

Aus der Abteilung Forstliche Pflanzenphysiologie des Instituts für Forstwissenschaften Tharandt
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Papierchromatographische Differenzierung einiger Arten und Sorten der Gattung *Populus*

Von SIEGFRIED BÖRTITZ

Mit 5 Abbildungen

Einleitung

Zur Identifizierung der zahlreichen Pappelarten, -hybriden und -sorten werden im wesentlichen morphologische und phänologische Merkmale herangezogen, wie die Form der Blätter, die Ausbildung von Rinde bzw. Borke oder die Zeit des Blattaustriebs (z. B. JOACHIM 1954, 1957). Diese äußeren Kennzeichen reichen jedoch oft nicht aus, da bei formenreichen Gattungen wie *Populus* die zur Bestimmung nötigen Unterschiede zu gering sein können und die Schwierigkeit der Sortenidentifizierung durch unterschiedliche Wachstumsbedingungen noch vergrößert wird. Außerdem ist die Beobachtung einiger dieser Merkmale (z. B. Blattaustrieb) nur innerhalb kurzer Zeiträume möglich.

Es war deshalb erwünscht, als Ergänzung speziellere Untersuchungsverfahren mit heranzuziehen. So versuchte schon POLSTER (1957) durch Aufstellung einer Transpirationsrangordnung bei einer größeren Anzahl von Pappelklonen zur Lösung dieses Problems beizutragen.

Neben der Verschiedenheit in den äußeren Merkmalen finden sich zwischen einzelnen Pflanzenarten aber auch qualitative und quantitative Unterschiede der Inhaltsstoffe, die ebenfalls zur Lösung taxonomischer Fragen herangezogen werden können. Die Trennung eines solchen Stoffgemisches erfolgt papierchromatographisch. Hierbei werden nicht nur einzelne Stoffe, sondern größere Gruppen erfaßt. Dadurch erhält man relativ viele Varianten zur Differenzierung.

Als zur Erkennung geeignete Inhaltsstoffe kommen neben den ninhydrinpositiven Substanzen fast ausschließlich solche in Frage, die nach der papierchromatographischen Trennung direkt oder nach Einwirkung verschiedener Reagenzien bei Bestrahlung mit filtriertem ultraviolettem Licht fluoreszieren. Diese Stoffe sind sehr zahlreich, in ihrem chemischen Aufbau aber zum Teil recht unterschiedlich. Hierzu gehören Flavonoide (Glykoside und Aglykone), Phenol- und Indolderivate, Cumarine, Pteridine, Ommochrome und andere. Wie bereits SCOTT-MONCRIEFF (1939) zeigte, ist die Bildung von Anthocyanten und Flavonoiden genabhängig. Darauf gründet sich die Eignung dieser Stoffgruppen zu genetischen und taxonomischen Studien.

Meist wird das zu untersuchende Gewebe nach äußerer Reinigung direkt am Startpunkt des Chromatogramms zerquetscht. Nach der Trennung des Substanzgemisches (z. B. Blattpresssaft) mit einem geeigneten Fließmittel erhält man beim Betrachten des fertigen Chromatogramms unter der Analysenquarzlampe eine Folge verschiedenfarbiger, mehr oder weniger stark leuchtender Zonen. Zur Beurteilung werden meist nur Lage, Größe und Farbe dieser

Zonen herangezogen, ohne die einzelnen Substanzen selbst zu identifizieren. Die systematische Ordnung derartiger „Spektren“ oder „Fluoreszenzmuster“ (KÜHN u. EGELHAAF 1955) durch Erkennen typischer zusätzlicher oder fehlender Substanzen („taxonomic tracer substances“, LINDSTEDT 1951) erlaubt eine Einteilung in mehrere Gruppen. Ob diese zur Trennung der einzelnen Arten und Formen¹ oder Sorten ausreichen, dürfte bei verschiedenen Gattungen unterschiedlich sein. Je näher die taxonomische Stellung zweier Arten ist, desto größere Ähnlichkeit weisen deren Chromatogramme auf (BUZZATI-TRAVERSO und RECHNITZER 1953). Unter Umständen kann ein einziger charakteristischer Fleck auf dem Chromatogramm genügen, um eine gewünschte Art zu erkennen (SELL 1954).

Mit der papierchromatographischen Identifizierung von Arten einiger Pflanzen- und Tiergattungen haben sich bisher bereits mehrere Autoren befaßt. LINDSTEDT (1950, 1951) untersuchte die Inhaltsstoffe von Kernholzextrakten der Gattung *Pinus*, BUZZATI-TRAVERSO (1953a) Wurzelspitzen von Tomaten sowie (1953b) Blätter, Wurzeln und Antheren von *Solanum lycopersicum* und *Cucumis melo*, SELL (1954) identifizierte Citrusarten durch papierchromatographische Trennung des Rindenpresssaftes, TEAS (1959) benutzte Extrakte aus Mangoblättern zur Identifizierung verschiedener Arten, SCHWARZE (1959) untersuchte *Phaseolus*-Artbastarde und RILEY u. BRYANT (1961) differenzierten einige Iridaceenarten durch Trennung der Pressäfte von Keimlingswurzeln. Die Gattung *Populus* ist bisher noch nicht bearbeitet worden.

Auch auf zoologischem Gebiet fanden diese Methoden bereits mehrfach zu taxonomischen und genetischen Studien Anwendung. Hier liegen Untersuchungen vor über Fische (BUZZATI-TRAVERSO und RECHNITZER 1953), *Drosophila* (HADORN und MITCHELL 1951, BUZZATI-TRAVERSO 1953a, 1953b, GOLDSCHMIDT 1954), *Ephestia* (HADORN u. KÜHN 1953, KÜHN u. EGELHAAF 1955, HADORN u. EGELHAAF 1956 sowie KÜHN 1956), Schnecken (KIRK und Mitarbeiter 1954) und *Culex* (MICKS 1954). Das Material kann je nach der Methodik bzw. der untersuchten Gattung verschiedenen Organen entnommen werden: man verwendet Muskeln, Leber, Abdomen und Augen, von kleinen Tieren Köpfe oder ganze Exemplare. Dabei erhält man „spezifische Stoffmuster“ für die betreffenden Organe (HADORN und EGELHAAF 1956). Es gelang schon mehrfach, Genotypen zu trennen, die sich phänotypisch wenig oder nicht unterscheiden lassen (BUZZATI-TRAVERSO 1953a, 1953b).

Ernährungs- und Altersunterschiede sollen sich nach BUZZATI-TRAVERSO und RECHNITZER (1953) und

¹ Form z. B. *P. berolinensis*, Sorte = Klon

anderen Autoren nicht auswirken. Es wird stets die Konstanz der Ergebnisse für die untersuchten Arten betont. Die papierchromatographische Trennung fluoreszierender Pflanzeninhaltsstoffe findet hauptsächlich bei diesen taxonomischen und genetischen Arbeiten Anwendung, daneben aber auch zur Erkennung anderer Unterschiede (JOHANSON 1953).

Besondere Aufgaben liegen bei der Gattung *Populus* vor. Im Laufe der Zeit sind, besonders in der Section *Aigeiros*, zahlreiche Kreuzungen entstanden, die sich zum Teil morphologisch recht ähnlich sind. Viele von diesen Hybriden haben als Gebrauchssorten praktische Bedeutung erlangt und werden zum Anbau empfohlen. Synonyme brachten in die ohnehin schon hohe Sortenzahl weitere Verwirrung; hinzu kamen Sorten mit unbekannter oder offensichtlich falscher Bezeichnung. Eine gewisse Klärung ergab sich erst aus einer Sortenbereinigung, aus der die so genannten „Altstammsorten“ hervorgegangen sind (MÜLLER 1957a, 1957b). Dessen ungeachtet wird immer wieder die Notwendigkeit genauer Unterscheidungsmöglichkeiten der Arten und Sorten betont, vor allem, weil die morphologische und phänologische Bestimmung vielfach nicht oder nicht allein ausreichend ist. Auch bei einer beträchtlichen Anzahl der über 700 Pappelklone des Institutes für Forstwissenschaften Tharandt der DAL besteht noch keine restlose Klarheit über die Sortenzugehörigkeit.¹

Wir haben deshalb versucht, die fluoreszierenden Substanzen aus den Blättern der Gattung *Populus* papierchromatographisch zu trennen. Es sollte grundlegend festgestellt werden, ob zwischen den Arten und Sorten Unterschiede auftreten und ob sich diese eventuell zu einer biochemischen Taxonomie verwenden lassen.

Material

Es war uns leider nicht im gewünschten Maße möglich, eindeutig identifizierte Exemplare der wichtigsten Arten und Sorten der Sectionen *Aigeiros*, *Tacamahaca* und *Leuce* als Testmaterial zu beschaffen. Aus diesem Grund wurde aus der großen Sortenzahl nur eine begrenzte Auswahl bearbeitet.

Die Untersuchungen befaßten sich zunächst nur mit den Blättern ein- bis zehnjähriger Pappeln, deren Pressäfte papierchromatographisch getrennt wurden. Das

Tabelle 1. Vereinfachtes Schema wichtiger Arten und Formen der drei Hauptsectionen der Gattung *Populus*.

Section <i>Leuce</i>	Section <i>Aigeiros</i>	Section <i>Tacamahaca</i>
<i>P. tremula</i>	<i>P. nigra typica</i>	<i>P. trichocarpa</i>
<i>P. tremuloides</i>	var. <i>itavica</i>	<i>P. tacamahaca</i>
<i>P. grandidentata</i>	var. <i>betulifolia</i>	<i>P. candicans</i>
<i>P. alba</i>	var. <i>plantierensis</i>	<i>P. Simonii</i>
var. <i>bolleana</i>		<i>P. laurifolia</i>
<i>P. × canescens</i>		<i>P. koreana</i>
Aspenkreuzungen		
	<i>P. deltoides</i>	<i>P. × berolinensis</i>
	var. <i>missouriensis</i>	<i>P. × generosa</i>
	var. <i>monilifera</i>	
	var. <i>angulata</i>	
Schwarzpappelhybriden		
	<i>P. euramericana</i>	
	cv. „serotina“	
	cv. „brabantica“	
	cv. „marilandica“	
	cv. „regenerata“	<i>Deutschland</i>
	cv. „gelrica“	
	cv. „robusta“	
	u. a.	

Baummaterial stammte ausschließlich von Versuchsfeldern und Sortenregistern unseres Institutes. In Tabelle 2 ist die Beschaffenheit der Standorte zusammengestellt.

Tabelle 3 und 4 enthalten die untersuchten Pappel- und Aspenklone bzw. Einzelpflanzen aus Kreuzungsnachkommenchaften der Section *Leuce*. Soweit möglich, wurden Proben des gleichen Klons von mehreren Standorten entnommen. Die Untersuchungen fanden während der Monate Mai bis Juli 1961 statt. Die Probenahme erfolgte zu verschiedener Tageszeit und bei unterschiedlichem Wetter. Die Entnahme bei verschiedenen Klimabedingungen äußerte sich lediglich in der Ausbeute an Presssaft.

Methodik

1. Gewinnung des Presssaftes

Von den untersten Zweigen der Bäume entnahmen wir für jede Probe etwa 10 ausgewachsene Blätter (ca. 3 g frische Blattmasse) aus der Zweigmitte. Blätter des diesjährigen Zuwachses blieben unberücksichtigt, da ihre Fluoreszenzchromatogramme etwas abweichen. Die Proben wurden, soweit mög-

Tabelle 2. Verzeichnis der Standorte.

Ort	Bodenart	angelegt	Bezeichnung
Institutsgelände	anlehmiger pleistozäner ¹ Sand, relativ trocken	1954 1959	I I ₂
Sortenregister Graupa	schwach lehmiger pleistozäner Sand, wenig feuchter als I	1954 1956	G ₁ G ₂
Sortenregister Dresden- Loschwitz	guter grundwasserführender holozäner ² Auelehm- boden am Elbufer	1958 1960	L ₁ L ₂
Kippengelände Laubusch Krs. Hoyerswerda	Kippe des Braunkohletagebaues, trockener pleistozäner Sand	1954	K

¹ frühere Bezeichnung: diluvial

² frühere Bezeichnung: alluvial

¹ Die Unklarheit in den Sortenbezeichnungen hat sogar dazu geführt, daß POLSTER (1957) bei den Schwarzpappeln „Ökotypen“ zu finden glaubte. Nachträglich stellten sich falsche Sortenbezeichnungen heraus, die zu diesem Fehlschluß geführt hatten.

Tabelle 3. Verzeichnis der untersuchten Pappelsorten aus den Sectionen *Aigeiros* und *Tacamahaca*.

Klon-Nr.	Sortenbezeichnung und Herkunft	Standorte
4	<i>P. robusta</i> Liebenwerda	L ₁
6	<i>P. candicans</i> Reitzenhain	G ₂ , L ₂
7	<i>P. robusta</i> Diedersdorf	G ₂
12	<i>P. trichocarpa</i> Sauen	L ₂
36	<i>P. trichocarpa</i> var. <i>hastada</i> Idaho	L ₂
38	<i>P. trichocarpa</i> var. <i>hastada</i> Idaho	L ₂
50	<i>P. Simonii</i> Carr. Peking ♀	L ₂
51	<i>P. Simonii</i> Carr. Peking ♂	L ₂
52	<i>P. trichocarpa</i> England	L ₂
60	<i>P. deltoides</i> ? <i>P. robusta</i> ? Durlach	I
85	<i>P. trichocarpa</i> Kauppa	L ₁
91	<i>P. trichocarpa</i> Moritzburg	L ₂
98	<i>P. nigra</i> ? <i>P. nigra</i> var. <i>italica</i> ? Thallwitz	G ₂
174	<i>P. brabantica</i> ? Klotzsche	L ₁
176	<i>P. deltoides</i> ? <i>P. brabantica</i> ? Klotzsche	I, L ₁
177	<i>P. trichocarpa</i> Markersbach	I, G ₂
246	<i>P. Forndorf</i> ? <i>P. Leipzig</i> ? Sahlis	L ₁
252	<i>P. × berolinensis</i> Tolkewitz	I, K
253	<i>P. nigra</i> ? <i>P. serotina</i> ? Tolkewitz	I, L ₁ , K
255	<i>P. tacamahaca</i> ? Tolkewitz	I
256	<i>P. × berolinensis</i> Tolkewitz	K
268	<i>P. nigra</i> II Schmalenbeck	K
269	<i>P. deltoides</i> var. <i>monilifera</i> ? Schmalenbeck	L ₁ , K
271	<i>P. marilandica</i> ? Schmalenbeck	I
272	<i>P. serotina</i> Apfelstädt? <i>P. gelrica</i> ? <i>P. brabantica</i> ? Schmalenbeck	I, L ₁ , K
273	<i>P. deltoides</i> var. <i>angulata</i> ? Schmalenbeck	I
275	<i>P. regenerata</i> Deutschland? Schmalenbeck	I
285	<i>P. Fremontii</i> ? <i>P. marilandica</i> ?	K
317	<i>P. regenerata</i> Irresheim	I
318	<i>P. marilandica</i> Irresheim	I
319	<i>P. serotina</i> Irresheim	I
325	<i>P. tacamahaca</i> Arnstorf	I
346	<i>P. nigra</i> Sämling Mödling	I, G ₂
358	<i>P. deltoides</i> var. <i>angulata</i> ?	G ₂
374	<i>P. nigra</i> var. <i>betulifolia</i> Schmalenbeck	G ₂
380	<i>P. nigra</i> Sämling Mödling	L ₁
392	<i>P. deltoides</i> var. <i>angulata</i> ? <i>P. — × trichocarpa</i> ? Schmalenbeck	I
412	<i>P. Simonii</i> Carr. Schmalenbeck	G ₁
414	<i>P. deltoides</i> var. <i>missouriensis</i> Holl.	G ₁
451	<i>P. gelrica</i> ? Rellingen	L ₁
461	<i>P. × berolinensis</i> Walternienburg	L ₁
486	<i>P. serotina</i> Apfelstädt? <i>P. brabantica</i> ? Reinbeck	L ₁
494	<i>P. serotina</i> ? Reinbeck	L ₁
501	<i>P. gelrica</i> ? Reinbeck	L ₁
547	<i>P. × berolinensis</i> Gehlberg	L ₁
—	<i>P. × berolinensis</i> , ohne Herkunftsbezeichnung	I, K
—	<i>P. trichocarpa</i> , ohne Herkunftsbezeichnung	I, K

Außerdem ein zweijähriges Sortenregister (I₂) mit folgenden 16 Altstammsorten nach MÜLLER:

<i>P. brabantica</i>	<i>P. Flachslanden</i>
<i>P. serotina</i>	<i>P. Eucalyptus</i>
<i>P. grandis</i>	<i>P. Leipzig</i>
<i>P. Eckhof</i>	<i>P. regenerata</i> Deutschland
<i>P. Forndorf</i>	<i>P. missouriensis</i> Holland
<i>P. gelrica</i>	<i>P. robusta</i>
<i>P. Löns</i>	<i>P. Drömling</i>
<i>P. marilandica</i>	<i>P. Neupotz</i>

(? = Sortenbezeichnung noch nicht eindeutig. Bei mehreren angeführten Namen ist der letzte der wahrscheinlichste)

lich, noch am gleichen Tage verarbeitet, in Ausnahmefällen bis zum folgenden Tag im Kühlschrank aufbewahrt. Aus den entstielten Blättern erhielten wir nach Abpressen in einer kleinen Pflanzenpresse und 2minütigem Zentrifugieren (n = 1000) einen klaren, hellen Preßsaft. Dunkelgrüne oder -braune Zentrifugate sind nicht brauchbar. Ließ sich der Preßsaft durch Zentrifugieren nicht klären, so genügte meist der Zusatz eines Tropfens 5%iger Essigsäure, um nach nochmaligem Zentrifugieren einen klaren Überstand zu erhalten.

2. Papierchromatographie

Die Trennung des Stoffgemisches der Preßsätze erfolgte stets papierchromatographisch. Hierfür erwiesen sich die Keilstreifen nach MATTHIAS (1954a, 1954b) als am geeignetsten. Streifen von 23—28 cm Länge wurden in Serien zu je 15 Stück über Nacht (ca. 18 Stunden) aufsteigend laufen gelassen.

Der Vorteil der Keilstreifen liegt vor allem in der scharfen Trennung der einzelnen Zonen. Je schmäler sie sind, desto größer ist ihre Fluoreszenzintensität; das gilt insbesondere für Zonen mit Fluoreszenzlösung. Auch bei Verwendung des unten als Flm. 3 bezeichneten Fließmittels (n-Propanol/Ammoniak 1% 2:1) ist eine so scharfe Trennung erforderlich.

Für orientierende Untersuchungen kamen auch aufsteigende Chromatogramme aus Papierbögen ohne keilförmigen Zuschnitt zur Verwendung. Diese Bögen sind 17 cm breit und 23 cm lang. 2 cm vom unteren Rand befindet sich die Startlinie, auf der nebeneinander 5 verschiedene Proben strichförmig (!) aufgetragen werden. Die Laufzeit beträgt hier etwa 5 Stunden. Absteigende Chromatogramme wurden nur zur Bestimmung der R_F-Werte angefertigt. Trotz der großen Laufstrecke (Streifenlänge bis 58 cm) war die Trennung einiger Substanzen nicht so scharf und infolge der stärkeren Ausbreitung die Intensität der Flecken nicht so groß wie bei den Keilstreifen. Ringchromatogramme (KIRK u. Mitarbeiter 1954 sowie KÜHN 1956) verwendeten wir nicht, da die Keilstreifen nach MATTHIAS eine Weiterentwicklung darstellen.

Trotz des etwas größeren Aufwandes ist auch die Anfertigung zweidimensionaler Chromatogramme vorteilhaft. Durch die Verwendung zweier verschiedener Fließmittel wird eine bessere Auf trennung einiger Substanzen erreicht, das „Fluoreszenzmuster“ zeigt weitere Feinheiten (HADORN u. KÜHN 1953, SCHWARZE 1959). Unsere zweidimensionalen Chromatogramme haben die Größe 17 × 17 cm, der Durchmesser des Startflecks darf dabei höchstens 1 cm sein.

Als Chromatographiepapier benutzten wir ausschließlich die Sorte 2043 b Mgl der Firma Schleicher & Schüll. Mit einer geeichten Mikropipette wurden auf jedes Chromatogramm 30 µl des klaren Zentrifugates aufgetragen. Den Startfleck lässt man bei Zimmertemperatur eintrocknen. Die so vorbereiteten Streifen können einige Zeit aufbewahrt werden (KIRK u. Mitarbeiter 1954). Dadurch lassen sich größere Serien zusammenstellen oder bestimmte Proben für spätere Serien als Testmaterial aufbewahren.

Tabelle 4. Verzeichnis der untersuchten Arten und Hybriden der Section *Leuce*.

Klon-Nr.	Sortenbezeichnung und Herkunft
95	<i>P. tremula</i> Biehla 11
257	<i>P. tremula</i> × <i>alba</i> var. <i>bolleana</i>
501	<i>P. alba</i> Sauen 3
504	<i>P. alba</i> Sauen 6
512	<i>P. alba</i> var. <i>bolleana</i> Goetheallee
522	<i>P. alba</i> Münster
523	<i>P. alba</i> Ruhland
621	<i>P. × canescens</i> Ingolstadt
3084	<i>P. alba</i> Ungarn × <i>alba</i> Sauen 5
3085	<i>P. tremula</i> Resele × <i>alba</i> Ungarn
3086	<i>P. alba</i> Ungarn × <i>tremula</i> Graupa 18
3088	<i>P. tremula</i> Dorpat 2 c × <i>tremula</i> Königstein

Als geeignetstes Fließmittel erwies sich das auch von SELLE (1954) sowie RILEY u. BRYANT (1961) vorgeschlagene Partridge-Gemisch (n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5, obere Phase). Wegen der leichten Entmischbarkeit durch Temperaturschwankungen wurde in einer temperaturkonstanten Kammer bei $20^\circ \pm 1^\circ \text{C}$ gearbeitet. Von weiteren Fließmitteln untersuchten wir die Systeme n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1, n-Propanol/Ammoniak 1% 2:1, n-Propanol/Wasser 7:3, n-Propanol/Wasser 4:1, n-Butanol/Äthanol/Wasser 4:1:5 sowie 4:1:1, bei zweidimensionalen Chromatogrammen auch 5%ige Essigsäure. Von diesen zeigt das erstgenannte zwar auch eine ausreichende Trennung, aber die Auswertung der Chromatogramme erwies sich mit dem Partridge-Gemisch als leichter. Einige Fließmittel lassen nur wenig signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Arten erkennen, bei anderen wiederum ist die Differenzierung lediglich innerhalb einer Section erschwert. Eine ähnliche Feststellung machte bereits SELLE (1954) bei der Erprobung von 26 verschiedenen Fließmitteln zur Unterscheidung von Citrusarten.

Die drei von uns hauptsächlich benutzten Fließmittel (je ein saures, neutrales und basisches System) werden bei der Besprechung der Ergebnisse wie folgt abgekürzt:

Flm. 1 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5, obere Phase

Flm. 2 = n-Propanol/Wasser 4:1

Flm. 3 = n-Propanol/Ammoniak 1% 2:1

3. Identifizierung

Nach dem Laufen wurden die Chromatogramme wenigstens 3 Stunden bei Zimmertemperatur getrocknet. Zur Verstärkung der Fluoreszenz erhitzen wir dann die Streifen weitere 3 Stunden bei 105°C im Trockenschrank. Danach erfolgte die Beurteilung im UV-Licht einer Analysenquarzlampe „Elmed Lumina U“ mit der Filterkombination UG 4 + BG 19.

Einige von der Technik der Papierchromatographie her bekannte Effekte ergeben geringe Abweichungen der Rf-Werte, die durch die verschiedene Konsistenz der Preßsäfte u. U. noch vergrößert werden können: die Rf-Werte sind etwas von der Methodik und von der Papiersorte abhängig und werden auch von Begleitstoffen beeinflusst. Die Bedeutung der Rf-Werte darf also, vor allem bei nicht besonders aufbereiteten Preßsäften, nicht überschätzt werden. Es empfiehlt sich deshalb, stets mehrere Streifen mit demselben Material zu chromatographieren (RILEY u. BRYANT 1961). Das ist besonders beim Neuansetzen des Fließmittels zu beachten (Veresterung des

Partridge-Gemischs im Laufe der Zeit!). In diesen Fällen ist es ratsam, Parallelstreifen mit bekanntem Vergleichsmaterial mitlaufen zu lassen. Ein Vergleich wird auch dann erschwert, wenn bei einzelnen Streifen oder einer ganzen Serie die Front zurückgeblieben bzw. rascher angestiegen ist.

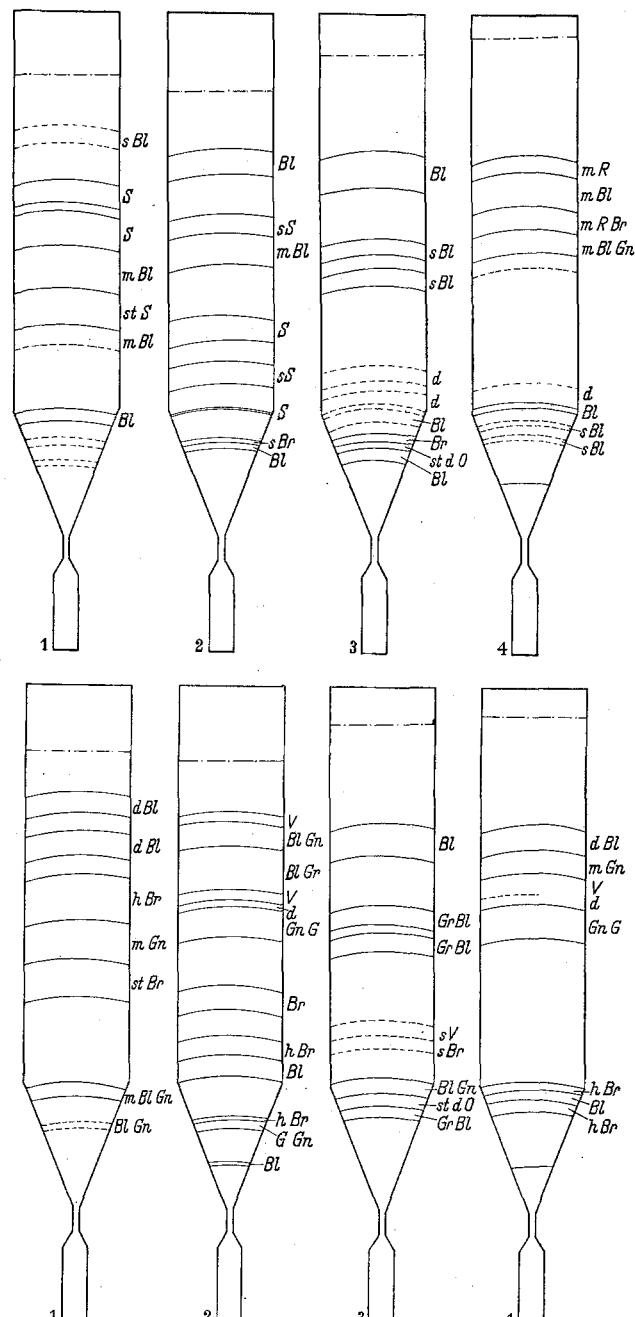


Abb. 1. Schematische Darstellung der Fluoreszenz-Farbzonen einiger Chromatogramme. Flm. 1 (n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5). Obere Reihe: ohne Nachbehandlung; untere Reihe: nach Einwirkung von NH_3 -Dämpfen. — 1 268 *P. nigra*; 2 253 *P. serotina*; 3 177 *P. trichocarpa*; 4 95 *P. tremula*. — Bezeichnung der Farben: Bl. blau; Br. braun; G gelb; Gn grün; Gr grau; O orange; R rot; S schwarz (Absorption); V violett; d dunkel; h hell; m matt; s schwach; st stark.

Die Fluoreszenz lässt sich noch weiter verstärken, wenn man die Chromatogramme nachträglich mit 1%iger wässriger Na_2CO_3 -Lösung besprüht und bei Zimmertemperatur oder 10 min bei 105°C trocknet. Einige der vorhandenen Farbzonen treten dann stärker hervor oder zeigen sogar einen Farbumschlag. Außerdem werden noch neue farbige Zonen sichtbar. Es entstehen intensiv leuchtende Farbzonen, deren Zahl wesentlich größer als bei der einfachen Erhitzung ist. In dieser Form sind die Chromatogramme

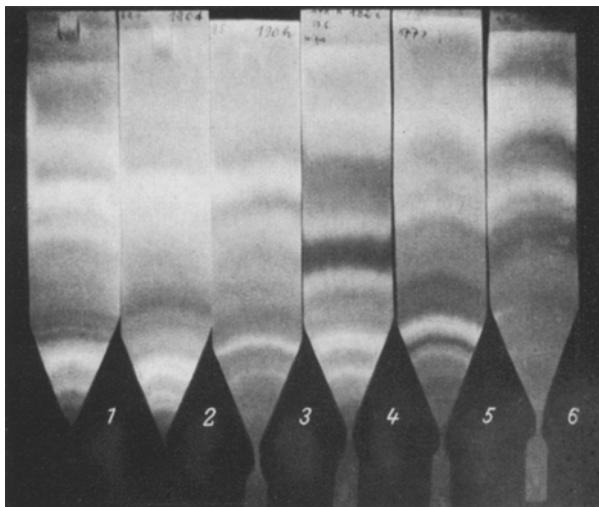


Abb. 2. 1 501 *P. alba* Sauen 3; 2 621 *P. x canescens* Ingolstadt; 3 95 *P. tremula* Biehla 11; 4 268 *P. nigra* II Schmalenbeck; 5 177 *P. trichocarpa* Markersbach; 6 255 *P. tacamahaca?* Tolkewitz. — Flm. 1 (n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5).

gleichfalls längere Zeit haltbar. In sehr einfacher Weise kann die Fluoreszenz auch durch Einwirken von NH_3 -Dämpfen verstärkt werden. Man erhält damit ähnliche Farben wie beim Besprühen mit Na_2CO_3 -Lösung. Dieser Vorgang ist jedoch reversibel: in NH_3 -freier Atmosphäre erscheinen sofort wieder die einfachen dunklen Fluoreszenzfarben.

Auch AlCl_3 und andere Metallsalze (GAGE, DOUGLAS u. WENDER 1951, CASTEEL u. WENDER 1953) ergeben, in 1%iger alkoholischer Lösung als Sprühmittel verwendet, intensive Fluoreszenzfarben. Sie fallen anders aus als durch Alkalisieren und können ebenfalls zur Differenzierung herangezogen werden.

Wir führten die Beurteilung der Chromatogramme stets erst mit den nur erhitzen Streifen durch. In Zweifelsfällen wurden die durch Alkalisieren erhaltenen intensiveren Spektren herangezogen oder aber die Trennung in einem anderen Fließmittel vorgenommen. Bei der Besprechung der Ergebnisse ist bei der Angabe des Fließmittels die Alkalisierung durch den Zusatz $+\text{NH}_3$ bzw. $+\text{Na}_2\text{CO}_3$ vermerkt.

Fotografische Aufnahmen der Fluoreszenzchromatogramme führten wir im verdunkelten Raum unter der Analysenquarzlampe aus. Als Filme wurden Agfa Isopan F 17/10° DIN, Agfacolor NT 17/10° DIN und Agfacolor UT 16/10° DIN verwendet. Als UV-Sperrfilter benutzten wir eine 1 mm starke Filterglasplatte GG 8 vom VEB Glaswerke Schott, Jena.

Ergebnisse

1. Allgemeines

Unter der Analysenquarzlampe zeigen sich bei den untersuchten Arten und Sorten der Gattung *Populus* einige zum Teil breite leuchtend blaue Zonen.¹ Außerdem können auch mehrere schwarze, durch Fluores-

¹ Es ist oft schwierig, die bei der Fluoreszenz auftretenden Farbtöne eindeutig zu benennen. Weder die tabellarische Darstellung noch die fotografische Abbildung vermag die farbigen Zonen richtig wiederzugeben, da in der Tabelle die abgestuften Intensitäten und die Übergänge zwischen den Zonen nicht dargestellt werden können, während bei der Reproduktion die Farben nicht erkennbar sind. Ein Fluorometer (KÜHN 1955) stand uns leider nicht zur Verfügung, so daß eine kurven- oder säulenförmige Darstellung (HADORN u. KÜHN 1953, KÜHN 1956) nicht erfolgen konnte.

zenzlösung verursachte Zonen sichtbar sein, da selbst gutes Chromatographiepapier noch eine geringe Eigenfluoreszenz besitzt. Im Keil treten schmale gelbe, grüne und mattfarbene Streifen auf. Eine etwa in der Mitte des Chromatogramms liegende breite gelbe Zone ist nur unmittelbar nach dem Erhitzen sichtbar und kann bereits nach einigen Minuten wieder verblassen. Sie scheint bei der Differenzierung der Pappelsorten keine Bedeutung zu haben und wirkt eher störend, weil sie andere Zonen verdeckt. Die übrigen Zonen sind längere Zeit beständig, so daß die Chromatogramme für Vergleichszwecke aufbewahrt werden können.

Zunächst wurde die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch Entnahme von Blättern an verschiedenen Stellen eines Baumes untersucht. Wir chromatographierten Blattpreßsätze des Klons 275 I. (*P. regenerata* Deutschland) mit Flm. 1 und solche des Klons 325 I. (*P. tacamahaca*) mit dem Fließmittel n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1. In beiden Fällen zeigten sich bei den jüngsten Blättern von den Zweigspitzen und aus der Krone geringe Unterschiede in der Intensität der in der Mitte und im oberen Teil des Chromatogramms liegenden farbigen Zonen im Vergleich zu den normalen Blättern. Die Zonen im Keil (etwa dem R_F -Wert-Bereich 0—0,17 entsprechend) ergaben stärkere Abweichungen und wurden, von einigen wenigen Ausnahmen (wie z. B. bei *P. trichocarpa*) abgesehen, nicht zur Bestimmung herangezogen.

Die Einflüsse von Alter und Bodenart prüften wir mehrfach, konnten jedoch keine Unterschiede feststellen. So erwiesen sich z. B. die Chromatogramme von Klon 50 L₂ (einjährig) und 412 G₁ (siebenjährig) als identisch, ebenso eine Reihe anderer Proben.

Einige Arten der Gattung *Populus* heben sich durch spezifische Zonen besonders hervor, während bei manchen Schwarzpappelhybriden die Differenzierung wegen der geringen Unterschiede der Chromatogramme recht schwierig sein kann.

Folgende Pappelarten lassen sich z. B. ohne Mühe erkennen (vgl. auch Abb. 1 u. 2):

- P. nigra*: In der Mitte des Chromatogramms eine breite intensiv schwarze Zone (Flm. 1).
P. trichocarpa: Etwa in der Mitte des Keiles eine schmale goldorange Zone, unmittelbar darüber (und zum Teil überdeckend) eine schmale braune Zone (Flm. 1).
P. tremula: Im oberen Drittel des Chromatogramms vier farbige Zonen in der Reihenfolge (von oben nach unten) rot — blau — rotbraun — blaugrün in mattem Farben (Flm. 1).

In den Tabellen 5 und 6 sind die Fluoreszenz-Farbzonen der mit Flm. 1 und 2 hergestellten Chromatogramme der von uns untersuchten Pappelarten schematisch dargestellt (vgl. auch Abb. 2).

Soweit möglich, erfolgte die Zusammenstellung unter Zugrundelegung jeweils mehrerer Chromatogramme der einzelnen Sorten.

2. Spezielle Untersuchungen

a) Section *Aigeiros*

P. nigra

P. nigra typica fällt durch eine kräftige breite schwarze Zone in der Mitte des Chromatogramms deutlich auf (Flm. 1). Darüber befinden sich noch zwei breite, jedoch schwächeren schwarzen Zonen, während bei den Schwarzpappelhybriden auch noch ein

Tabelle 5 und 6. Graphische Darstellung der Fluoreszenz-Farbzonen verschiedener Pappelarten. — Tabelle 5: Flm. 1; Tabelle 6: Flm. 2. — Die Zonen im R_F -Wert-Bereich 0 bis etwa 0,15 sind im allgemeinen weggelassen, auch bei den Tabellen 7 und 8. Die Bezeichnungen der Farben entsprechen denen der Abbildung 1. Die Ermittlung der R_F -Werte erfolgte durch absteigende Chromatogramme. Die Zusammenstellung der Farbzonen wurde nach der Trennung auf Keilstreifen und aufsteigenden Chromatogrammbögen vorgenommen. — Section Aigeiros: 1 268 *P. nigra*; 2 358 *P. deltoides* var. *angulata*; 3 269 *P. deltoides* var. *monilifera*; 4 253 *P. serotina*; 5 252 *P. × berolinensis*; — Section Tacamahaca: 6 177 *P. trichocarpa*; 7 255 *P. tacamahaca*; 8 6 *P. candicans*; 9 412 *P. Simonii*; — Section Leuce: 10 95 *P. tremula*; 11 501 *P. alba*.

Tabelle 5.

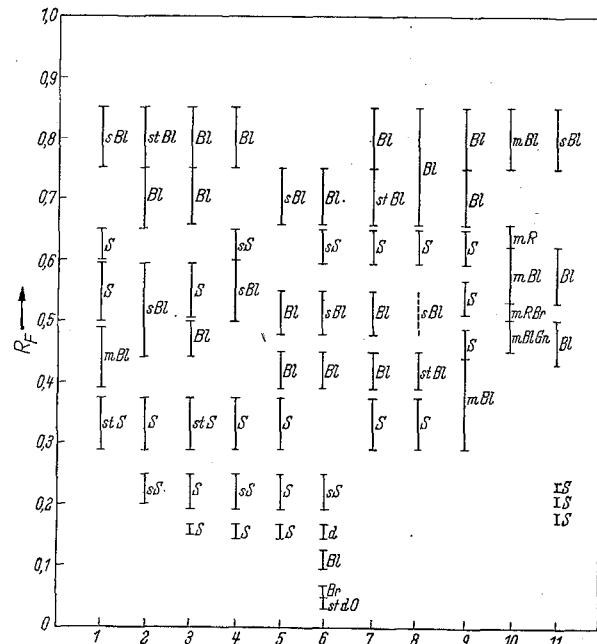
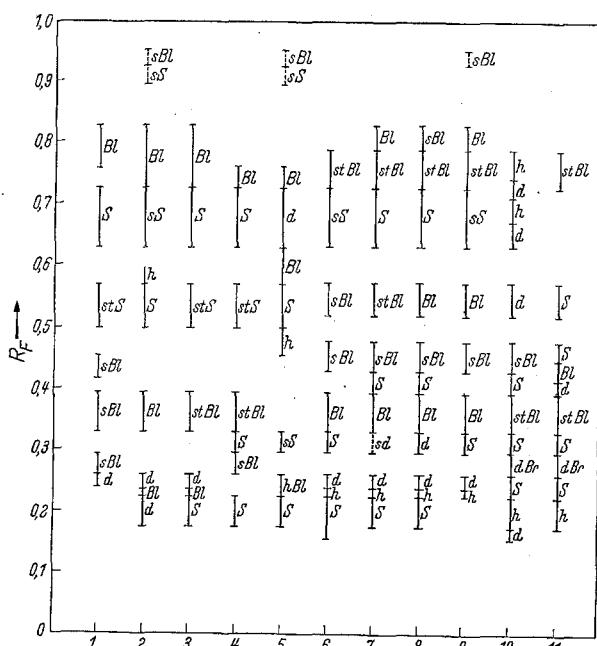


Tabelle 6.



bis zwei schwarze Zonen mit kleineren R_F -Werten zu finden sind. Mit Flm. 2 ist das Bild etwas anders: sowohl bei *P. nigra* als auch bei den Schwarzpappelhybriden treten zwei schwarze Zonen auf, bei *P. nigra* ist jedoch die untere deutlich stärker.

Untersucht wurden:

- 98 G₂ *P. nigra*? *P. nigra* var. *italica*? Thallwitz
268 K *P. nigra* II
346 I, G₂ *P. nigra* Sämling Mödling
380 L₁ *P. nigra* Sämling Mödling

Die Klone 346 G₂ und 380 L₁ stimmen in den Chromatogrammen überein (Flm. 1 + Na_2CO_3), 380 L₁ und 268 K weisen geringfügige Unterschiede auf (Flm. 1).

Der früher als *P. nigra* bezeichnete Klon 253 ist keinesfalls *P. nigra*, sondern *P. serotina*.

Von *P. nigra* var. *italica* untersuchten wir den Klon 98 G₂ sowie einen Althbaum aus einer Pappelallee in Dresden-Loschwitz (Winzerstraße). Beide sind untereinander gleich und zeigen gegenüber *P. nigra typica* nur geringe Abweichungen (oberste blaue Zone ist schwächer, Flm. 1 + Na_2CO_3).

Eindeutige Exemplare von *P. nigra* var. *plantierensis* waren nicht vorhanden. Von *P. nigra* var. *betulifolia* und *P. deltoides* var. *monilifera* wurde je ein Klon untersucht.

Bei *P. deltoides* var. *missouriensis* erwiesen sich Klon 414 G₁ und die Exemplare des Altstammsortenregisters als identisch (Flm. 1, Flm. 1 + NH_3).

P. deltoides var. *angulata*

Die drei untersuchten Klone 273 I, 392 I und 358 G₂ zeigen bei einigen Zonen Unterschiede. Mit Flm. 1 bzw. 1 + NH_3 weicht 358 stärker ab, während mit Flm. 2 bzw. Flm. 2 + NH_3 die Unterschiede zwischen 358 und 392 gering sind. Ob einer dieser drei Klone eine reine *P. angulata* ist oder ob es sich in allen Fällen um Kreuzungen (Tacamahaca-Aigeiros-Hybriden?) handelt, kann vorerst nicht entschieden werden.

P. × euramericana (Schwarzpappelhybriden)

Sie zeigen zwei bis drei schwarze Zonen, die jedoch schmäler und weniger intensiv sind als die eine bei *P. nigra*. Im obersten Drittel des Chromatogramms liegen zwei bis drei helle blaue Zonen.

Die Untersuchungen erfolgten zunächst an dem zweijährigen Altstammsortenregister (I₂). In den Tabellen 7 und 8 sind die Ergebnisse mit Flm. 1 und Flm. 3 graphisch dargestellt. Dabei fällt auf, daß bei den meisten Sorten die gleichen Merkmale auftreten, die sich fast nur in der relativen Intensität unterscheiden. Zwischen einigen Sorten sind Unterschiede nur mit Mühe erkennbar. Z. B. ist mit Flm. 1 (bzw. Flm. 1 + NH_3) der Unterschied zwischen *P. serotina*, *P. brabantica* und auch *P. regenerata* Deutschland äußerst gering, während sich *P. serotina* und *P. brabantica* mit Flm. 3 bzw. Flm. 3 + NH_3 etwas besser unterscheiden lassen. Flm. 2 eignet sich zur Differenzierung der Schwarzpappelhybriden nicht, da zwischen den einzelnen Sorten fast gar keine Unterschiede zu erkennen sind. Vergleichsproben bekannter Sorten sind bei der Untersuchung von Schwarzpappelhybriden ebenso unerlässlich wie die Gegenprobe in einem zweiten Fließmittel.

In einigen Fällen konnte die Eintragung in die Tabellen 7 und 8 nur nach der Beurteilung eines einzelnen Chromatogramms erfolgen, da einige Exemplare dieses Sortenregisters zu klein waren und nur eine Probenahme zuließen.

Von den Untersuchungen an Schwarzpappelhybriden aus anderen Beständen sind folgende Ergebnisse erwähnenswert:

P. serotina

Untersucht wurden die Klone 253 I, L₁ und K, 319 I, 494 L₁ und Exemplare der Altstammsorte. Es zeigte sich gute Übereinstimmung (Flm. 1 + NH_3), bei 253 auch zwischen Proben verschiedener Standorte.

Tabelle 7 und 8. Graphische Darstellung der Fluoreszenz-Farbzonen der „Altstammsorten“. — Tabelle 7: Flm. 1; Tabelle 8: Flm. 3. — 1 *P. brabantica*; 2 *P. serotina*; 3 *P. grandis*; 4 *P. Eckhof*; 5 *P. Forndorf*; 6 *P. gelrica*; 7 *P. Lüns*; 8 *P. marilandica*; 9 *P. Flachslanden*; 10 *P. Eucalyptus*; 11 *P. Leipzig*; 12 *P. regenerata Deutschland*; 13 *P. missouriensis Holland*; 14 *P. robusta*; 15 *P. Drömling*; 16 *P. Neupotz*.

Tabelle 7.

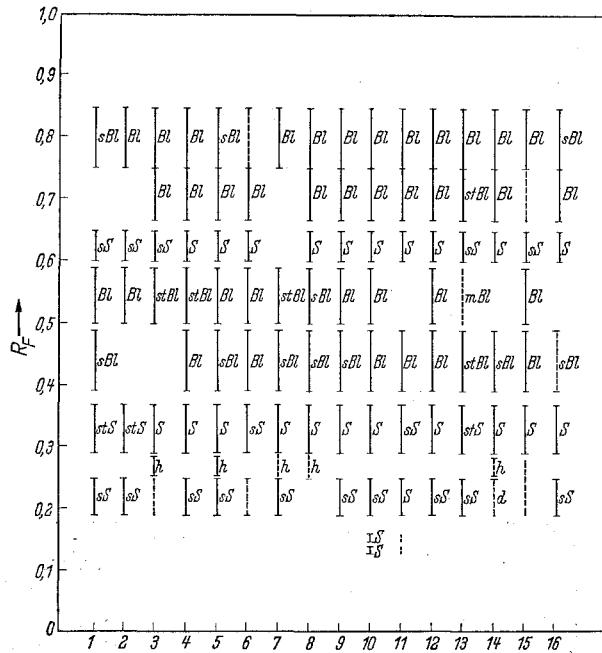
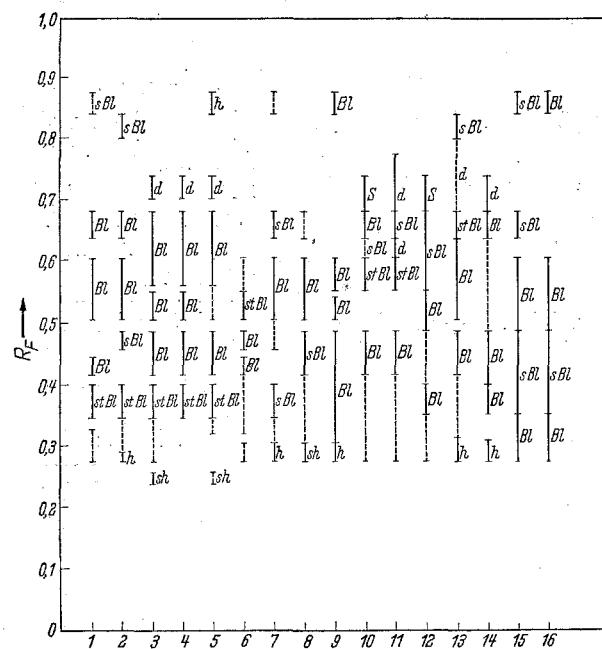


Tabelle 8.



P. brabantica

Die Bestimmungen erfolgten an den Klonen 174 L₁, 176 L₁ und I sowie 486 L₁.

Mit Ausnahme von 176 I konnte Übereinstimmung festgestellt werden (Flm. 1, Flm. 1 + NH₃, Flm. 2, Flm. 2 + Na₂CO₃). Bei 176 I hatten wir die Blätter stets als Mischprobe von den drei im Bestand I noch vorhandenen Exemplaren entnommen und kamen zu widersprechenden Ergebnissen. Nach einer Einzelprüfung dieser drei Bäume stellte sich heraus, daß nur zwei davon *P. brabantica* sind (Flm. 1, Flm. 3), während bei dem dritten offensichtlich eine Verwechslung des Steckholzes vorlag. Dieses dritte Exemplar wurde als *P. robusta* erkannt (Flm. 1 + Na₂CO₃, Flm. 3).

Der bisher fragliche Klon 272 I und K (beide untereinander gleich, Flm. 1 + NH₃) ist nicht identisch mit 319 *P. serotina* (Flm. 1 + NH₃) und 501 bzw. 451 *P. gelrica* (Flm. 1, Flm. 1 + NH₃, Flm. 2 + Na₂CO₃), aber mit 486 *P. brabantica* (Flm. 1, Flm. 1 + NH₃, Flm. 2 + Na₂CO₃). Klon 272 ist also wahrscheinlich *P. brabantica*.

P. marilandica

Die Klone 271 I, 318 I und 285 K sind mit großer Wahrscheinlichkeit identisch (Flm. 2).

P. regenerata Deutschland

Mit Flm. 2 + Na₂CO₃ findet sich Übereinstimmung zwischen den Klonen 275 I, 317 I und der Altstammsorte. Geringe Abweichungen zwischen 275 I und 317 I (Flm. 1 bzw. Flm. 1 + NH₃) können durch die Probenahme bedingt sein.

P. gelrica

Die Klone 501 L₁ und 451 L₁ sind identisch (Flm. 2, Flm. 2 + Na₂CO₃).

P. robusta

Untersucht wurden folgende Klone:

- 4 L₁ *P. robusta* Liebenwerda
- 7 G₂ *P. robusta* Diedersdorf
- 60 I *P. deltoides*? *P. robusta*? Durlach
- *P. robusta* Pinne
- *P. robusta* Naunhof

Die Klone 4 und 7 sind untereinander gleich (Flm. 2, Flm. 2 + Na₂CO₃), zeigen aber geringe Abweichungen von den übrigen, die wiederum untereinander und auch mit der gleichnamigen Altstammsorte identisch sind (Flm. 1 + NH₃).

P. × berolinensis

Zwischen den einzelnen Klonen lassen sich trotz gemeinsamer Merkmale einige Unterschiede erkennen, besonders zwischen Klon 252 K und 256 K (Flm. 2 + NH₃). Durch ein ähnlich differentes Verhalten fielen die beiden Klone auch bei der Messung des spezifischen Transpirationsvermögens (POLSTER 1957) auf!

Wegen der schwierigen Differenzierbarkeit der Schwarzpappelhybriden haben wir die Trennung auch zweidimensional durchgeführt. Wir untersuchten einige Sorten (Abb. 3) mit folgenden Fließmittelkombinationen:

- A: 1. Richtung Flm. 1, 2. Richtung Flm. 2;
 - B: 1. Richtung Flm. 3, 2. Richtung Flm. 1;
 - C: 1. Richtung Flm. 1, 2. Richtung Essigsäure 5%ig.
- Die besten Ergebnisse wurden mit der von SCHWARZE (1959) angegebenen Kombination C erhalten, während A keine Vorteile gegenüber der Keilstreifenmethode besitzt. Collidin für die zweite Richtung (HADORN und KÜHN 1953) stand uns nicht zur Verfügung.

•b) Section Tacamahaca

P. trichocarpa

In die Untersuchungen wurden folgende Klone einbezogen:

- 12 L₂ *P. trichocarpa* Sauen
- 36 L₂ *P. trichocarpa* var. *hastada* Idaho
- 38 L₂ *P. trichocarpa* var. *hastada* Idaho
- 52 L₂ *P. trichocarpa* England
- 85 L₁ *P. trichocarpa* Kauppa
- 91 L₂ *P. trichocarpa* Moritzburg
- 177 I, G₂ *P. trichocarpa* Markersbach
- I, K *P. trichocarpa* ohne Herkunftsbezeichnung

Alle Klone von *P. trichocarpa*, auch var. *hastada*, zeigen mit Flm. 1 in der Mitte des Keils eine charak-

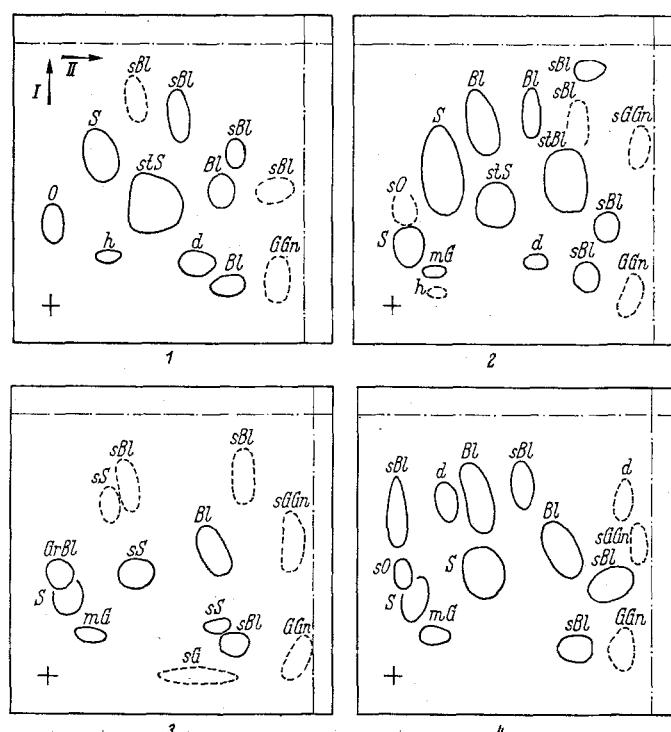


Abb. 3. Trennung auf zweidimensionalen Chromatogrammen. — Richtung I: Flm. 1, Richtung II: Essigsäure 5%ig. — 1 346 P. nigra; 2 P. missouriensis Holland; 3 252 P. x berolinensis; 4 P. robusta.

teristische goldorange Zone, die noch deutlicher mit Flm. 1 + NH₃ hervortritt. Unmittelbar darüber liegt eine dunkelbraune Zone. Beide überdecken sich teilweise. Eine vollständige Trennung dieser zwei Zonen ist mit 28 cm langen Keilstreifen zu erreichen, im allgemeinen aber zur Identifizierung nicht erforderlich. Mit Flm. 2 und 3 erscheint die goldorange Zone nicht.

36 L₂ und 38 L₂ (P. trichocarpa var. *hastada* Idaho) weichen von den anderen Klonen nur geringfügig in der relativen Intensität einiger Zonen ab: Der obere der zwei blauen Streifen ist schwächer, ebenso der untere der beiden schwarzen (etwa in der Mitte des Chromatogramms); die unmittelbar nach dem Erhitzen sichtbare gelbe Zone erscheint breiter (Flm. 1). Diese Unterschiede lassen sich aber nur dann erkennen, wenn in der gleichen Chromatogrammserie Testsorten parallel laufen. Die Differenzen zwischen den übrigen Klonen von P. trichocarpa liegen innerhalb der normalen Streuung. Diese Feststellung ist eine weitere Bestätigung für die vermutete Einklonigkeit von P. trichocarpa.

Bei P. *tacamahaca* (*balsamifera*) zeigen die beiden untersuchten Klonen 255 I und 325 I Übereinstimmung (Flm. 1 + NH₃, Flm. 2, Flm. 3, Flm. 3 + NH₃). Die im oberen Teil des Chromatogramms liegenden blauen Zonen (Flm. 1) sind denen von P. trichocarpa ähnlich, die goldorange Zone im Keil ist jedoch nicht vorhanden. Von P. *candidans* wurde nur Klon 6 untersucht.

P. *Simonii*

Im Chromatogramm hebt sich P. *Simonii* gut von den anderen Arten der Section *Tacamahaca* ab. Die Klonen 50 L₂ (P. *Simonii* Carr. Peking) und 412 G₁ (P. *Simonii* Carr. Schmalenbeck) sind trotz des Altersunterschiedes identisch. Da aber 51 L₂ (angeblich P. *Simonii* Carr. Peking) deutlich abweicht (Flm. 1, Flm. 3, beide auch + NH₃), ist zu vermuten, daß hier eine andere Art vorliegt. Dafür sprechen auch einige nachträglich festgestellte morphologische Abweichungen. Ob es sich trotzdem um P. *Simonii* var. *fastigiata* handelt, muß mangels weiteren Vergleichsmaterials noch dahingestellt bleiben.

Da P. *laurifolia* die Mutter von P. *x berolinensis* ist, wäre deren chromatographisches Bild im Vergleich zu P. *x berolinensis* besonders interessant gewesen. Leider war aber kein Blattmaterial von P. *laurifolia* beschaffbar.

c) Section *Leuce*

Anschließend an die Untersuchungen über die Schwarz- und Balsampappeln trennten wir in gleicher Weise Blattpressäfte einiger Vertreter der Section *Leuce*. Um festzustellen, ob bei dieser Section Merkmale auftreten, die sich von denen der beiden anderen Sectionen unterscheiden, begnügten wir uns mit der Untersuchung der Arten P. *tremula* und P. *alba* sowie einigen Kreuzungen (vgl. Tab. 4).

Flm. 3 erwies sich zur Differenzierung von Arten der Section *Leuce* der geringen Unterschiede wegen als nicht geeignet. Dagegen bewährten sich sowohl Flm. 1 als auch Flm. 2. Für beide sind Beispiele in den Abb. 4 und 5 zusammengestellt.

Mit Flm. 1 ist bei P. *tremula* und bei den untersuchten Kreuzungen, die P. *tremula* als einen der

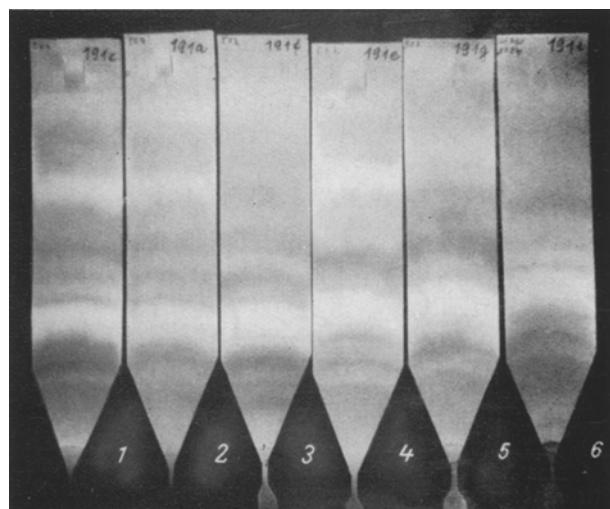


Abb. 4. 1 501 P. alba Sauen 3; 2 504 P. alba Sauen 6; 3 3084 P. alba Ungarn x alba Sauen 5; 4 523 P. alba Ruhland; 5 522 P. alba Münster; 6 621 P. x canescens Ingolstadt. — Flm. 1 (n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5).

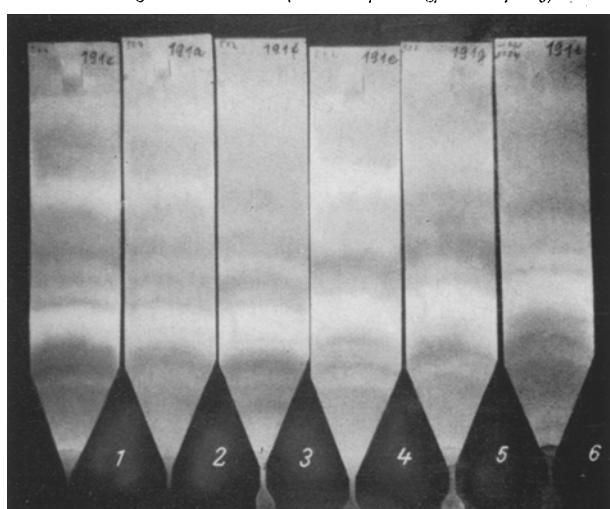


Abb. 5. 1 501 P. alba Sauen 3; 2 504 P. alba Sauen 6; 3 512 P. alba var. *bolleana* Goetheallee; 4 522 P. alba Münster; 5 523 P. alba Ruhland; 6 3084 P. alba Ungarn x alba Sauen 5. — Flm. 2 (n-Propanol/Wasser 4:1).

Kreuzungspartner¹ enthalten, im oberen Drittel des Chromatogramms eine charakteristische Farbzonengruppe zu finden. Es sind jedoch keine leuchtenden, sondern matte Farben in der Reihenfolge (von oben nach unten) rot — blau — rotbraun — blaugrün. Als Beispiel sei Abb. 1 angeführt; in der Fotografie (Abb. 2) heben sich dagegen diese Zonen nicht deutlich hervor. Die Zonenfolge der Chromatogramme von *P. tremula* und *P. alba* ist in den Tab. 5 und 6 den wichtigsten Arten der anderen Sectionen gegenübergestellt.

Für Anregungen und Hinweise danken wir den Herren Prof. Dr. H. SCHÖNBACH, Dr. habil. H. POLSTER, Dr. W. BORSDORF und W. MORGENEYER. Die sorgfältige Ausführung der papierchromatographischen Trennung lag in den Händen von Frau I. NEUWIRTH, die Zeichnungen fertigte Frau M. KLINDER an.

Zusammenfassung

1. Blattpressäfte einiger Arten und Sorten der Gattung *Populus* wurden papierchromatographisch mit verschiedenen Fließmitteln getrennt und deren fluoreszierende Inhaltsstoffe beobachtet, ohne diese selbst zu identifizieren. Für die papierchromatographische Trennung werden methodische Hinweise gegeben.

2. Die einzelnen Sectionen, Arten und Sorten unterscheiden sich mehr oder weniger durch Anzahl, Lage, Farbe und relative Intensität der fluoreszierenden Zonen. Die charakteristischen Farbzonen werden beschrieben.

3. Die biochemische Taxonomie geht der natürlichen Systematik parallel. Je näher die „Verwandtschaft“ ist, desto ähnlicher sind die Chromatogramme.

Diese Ähnlichkeit führt innerhalb der Schwarzpappelhybriden trotz der Anwendung verschiedener Fließmittel teilweise zu Identifizierungsschwierigkeiten. Die Sectionen und die meisten Arten zeigen jedoch größere Unterschiede oder sogar charakteristische Merkmale.

4. Das Alter der Bäume hat offensichtlich keinen Einfluß auf das chromatographische Bild. Die aufgefundenen Unterschiede zwischen Blättern von Zweigspitze bzw. -mitte lassen sich bei der Probenahme eliminieren.

5. Bei einigen bisherigen Sortenbezeichnungen konnten Unstimmigkeiten aufgefunden werden, die sich teilweise klären ließen.

6. Die Ergebnisse der Untersuchungen an verschiedenen Arten und Sorten der Gattung *Populus* bestätigen erneut, daß die Pflanzeninhaltsstoffe in engster Beziehung zur Phylogenetese stehen.

7. Die Aussagefähigkeit der papierchromatographischen Sortendifferenzierung ist je nach dem Anwendungsgebiet (Taxonomie, Provenienzforschung, Sortendiagnose) unterschiedlich. Durch Variation der Fließmittel und Nachbehandlung der Chromatogramme mit speziellen Reagenzien lassen sich die Aussagen noch teilweise verfeinern.

8. Die mitgeteilten Ergebnisse ermuntern zu Untersuchungen an anderen Organen sowie an weiteren

¹ Das Wiederfinden von Merkmalen der Eltern auf Chromatogrammen der Bastarde untersuchte SCHWARZE (1959) bei *Phaseolus*-Artbastarden. Er beobachtete dabei außerdem eine Erhöhung der Gesamtzahl der fluoreszierenden Substanzen.

Gattungen. Wir setzen unsere Arbeit an den Gattungen *Populus* und *Salix* fort.

Literatur

1. BUZZATI-TRAVESO, A. A.: Identification of recessive gene heterozygotes by means of paper chromatography. *Nature (London)* **171**, 575—576 (1953a). — 2. BUZZATI-TRAVESO, A. A.: (Papierchromatographie von genetisch unterschiedlichem Gewebe: Ein Beitrag zur biochemischen Untersuchung der Individualität). *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **39**, 376—391 (1953b); zit. nach *Chem. Zentralbl.* **46** 32 (1954). — 3. BUZZATI-TRAVESO, A. A., and A. B. RECHNITZER: Paper partition chromatography in taxonomic studies. *Science* **117**, 58—59 (1953). — CASTEEL, H. W., and S. H. WENDER: Identification of flavonoid compounds by filter paper chromatography. *Analyt. Chemistry* **25**, 508—509 (1953). — 4. GAGE, T. B., C. D. DOUGLAS and S. H. WENDER: Identification of flavonoid compounds by filter paper chromatography. *Analyt. Chemistry* **23**, 1582—1585 (1951). — 5. GOLDSCHMIDT, E.: Fluorescent substances in chromatograms of a mutant stock of *Drosophila*. *Nature (London)* **174**, 883—884 (1954). — 6. HADORN, E., and A. EGELHAAF: Biochemische Polyphänie und Stoffverteilung im Körper verschiedener Augenfarb-Genotypen von *Ephestia kühniella*. *Z. Naturforschung* **11b**, 21—25 (1956). — 7. HADORN, E., and A. KÜHN: Chromatographische und fluorometrische Untersuchungen zur biochemischen Polyphänie von Augenfarb-Genen bei *Ephestia kühniella*. *Z. Naturforschung* **8b**, 582—589 (1953). — 8. HADORN, E., and H. K. MICHELL: *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **37**, 650 (1951); zit. nach KÜHN 1956. — 9. HAIS, I. M., u. K. MACEK: Handbuch der Papierchromatographie, Bd. 1. Jena 1958. — 10. JOACHIM, H. F.: Die Rinde von Pappelarten und -sorten und ihre Eignung als Erkennungsmerkmal für die Pappelbestimmung. *Arch. f. Forstwesen* **3**, 620 (1954). — 11. JOACHIM, H. F.: Phänologische Beobachtungen an der Gattung *Populus*. *Wiss. Abh. Dt. Akad. Landw. Berlin (Beiträge zur Pappelforschung II)*, 75—97 (1957). — 12. JOHANSON, R.: Different fluorescence in identification of tobacco trashy leaf. *Nature (London)* **171**, 753—754 (1953). — 13. KIRK, R. L., A. R. MAIN and F. G. BEYER: The use of paper partition chromatography for taxonomic studies of land snails. *Biochem. J.* **57**, 440—442 (1954). — 14. KÜHN, A.: Ein Fluorometer für Papierchromatogramme. *Die Naturwissenschaften* **42**, 529—530 (1955). — 15. KÜHN, A.: Versuche zur Entwicklung eines Modells der Genwirkungen. *Die Naturwissenschaften* **43**, 25—28 (1956). — 16. KÜHN, A., and A. EGELHAAF: Zur chemischen Polyphänie bei *Ephestia kühniella*. *Die Naturwissenschaften* **42**, 634—635 (1955). — 17. LINDSTEDT, G.: Constituents of pine heartwood. XX. Separation of phenolic heartwood constituents by paper chromatography. *Acta chem. scand.* **4**, 448—455 (1950). — 18. LINDSTEDT, G., and A. MISIORKY: Constituents of pine heartwood. XXV. Investigation of forty-eight *Pinus* species by paper partition chromatography. *Acta chem. scand.* **5**, 121 bis 128 (1951). — 19. LINDSTEDT, G.: Constituents of pine heartwood. XXVI. A general discussion. *Acta chem. scand.* **5**, 129—138 (1951). — 20. LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. 2. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959. — 21. MATTHIAS, W.: Serienuntersuchung mit Hilfe einer neuen Form der Streifen-Papierchromatographie. *Die Naturwissenschaften* **41**, 17 bis 18 (1954a). — 22. MATTHIAS, W.: Über ein papierchromatographisches Verfahren für Serienuntersuchungen in der Pflanzenzüchtung. *Der Züchter* **24**, 313—316 (1954b). — 23. MICKS, D. W.: Paper chromatography as a tool for mosquito taxonomy: the *Culex pipiens* complex. *Nature (London)* **174**, 217—218 (1954). — 24. MÜLLER, R.: Altstammsorten der Schwarzpappelbastarde für den Anbau in Deutschland. Ia: Grundlagen des Sortenbegriffs. *Holz-Zentralblatt (Stuttgart)* Nr. 45, S. 611—613 (1957a). — 25. MÜLLER, R.: Altstammsorten der Schwarzpappelbastarde für den Anbau in Deutschland. Ib: Eigenschaften der Altstammsorten. *Holz-Zentralblatt (Stuttgart)* Nr. 73/74, S. 939—943 (1957b). — 26. POLSTER, H.: Transpirationsintensität und Wasserbedarf von Pappelklonen. *Wiss. Abh. Dt. Akad. Landw.-Wiss. Berlin (Beiträge zur Pappelforschung II)*, 100—147 (1957). — 27. RILEY, H. P., and T. R. BRYANT: Studies in the identi-

- fication of species by the paper chromatography of fluorescent compounds. *Proc. 9th Intern. Bot. Congress* 2, 327 (1959). — 28. RILEY, H. P., and T. R. BRYANT: The separation of nine species of the *Iridaceae* by chromatography. *Amer. J. of Botany* 48, 133—137 (1961). — 29. SCHWARZE, P.: Untersuchungen über die gesteigerte Flavonoidproduktion in *Phaseolus*-Artbastarden (*Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus coccineus*). *Planta* 54, 152—161 (1959). — 30. SCOTT-MONCRIEFF, R.: The genetics and biochemistry of flower colour variation. *Erg. Enzymforschung* 8, 277—306 (1939). — 31. SELLE, R. M.: Determination of sour orange rootstock by paper chromatography. *Nature (London)* 174, 140—141 (1954). — 32. TEAS, H. J., W. ALMEYDA, and H. F. WINTERS: Identification of mango varieties by paper chromatography. *Proc. Assoc. Southern Agric. Workers*, 223 (1959). — 33. SINGH, K., and B. D. THOMPSON: The possibility of identification of vegetable varieties by paper chromatography of flavonoid compounds. *Proc. Amer. Soc. Horticult. Sc.* 77, 520—527 (1961). — 34. SELLE, R. M.: Spot chromatography identification of citrus rootstocks. *Nature (London)* 181, 506—507 (1958).

Genetics Department, Scottish Horticultural Research Institute, Invergowrie, Dundee

Some Aspects of Fruit Genetics in Britain

By GORDON HASKELL

Introduction

Developments in fruit crop genetics must, by the slow growth of the material, be correspondingly slower than the rapid advances in the genetics of *Drosophila*, micro-organisms and quick-growing Angiosperms such as *Arabidopsis*. Yet there are several lines of genetical research with fruits which offer scientific returns within reasonable time. There are the basic problems to investigate of disease resistance, including resistance to fungi, insects, viruses and extreme environments. The study of biometrical variation in quantitative characters within and between clones is important and rewarding, for much modern fruit taxonomy and breeding is concerned with such characters. It is necessary, too, to understand the underlying mechanisms of the apomictic system, whether this relates to apomictic *Malus* rootstocks, or to assessing the potentialities of the large genus *Rubus*. Cytological investigations, using new and improved techniques, still have much to add to a better understanding of the problems of infertility, polyploidy and somatic segregation in perennial fruit crops.

This article is intended to illustrate advances in some of these genetical aspects, initiated by the writer and his collaborators in Britain, and to illustrate their applications to practical plant breeding.

Genetical studies of top fruits and Strawberries

1. Stamen number variation

After studying the numbers of stamens and other biometrical variations in the flowers of chickweed (*Stellaria media*) (HASKELL, 1949), this floral character was examined in a large collection of cultivated fruit plants. A population of cherries was studied first. Stamen numbers were counted on ten flowers each from a collection of sweet cherries, some morellos, and some Duke cherries (HASKELL, 1954a). The most frequent numbers were 34 and 39/40 stamens per flower, no doubt representing seven and eight times the petal number, with 5 being the basic unit for *Rosaceae*. The character of stamen number is apparently genetically controlled, for the clones were highly uniform within themselves but each differed from the others. On the average the flowers of tetraploid morellos (*P. cerasus*) had lower numbers than the diploid sweet cherries (*P. avium*), while the tetraploid Dukes were intermediate in

stamen numbers. These biometrical data accord with the cytological evidence for the suspected hybrid origin of the Dukes, i. e. from previous crosses of sweet cherries and morellos (HRUBY, 1950).

Generally stamen number and variation were not associated with the economic characters of cherries. There was a tendency, however, for varieties in the more frequent incompatibility groups (I—VI) to have lower values than those in groups VII—XII. Stamen number and variation are undoubtedly useful as additional diagnostic characters for the identification of cherry varieties. For example, it was possible to verify some mis-labelled trees of the new variety Merton Glory during flowering, later confirming by colour and size of the fruits.

Stamen numbers were then determined in diploid, triploid and two tetraploid varieties of cultivated pears (*Pyrus communis*) (HASKELL, 1954b). In contrast to the cherries, pear flowers mostly have 20 stamens, although a few exceptional varieties have higher values. Style number is usually five, but occasional varieties show slight variation. One such variety, Beurré Bedford, is now known to have exceptional cytological behaviour as well (DOWRICK, 1958). Stamen pattern is unrelated to polyploidy in pears. It is believed that the stamen constancy in pears is a manifestation of secondary balance in the *Pomoideae* ($X = 17$), and is in contrast to the wide variation within species of cherries and plums, the *Prunoideae* ($X = 8$). This supports the earlier theories of DARLINGTON & MOFFETT (1930) on primary and secondary chromosome balance in these groups. Stamen number is too stable in pears to be of diagnostic value, except for a few exceptional varieties such as Clapp's Favourite.

Stamen patterns (i. e., means and their variations, and modes) were next examined in cultivated varieties and in seedling clones of hexaploid European plums (*Prunus domestica*), and in some other *Prunus* species (HASKELL & Dow, 1955). The stamen patterns differed between varieties, but were uniform within individual clones, indicating a genetical basis. One genuine bud-sport had the same stamen number as its parents, whilst another presumed bud-sport did not; historical evidence has now shown the latter to have been sexually produced. Seedling plums, especially those that have been selected for vigour and fruit quality, show little