

Aus dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung der Technischen Universität, Berlin-Dahlem

Die Auslösung der Parthenogenese bei einer autotetraploiden *Oenothera hookeri* durch Röntgenbestrahlung

Von GERTRUD LINNERT

Mit 2 Abbildungen

A. Einleitung

Die Besonderheiten der Genomstruktur haploider höherer Pflanzen eröffnen der Forschung ganz neue Möglichkeiten. Mit ihrer Hilfe kann man Aufgaben in Angriff nehmen, die mit anderen Mitteln nur sehr schwer oder gar nicht zu lösen sind. Pflanzen mit dem Chromosomenbestand normaler Gameten sind besonders deshalb interessant, weil nach einer anschließenden Chromosomenverdopplung, die durch Colchizin leicht zu bewerkstelligen ist, wieder Diploide entstehen. Die so entstandenen Diploiden besitzen nun aber 2 völlig identische Genome, denn die jeweils homologen Chromosomenpaare sind aus Schwesterchromatiden hervorgegangen. Natürlich ist darum auch ihr Genbestand identisch. Mit einem einzigen Schritt wird so ohne langwierige Maßnahmen zur Reinzüchtung eine reine Linie erhalten (EAST 1930, KARPETCHENKO 1935 zit. n. IVANOV 1938, KIMBER and RILEY 1963, NEI 1963). Auch die für die Heterosiszüchtung benötigten reinen Linien sind auf diesem Wege leicht herzustellen (CHASE 1947, 1949 u. 1952). Darüber hinaus kann man aber auch solche Gene in den homozygoten Zustand überführen, die normalerweise nur heterozygot vorhanden sind, weil ihre eigene Aktivität die Übertragung durch nur eines der beiden Geschlechter erlaubt: Geschlechtsfaktoren, gametische Letalfaktoren, Sterilitäts- und Inkompatibilitätsfaktoren (GOODSELL 1961). Kontrollierte Homozygotie des gesamten Genbestandes ist insbesondere auch dann nötig, wenn es gilt, die Wirkung bestimmter Faktoren in einem konstanten genetischen Milieu zu untersuchen oder z. B. auch die Aktivität eines bestimmten Korns, der in ein fremdes Plasma eingebracht worden ist (s. KISCH 1940, v. WETTSTEIN 1946, CHASE 1963). Sind die Ausgangsformen polyploid, dann entstehen nach der Entwicklung unbefruchteter Gameten Polyhaploide, die, je nachdem, Autopolyhaploide oder Allopolyhaploide sein können. Eine systematische Ordnung und Terminologie der verschiedenen Arten von Haploidie findet sich bei KIMBER und RILEY (1963).

Umfangreiche und vielseitige Arbeiten sind in den letzten Jahren an allopolyhaploidem Weizen durchgeführt worden, und die verschiedensten Probleme konnten auch an diesem Objekt gelöst werden (Lit. bei KIMBER und RILEY 1963). Dabei wurde vor allem die intragenomatische Paarung der Chromosomen benutzt, um Aufschlüsse über Homologiebeziehungen innerhalb eines Genoms, zwischen homoeologen Genomen oder zwischen den Genomen

einer zu testenden Haploiden und des Kreuzungspartners festzustellen (OKAMOTO und SEARS 1962, RILEY 1960, KIMBER 1961). Ganz andere Möglichkeiten bieten die Haploiden aus autopolyploiden Formen: sie wurden von KIMBER und RILEY als „Autopolyhaploide“ bezeichnet. KAPPERT (1941) empfahl die Verwendung hemiploider *Cyclamen* für die Züchtung bestimmter Blütenfarben. Bivalentbildung in der Diakinese von Haploiden zeigt den autopolyploiden Charakter der Ausgangsform an. Umgekehrt wiederum kann man (DUARA und STEBBINS 1952, IVANOVSKAJA 1939, ELLIOTT und WILSIE 1948 usw.) aus der Häufigkeit der gebildeten Bivalente Veränderungen der Genome erkennen, die während der polyploiden Phase aufgetreten sind; auch ergaben sich beim Weizen neue Einsichten in die Kontrolle der Chiasmabildung durch das Chromosom V (RILEY 1960). An autopolyhaploider *Oenothera hookeri* konnte eine Analyse der Genom-, Chromosomen- und Genmutationen durchgeführt werden, die während der tetraploiden Phase spontan aufgetreten waren; desgleichen war es möglich, die Spaltungen einer reziproken Translokation in den Nachkommen der verschiedenen Heterozygoten zu beobachten (LINNERT 1962 und in Vorbereitung).

Die Liste der neuen Möglichkeiten, die sich aus der Untersuchung von parthenogenetisch entstandenen Pflanzen ergeben, ließe sich noch beliebig verlängern. Daraus erhellt, wie wichtig es ist, die Methoden zu beherrschen, mit denen man die Haploidie experimentell auslösen kann, um damit die für die Untersuchung von Spaltungen benötigten großen Zahlen von parthenogenetischen Nachkommen zu erhalten. Bisher sind diese meistens einzeln oder in wenigen Exemplaren spontan aufgetreten. Häufiger gelang es, nach Bestäubung mit dem Pollen fremder Arten eine Reizbefruchtung auszulösen (Lit. siehe KIMBER und RILEY 1963). Das ist auch bei *Oenothera* beobachtet worden (OEHLKERS 1940). Durch geeignete Selektionsmethoden, wie z. B. der Auswahl von Zwillingssamen (KAPPERT 1933) oder der Verwendung von Markierungsgenen (CHASE 1947), kann man das Auffinden der Haploiden erleichtern. Schon 1938 berichtete IVANOV über die Entstehung von Haploiden nach Röntgenbestrahlung und auch später hatten viele Autoren mit dieser Methode Erfolge. Hier soll nun von einem Versuch berichtet werden, bei dem es gelang, von 38 behandelten autotetraploiden Mutterpflanzen mehr als 450 diploide Nachkommen zu erzeugen, so daß es möglich war, aus ihnen Aufschlüsse über die gene-

tische Struktur der Mutterpflanzen zu erhalten. Gleichzeitig ergaben sich Hinweise auf eine genetische Kontrolle der Parthenogenese durch die Mutterpflanzen.

B. Material und Methode

Die Autotetraploide ist 1941 durch Colchizinbehandlung einer reinen Linie der *Oe. hookeri* hergestellt worden, die ihrerseits ebenfalls auf eine haploide Pflanze zurückgeht. Durch spontane Aufregulierung der Chromosomenzahl ist aus dieser Haploiden, die in einem Bestrahlungsversuch MARQUARDTs aufgetreten ist, eine diploide Pflanze hervorgegangen, die zur Stammpflanze der Linie „*Oe. hookeri* Freiburg“¹ wurde.

Kastrierte Blüten der Tetraploiden wurden mit bestrahltem Pollen bestäubt. Schon 1943 wurde an der DE VRIESSchen Linie *Oe. lamarckiana gigas* ausprobiert, daß bei *Oenothera* eine Dosis von 5000 r optimal ist, um Haploide auszulösen. Bei dieser Dosis keimen nur noch einzelne Samen; die aus ihnen hervorgehenden Pflanzen sind vorwiegend diploid. Leider sind die Samen dieser Pflanzen durch Kriegseinwirkung verloren gegangen.

Dieselbe Dosis wurde auch dem Pollen der 4n *Oe. hookeri* appliziert. Die dabei entstandenen sekundär diploiden Pflanzen gleichen vollkommen der Normalform und sind leicht von der Tetraploiden zu unterscheiden. Von allen Pflanzen wurde auch das Pollenbild untersucht. Während die Tetraploiden viereckigen Pollen bilden, ist der Pollen der Diploiden dreieckig. Alle Pflanzen mit abnormem Habitus sowie der größere Teil der Normalen wurden auch cytologisch untersucht.

Bestrahlt wurde mit 180 kv, 10 mA, 157 V, 3 mm Al, 13' 14" = 5000 r.

C. Ergebnisse

In Vorversuchen, die im Jahr 1954 durchgeführt wurden, waren aus ungefähr 50 Kapseln von 10 Pflanzen nur 10 Samen gekeimt. Aus ihnen wuchsen normale Pflanzen mit der Chromosomenzahl $2n = 14$ hervor. Da eine Kapsel durchschnittlich ca. 200 Samen enthält, ist die Ausbeute ziemlich niedrig gewesen, nämlich ca. 1:1000. Als dieselbe Methode 1958 wieder angewandt wurde, zeigte es sich jedoch, daß nun einzelne Mutterpflanzen viel mehr Nachkommen hervorbrachten als die früheren, und zwar sowohl diploide als auch tetraploide. Insgesamt waren an 38 Pflanzen je 5 Blüten bestäubt worden. Zwei dieser Pflanzen brachten keinen einzigen keimenden

¹ Die diploide wie die autotetraploide Linie stammen aus den Kulturen Herrn Prof. Dr. F. OEHLKERS', dem ich herzlich für die Überlassung des Samenmaterials danken möchte.

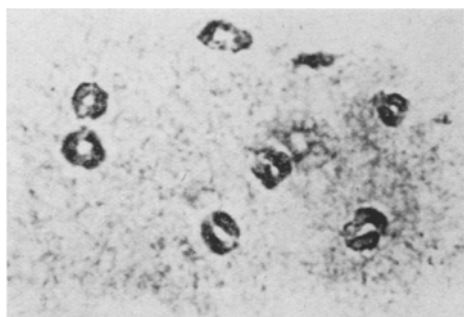


Abb. 1. Diakinese einer parthenogenetisch entstandenen Pflanze mit 7 Bivalenten und 1 Univalent.
3200×.

Tabelle 1. Die Häufigkeit diploider Nachkommen nach Bestäubung tetraploider Pflanzen mit geröntgtem Pollen.

Familie	Pflanzen insgesamt	$2n$ insgesamt	$2n\%$	Signifikanz**
* 1	106	14	13,2	—
* 2	87	12	13,8	—
* 3	260	23	8,8	—
* 4	13	2	15,4	—
* 5	148	26	17,6	—
* 6	645	50	7,8	—
* 7	42	1	2,4	—
* 8	438	44	10,0	—
* 9	58	5	8,6	—
* 10	277	25	9,0	—
* 11	296	21	7,1	—
* 12	123	13	10,6	—
* 13	62	3	4,8	—
14	11	4	36,4	++
15	34	11	32,4	+++
* 16	323	30	9,3	—
* 17	91	10	11,0	—
* 18	140	17	12,1	—
19	35	3	8,6	—
20	13	7	53,8	+++
21	21	9	42,9	+++
* 22	210	28	13,3	—
23	—	—	—	—
24	26	6	23,1	—
25	2	2	100,0	+
* 26	92	15	16,3	—
* 27	293	10	3,4	+++
28	13	3	23,1	—
29	4	4	100,0	++
30	7	3	42,9	+
31	19	15	78,9	+++
32	—	—	—	—
* 33	45	2	4,4	—
34	1	—	0	—
35	1	—	0	—
36	4	3	75,0	+++
37	11	10	90,9	+
* 38	177	20	11,3	—
4128		451	10,9	

$$\chi^2 = 52; FG = 19; P_{hom} < 0,0001$$

Nur die mit * bezeichneten Pflanzen wurden in den Homogenitätstest einbezogen; bei den übrigen traten theoretische Werte auf, die kleiner waren als 5. Da in diesem Fall χ^2 nicht angewandt werden kann, wurde die Signifikanz mit Hilfe des Fehlers

$$s = \sqrt{\frac{451}{4128} \cdot \frac{3677}{4128} \cdot n}$$

durch einen t-Test ermittelt.

** +: $P < 0,05$; ++: $P < 0,01$; +++: $P < 0,0027$

Samen hervor; zwei weitere lieferten nur je einen tetraploiden Nachkommen. Die übrigen Pflanzen hatten sowohl diploide wie auch tetraploide Nachkommen, jedoch unterschieden sie sich sehr stark sowohl in der Gesamtzahl der lebensfähigen Keimlinge wie im Verhältnis der diploiden zu den tetraploiden (s. Tab. 1). Der Homogenitätstest, in den nur diejenigen 20 Einzelpflanzennachkommenschaften einbezogen werden konnten, die mehr als 42 Individuen enthielten, war mit $P < 0,0001$ negativ. Die Variation geht von 0–645 Nachkommen pro Pflanze, und die einzelnen Nachkommenschaften enthielten zwischen 0 und 100% Dihaploide. Insgesamt wuchsen 4128 Pflanzen auf, und davon erwiesen sich 451 als sekundär diploid oder einfach-trisom ($= 2n + 1$; Abb. 1). Legt man die durchschnittliche Häufigkeit von 10,9 Diploiden als theoretischen Erwartungswert zugrunde und vergleicht damit das $2n/4n$ -Verhältnis der Einzelpflanzennachkommenschaften über den Fehler des Binoms, dann ergeben sich häufig signifikante Abweichungen von der Erwartung (s. Tab. 1). Die Frage ist nun, worauf die Differenzen zwischen den Einzelpflanzen beruhen.

Der zur Bestäubung verwendete Pollen bestand aus einem von sämtlichen Pflanzen gesammelten Gemisch, deshalb dürfte also die Zusammensetzung der Portionen, die jeweils auf die Narben einer Pflanze gekommen sind, nicht wesentlich variiert haben. Zur Erklärung der gefundenen unterschiedlichen Häufigkeit echter Befruchtungsvorgänge und zugleich des unterschiedlichen Anteils von Eizellen, die sich ohne Befruchtung entwickelt haben, muß man also eine unterschiedliche Reaktion der einzelnen Mutterpflanzen annehmen. Unterschiede mögen durch verschiedenes Alter der Fruchtknoten zustande gekommen sein; da jedoch an jeder Pflanze eine Reihe übereinanderstehender Blüten bestäubt worden ist, müßten an jeder Pflanze Blüten der verschiedensten Altersstufen beteiligt gewesen sein. Alle Bestäubungen wurden zur selben Stunde durchgeführt, so daß auch die Außenbedingungen konstant waren. Geringfügige Unterschiede mögen hinsichtlich des physiologischen Zustandes der Einzelpflanzen bestanden haben, allein, derartig große Unterschiede in der Reaktion, wie wir sie gefunden haben, lassen sich nicht damit erklären vielmehr ist anzunehmen, daß Unterschiede der genetischen Strukturen der Mutterpflanzen im Spiele sind.

Damit kann man in der Tat einige Dinge erklären. Die 10 Pflanzen, von denen im Vorversuch Polyhaploide gewonnen worden waren, stammten alle von einer Einzelpflanzen-Inzuchtlinie ab. Es ist einleuchtend, daß sie sich gleich verhielten; sie entwickelten gar keine tetraploiden und nur sehr wenige polyhaploide Samen. Nun war vor dem Hauptversuch, der das Ziel hatte, die spontane Mutationsrate der Tetraploiden zu erfassen, eine panmiktische Population erzeugt worden, um die Genverluste zu verringern, die mit ständiger Inzucht zwangsläufig verbunden sind. Zu diesem Zweck ließ ich eine tetraploide Inzuchtnachkommenschaft frei abblühen, erntete von jeder Pflanze eine Kapsel und vermischte deren Samen. Die 38 im Hauptversuch behandelten Pflanzen stellten eine Stichprobe aus der panmiktischen Population dar, und schon nach einer Generation zeigten die Pflanzen eine erhöhte Variabilität verschiedener quantitativer Merkmale wie Wuchsform, Zeitigkeit, Blattgestaltung usw. Offenbar war die ursprüngliche Population nicht mehr vollkommen homozygot gewesen, so daß bei der panmiktischen Vermehrung die verschiedensten Rekombinationen entstehen konnten. Es ist sehr wohl anzunehmen, daß sich die einzelnen Pflanzen auch in physiologischen Eigenschaften unterscheiden haben, wie z. B. in der Empfindlichkeit gegenüber röntgengeschädigtem Pollen oder der Neigung zur Parthenogenese. Einige der Pflanzen verhielten sich genauso wie die ursprüngliche Inzuchtlinie, andere zeigten dagegen eine erhöhte Neigung, diploide Nachkommen oder auch Tetraploide bzw. Hypo- oder Hypertetraploide zu produzieren. Das Auftreten der zuletzt genannten Typen ist vor allem deshalb erstaunlich, weil es zeigt, daß anscheinend die durch Einwirkung von Strahlen erzeugte Schädigung des Pollens durch Eigenschaften des Eiapparates oder des Fruchtknotens kompensiert wird. Deshalb können an manchen Mutterpflanzen auch tetraploide Embryonen erwachsen, die durch Befruchtung mit einem beschädigten Pollenkern entstanden sind, während sich

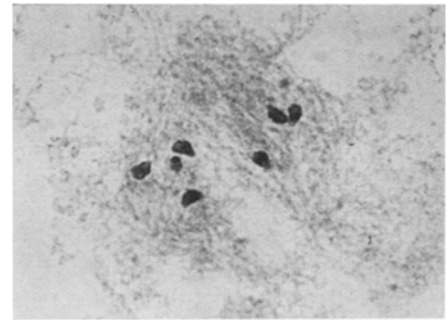


Abb. 2. Metaphase einer Haploiden mit 7 Univalenten. 4000 \times .

an anderen Pflanzen keine solchen Embryonen entwickeln.

In der tetraploiden wie in der diploiden Form der *Oe. hookeri* entstehen Haploide auch spontan. Unter 100 Pflanzen einer Aufzucht von Tetraploiden findet man stets 1–2 Diploide. Die echten Haploiden mit der Chromosomenzahl 7 in den Somazellen treten dagegen nicht so häufig unter den Nachkommen der diploiden Ausgangslinie auf. Es sind das kleine zarte Pflanzen, deren sämtliche Organe kleiner und zierlicher sind als bei der Normalform und die in unseren Versuchen weder nach Selbstbestäubung noch nach Bestäubung mit *hookeri*-Pollen noch nach freiem Abblühen jemals Samen brachten. In einer großen Aufzucht von insgesamt ca. 7800 Pflanzen einer diploiden Population wurden 10 Haploide gefunden, das sind ca. 0,13%. Auch die Dihaploiden mit der Chromosomenzahl $2n = 14$ brachten spontan Haploide mit 7 Chromosomen hervor. In der der Abregulierung von der tetraploiden zur diploiden Phase folgenden Generation, die aus ca. 9000 Pflanzen bestand, fanden sich 20 Haploide, das ist ein Anteil von ca. 0,22%; die Dihaploide lieferte also fast doppelt so viele Haploide wie die normale diploide Ausgangsform der *Oe. hookeri*. Bei der Entstehung der Dihaploiden hat also offenbar eine Selektion stattgefunden, durch die die Anlagen zur Parthenogenese angereichert worden sind, deshalb geht die weitere Reduktion zur Haploidie im engeren Sinne ebenfalls häufiger vonstatten.

In der Meiosis der Haploiden fanden sich meistens 7 Univalente (Abb. 2), jedoch wurden gelegentlich Chiasmen gebildet.

Unter 40 Zellen enthielten

- 27 nur Univalente
- 11 enthielten je 1 offenes Bivalent mit 1 Chiasma,
- 1 enthielt 1 Bivalent mit 2 Chiasmen,
- 1 enthielt 2 Bivalente mit 1 Chiasma.

Die durchschnittliche Chiasmafrequenz pro Zelle beträgt also 0,375 bei einer Mode von 0 und einem Maximum von 2 Chiasmen. Chiasmafrequenzen ungefähr gleicher Größenordnung sind bei den meisten Haploiden aller daraufhin untersuchten Arten angetroffen worden. Es ist auch heute noch ungeklärt, ob duplizierte Chromosomensegmente der Anlaß für die Paarung nichthomologer Chromosomen sind oder ob in Ermangelung eines geeigneten Partners Chiasmen auch zwischen Nichthomologen gebildet werden oder ob es sich einfach um Translokationen zwischen Chromatiden handelt, die als Folge der gestörten physiologischen Bedingungen in der Zelle durch denselben Mechanismus wie die Chromosomenumbauten entstehen.

D. Diskussion

I. Die Herkunft der Haploiden

Haploide können auf zwei verschiedene Weisen zustandekommen: entweder durch parthenogenetische Entwicklung einer haploiden Zelle des Embryosackes oder durch Entwicklung einer Zelle, die im Plasma der Eizelle einen generativen Pollenkern enthält. In der Tat konnten beide Modi bei einer Reihe von Arten und Artbastarden nachgewiesen werden. Mit Hilfe von Markierungsgenen konnten SILOW und STEPHENS (1944) zeigen, daß ein mütterlicher Kern am Aufbau von haploidem *Gossypium* beteiligt war; ebenso fanden CHASE (1947, 1949a und b) und COE (1959) beim Mais Haploide mit mütterlichen Kernen. Daneben gibt es eine Reihe von Beobachtungen, die mit androgener Entstehung von haploiden Pflanzen zu erklären sind. Nach Bestäubung von *Nicotiana tabacum* \times *N. silvestris* mit *silvestris*-Pollen entstanden haploide *silvestris*-Pflanzen (KOSTOFF 1929). CLAUSEN und LAMMERTS (1929) erhielten haploide *Nicotiana tabacum* aus einer Bestäubung von *N. glauca* mit Pollen von *N. tabacum*; weitere androgene haploide *Nicotiana* wurden von KEHR (1951) nachgewiesen. Beim Mais und auch bei *Crepis tectorum* konnte durch Markierungsgene die androgene Entstehung von haploiden Pflanzen wahrscheinlich gemacht werden (CHASE 1963, GERASSIMOVA 1936). Schließlich gelang EHRENSBERGER (1948) beides: nach Bestrahlung der Mutter und Bestäubung mit unbehandeltem Pollen erhielt sie eine androgene Haploide von *Antirrhinum majus*; nach Bestrahlung des Pollens und Bestäubung einer unbestrahlten Mutter entstanden Haploide mit mütterlichen Kernen. Damit ist also erwiesen, daß der geschädigte Kern häufig zugrunde geht und daß ein ungeschädigter Kern, der sowohl vom Embryosack wie auch vom Pollenschlauch beigesteuert werden kann, sich im Plasma der Mutter weiterentwickelt.

In den vorliegenden Versuchen ist eine Entwicklung unbefruchteter Eizellen zu haploiden Pflanzen anzunehmen. Das dürfte deshalb so leicht gehen, weil die Eizellen der artifiziell erzeugten Autotetraploiden den gleichen Genombestand wie die normale diploide Ausgangsform enthalten. Da bei *Oenothera* der Polkern haploid und dementsprechend das Endosperm nach der Befruchtung diploid ist, unterscheiden sich die Samen aus unbefruchteten Anlagen der Tetraploiden überhaupt nicht von den Samen, die sich aus befruchteten Anlagen der Diploiden entwickeln: in beiden Fällen enthält das Endosperm 2 Genome. Es ist deshalb gut denkbar, daß sich die Eizellen nach Zufügung eines die Entwicklung stimulierenden Agens, das wahrscheinlich durch den eingedrungenen Pollenschlauch beigesteuert wird, auch ohne echte Befruchtung zu Embryonen und Samen weiterentwickeln. Für diese Hypothese lieferte die genetische Struktur der Nachkommen einen stichhaltigen Beweis. Die behandelte Population der *Oe. hookeri* $4n$ hatte nämlich eine reziproke Translokation enthalten, die schon in einer früheren Generation entstanden sein muß. Aus der Analyse der Nachkommenschaft ergab sich, daß außer Homozygoten auch zweierlei Heterozygoten unter den $4n$ Müttern gewesen sein mußten: Duplextypen und Simplex- bzw. Triplexotypen, die man cytologisch nicht unterscheiden kann. In den

Gameten einer Duplex-Translokationsheterozygoten sind die beiden Homozygoten — die Homozygote mit reziproken Translokationen in den beiden Genomen bildet genauso Bivalente wie die normale Homozygote und ist deshalb von dieser nicht zu unterscheiden — im Verhältnis 11,5:2 zu erwarten, unter den Gameten der Simplex- und der Triplexotypen dagegen im Verhältnis 1:1 (LINNERT 1962). Diese Spaltungsverhältnisse sind auch tatsächlich aufgetreten; außerdem wurden auch homozygote Nachkommenschaften aufgefunden. Wäre die Herkunft der Haploiden androgen gewesen, dann hätten alle haploiden Nachkommenschaften den gleichen Anteil Homo- und Heterozygoter enthalten müssen, denn der Pollen bestand aus einem Gemisch von allen Pflanzen. Damit ist also wahrscheinlich gemacht, daß die Haploiden mütterlicher Herkunft sind.

II. Induktion und Erbllichkeit der Parthenogenese

Der erste, dem es gelang, Haploide experimentell auszulösen, war IVANOV (1938). Er versuchte es mit Anstechen der Samenanlagen, mit Reizbefruchtung durch Pollen fremder Gattungen und mit Röntgenbestrahlung des Pollens. Lediglich die letzte Methode hatte Erfolg, und er erhielt eine Reihe von haploiden *Nicotiana*-Pflanzen, die alle dem mütterlichen Typ entsprachen. Entwicklung, Morphologie und cytologisches Verhalten dieser haploiden Pflanzen wurden gründlich untersucht und beschrieben. IVANOV führte ihre Entstehung auf die Schädigung des generativen Pollenkerns durch die Röntgenstrahlen zurück. Zugleich gab er eine Liste der damals schon beschriebenen Haploiden, die einen beträchtlichen Umfang hatte. Die jüngste umfassende Darstellung aller in diesem Zusammenhang erschienenen Arbeiten und der theoretischen und praktischen Bedeutung der Haploidie gaben KIMBER und RILEY (1963). Deshalb erübrigt es sich, das alles hier zu wiederholen. Röntgenbestrahlung ist jedoch auch heute noch die effektivste Methode, um Haploidie auszulösen. Der Erfolg hängt allerdings in hohem Maße von der genetischen Struktur der behandelten Art ab. Autopolyploide neigen offenbar leichter zur Abregulierung als Diploide; außerdem scheint es aber auch genetische Faktoren zu geben, die die Entstehung echter Haploider und Polyhaploider begünstigen. CHASE (1949 und 1952) konnte nachweisen, daß es beim Mais Linien gibt, die, als Mütter verwendet, spontan einen besonders erhöhten Anteil Haploider hervorbringen. Andere Linien induzieren jedoch auch als Väter bei allen mit ihrem Pollen bestäubten Müttern die Entwicklung haploider Pflanzen. Dasselbe konnte auch COE (1959) nachweisen; er fand darüber hinaus, daß die Fähigkeit, als Vater Haploide mütterlicher Herkunft zu induzieren, erblich ist.

Diese am Mais gewonnenen Erkenntnisse kann man auch auf *Oenothera* anwenden. Die Neigung zur Parthenogenese war unterschiedlich bei verschiedenen Mutterpflanzen; außerdem waren nur die Individuen einer panmiktisch vermehrten Population heterogen, nicht aber die Einzelpflanzen einer Inzuchtpopulation. Das kann man so erklären, daß in der ursprünglich reinen Linie positive und negative Anlagen so ausgewogen waren, daß die Häufigkeit der Parthenogenese niedrig gehalten wurde. Während der

tetraploiden Phase, die von 1941–1958 dauerte, wobei 15 Generationen durchlaufen wurden, sind reziproke Translokationen und andere Mutationen spontan entstanden und heterozygot erhalten geblieben (LINNERT 1962 und in Vorb.). Ebenso können auch Anlagen für eine Förderung der Parthenogenese neu entstanden oder durch Translokationen neu kombiniert worden sein. Durch die panmiktische Vermehrung müssen diese Anlagen dann in einzelnen Pflanzen so stark angereichert worden sein, daß eine erhöhte Neigung zur Parthenogenese nunmehr deutlich zutage treten konnte.

Es ist nicht anzunehmen, daß die Parthenogenese auch bei *Oenothera* durch den Pollen induziert wird, so wie es in COES Linie 6 beim Mais der Fall ist; vielmehr müssen wir annehmen, daß bei *Oenothera* die Entwicklungsanregung vom Pollen und von der Mutter ausgeht. Ohne Bestäubung gibt es keine Parthenogenese; es ist also unerlässlich, daß ein Pollenschlauch in den Fruchtknoten einwächst und dabei offenbar spezifische induzierende Substanzen abgibt. Zugleich aber hängt es von der Mutter ab, wie häufig die Induktion der Embryoentwicklung zustandekommt. So müssen also väterliche und mütterliche Komponenten zusammenwirken, um die Eizelle zu Teilungen anzuregen.

Es wird aber nicht nur die Entwicklung unbefruchteter Eizellen auf diese Weise gesteuert, sondern auch die solcher befruchteter Zygoten, an deren Entstehung ein durch Röntgenstrahlen geschädigter Kern beteiligt ist. Deshalb entwickeln sich an manchen Müttern zahlreiche mehr oder weniger abnorme tetraploide Keimlinge, während andere nur wenige oder gar keine Tetraploiden hervorbringen. Es ist also anzunehmen, daß Agenzien gebildet werden können, die eine durch Strahlen hervorgerufene Entwicklungshemmung aufheben. Diese Wirkung muß jedoch von der Anregung der Entwicklung einer unbefruchteten Eizelle unabhängig sein, es müssen also zwei verschiedene Systeme existieren, die die Samenbildung steuern. Nur so ist es zu verstehen, daß nach Bestäubung mit strahlengeschädigtem Pollen manche Pflanzen vorwiegend haploide Nachkommen hervorbringen, während sich an anderen Pflanzen befruchtete und unbefruchtete Eizellen in wechselnden Zahlenverhältnissen weiterentwickeln.

E. Summary

In an autotetraploid strain of a homozygous *Oenothera hookeri* 551 polyhaploids were induced by pollination with X-rayed pollen. Among 38 tetraploid mothers 5 brought 75–100% secondary diploids; 11 plants produced not more than 0–10%, 2 plants gave no seed at all and the rest brought diploid and tetraploid progeny in amounts varying from 10–75%. The number of normal or abnormal tetraploids varied as well, the total size of the single progeny ranging from 0–645.

Thus there is an influence of the mother on the development of the egg cell, which occurs without fertilisation but as well after fertilisation by a damaged pollen nucleus.

Spontaneously haploids occur also in the diploid strains, and it should be marked, that the polyhaploids bring forth about twice the amount of haploids which is produced by the normal diploid strain. In diakinesis the haploids form 7 univalents

and occasionally bivalents, which may result 1) from pairing between small homologous segments situated on non-homologous chromosomes; or 2) from pairing between non-homologous segments; or 3) from reunion of chromatids broken by intracellular mutagenic conditions caused by haploidy.

Maternal origin of the polyhaploids is probable because of the different segregation ratios in the progeny of different mothers due to a simplex-, duplex- or triplex-heterozygotic condition with respect to a reciprocal translocation.

Literatur

- CHASE, S. S.: Techniques for isolating monoploid maize plants. *Amer. J. Bot.* **34**, 582 (1947).
- CHASE, S. S.: Monoploid frequencies in a commercial double cross hybrid maize and its component single cross hybrids in inbred lines. *Genetics* **34**, 328–332 (1949a).
- CHASE, S. S.: The reproductive success of monoploid maize. *Amer. J. Bot.* **36**, 795–796 (1949b).
- CHASE, S. S.: Monoploids in maize. In: J. W. GOWEN, *Heterosis*, p. 389–399. Iowa State Coll. Press 1952.
- CHASE, S. S.: Cytoplasmic replacement through androgenesis in maize. *Proc. XI. Int. Congr. Genet.* **1**, 229 (1963).
- CLAUSEN, R. E., and W. E. LAMMERTS: Interspecific hybridisation in *Nicotiana*. X. Haploid and diploid merogony. *Amer. Nat.* **43**, 279–282 (1929).
- COE, E. H., Jr.: A line of maize with high haploid frequency. *Amer. Nat.* **93**, 381–382 (1959).
- DUARA, B. N., and G. L. STEBBINS, Jr.: A polyhaploid obtained from a hybrid derivative of *Sorghum halepense* × *S. vulgare* var. *sudanense*. *Genetics* **37**, 369–374 (1952).
- EAST, E. M.: The production of homozygotes through induced partenogenesis. *Science* **72**, 148–149 (1930).
- EHRENSBERGER, R.: Versuche zur Auslösung von Haploidie bei Blütenpflanzen. *Biol. Zbl.* **67**, 537–546 (1948).
- ELLIOTT, F. C., and P. C. WILSON: A fertile polyhaploid of *Bromus inermis*. *J. Heredity* **39**, 377–380 (1948).
- GERASSIMOVA, H.: Experimentell erhaltene haploide Pflanzen von *Crepis tectorum*. *Planta* **25**, 696–702 (1936).
- GOODSELL, S. F.: Male sterility in corn by androgenesis. *Crop Sci.* **1**, 227–228 (1961).
- IVANOV, M. A.: Experimental production of haploids in *Nicotiana rustica* L. *Genetica* **20**, 295–307 (1938).
- IVANOVSKAJA, E. V.: A haploid plant of *Solanum tuberosum* L. *Compt. Rend. Acad. Sci. U.R.S.S.* **24**, 517 (1939).
- KAPPERT, H.: Erbliche Polyembryonie bei *Linum usitatissimum*. *Biol. Zbl.* **53**, 276 (1933).
- KAPPERT, H.: Die Bedeutung der Polyploidie in der Cyclamenzüchtung. *Züchter* **13**, 106–114 (1941).
- KEHR, A. E.: Monoploidy in *Nicotiana*. *J. Hered.* **42**, 107–112 (1951).
- KIMBER, G.: The basis of the diploid-like meiotic behaviour of polyploid cotton. *Nature* **191**, 98–100 (1961).
- KIMBER, G., and R. RILEY: Haploid Angiosperms. *The Bot. Rev.* **29**, 480–531 (1963).
- KISCH, R.: Morphologie und Zytologie haploider Pflanzen von *Epilobium hirsutum*. *Z. f. Bot.* **36**, 513–537 (1940).
- KOSTOFF, D.: An androgenetic *Nicotiana* haploid. *Z. Zellf.* **9**, 640–642 (1929).
- KOSTOFF, D.: The problem of haploidy (Cytogenetic studies in *Nicotiana* haploids and their bearing on some other cytogenetic problems). *Bibl. Genet.* **13**, 1–148 (1942).
- LINNERT, G.: Untersuchungen an hemiploiden Nachkommen Autotetraploider. I. Der Verteilungsmodus einer reziproken Translokation und die daraus folgende Erhöhung der Heterozygotenfrequenz in der Nachkommenschaft von Duplex-Heterozygoten. *Z. Vererbungsl.* **93**, 389–398 (1962).
- MÜNTZING, A.: Polyploidy from twin seedling. *Cytologia, Fujii Jub. Vol.*, 211–227 (1937).
- NEI, M.: The efficiency of haploid methods of plant breeding. *Heredity* **18**, 95–100 (1963).
- OFHLKERS, F.: Genphysiologische Untersuchungen zum Vitalitätsproblem I. *Z. f. Bot.* **35**, 271–297 (1940).
- OKAMOTO, M., and E. R. SEARS: Chromosomes involved in translocations obtained from haploids in common wheat. *Canad. J. Genet. a. Cytol.* **4**, 24–30 (1962).
- RILEY, R.: The diploidisation of polyploid wheat. *Heredity* **15**, 407–429 (1960).
- SILOW, R. A., and S. G. STEPHENS: Twinning in cotton. *J. Heredity* **35**, 76–78 (1944).
- WETTSTEIN, F.: Untersuchungen zur plasmatischen Vererbung. I. *Linum*. *Biol. Zbl.* **65**, 149–166 (1946).