten, daß eine Colchicinbehandlung von Irispflanzen nicht leicht sein würde angesichts der Tatsache, daß alle Irisarten im ersten Vegetationsjahr nur Kurztriebe anlegen. Es mußte also außerordentlich schwer sein, an die Mitosen der Initialzellen im Vegetationspunkt heranzukommen, während das Colchicin überwiegend die zahlreichen Mitosen an den Blattbasen angreifen und so in den Blättern Verkrüppelung und Mosaikbildung induzieren würde. So erschien nach den bestehenden Erfahrungen eine Colchicinbehandlung nur im Zusammenhang mit einer Embryokultur aussichtsreich. Es wurde deshalb vorgesehen, die Embryonen außerhalb des Samens unmittelbar nach der eben erkennbaren Keimung zu behandeln. Bei der notwendigen sterilen Arbeitsweise wurde das Verfahren dadurch außerordentlich umständlich.

Die aus den Samen der verschiedenen Artkreuzungen erhaltenen Embryonen wurden unmittelbar nach der Reife, teilweise sogar während die Samen noch grün den eben reifenden Früchten entnommen wurden, herauspräpariert und auf Knudson-Burgeff-Agar in der bereits beschriebenen Weise (WERCKMEISTER 1936, 1956) vorkultiviert, bis nach drei Tagen gewohntermaßen die ersten Anzeichen der Keimung zu beobachten waren. In dem vorliegenden Falle jedoch war ein weiteres Hindernis zu beachten, nämlich, daß *Regelia*-Embryonen normalerweise auf Agar zwar beträchtliches Wachstum, aber keine Keimung zeigen. Über diese Erscheinung postembryonalen Wachstums ohne Keimung wurde bereits berichtet (WERCKMEISTER 1952). Sie wurde inzwischen von LENZ bestätigt (LENZ 1955). LENZ konnte die Beobachtung, daß bei den *Regelia*-Embryonen die Ursache des Keimverzuges im Embryo selbst begründet ist, dahin erweitern, daß diese Erscheinung ein für die Sektion *Regelia* spezifisches Sektionsmerkmal ist, während bei allen anderen Sektionen der Keimverzug im Endosperm zu vermuten ist, da die Embryonen, vom Endosperm befreit, zu jeder beliebigen Jahreszeit keimen (vgl. auch KARTASCHOFF 1958). LENZ konnte die Embryonen auch auf künstlichem Nährboden zum Keimen bringen, indem er sie längere Zeit im Kühlschrank bei 38° Fahrenheit

aufbewahrte. Inzwischen wurde eine Mitteilung bekannt, daß es auf bestimmten Zucker-Dextrin-Nährböden gelingen soll, *Regelia*-Embryonen zur Keimung zu veranlassen (SHOCKEY 1959). Es erscheint deshalb wesentlich, mitzuteilen, daß in dem hier geschilderten Fall nur die Embryonen der *Regeliocyclus*-Kreuzungen teilweise diesen Keimverzug zeigten, während die *Pogoregelia*-Embryonen, also mit *Regelia*-Arten als Sameneltern und mit *Pogoniris*-Arten als Polleneltern ohne Schwierigkeit auf dem künstlichen Substrat keimten.

Unmittelbar nach den ersten Anzeichen der Keimung, die als erste geotrope Krümmung der Primärwurzel und Gelbfärbung der Wurzelspitze zu erkennen ist, wurden die Embryonen in Colchicinlösung übertragen. Da keine Erfahrungen über Konzentration und Dauer der Behandlung bestanden, wurden nach den üblichen Methoden zwei Konzentrationen vorgesehen. Dazu wurde eine 0,2%ige und eine 0,02%ige Colchicinlösung mit Nährsalzen und 2% Zucker nach Knudson-Burgeff vorbereitet und in mit Wattestopfen verschlossenen Reagensgläsern sterilisiert. In gleicher Weise wurde sterile Knudson-Burgeff-Lösung zum Waschen der Embryonen vorbereitet. In diese Lösungen wurden die Embryonen unmittelbar nach den ersten Anzeichen der Keimung gebracht und wechselnde Zeiten darin gehalten. Erfolgreich war für den Fall der 0,2%igen Lösung nur ein Aufenthalt von 2 Stunden und im Falle der 0,02%igen ein Aufenthalt von 15 Stunden. Bei geringerer Dauer der Behandlung war überhaupt kein sichtbares Zeichen der Behandlung zu erkennen. Bei längerer Behandlung traten sehr starke Schwellungen des Vegetationspunktes und der Wurzelspitze manchmal schon nach zwei Tagen auf, die nicht überwunden werden konnten und in allen Fällen zum Verlust des Keimlings führten. Bei den beiden Behandlungsarten, die einzig Erfolg versprachen, wurde der Vegetationspunkt nicht sichtbar beeinflusst; dagegen zeigte die Primärwurzel stets eine leichte Schwellung der Wurzelspitze, die später durchwachsen wurde. Es blieb also zunächst durchaus offen, ob mit der Colchicinbehandlung ein Erfolg erzielt worden war, ja, ob ein solcher auf diese Weise überhaupt zu erzielen wäre. Nach der Behandlung wurden die Embryonen in der sterilen Nährlösung gewaschen und wieder auf Nähragar übertragen.

Da zunächst nicht mit einem Erfolg gerechnet wurde, wurden die Versuche nicht fortgesetzt. Zur Blütezeit fielen jedoch einige wenige Sämlinge aus den *Pogoregelia*-Kreuzungen durch unerwartete Pollenfertilität und aus den *Regeliocyclus*-Kreuzungen durch breitere Blätter auf. Der hier besprochene Bastard entstammt mit einem anderen, der verloren ging, aus einer Frucht, die nur zwei Samen ergab. Der Sämling fiel nicht durch seine Größe auf. Auch sein vegetatives Wachstum stand hinter dem zurück, was uns aus den früher erhaltenen Sämlingen dieser Kreuzung bekannt war. Der andere Sämling war deutlich noch etwas kleiner. Lediglich der Unterschied in der Pollenfertilität zwischen beiden Sämlingen fiel auf, so daß er zu einer ersten cytologischen Untersuchung herangezogen wurde. Das Ergebnis dieser Untersuchung bestätigte den durch die unerwartete Fertilität zu vermutenden Erfolg der Colchicinbehandlung.

Cytologische Untersuchung

Die erste cytologische Untersuchung der Mitosen in der Wurzelspitze im Jahre 1955 zeigte, wie schon mitgeteilt, daß der Bastard $2n = 84$ Chromosomen besitzt (SIMONET 1955). Da *I. Hoogiana* $2n = 44$ ($n = 22$) und *I. chamaeiris alba* $2n = 40$ ($n = 20$) Chromosomen besitzt, entspricht also die somatische Chromosomenzahl genau einer vollständigen Verdoppelung der Chromosomenzahlen der beiden Eltern. Wir haben in gleicher Weise mitgeteilt, daß *I. Hoogiana* eine autotetraploide *Regelia* ist (4×11), während *I. chamaeiris* eine höhere Polyploide der niedrigen *Pogoniris* ist (SIMONET 1932). Außerdem haben wir zeigen können, daß *I. Hoogiana* in ihrer somatischen Garnitur 4 sehr große V-förmige Chromosomen besitzt. Diese eigenartigen Elemente sind vollzählig bei der amphiploiden *I. Hoog-cham 84* wieder aufgefunden worden.

Im Verlauf der chromatischen Reduktion, die nun untersucht wurde, konnten wir einige kleinere Unregelmäßigkeiten feststellen. Während der Meiosis I können Univalente und Multivalente vorkommen an der Seite der normalerweise gebildeten Bivalenten. Wir fanden im Mittel bei 38 untersuchten Zellen 1,7 Univalente und 82,1 konjugierte Elemente. Diese Anomalien drücken die Anzahl der Chromosomen-Konfigurationen auf 40,6 herab, die 42 betragen müßte, wenn alle somatischen Chromosomen Bivalente formieren würden ($2n = 84$; $n = 42$). Die beobachteten Multivalenten (0,3 Trivalente und 0,3 Tetravalente) resultieren größtenteils aus einer Konjugation inter se der *Hoogiana*-Chromosomen, deren Anteil in dem Bastard jetzt tetraploid anstatt diploid ist. Es ist wohl gemerkt einfach, diese zu erkennen an den bisweilen komplizierten Figuren, die gerade die 4 sehr großen *Regelia*-Chromosomen im Augenblick ihrer Konjugation bilden.

Diese Univalenten und Multivalenten verwirren die Schlußphasen der Meiosis ein wenig. Die Tetraden sind gelegentlich unregelmäßig mit mehreren überzähligen Zellen (4 bis 7) oder mit Zwergzellen. Das hat zur Folge, daß der Pollen bei der Reife nur 80% bis 85% gut ausgebildete Pollenkörner enthält. Diese gut entwickelten Pollenkörner treiben jedoch außerordentlich zahlreich gut entwickelte Pollenschläuche. Daß bisher bei Bestäubung mit diesem Pollen noch keine Nachkommenschaft erhalten wurde, lag vielleicht wiederum an der Wahl ungeeigneter Partner.

Auch Samen wurden von dieser Hybride erhalten, so daß an ihrer Fertilität als amphiploider Bastard nicht zu zweifeln ist. Aus 4 solchen normal ausgebildeten Samen wurden durch Em-

bryokultur 4 Sämlinge erhalten, die somatisch nur $2n = 43$ Chromosomen besitzen, also nur die tetraploide Stufe erreichten. Ihre oberflächliche morphologische Betrachtung macht apomiktische Entstehung wahrscheinlich, so daß diese also recht gut die reduzierte Anzahl der 84 Chromosomen des Samenelters reproduziert hätten. Die Untersuchungen ihres weiteren Verhaltens werden fortgesetzt. Der Bastard ist auf jeden Fall die höchste Polyploidiestufe innerhalb der drei Sektionen, bei der bisher Fertilität erreicht wurde. Die Oktoploiden aus reinen *Pogoniris*, die von DARBY mittels Colchicin erhalten wurden (DARBY 1955), scheinen das Optimum von Wüchsigkeit und Fertilität bereits überschritten zu haben.

	Tabelle		
	<i>Hoogiana</i>	<i>Hoog-cham 84</i>	<i>Chamaeiris alba</i>
Blätter	an der Basis violett überlaufen, im Sommer vollständig vertrocknend	an der Basis leicht violett überhaucht, im Sommer bis zum untersten Viertel vertrocknend	grün, im Sommer nur im obersten Viertel vertrocknend
Infloreszenz	60 bis 70 cm hoch, 2-blütig, auf eine Entfernung von 13 bis 26 cm frei von stengelbürtigen Blättern	50 bis 60 cm hoch, 2-blütig, auf eine Entfernung von 11 bis 23 cm frei von stengelbürtigen Blättern	30 bis 40 cm hoch, 1 bis 2-blütig, auf 7 bis 10 cm frei von stengelbürtigen Blättern
Spathen	die beiden äußeren stark gekielt, leicht violett überhaucht	nur die äußere gekielt, grün	die äußere an der Basis ganz schwach gekielt, grün
Blüten	blaß vincablau	bläulich-weiß	weiß
Äußere Perianthblätter	mit dichten goldgelben Barthaaren mit braunen Spitzen	zahlreiche gelbe Haare mit bräunlichen Spitzen	Bart aus zahlreichen Haaren, weiß an der Basis und gelb auf der Spreite
Blattgrund d. ä. Pbl.	an der Basis verbreitert, die Basis der i. Pbl. umschließend	an der Basis leicht verbreitert, die Basis der i. Pbl. ein wenig umfassend	nicht verbreitert, die Basis der i. Pbl. vollständig freilassend
Innere Perianthblätter	ziemlich zahlreiche goldgelbe Haare auf dem Blattgrund	einige blaßgelbe Haare auf dem Blattgrund	ohne jeden Bart oder selten mit einigen weißlichen Haaren
Styla	blass mauve, Kiel stärker gefärbt	blass mauve überhaucht, Kiel apikal etwas stärker gefärbt	reinweiß
Kämme	blass mauve, groß	blass mauve überhaucht, ziemlich groß	weiß, mittelgroß
Stigma	blass mauve	blass mauve überhaucht	weiß
Stamina	Anthere cremefarben (1,6 cm), länger als das lila überlaufene Filament (1 cm)	Anthere cremeweiß (2 cm), länger als das lila überlaufene Filament (1,5 cm)	Anthere cremefarben (1 cm), kürzer als das weiße Filament (1,5 cm)
Samen	ziemlich groß mit großem weißem Arillus	mittelgroß mit sehr kleinem weißen Arillus	mittelgroß, ohne Arillus

Morphologische Charakteristika

Einige morphologische Eigenschaften der Hybride im Vergleich mit den Eltern sind in der vorstehenden Tabelle beschrieben.

Auf den ersten flüchtigen Blick erscheint der morphologische Aspekt der Hybride intermediär zwischen der *Regelia* und der niedrigen *Pogoniris* zu sein. In Wirklichkeit ist jedoch die Prädominanz von manchen Charakteristika des Samenelterns *Hoogiana* deutlich erkennbar, aber sie ist in keiner Weise vollständig. Die Prädominanz des *Regelia*-Einflusses ist ohne Zweifel auf die Tatsache zurückzuführen, daß der *Hoogiana*-Anteil tetraploid ist, während der *chamaeiris*-Anteil diploid ist, da *chamaeiris* selbst als amphidiploide Naturhybride angesehen werden muß.



Abb. 2. Der Bastard *Hoog-cham 84* von 1952.

Einige Charakteristika, so etwa das lebhaftere Wachstum, könnten dem *Pogoniris*-Elter zuzuschreiben sein. Doch scheint es zweifelhaft, ob man bei unserer amphiploiden Hybride von Bastardwüchsigkeit spre-

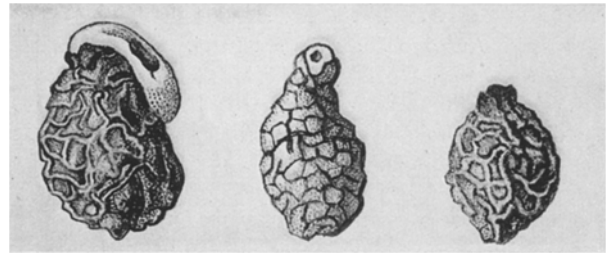


Abb. 3. Samen von *Hoogiana*, *Hoog-cham 84* und *chamaeiris* zum Vergleich. a) *Hoogiana*; b) *Hoog-cham*; c) *chamaeiris*.

chen darf, die die Vermehrungsrate der verlorenen sterilen Hybride von 1932 überzeugend zeigte.

Zusammenfassung

Es wird eine Hybride mit $2n = 84$ Chromosomen zwischen der *Regelia*-Art *I. Hoogiana* Dykes als Sameneltern ($2n = 44$) und der niedrigen *Pogoniris I. chamaeiris alba* als Polleneltern ($2n = 40$) beschrieben, die durch Colchicin-Behandlung erhalten wurde. Es ist bisher der erste fertile durch Colchicin induzierte Sektionsbastard in der Gattung *Iris*. Unter den Bartiris im weiteren Sinne gehört er zu den wenigen Pflanzen mit den höchsten Chromosomenzahlen, die hier bekannt wurden. Wenn man als Grundzahl der Bartiris im weiteren Sinne die Zahl $x = 4$ zugrunde legt, dann enthielte er also 21 mal diese Grundzahl. Seine Herstellung, seine cytologischen Verhältnisse und seine morphologischen Charakteristika im Vergleich zu denen der Eltern werden beschrieben.

Literatur

1. SIMONET, M.: Recherches cytologiques et génétiques chez les *Iris*. Ann. Sci. Nat., Bot., 10e série, 16, 229—383 (1934).
2. SIMONET, M.: Conjugaison autosyndétique des chromosomes à la méiose de quelques hybrides interspécifiques d'*Iris*. Bull. Biol. Fr. et Belg., 69, 178—212 (1935) (=1935a).
3. SIMONET, M.: Recherches cytologiques et génétiques chez les *Iris*. Bull. Biol. Fr. et Belg., 66, 255—444 (1932).
4. SIMONET, M.: Nouveaux dénombrements chromosomiques chez les *Iris*. C. r. Acad. Sci. 235, 1244—2246 (1952) (=1952b).
5. SIMONET, M.: Les hybrides amphidiploides et leur rôle dans l'Amélioration des *Iris*. 78. Congr. Soc. Sav., 323—327 (1953).
6. SIMONET, M.: Sur la méiose de quelques *Iris Pogocyclus* et *Pogoregelia*. I. Hybrides réalisés partir de *I. chamaeiris*. C. r. Acad. Sci. 231, 1247—1249 (1950) (=1950b).
7. SIMONET, M.: Etudes cytologiques d'hybrides d'*Iris Pogoregelia*; croisements et recroisements nouveaux. Ann. Amél. des Plantes 4, 633—638 (1955).
8. WERCKMEISTER, P.: Über Herstellung und künstliche Aufzucht von Bastarden der Gattung *Iris*. Gartenbauwiss. 10, 500—520 (1936).
9. WERCKMEISTER, P.: Practical Methods and Problems of Embryoculture. The Iris Year Book 1956, 94.
10. WERCKMEISTER, P.: Embryokulturversuche zur Frage des Keimverzuges von Irissamen aus der Sektion *Regelia* Foster. Ber. D. Bot. Ges. 65, 321 bis 325 (1952).
11. LENZ, L. W.: Studies in *Iris* Embryo Culture. I. Germination of embryos of the Subsection *Hexapogon* Benth. (Sect. *Regelia* sensu Dykes). El Aliso 3, 173—181 (1955).
12. KARTASCHOFF, R.: Die Keimverzögerung der Samen von *I. Pseudacorus* L. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 68, 145—182 (1958).
13. SHOCKEY, H. G.: Culture of *Regelia* Embryos. Bull. Am. Iris Soc. 153, 25—26 (1959).
14. DARBY, G. W.: Preliminary Report on High Polyploid Irises. The Iris Year Book 1955, 47.