

Aus dem Botanischen Garten und Museum Berlin-Dahlem

Ein einfaches Verfahren zur Anzucht von Farnprothallien*

Von DIETER E. MEYER

Mit 1 Abbildung

Wie in einem nachfolgenden Kapitel an einem Beispiel gezeigt werden wird, bieten Farne Ansatzpunkte zur Untersuchung vererbungswissenschaftlicher Fragen von allgemeinem Interesse, wie sie an keiner anderen Stelle der Lebewesen, weder bei Pflanzen noch bei Tieren, wieder in ähnlich günstiger Weise für diese Fragen vorliegen. — Doch ist die Ansicht weit verbreitet, daß sich mit Farnen nur schwierig arbeiten lasse. Selbst für Kurse der Studenten, für die Verwendung in gärtnerischen Kulturen, für wissenschaftliche Untersuchungen oder gar für planvolle Züchtungen und Kreuzungen besteht eine allgemeine Unsicherheit und Unkenntnis, mit einiger Gewißheit auf Erfolg Farne heranzuzüchten. So laufen beim Verfasser in zunehmendem Maße diesbezügliche Fragen ein. Das nachfolgend dargestellte Verfahren hat sich im Laufe der Jahre durch praktisches Probieren als das einfachste herausgebildet, insbesondere was den Aufwand an Zeit, Mühe und Mitteln betrifft. Fast wichtiger als das Verfahren selbst sind die Hinweise, welche Fehlerquellen es zu vermeiden gilt. — Die ersten Versuche, die zu dem hier beschriebenen Verfahren führten, begannen im Jahre 1950 im damaligen Institut für Geschichte der Kulturpflanzen von Frau Prof. Dr. E. SCHIEMANN.

Die Sporen

Voraussetzung der erfolgreichen Aussaat ist ein gutes Sporenmaterial. Aber es muß hier gleich gesagt werden, daß weit mehr als die Hälfte der von Botanischen Gärten versandten Farnsporenproben sich als unbrauchbar herausstellen, da es nämlich zwecklos ist, Fiederstücke mit Sori abzuschneiden und zur Aussaat anzubieten. Vielmehr müssen die Sporen regelrecht gewonnen werden, indem man einen Farnwedel mit reifen Sori abschneidet, in sauberes trockenes Papier einlegt und über Nacht liegen läßt. Am nächsten Tage hebt man den Wedel vorsichtig ab und findet auf dem Papier die Sporen. Diese sind also von selbst ausgeworfen worden und befinden sich im besten Zustand für die Aussaat. Zeigen sich keine Sporen auf dem Papier, war der Wedel ungeeignet. Abkratzen der Sori u. a. wird kaum Erfolg bringen. — Auf die eben beschriebene Weise gesammeltes, reines Sporenmaterial von guter Keimfähigkeit versendet z. B. der Botanische Garten Kew in kleinen Klarsichtbeutel. — Da die Sporen leicht verstäuben, muß man entsprechend Sorge tragen: Frisches Papier, Hantieren ohne heftige Bewegungen, kurzes Abflammen benützter Geräte, wodurch unerwünschte Sporen sofort verglühen. Bei der Vorbereitung von Versuchen wird man sich mit ähnlicher Vorsicht verhalten wie bei der Arbeit mit anderen Sporenpflanzen.

Die Aussaat der Sporen erfolgt in Kölbchen auf Nährlösung.

* Frau Prof. Dr. E. SCHIEMANN zum 80. Geburtstag gewidmet.

Die Nährlösung

Da die Farne unter den verschiedensten Bedingungen in der Natur wachsen, insbesondere z. B. auf Kalk und auf Urgestein, kann demgemäß nicht eine konstante Nährlösung allen Arten in gleicher Weise zusagen. Aber für sehr viele Arten hat sich die Nährlösung von ARTHUR MEYER sehr gut bewährt. Ursprünglich wurden einige Daten für dieses Kulturmedium einer Arbeit über Prothallien von DÖPP (1927, 4) entnommen.

Die Stammlösung

1. 4 g	KH_2PO_4	4. 0,4 g	CaCl_2
2. 4 g	NH_4NO_3	5. 0,4 g	NaCl
3. 1,2 g	MgSO_4	6. 0,04 g	FeCl_3
800 ccm Regenwasser			

Zunächst stellt man sich eine Stammlösung her. Das Lösungsmittel ist filtriertes Regenwasser. Abkochen wird vermieden, um eventuelle, unkontrollierbare Zersetzungen zu umgehen. In 800 ccm filtriertem Regenwasser löst man die genannten Salze in der angegebenen Menge, wobei man zunächst die ersten fünf Salze getrennt wiegt, dann in einem kleinen Mörser zusammengibt und verreibt. Darauf schüttet man sie in einen trockenen Literkolben und füllt mit 800 ccm Regenwasser auf. Jetzt erst wird das sechste Salz, Eisenchlorid, hinzugegeben. Da es die Eigenschaft hat, Wasser anzuziehen und zu zerfließen, ist ein genaues Abwiegen etwas schwierig. Deshalb wird es in einer kleinen Flasche als dunkelbraune Eisenchloridlösung (mit Aqu. dest.) vorrätig gehalten. Von dieser Lösung gibt man mit einem Glasstab einen Tropfen zu den 800 ccm der Nährlösung. Jetzt ist die Stammlösung fertig, die man am besten in brauner Flasche mit Glasstopfen aufbewahrt. In einer solchen Flasche wird die konzentrierte Stammlösung fast unbegrenzt haltbar sein, ohne daß sich Algen und Pilze von selbst einfinden und entwickeln. Vor Mißerfolgen wird es bewahren, wenn alle benutzten Utensilien vorher nicht mit anderen Chemikalien — es seien etwa Fixierungsmittel oder vergällter Alkohol aus der Praxis des Biologen genannt — in Berührung gekommen sind.

Die Gefäße

Zur Aussaat werden kleine Flaschen mit weitem Hals oder Erlenmeyerkolben zu 50 oder höchstens 100 ccm verwendet, die mit einem Wattebausch verschlossen werden. Diese Glasgefäße werden vor dem Verwenden wie folgt vorbereitet:

1. Auswaschen mit verdünnter Salzsäure.
2. Auswaschen mit Leitungswasser.
3. Ausspülen mit destilliertem Wasser.
4. Verschließen mit festgedrehtem Wattebausch.
5. Sterilisieren in Dampf.
6. Numerieren der Gefäße.

Die Aussaat

Für die Aussaat der Farnsporen füllt man 100 ccm der konzentrierten Nährlösung in einen Meßzylinder und gibt noch 400 ccm filtriertes Regenwasser hinzu. Jetzt ist die Nährlösung für die Prothallien fertig und kann in die AnzuchtKolben gegossen werden. Man gießt eine so bemessene Menge von der Nährlösung in jedes Gefäß, daß dieses höchstens etwas über die Hälfte gefüllt ist.

Die Sporen werden vorsichtig in dünnster Schicht auf die Oberfläche der Flüssigkeit gestreut. Ein Unterrühren in die Flüssigkeit oder Schütteln der Gefäße wird möglichst vermieden. Besonders auf die

lösung. Jetzt zeigt sich ein Vorteil der geschilderten Anzuchtmethode: Die Aussaaten benötigen so gut wie keinerlei Wartung, wie es etwa tägliches Gießen wäre, das dann bei den nichtgekeimten Sporen umsonst geschehen wäre.

Hier sei auf ein interessantes Phänomen hingewiesen, das gewiß stofflicher Natur ist und von der Antibiotica-Forschung aufgegriffen zu werden verdiente: Bei gutem Prothallium-Wachstum bleiben Algen und Pilze nahezu vollständig aus. Auch bildet sich mitunter um kleine Prothallium-Gruppen ein algen- und pilzfreier Hof. Man könnte den wirksamen Stoff Prothallin nennen.

	t	tt	tv	vt	vv	v ♂
t	tt trichomanes diploid 1	ttt 2	ttv 3	vtv 4	tvv 5	tv 6
tt	ttt x lusaticum 7	tttt trichomanes tetraploid 8	tttv 9	ttvt 10	ttvv 11	ttv x bavaricum 12
tv	tvv 13	tvvt 14	tvvt adulterinum Balkan 15	tvvt 16	tvvv 17	tvv 18
vt	vtv x samuelssonii 19	vtvt x trichomani- forme 20	vtvt 21	vtvt adulterinum Sachsen 22	vtvv 23	vtv x poscharskya- num 24
vv	vvv 25	vvvt 26	vvvt 27	vvvt 28	vvvv 29	vvv 30
v	vt 31	vtt 32	vtv 33	vvt 34	v vv 35	vv viride 36

Abb. 1. Kreuzungsschema für *Asplenium viride* und *A. trichomanes*. Sämtliche 36 Sporophyten können allein aus zwei Sporen aufgebaut werden, deren Chromosomensätze *t* und *v* sich 36fach verschieden kombinieren lassen. Die eingetragenen Namen zeigen in der Natur auftretende Arten und Bastarde an, denen die angegebene zytologische Zusammensetzung zukommt.

Aussaat der Sporen in dünnster Verteilung ist zu achten, sonst verfilzen die Prothallien und lassen sich kaum weiter aufziehen.

Je nach Farnart wird sich in zwei bis drei Wochen ein grüner Flor auf der Oberfläche der Nährlösung zeigen, der in zwei bis drei Monaten zu einem Prothallienrasen heranwächst. Bewegen und Drehen der Kölbchen wird vermieden, da die Prothallien sich in bestimmter Weise zur Lichtrichtung einstellen. Abdunkeln ist nicht nötig; nur das direkte Sonnenlicht wird ferngehalten.

Läßt die Keimung der Sporen oder das Wachstum der Prothallien auf sich warten, so daß die Flüssigkeit allmählich eindunstet, so füllt man sehr vorsichtig mit reinem Regenwasser wieder auf, damit die Prothallien an der Oberfläche bleiben und nicht in die Nährlösung hineingespült werden. Durch das Verdunsten nimmt die Konzentration der Salze in der Nährlösung zu und gerade darin kann eine Ursache liegen, weshalb die Keimung ausbleibt.

Bei einem negativen Erfolg der Aussaat bildet sich entweder ein weißlicher Pilzrasen auf oder eine grüne Algenschicht an der Oberfläche der Nähr-

Die Töpfe

Haben die Prothallien in den Kölbchen die Größe von 3—5 mm erreicht, werden sie in Blumentöpfe pikiert. Diese Töpfe sind statt mit Erde mit einem Torfkegel versehen, der aus frischem, angefeuchtetem Torf geformt ist. Die Spitze des Torfkegels bleibt 2—3 cm unter dem Rand des Topfes, damit die jungen Sporophyten nicht gleich an die Glasplatte stoßen, die zur Abdeckung der Töpfe benutzt wird. Diese Töpfe stehen in einer großen Schale, die ständig 2 cm hoch mit Wasser gefüllt ist.

Zur Übertragung der Prothallien aus den Kölbchen auf die Torfkegel benutzt man eine Lanzett-nadel oder eine spitze Pinzette. Die Prothallien werden ganz locker, möglichst sogar einzeln, auf dem Torfkegel gruppiert. Das bedeutet, daß von den vielen tausend dicht gedrängt stehenden Prothallien nur ein kleiner Teil weiter aufgezogen wird. — Es ist mit das Wichtigste, bei auftretenden Schwierigkeiten rechtzeitig die Prothallien auf ein neu bereitetes Kulturmedium, sei es Nährlösung oder Torf, in mehr aufgelockerter Weise als sie bisher wuchsen zu übertragen.

Die Etikettierung

Der Farnwedel, dem man die Sporen zur Aussaat entnommen hat, wird am besten für spätere Kontrollen aufgehoben, bzw. man bewahrt den Originalbeutel des von auswärts bezogenen Sporenmaterials auf. Dieser Wedel oder der Beutel erhält eine bestimmte Nummer. Die gleiche Nummer wird an dem Glasgefäß der Aussaat angebracht und nach dem Pikieren der Prothallien in den Topf gesteckt. Ständig und sorgfältig muß die Nummer bei den Pflanzen bleiben.

Ein Beispiel

Für das züchterisch Interessante bei der Arbeit mit Farnen sei ein Beispiel gebracht. Jedes Fach der hier abgebildeten Tabelle entspricht einem Farnsporophyten. Diese sämtlichen, 36 verschiedenen Farne lassen sich allein aus zwei Sporen (= zwei Gonen) aufbauen, deren zwei Chromosomensätze $v+t$ 36fach unterschiedlich in einer reziprok verschiedenen Plasmaumgebung kombiniert werden können. Man geht in dem gebrachten Beispiel von einem einzigen Prothallium von *Asplenium viride* (mit dem Chromosomensatz v) und von einem einzigen Prothallium von *Asplenium trichomanes* (mit dem Chromosomensatz t) aus. Durch Zerschneiden der beiden Prothallien und Regeneration werden Klone aufgebaut. So kann man genetisch genau identische Gameten in beliebiger Zahl erhalten und aufbewahren, sowohl in weiblicher als auch in männlicher

Form. — Verdoppelungen der Chromosomenzahl geschehen ohne chemischen Eingriff durch den Regenerationsvorgang der Aposporie. An keiner anderen Stelle des Pflanzen- und Tierreichs erscheint es wieder durchführbar, allein zwei Gonen in ihrem Kern- und Plasmainhalt auf so vielfach verschiedene Weise zu kombinieren und zu analysieren. Gegenüber den immerhin noch ähnlichen Verhältnissen bei Moosen bieten die Farne den Vorteil des vom Gametophyten unabhängigen, selbständigen und morphologisch reich gegliederten Sporophyten.

Das Neuartige liegt z. B. auch darin, daß in dem gesamten Schema nicht einmal eine F_2 -Generation auftritt, also die Frage der Sterilität der F_1 -Bastarde nicht von Belang ist.

Die im Schema eingesetzten Namen gehören zu in der Natur vorgefundenen Pflanzen, denen die angegebene, zytologische Zusammensetzung zukommt, worüber sich das Weitere in der zitierten Literatur findet.

Literatur

1. DÖPP, W.: Untersuchungen über die Entwicklung von Prothallien einheimischer Polypodiaceen. Pflanzenforschung 8, Jena 1927. — 2. MEYER, D. E.: Über das Verhalten einzelner isolierter Prothalliumzellen und dessen Bedeutung für Korrelation und Regeneration. Planta 41, 642—645 (1953). — 3. MEYER, D. E.: Hybrids in the Genus *Asplenium* found in Northwestern and Central Europe. American Fern Journal 50, 138—145 (1960). — 4. MEYER, D. E.: Zur Zytologie der Asplenien Mitteleuropas. Berichte Dtsch. Bot. Ges. 73, 386—394 (1961). (Hier weitere Literaturnachweise.)

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung der Karl-Marx-Universität, Leipzig

Hungermodifikationen bei *Raphanus sativus* L.*

Von O. HEINISCH und CHR. ROSENTHAL

Mit 4 Abbildungen

In einigen Lehrbüchern der allgemeinen Botanik wird im Zusammenhang mit der Darstellung von Dauermodifikationen das Beispiel der Hungerformen von Radieschen angeführt. So schreibt SCHUMACHER im Lehrbuch der Botanik für Hochschulen (27. Aufl. 1958):

„Einen ... Fall (einer Dauermodifikation) zeigen Radieschenpflanzen, die bei schlechter Ernährung (z. B. bei Wassermangel, magerem Boden usw.) ihr Hypokotyl unverdickt lassen und schlank aufschließen. Dauert der Hungerzustand auch noch während der Blüte und Samenreife an, dann bekommen auch die jungen Embryonen zu wenig Reservestoffe in den Samen mit. Die Folge davon ist, daß die aus solchen Samen neu erwachsenden Jungpflanzen ebenfalls unter schlechten Bedingungen heranwachsen und daher ihr Hypokotyl wiederum nicht zum „Radieschen“ verdicken. Die Hungermodifikation der ersten Generation ist also auf die zweite Generation übergegangen. Aber es ist jederzeit möglich, aus dieser zweiten Hungergeneration, wenn man sie besser ernährt, Samen zu erzielen, die bei günstigen Keimungs- und Wachstumsbedingungen nun wiederum normale verdickte Hypokotyle bilden.“

ULLRICH und ARNOLD (1953) geben sogar an, daß kümmernde Pflanzen in einigen Folgegenerationen von Hungerpflanzen auftreten. In dem Lehrbuch von SCHMEIL-SEYBOLD (1958) wird auf einer Abbildung

ein normales Radieschen einer Hungerform gegenübergestellt, wobei die dargestellte Hungermodifikante nicht ganz der Unterschrift „aufgeschossenes“ Radieschen entspricht. Die Pflanze weist zwar ein unverdicktes Hypokotyl auf, jedoch eine Blattrosette ohne Internodienstreckung. SCHEIBE (1951) greift in seiner „Einführung in die allgemeine Pflanzenzüchtung“ auf die Abbildung von SCHMEIL-SEYBOLD zurück, er spricht von einer eindeutigen Äußerung der Ernährung der Mutterpflanzen durch modifikative Nachwirkungen auch auf die nachfolgende Generation. Originalliteratur über die Durchführung der Experimente mit Radieschen wird in keinem der genannten Lehrbücher angegeben. Anscheinend stützen sich alle Angaben auf einen Abschnitt in ERWIN BAURS Vererbungslehre. E. BAUR bringt als Beispiel für die Nachwirkung einer Modifikation bei höheren Organismen u. a. folgendes:

„Ganz lehrreiche (ähnliche) Versuche kann man mit Radieschen *Raphanus sativus* anstellen. Junge Radieschenpflanzen, die schlecht ernährt werden — durch zu engen Stand, Wassermangel und ähnliches — bilden keine Radieschen aus, sondern schießen frühzeitig in Blüte. Läßt man eine solche frühzeitig aufgeschossene Radieschenpflanze auch noch während der Blüte und Samenreife stark hungern, so daß sie nur gerade eben noch einige kümmerliche nährstoffarme Samen entwickeln kann, so bekommt man aus diesen Samen zu einem großen Teil Pflanzen, die gleich aufschließen, auch

* Frau Prof. Dr. E. SCHIEMANN zum 80. Geburtstag gewidmet.