

Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Tübingen

Genetische Untersuchungen an *Pulsatilla*

VII. Über eine kahle Mutante bei *Pulsatilla**

Von CHRISTEL WAGNER

Einleitung

Im Rahmen der umfangreichen Versuche von ZIMMERMANN zur Klärung der systematischen Zusammenhänge innerhalb der Gattung *Pulsatilla* traten 1945 erstmalig kahle Pflanzen auf, und zwar in 3 Nachkommenschaften von Kreuzungen mit der Stammpflanze 165, die 1933 als „*Pulsatilla slavica* var. *rhodopea*“ vom Botanischen Garten Sofia gekommen war. Diese „*glabra*“-Mutante erwies sich in vieler Hinsicht als sehr interessant: Wegen der fehlenden Behaarung konnten an ihr besonders gut Untersuchungen an Epidermis und Spaltöffnungen angestellt werden (ZIMMERMANN und Mitarbeiter, 1953). Ein physiologisches Problem ist die Auswirkung der Haarlosigkeit auf die Frostresistenz der Pflanzen und besonders der jungen Knospen. Nach Untersuchungen von HUMMEL (1947) stellt die dichte Behaarung des Involukrums bei *Pulsatilla* einen ausgezeichneten Schutz der jungen Knospen gegen Kälte und starke Temperaturschwankungen im Frühjahr dar. Messungen an Winterknospen verschiedener *Pulsatilla*-Arten ergaben bei Frost eine Differenz bis zu $+4,8^{\circ}\text{C}$ bei der schwach behaarten *P. albana* bzw. $+9,1^{\circ}\text{C}$ bei der stark behaarten *P. Halleri* zwischen dem Knospeninnern und der Außenluft. Bei Tauwetter und starker mittäglicher Sonneneinstrahlung im Frühjahr liegen dagegen die Temperaturen im Innern der Knospen niedriger als außerhalb, so daß ein zu frühes Öffnen der Blüte verhindert wird. Interessant ist weiter die variable Ausprägung der Blütenfarbe und bei den Heterozygoten auch der Behaarung sowie deren Abhängigkeit von Außenfaktoren.

Genetische Experimente schließlich ließen einen weiteren Fall von Polygenie mit gleichsinnig wirkenden Faktoren erkennen, der sich von den bisher bekannten bei *Capsella* (SHULL, 1914) und *Lamium* (SIRKS, 1925) jedoch durch ein verschiedenes Verhalten der beiden beteiligten Gene unterscheidet.

Beschreibung der Mutante

Während normale Pflanzen der St 165 eine ziemlich starke Behaarung, besonders des Involukrums, und violett gefärbte Blüten zeigen, sind homozygote „*glabra*“-Pflanzen gänzlich unbehaart oder mit nur mikroskopisch sichtbaren Haarstummeln versehen. Von normalen Pflanzen unterscheiden sie sich bereits als Keimlinge im Primärblattstadium. Sie sind i. allg. in ihrer Vitalität geschwächt und müssen im Frühbeetkasten kultiviert werden. Im zeitigen Frühjahr erscheinende Knospen sind häufig dunkelviolettfärbt, die offene Blüte

* Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft durchgeführt und ergänzen die bisher von ZIMMERMANN veröffentlichten Arbeiten: Genetische Untersuchungen an *Pulsatilla* I—III Flora 1934, IV Flora 1939, V Zeitschrift für Botanik 1953, VI Caryologia 1954, Vol. suppl.

verblaßt dann zu einem glasigen Weiß. Spätere Knospen und Blüten sind meist völlig farblos.

Die außerdem aufgetretenen „fast kahlen“ Pflanzen sind wesentlich schwerer zu erfassen. Da bei ihnen die vegetativen Organe eine normale Behaarung aufweisen, sind sie als Keimlinge und im nichtblühenden Zustand nicht von normalen Pflanzen zu unterscheiden. Lediglich Blütenstiel und Involukrum sind anfangs kürzer und schwächer behaart, während die Blüten meist außen \pm violett gefärbt, innen weiß oder glasig weiß erscheinen. Sowohl Blütenfarbe als auch Behaarung variieren jedoch zuweilen in Richtung normal. So wurden z. B. in der Nr. 58806 im Frühjahr 1960 einige Pflanzen als „fast kahl mit nur außen gefärbten Blüten“ bonitiert, nachdem sie im Herbst 1959 als „behaart mit hellviolett Blüten“ aufgenommen worden waren. Und die fast kahle Pflanze 50 200/20 blühte 1959 eindeutig violett, während 1960 bei allen Blüten dieser Pflanze nur die Außenseite der Blütenblätter gefärbt war. Wie weit Umweltfaktoren diese Variabilität der Behaarung und Blütenfarbe bedingen, konnte bisher noch nicht exakt geprüft werden. Es fiel lediglich auf, daß besonders Herbstblüten die Tendenz zu \pm normaler Ausbildung zeigten. KAPPERT berichtete 1949 von ähnlichen Schwierigkeiten bei den „*semi-incana*“-Pflanzen der Levkoje.

Genetische Analyse¹

Für die Ausbildung der dichten, besonders am Involukrum sehr auffälligen Behaarung bei *Pulsatilla* sind offenbar mehrere Faktoren verantwortlich. Keimlingsspaltungen von ca. 15 behaart: 1 kahl ließen auf zwei Gene mit gleichsinniger Wirkung schließen, die mit *C* und *P* bezeichnet wurden (*Capillata*- bzw. *Pilosa*-Faktor). Tab. 1 gibt eine Übersicht über diese Keimlingsspaltungen.

Die gefundenen Zahlen stimmen recht gut mit den idealen überein. Lediglich die Nachkommenschaft der Pflanze 51 190/60 zeigt eine stärkere Abweichung, der Homogenitätstest ergibt aber trotzdem noch einen

¹ Frau HOYER danke ich für die Überlassung der Versuchsprotokolle aus den Jahren 1953 bis 1956.

Tabelle 1. Spaltungszahlen aus Selbstungen der St 165 und Kreuzungen mit anderen Stammpflanzen des Sortiments.

Vers.-Nr. der F ₁	Anz. d. F ₂ -Familien	Keimlingsspaltg. behaart : kahl	Sa.	Idealzahlen für 15:1	P
St 165	5	412 : 28	440	412,5 : 27,5	
37 008/1	3	81 : 4	85	79,7 : 5,3	
37 008/3	1	48 : 2	50	46,9 : 3,1	
38 019/1	4	370 : 29	399	374,1 : 24,9	
38 019/2	2	147 : 7	154	144,4 : 9,6	
47 003/9	1	56 : 4	60	56,25 : 3,75	
47 003/21	1	43 : 3	46	43,1 : 2,9	
51 190/44	1	31 : 1	32	30 : 2	
51 190/60	2	472 : 50	522	489,4 : 32,6	
51 190/88	1	39 : 4	43	40,3 : 2,7	
54 810/1	1	44 : 1	45	42,2 : 2,8	
Gesamt:	22	1743 : 133	1876	1758,75 : 117,25	0,13

P-Wert von 0,34 bei 10 Freiheitsgraden, so daß die Schwankung noch als zufällig betrachtet werden kann.

Aus der Kreuzung *glabra* × homozygot normal entsteht eine einheitliche, in Behaarung und Blütenfarbe normale F_1 . (Als behaarte Partner wurden wiederum verschiedene Stammpflanzen des Sortiments genommen.) Die F_2 -Ergebnisse dieser Kreuzungen sind aus Tab. 2 ersichtlich:

Tabelle 2. Spaltungszahlen aus Kreuzungen *glabra* × homozygot normal.

Vers.-Nr. der F_1	Anz. d. F_2 -Familien	Keimlingsspaltg. behaart:kahl	Sa.	Idealzahlen für 15:1	P
49255	2	86 : 5	91	85,3 : 5,7	
54922	1	14 : 3	17	15,9 : 1,1	
55846	5	67 : 8	75	70,3 : 4,7	
55848	5	220 : 15	235	220,3 : 14,7	
55850	4	235 : 15	250	234,4 : 15,6	
49257	4	218 : 18	236	221,3 : 14,7	
Gesamt:	21	840 : 64	904	847,5 : 56,5	0,3

Auch hier zeigen die F_2 -Spaltungen nur geringe Differenzen zwischen Erwartung und Befund.

Da *glabra*-Pflanzen geselbstet und miteinander gekreuzt stets reine *glabra*-Nachkommenschaften gaben, müssen sie homozygot sein und den doppelt rezessiven Typ *ccpp* repräsentieren.

Über das Verhalten der fast kahlen Pflanzen geben die Tab. 3 und 4 Auskunft:

Tabelle 3. Selbstungen von fast kahlen Pflanzen.

Mutterpflanze	Anzahl der Nachkommensch.	Keimlingsspaltg. behaart:kahl	Sa.	Idealzahlen für 3:1	P
45 150/5	1	12 : 0	12	9 : 3	
45 150/79	2	18 : 4	22	16,5 : 5,5	
50 200/20	2	41 : 13	54	40,5 : 13,5	
50 302/20	2	108 : 32	140	105 : 35	
50 304/13	1	10 : 2	12	9 : 3	
53 822/48	1	3 : 1	4	3 : 1	
54 982/45	2	18 : 5	23	17,3 : 5,7	
54 982/51	1	1 : 2	3		
54 930/6	1	5 : 3	8	6 : 2	
58 806/2	1	12 : 4	16	12 : 4	
58 806/10	1	21 : 11	32	24 : 8	
56 804/4	1	1 : 1	2		
Gesamt:	16	250 : 78	328	246 : 82	0,8

Tabelle 4. Kreuzungen fast kahl × desgleichen.

Vers.-Nr. der F_1	Keimlingsspaltg. behaart:kahl	Sa.	Idealzahlen für 3:1	P
59910	13 : 2	15	11,25 : 3,75	
60810	51 : 18	69	51,75 : 17,25	
60816	12 : 5	17	12,75 : 4,25	
60822	8 : 2	10	7,5 : 2,5	
60824	31 : 15	46	34,5 : 11,5	
Gesamt:	115 : 42	157	117,75 : 39,25	0,81

Die nur unbedeutend von einem idealen 3:1-Verhältnis abweichenden Spaltungszahlen weisen auf eine Heterozygotie der fast kahlen Pflanzen in einem der beiden Behaarungsfaktoren hin. Es käme ihnen somit die Formel *ccPp* zu, was auch die Zahlen der Tab. 5 bestätigen.

Von den behaarten Keimlingen der Kreuzung *glabra* × fast kahl kamen nur insgesamt 13 zur Blüte, alle erwiesen sich erwartungsgemäß als fast kahl, eine normal behaarte, violett blühende Pflanze wurde nicht ge-

Tabelle 5. F_1 -Spaltungen der Kreuzungen *glabra* × fast kahl.

Vers.-Nr. der F_1	Keimlingsspaltg. behaart:kahl	Sa.	Idealzahlen für 1:1	P
49258	3 : 2	5	2,5 : 2,5	
54894	21 : 28	49	24,5 : 24,5	
55840	8 : 1	9	4,5 : 4,5	
55842	8 : 7	15	7,5 : 7,5	
58806	23 : 11	34	17 : 17	
Gesamt:	63 : 49	112	56 : 56	0,19

funden. (Über die variable Ausprägung der Heterozygoten wurde eingangs schon berichtet.)

Kreuzungen von fast kahlen mit homozygot normalen Pflanzen brachten einheitlich normale F_1 -Pflanzen, von denen sich nur ein Teil als heterozygot erwies, wie Tab. 6 zeigt:

Tabelle 6. Verhalten der F_2 aus Kreuzungen fast kahl × normal.

Vers.-Nr. der F_1	Anz. d. F_2 -Familien	Keimlingsspaltg. behaart:kahl	Sa.	Idealzahlen für 15:1
54892/1	1	18 : 3	21	19,7 : 1,3
/28	2	26 : 2	28	26,25 : 1,75
/13	1	2 : 0	2	
54898/3	2	105 : 0	105	
/6	1	3 : 0	3	
/17	1	99 : 7	106	99,4 : 6,6
/20	2	181 : 0	181	
/31	1	5 : 1	6	

Eine Reihe von normal behaarten, violett blühenden Pflanzen brachte Nachkommenschaften hervor, die im Verhältnis 3 behaart: 1 kahl spalteten (s. Tab. 7).

Die ersten drei Pflanzen entstammen Kreuzungen fast kahl × heterozygot normal, die letzten 3 der Kombination zweier Heterozygoter (*CcPp*). Es wäre also durchaus denkbar, daß es sich hierbei um die bisher noch nicht untersuchten *CcPp*-Typen handelte. Auffallend ist dabei die unterschiedliche Wirkung der beiden Behaarungsfaktoren:

CcPp normal behaart mit violetten Blüten, *ccPp* fast kahl mit nur teilgefärbten Blüten,

d. h. *P* mit Heterozygotenwirkung, *C* mit vollständiger Dominanz. Eine Erklärung ist eventuell darin zu suchen, daß es sich bei unserem Material um tetraploide Pulsatillen handelt. Die Abänderung des einen der ursprünglich homologen Behaarungsgene müßte dann im Laufe der phylogenetischen Entwicklung nach der Polyploidisierung erfolgt sein.

Beziehungen zwischen Behaarungs- und Farbgenen, wie sie z. B. KAPPERT 1949 bei *Matthiola incana* beschrieb, konnten bisher noch nicht festgestellt werden. Kreuzungen von *glabra*- und fast kahlen

Tabelle 7. 3 : 1-Spaltungen in Nachkommenschaften normaler Pflanzen.

Mutterpflanze	Zahl der Selbstg.-Familien	Keimlingsspaltg. behaart:kahl	Sa.	Idealzahlen für 3:1	P
51 204/5	1	16 : 5	21	15,75 : 5,25	
51 208/15	1	12 : 8	20	15 : 5	
51 532/1	4	186 : 51	237	177,75 : 59,25	
54 806/10	1	29 : 6	35	26,25 : 8,75	
54 814/30	1	3 : 1	4	3 : 1	
54 884/61	1	4 : 1	5	3,75 : 1,25	
54 190/1	1	45 : 7	52	39 : 13	
Gesamt:	10	295 : 79	374	280,5 : 93,5	0,08

Pflanzen mit den Farbmutanten *semialbino*, *albino* und *rosa* gaben einheitlich normal behaarte, violett blühende Bastarde. F_2 -Auszahlungen liegen noch nicht vor. (*Pulsatilla* läßt sich als Wildpflanze nur schwer kultivieren und reagiert auf Kulturmaßnahmen und vor allem auf ungünstigen Boden äußerst empfindlich. Hinzu kommen Inzuchtdepressionen, so daß die Pflanzen häufig bereits vor der Blüte eingehen. Daraus erklärt sich auch das Fehlen von Spaltungszahlen blühender Pflanzen in obigen Aufstellungen.)

Zusammenfassung

Mit Hilfe zahlreicher Kreuzungsexperimente wurden bei *Pulsatilla* 2 Behaarungsgene, *C* und *P*, festgestellt. Aus den Spaltungsverhältnissen wurde auf vollständige Dominanz von *C*, unvollständige Dominanz und Pleiotropie von *P* geschlossen. *ccPp*-Typen sind vegetativ normal, zeigen jedoch am Involukrum eine schwächere Behaarung und eine nur teilweise Färbung

der Blüten. Wahrscheinlich umweltbedingt treten Übergänge zu normal auf. Doppelt rezessive *glabra*-Pflanzen sind vollständig kahl mit schwach teilgefärbten bis farblosen Blüten. Beziehungen der Gene *C* und *P* zu anderen *Pulsatilla*-Farbmutanten konnten noch nicht festgestellt werden.

Literatur

1. HUMMEL, K.: Über Temperaturen in Winterknospen bei Frostwitterung. Meteorologische Rundschau 1, 147—150 (1947). — 2. KAPPERT, H.: Die Genetik des *incana*-Charakters und der Anthozyanbildung bei der Levkoje. Der Züchter 19, 289—297 (1949). — 3. KAPPERT, H.: Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. 2. Auflage, Berlin 1953. — 4. SHULL, G. H.: Duplicate genes for capsuleform in *Capsella bursa pastoris*. Zeitschrift für Abstammungs- und Vererbungslehre 12, 97—149 (1914). — 5. SIRKS, M. I.: The genotypic character of some aberrant forms of *Lamium*. Genetica 7, 253—272 (1925). — 6. ZIMMERMANN, W., D. WOERNLE und L. WARTH: Genetische Untersuchungen an *Pulsatilla*. V. Die Entwicklung von Haaren und Spaltöffnungen bei *Pulsatilla*. Zeitschrift für Botanik 41, 227—246 (1953).

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Groß-Lüsewitz
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Chromosomenstudien in der Gattung *Trifolium* und phylogenetische Betrachtungen zum Weißklee (*Trifolium repens* L.)

Von H. TIEMANN und J. SCHREITER

Mit 6 Abbildungen

Den ersten Hinweis über die Chromosomenzahl bei Weißklee mit $n = ca. 12$ gibt MARTIN (1914). BLEIER (1925 a, b) weist die haploide Zahl mit $n = 14$ nach, während ERITH (1924), KARPETSCHENKO (1925), WEXELSEN (1928), KAWAKAMI (1930), SENN (1938), WIFF (1939), ATWOOD und HILL (1940), ARUTINOVA (1940), A. und D. LÖVE (1944), LEVAN (1945), ZWINGLI (1956) und JULÉN (1959) von $n = 16$ bzw. $2n = 32$ berichten. Die Mehrzahl der untersuchten Arten in der Gattung *Trifolium* hat die Chromosomen-Grundzahl 8 und ist diploid (TISCHLER 1950, DARLINGTON und WYLIE 1955). *Trifolium repens* geht demnach auf die Grundzahl 8 zurück und muß mit 32 Chromosomen im Soma als eine tetraploide Form betrachtet werden.

Die für die Züchtungsarbeit wichtige Frage, ob diese 32-chromosomige Form auto- oder allopolyploider Natur ist, wurde von ATWOOD und HILL (1940) und ARUTINOVA (1940) behandelt. Während die ersten beiden Autoren Allopolyploidie annehmen, vermutet letzterer autopolyploide Entstehung.

Im Hinblick auf diese widersprechenden Ergebnisse wurde die Mitose und Meiose von verschiedenen Sorten bzw. Herkünften unter besonderer Berücksichtigung der Chromosomenmorphologie und -zahl untersucht.

Material und Methoden

Untersucht wurden insgesamt 12 Weißkleesorten bzw. -herkünfte:

USA	F. C. 24,667 Common Oregon F. C. 32,582 Oregon Certified Ladino
England	Dutch White Clover Kersey White Clover
Dänemark	Milka
Kanada	Duron

Ungarn	Táplánszentkeresztzi
Japan	Lodi-Weißklee
Deutschland	Gigant Chiemgauer Probsteidaer Mecklenburger

und die Schwedenkleesorte „Mitteldeutscher“.

Von den 12 Weißkleesorten bzw. -herkünften wurden für die Meioseuntersuchungen je 50 übersichtliche Metaphase I-Platten aus den Pollenmutterzellen (PMZ) von 5 verschiedenen Pflanzen ausgewertet. Die erforderlichen Blütenköpfchen sind im Sommer 1959 und 1960 in Carnoy [Alkohol:Eisessig (AE) 3:1] fixiert worden¹. Das Freilegen der sehr kleinen Antheren mußte unter dem Zeiss'schen Stereomikroskop „SM XX“ vorgenommen werden. Eine gute Farbintensität der Chromosomen ist mit 4%iger Karminessigsäure (KES) zu erreichen, wenn die Antheren vor dem eigentlichen Anfärben eine Stunde mit 4%igem Ferriammoniumsulfat behandelt werden (BROWN 1949).

Für die Mitoseuntersuchungen wurden 1958 von den 12 Weißkleesorten bzw. -herkünften und den aus diesem Ausgangsmaterial durch Genomverdoppelung hervorgegangenen Formen (C_1) je 100 günstige Metaphaseplatten in Wurzelspitzen ausgewertet. Mit der gleichen Anzahl auswertbarer Platten untersuchten wir von den Sorten bzw. Herkünften neben der C_1 1959 die C_2 und 1960 die C_3 sowie 31 Samen, die 1960 aus Kreuzungen zwischen 32- und 64-chromosomigem Weißklee der ungarischen Herkunft „Táplánszentkeresztzi“ hervorgingen. Weitere mitotische Unter-

¹ Fräulein LIESELOTTE MAASS sei an dieser Stelle herzlich für ihre gewissenhafte Mitarbeit gedankt.