

Plastomabhängige Pollensterilität bei *Oenothera**

GERHARD GÖPEL

Botanisches Institut der Universität Düsseldorf (BRD)

Plastome Dependent Pollen Sterility in *Oenothera*

Summary. Pollen in which the genome complexes *flavens* (derived from *Oe. suaveolens*) or *gaudens* (derived from *Oe. lamarckiana*) are combined with *parviflora* plastids (plastome IV) fails to germinate even though it is well developed otherwise. This inability to germinate, however, is not always complete. Those exceptional pollen grains which do germinate do not get this ability by a change of their genome. The germination rate varies modificatively. Furthermore it has clearly been demonstrated that the degree of sterility is influenced by the genotype of the sporophyte. But this influence of the diploid sporophyte on the haploid gametophyte does not go as far as to completely suspend differences in germination behaviour of pollen with plastome IV on the one hand and of (normal) pollen with other plastome types on the other hand.

Einleitung

An der Gattung *Oenothera* konnte besonders überzeugend gezeigt werden, daß ein Teil der genetischen Information in den Plastiden lokalisiert ist, von Renner (1934) Plastom genannt. Allein in der Untergattung *Eu-Oenothera* gibt es fünf verschiedene Plastome, die auf zehn Großarten verteilt sind.

Bei der genetischen Analyse des Plastoms von *Oenothera* fand Stubbe (1959, 1960), daß bestimmte haploide Genomkomplexe¹, wenn sie mit einem bestimmten Plastom kombiniert werden, keimungsunfähigen Pollen bedingen, welcher im übrigen gut entwickelt ist. Es handelt sich u. a. um die aus den Arten *Oe. lamarckiana*, *Oe. suaveolens* und *Oe. bauri* stammenden Komplexe *gaudens*, *flavens* und *undans* in Verbindung mit *parviflora*-Plastiden (= Plastom IV). Sind dieselben Komplexe aber mit den übrigen Plastomen (I, II, III, V) kombiniert, so entwickelt sich normal keimfähiger Pollen. Das Phänomen ist bereits aus Untersuchungen von Renner (1919a) bekannt, der bei Kreuzungsexperimenten festgestellt hatte, daß der Komplex *gaudens* im Pollen inaktiviert wird, wenn er in das Cytoplasma von *Oe. muricata* eingelagert worden ist. Seinerzeit war es nicht möglich, eine genauere Lokalisation der extrachromosomalen Erbkomponente vorzunehmen. Renner maß diesem Zusammenwirken von Genotyp und Plasmotyp eine besondere Bedeutung bei der Entstehung der „Heterogamie“ der komplexheterozygotischen *Oenothera*-Arten bei. Unter diesem vorübergehend in Vergessenheit geratenen Gesichtspunkt wurde das Phänomen erneut von Stubbe (1964) als Evolutionsmechanismus diskutiert.

* In ausführlicherer Form Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Köln.

¹ Die bei der Bildung der Keimzellen auftretende Erbfaktoren-Segregation besteht nach Renner (1917) bei komplexheterozygotischen Bastarden nicht mehr in einer Trennung von Einzelfaktoren, sondern von Faktoren-„Komplexen“. Die strukturelle Grundlage ergibt sich aus multiplen reziproken Translokationen zwischen den Chromosomen. Außerdem ist der Mechanismus des Crossing-over bezüglich der artunterscheidenden Gene extrem unterdrückt.

Die Evolutionsforschung an *Oenothera* versucht herauszufinden, wie bei den heterogamen Arten die Inaktivierung jeweils eines der beiden Komplexe ausgelöst wurde. Vor allem erhebt sich die Frage, ob die einzelnen Mechanismen gleichzeitig mit der Entstehung der betreffenden Bastardart in Funktion traten oder ob sie erst allmählich entwickelt wurden. Die Inaktivierung eines Komplexes im Pollen kann bei den einzelnen Arten auf verschiedenen Wegen erreicht werden. Der Erwerb von „Pollenletalfaktoren“ stellt z. B. eine Möglichkeit dar (vgl. Renner 1946). Für die *parviflora*-Arten neigt Stubbe (1964) zu der Annahme, daß der „Eizellenkomplex“ ursprünglich durch seine Unfähigkeit, in der männlichen Haplophase mit dem Plastom IV harmonisch zusammenzuwirken, polleninaktiv wurde. Zusätzlich konnte dieser Zustand dann durch das spätere Auftreten von Pollenletalfaktoren weiter fixiert werden.

Auf der Narbe und während der Pollenschlauch das Griffelgewebe durchwächst, finden Wechselwirkungen zwischen dem Gewebe des bestäubten Griffels und dem Pollenkorn bzw. Pollenschlauch statt. In besonderen Fällen kommt es zu Unverträglichkeitsreaktionen, durch welche sich auch in der Gattung *Oenothera* zu beobachtende Fälle von Kreuzungs- und Selbststerilität erklären lassen (Emerson 1938; Steiner 1956, 1957; Hecht 1964, 1965; Schultz 1962; Arnold und Fellenberg 1965). Bei der plastomabhängigen Polleninaktivierung wirkt jedoch kein derartiger „Unverträglichkeits“-Mechanismus. Denn wenn man die Narben von idiotypisch sehr verschiedenen Pflanzen mit inaktivem Pollen bestäubt, erhält man stets das gleiche Ergebnis. Außerdem ist Pollen aus weiß mutierten Sektoren einer grün (=Plastom IV)/weiß (z. B. mutiertes Plastom II) gescheckten Pflanze auf den Narben derselben Pflanzen immer normal keimfähig; somit ist das Vorhandensein von mendelnden Selbststerilitätsgenen ausgeschlossen. Für die Keimungsunfähigkeit des Pollens spielt es also keine Rolle, welche genetische Konstitution eine mit ihm bestäubte Narbe besitzt.

Schon Stubbe (1959) hatte jedoch festgestellt, daß diese Art der Polleninaktivierung nicht immer voll-

kommen ist. Einzelne Pollenkörner sind ausnahmsweise keimfähig und führen zur Befruchtung und Samenbildung. Im folgenden soll geprüft werden, ob diese „Ausreißer“ erblich verändert sind oder ob es sich hierbei um eine umweltabhängige oder entwicklungsbedingte Modifikation handelt. Als Ursachen für erbliche Abänderungen kommen Genom- oder Plastommutationen in Betracht; bei den Komplexheterozygoten kann aber auch mit einem relativ seltenen Genaustausch zwischen den beiden Partnerkomplexen gerechnet werden, was einer Erbänderung gleichkäme. Bisher mußte man nach den Ergebnissen von Renner (1919a, 1919b, 1929) und Stubbe (1959) zu der Ansicht kommen, daß die plastomabhängige Pollensterilität ein allein durch die Haplophase des Gametophyten determiniertes Merkmal sei. Doch hat Renner (1919a) schon darauf hingewiesen, daß u. U. auch mit einem Einfluß des diploiden Sporophyten auf die Pollenentwicklung zu rechnen ist. Eine stoffwechselphysiologische Beeinflussung des ♂ Gametophyten ist leicht zu verstehen. Es wäre auch denkbar, daß die beiden Pollentypen einer Komplexheterozygoten sich während ihrer Entwicklung in der Anthere gegenseitig beeinflussen. Mit derartigen Einflüssen ist bei der Untersuchung der Variabilität der Keimfähigkeit also zu rechnen.

Auf eine Lokalisation der an der Polleninaktivierung beteiligten Gene wurde in der vorliegenden Untersuchung verzichtet und statt dessen der gesamte Genomkomplex als Einheit betrachtet.

Material und Methodik

Für die Untersuchung der genetischen Ursachen der Variabilität der plastomabhängigen Pollensterilität wurden Pflanzen verschiedener genetischer Konstitution benutzt. Es lassen sich drei Gruppen unterscheiden:

1. Homozygoten (wie z. B. *flavens-flavens*); sie liefern einförmigen Pollen.
2. Isogame Komplexheterozygoten; davon kommen nur solche in Betracht, bei denen beide Komplexe polleninaktiv sind (wie z. B. *gaudens-flavens*).
3. Heterogame und halbheterogame Komplexheterozygoten (wie z. B. *albicans-flavens* und *albicans-gaudens*); darin wird der Eizellenkomplex (*albicans*) durch 50% Pollenkörner repräsentiert, die im allgemeinen überwiegend inhaltlos (taub) sind.

Für die Erhaltung der plastomabhängig pollensterilen Linien eignen sich am besten sektorial gescheckte Pflanzen mit zwei verschiedenen Plastidensorten. Der eine Sektor enthält ergrünungsfähige *parviflora*-Plastiden (Plastom IV), welche die Keimungsunfähigkeit des Pollens bedingen. Der andere Sektor besitzt eine mutierte, nicht ergrünungsfähige Plastidensorte der Plastome I oder II (z. B. I γ oder II α , II β , II γ), die dafür sorgt, daß die Blüten aus diesen bleichen Teilen der Pflanze keimfähigen Pollen produzieren. Für die Fortpflanzung werden Narben aus Blüten des grünen Sektors mit Pollen aus Blüten des bleichen Sektors bestäubt. Dann ist die Nachkommenschaft wieder gescheckt, denn auch der Pollen überträgt Plastiden in die Zygote (Lit. s. Stubbe 1962). Die Grenze zwischen grünem und bleichem Gewebe ist zugleich die Grenze für Blüten mit keimungsunfähigem und keimfähigem Pollen (s. auch Stubbe 1960).

Die Pollensterilität der Pflanzen wurde zum Teil überprüft durch Beurteilung des Samenansatzes nach Selbst-

stung grüner Zweige (Plastom IV) und zum Teil durch Beobachtung der Pollenkeimung auf der Narbe: Dazu wird der zu prüfende Pollen auf einer reifen Narbe in dünner Schicht ausgestrichen. Die Blüte mit einer so bestäubten Narbe steht anschließend mehrere Stunden lang in einer feuchten Kammer; dann wird die Narbe in 60%igem Äthanol fixiert und auf einem Objektträger mit Jod-Jodkalium-Lösung (nach Lugol) behandelt. Durch die blaufärbte, in Pollenkörnern und Pollenschläuchen reichlich vorhandene Stärke läßt sich mikroskopisch auszählen, wieviele Pollenkörner auf einem Narbenlappen vorhanden sind und wieviele davon keimten.

Bei der Prüfung des Sterilitätsgrades durch Selbstung mit inaktivem Pollen ist zu beachten, daß der Samen-gehalt einer Frucht infolge einiger ausnahmsweise keimender Pollenkörner erhöht werden kann, wenn die Narbe sehr reich bestäubt wird. Da ihre Kapazität jedoch räumlich begrenzt ist, läßt sich kein beliebig hoher Samenansatz erzielen. Wie die Erfahrung zeigte, ist die Größe des Samenansatzes wirklich korreliert mit der Keimungsfähigkeit der Pollenkörner, wenn diese Häufigkeit ca. 20–25% nicht überschreitet. Die Narben brauchen nicht immer mit genau gleichen Pollenmengen bestäubt zu sein; wichtig ist nur, daß ausreichend bestäubt wurde.

Zur Herstellung des zu untersuchenden Materials standen verschiedene *albicans-flavens*- und *gaudens-flavens*-Bastarde mit Plastom IV und mutiertem Plastom II zur Verfügung, die Herr Professor W. Stubbe mir aus seinem *Oenothera*-Sortiment überlassen hatte. Durch Kreuzung untereinander (grün \times weiß) entstanden noch die Kombinationen *gaudens-flavens* und *flavens-flavens*. Letztere entstand auch durch Kreuzung von *albicans-flavens* grün \times dieselbe weiß, wenn der *flavens*-Komplex frei von Letalfaktoren war, wie es bei den Sippen von Friedrichshagen und Fünfkirchen der Fall ist. Die *flavens*-Komplexe der übrigen *suaveolens*-Sippen (Fontainebleau und Grado) tragen Letalfaktoren, die aber nicht identisch sind; *flavens* (Grado) \cdot *flavens* (Fontainebleau) ist somit lebensfähig (Stubbe 1953). Die Homozygoten aus *suaveolens*-Sippen, die noch frei von sporophytischen Letalfaktoren sind, haben jedoch den Nachteil verminderter Vitalität, wodurch auch die Produktion eines homogenen Pollenmaterials beeinträchtigt wird. Die Vitalität dieser Homozygoten kann man aber erhöhen, wenn man ihnen Gene bzw. Chromosomen aus anderen Komplexen (z. B. aus *albicans*) einfügt (Stubbe 1953). Die Kreuzungen, mit denen die Züchtung besonders vitaler *flavens-flavens*-Homozygoten erfolgen sollte, wurden früher beschrieben (Göpel 1967, S. 7 ff.).

An dem Ausgangsmaterial ließen sich die 1959 von Stubbe berichteten Ergebnisse im wesentlichen bestätigen: Bei Bestäubung von Blüten mit *flavens*- oder *gaudens*-Pollen mit Plastom IV unterblieb im Fruchtknoten der Samenansatz, oder er war zumindest stark reduziert. Im Verlaufe dieser Arbeit wurden die *flavens*-Komplexe in zahlreichen Bastarden kombiniert. Dabei traten ebenfalls zahlreiche *albicans-flavens*-Verbindungen auf. Auch der *gaudens*-Komplex, dessen Chromosomen sich mit denen von *flavens* in der Diakinese zu einem 12er Ring und einem Bivalent anordnen, wurde häufig zu Kreuzungen benutzt, aus denen *albicans-gaudens*- und *albicans-flavens*-Bastarde entstanden.

Diese zahlreichen Kreuzungen lieferten ein geeignetes Material, an dem die Variabilität des Merkmals Pollensterilität an vielen Pflanzen mit unterschiedlicher Entstehungsgeschichte studiert werden konnte.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Pollensterilitätsprüfungen, die an den zahlreichen Pflanzen aus den Aufzuchten der umfangreichen Kreuzungsexperimente vorgenommen

wurden, sind als Teil der Dissertation (Göpel 1967) ausführlich beschrieben und dargestellt worden. Der Übersichtlichkeit halber sollen diese Ergebnisse hier nur als Auszug und mehr summarisch wiedergegeben werden.

1. *Albicans-flavens*-, *flavens-flavens*- und *gaudens-flavens*-Verbindungen. Die Kreuzung 60/109: *flavens-s-flavens*-IV (59/381) × ^G*albicans* · *xa-flavens*^{Fü}-II γ² (58/556) lieferte eine Reihe z. T. panaschierter *flavens-flavens*-Typen, die bei Selbstung im grünen Teil gar keine oder nur sehr wenige Samen ansetzten. Um zu prüfen, ob die Nachkommen diese Eigenschaft wie die Mutterpflanze beibehielten, wurde eine Pflanze, die im grünen Sektor bei Selbstung sehr wenig Ansatz zeigte, grün × dieselbe weiß gekreuzt³. Daraus entstanden viele *flavens-flavens* (62/822). Von 11 geprüften Pflanzen dieser Population waren 9 etwas pollenfertil (80–100 Samen/Frucht) und 2 pollensteril. Die beiden pollensterilen Pflanzen waren leider nicht panaschiert, so daß sie sich zur Überprüfung ihrer Pollensterilität in einer weiteren Generation nicht durch die Kreuzung grüner mal weißer Zweig vermehren ließen. Deshalb wurden einige zwar etwas fertile, aber dafür panaschierte Pflanzen grün × dieselbe weiß gekreuzt (63/945, 63/950, 63/951). Auf Grund des vorhergehenden Befundes wurde erwartet, daß zumindest ein Teil wieder pollensteril war. Die Nachkommen spalteten in zwei *flavens-flavens*-Typen, wovon der eine früher als der andere blühte. Auf diese Spaltung wird noch genauer eingegangen (s. S. 114). Beide Typen erwiesen sich manchmal als pollensteril (63/945, 63/950) und manchmal als etwas pollenfertil (63/945, 63/951). Die durch Selbstung einer etwas pollenfertilen grünen Pflanze der Absaat 62/822 entstandenen Samen (ausgesät wurde der Inhalt einer Frucht = 81 Samen) ergaben auch Früh- und Spätblüher (63/943), die in gleichem Maße wie die Mutterpflanze etwas pollenfertil waren.

Die Anlagerung von *flavens*-Komplexen aus verschiedenen etwas pollenfertilen *flavens-flavens*-Pflanzen an *albicans* ergab sowohl pollensterile *albicans-flavens* (63/930, 63/932) als auch etwas pollenfertile *albicans-flavens* (63/972).

Verbindet man die *flavens*-Komplexe mit *gaudens*, so sind die *gaudens-flavens*-Pflanzen unterschiedlich pollensteril. Nahezu normal⁴ setzten sie nach Selbstung in Sektoren mit Plastom IV z. B. in der Kreuzung 63/947 an, obwohl *flavens* einem pollensterilen Individuum der Nr. 62/822 entstammte. Auch vom *gaudens*-Komplex war erwartet worden, daß er mit

² G und Fü geben die Komplex-Herkunft aus den Sippen Grado bzw. Fünfkirchen der *Oe. suaveolens* an; s und xa sind Gene, die aus dem Komplex *albicans* stammen (Stubbe 1953).

³ Vom Genotyp her gesehen stellen diese Kreuzungen zwischen Blüten von grünen und weißen Zweigen Selbstungen dar.

⁴ Ein gewisser Teil der Pollenkörner hatte also gekeimt (vgl. S. 112).

Plastom IV inaktiven Pollen bildete; denn in anderen Fällen (Stubbe 1959) hatte er sich in Verbindung mit *albicans* als polleninaktiv erwiesen. Die durch Selbstung einer pollenfertilen *gaudens-flavens*-Pflanze aus 63/947 gewonnenen Nachkommen (*gaudens-flavens* 64/35) ergaben bei Selbstung, ganz im Gegensatz zur Mutterpflanze, keinen normalen Samensatz (nur wenige Samen pro Frucht). Im *gaudens-flavens*-Bastard der Kreuzung 63/946 entstammten die *flavens*-Gameten einem etwas pollenfertilen Individuum der Nr. 62/822. Diese *gaudens-flavens*-Pflanzen waren pollensteril.

Eine andere pollensterile *flavens-flavens*-Pflanze der Absaat 62/822, die bei Selbstung nicht ansetzte, wurde mit dem *flavens*-Komplex der mit Plastom IV ebenfalls pollensterilen *albicans-flavens* 62/835 gekreuzt. Daraus entstanden pollenfertile *flavens-flavens*-IV-Pflanzen (63/949). Der *flavens*-Komplex aus *albicans-flavens* 62/835 hatte sich in anderen Kreuzungen immer als zuverlässig polleninaktiv erwiesen.

Zusammenfassend läßt sich über die Pollensterilität in den Nachkommenschaften der vorstehend geschilderten Kreuzungen also feststellen: Wenn *albicans-flavens*- und *flavens-flavens*-Pflanzen, die über einen längeren Zeitraum ihrer Individualentwicklung in Sektoren mit Plastom IV pollensteril waren, grün mal dieselbe weiß gekreuzt wurden, dann konnten in diesen Nachkommenschaften sowohl pollensterile als auch pollenfertile Pflanzen nebeneinander vorkommen.

Das gleiche Ergebnis liefern Untersuchungsreihen mit den *flavens*-Komplexen, die aus den Kreuzungen 60/121 = ^G*albicans* · *s-xa-flavens*^{Fü}-IV 59/207 × ^G*albicans* × *s-flavens*-II β 59/495) und 62/823 = ^G*albicans* · *s-flavens*-IV 60/121 × *flavens* · *s-flavens*-II β 60/107) stammen (s. Göpel 1967).

Von den heterozygotischen *flavens-flavens*-Typen der Absaat 60/107, die aus der Kreuzung *flavens-flavens*-IV (59/381) × ^G*albicans* · *s-flavens*-II β (58/495) hervorgingen, wurde eine besonders vitale Pflanze für weitere Kreuzungen ausgewählt. Sie setzte nach Selbstung in grünen Sektoren einige Samen an; ihr Pollen keimte zu 7%. Somit war sie etwas pollenfertil. Aus dieser Pflanze entstanden durch Kreuzung grün × dieselbe weiß wieder *flavens-flavens*-Bastarde, die mit Plastom IV jedoch pollensteril waren (62/821). Zwei Pflanzen davon wurden mit ihren weißen Sektoren (Plastom II β) als Väter zu Kreuzungen mit zwei ebenfalls pollensterilen *albicans-flavens*-IV-Pflanzen (62/833) verwendet. In diesen beiden Parallelkreuzungen entstanden *albicans-flavens* und *flavens-flavens*. In der einen Nachkommenschaft (63/956) waren von zwei geprüften *albicans-flavens*-IV-Pflanzen eine pollensteril und eine etwas pollenfertil. In der anderen Nachkommenschaft (63/955) waren zwei geprüfte *albicans-flavens*-IV-Pflanzen etwas pollenfertil.

Die neben *albicans-flavens* noch entstehenden *flavens-flavens*-Pflanzen spalteten in einen früh- und

einen spätblühenden Typ (vgl. S. 113 u. S. 114/2). Die Häufigkeit, mit der der Pollen keimte, betrug an drei frühblühenden Pflanzen 1%, 5% und 9% und an zwei spätblühenden Pflanzen 16% und 30%, was nach Selbstung bei den Frühblühern geringen und bei den Spätblühern einen fast normalen Samenanatz ergeben würde. Der Spätblüher der Parallelkreuzung (63/956) setzte nach Selbstung auch etwas an. Kreuzt man die beiden Typen in der Absaat 63/955 untereinander (grün \times weiß), so spaltet die Nachkommenschaft wieder in dieselben Typen, und beide geben bei Selbstung in grünen Sektoren relativ guten, jedoch weniger als normalen Ansatz (64/26). In einem anderen *albicans-flavens*-Bastard (63/931) erwies sich *flavens* aus 62/821 aber als absolut polleninaktiv. Durch Kreuzung grün \times weiß dieser polleninaktiven *albicans-flavens* wurde eine homozygotische *flavens-flavens* mit Plastom IV hergestellt. Es entstand der spätblühende Typ, der bei Selbstung normalen Samenanatz ergab. Die ebenfalls entstehende *albicans-flavens* mit dem identischen *flavens*-Komplex war dagegen wieder völlig pollensteril (64/9).

Die Ergebnisse dieser Kreuzungen zeigen vor allem, daß die Auffassung, nach der die Pollensterilität allein haplontisch determiniert sein soll, nicht zutreffen kann (vgl. auch andere Kreuzungen: Göpel 1967, S. 16 ff.).

Entsprechend den Experimenten mit dem *flavens*-Komplex wurde auch das Sterilitätsverhalten des *gaudens*-Komplexes mit Plastom IV — zunächst in Verbindung mit *flavens* — untersucht. Das Ausgangsmaterial dafür waren vor allem die Populationen 60/132 = (*gaudens-flavens*-IV 58/65 \times *albicans-xa-flavens*^{Fü}-II γ 57/228), 60/133 = (*gaudens-flavens*-IV 58/65 \times *s-suaveolens*^{H²} 5 052) und 60/134 = (*gaudens-flavens*-IV 58/65 \times *s-xa-suaveolens*^{Fü} 048). Sie unterscheiden sich nur in den von verschiedenen Vätern gelieferten *flavens*-Komplexen. In allen drei Kreuzungen waren die geprüften *gaudens-flavens*-IV- und *flavens-flavens*-IV-Pflanzen pollensteril. Neben dem besonders kräftigen *gaudens-flavens*-Typ erwiesen sich auch die *flavens-flavens*-Kombinationen als relativ vital. Aus der Kreuzung *gaudens-flavens* 60/133 mit *flavens-flavens* 60/107 (vgl. S. 113) entstanden wieder die Bastarde *gaudens-flavens* und *flavens-flavens* (62/827). Obwohl der Vater (60/107) etwas Pollenkeimung gezeigt hatte, waren die *gaudens-flavens*-Pflanzen (62/827) pollensteril. Die Sterilität des *flavens*-Komplexes aus 62/827 wurde in weiteren Neukombinationen mit *albicans*- und *flavens*-Komplexen anderer Herkunft weiter überprüft: Die Nachkommen waren teils steril und teils etwas fertil.

Die Aussaat 62/827 wurde ein Jahr später wiederholt: 63/975. Die *gaudens-flavens*-Pflanzen (nur diese wurden zum Blühen gebracht) verhielten sich nicht wie die Pflanzen der vorjährigen Aussaat, son-

⁵ Diese *Oe. suaveolens*- Sippe stammt aus Hirschgarten-Friedrichshagen bei Berlin (Stubbe 1953).

dern sie waren relativ fertil (d. h. ein gewisser Prozentsatz der Pollenkörner hatte gekeimt): Nach Selbstung grüner Zweige mit Plastom IV setzte eine Pflanze fast normal und eine zweite mittelmäßig an. Aus den 94 Samen einer Kapsel der zweiten Pflanze entstanden 61 *gaudens-flavens*- und 15 *flavens-flavens*-Pflanzen (64/41), deren *flavens*-Komplexe alle identisch sind⁶ (wegen Selbstung). Alle *flavens-flavens* entsprachen dem spätblühenden Typ und setzten nach Selbstung normal an, waren also ausreichend pollenfertil. *Gaudens-flavens* verhielt sich anders: Von den geselbsteten Pflanzen zeigten einige keinen Ansatz, andere zeigten nur wenig Ansatz in ein paar Früchten.

Es zeigt sich also, daß (1.) sich die Pflanzen ein und derselben Kreuzungsnachkommenschaft auch bei Absaat in verschiedenen Jahren hinsichtlich der Pollensterilität unterschiedlich verhalten. Wiederum muß man annehmen, daß (2.) die genetische Determination der Pollensterilität nicht allein durch gametophytische Erbunterschiede, sondern auch durch die des Sporophyten bewirkt wird. Dies mag folgendes Beispiel noch besonders verdeutlichen:

Durch die Rückkreuzung *gaudens-flavens*-IV (60/133) \times *flavens-flavens*-II β (62/827) (vgl. oben) entstanden einige pollensterile und vitale *flavens-flavens*-Pflanzen. Es sollte versucht werden, daraus *flavens-flavens*-Homozygoten zu züchten, die ebenfalls pollensteril waren. Eine Pflanze war gescheckt und deshalb als Vater für Kreuzungen geeignet: Die durch Kreuzung dieser Pflanze mit *albicans-percurvans*-IV entstandene *albicans-flavens*-IV/II β (64/46) war in den grünen Sektoren pollensteril. Eine panschierte Pflanze dieser Absaat wurde grün \times dieselbe weiß gekreuzt. In der Nachkommenschaft (65/67) hatte *albicans-flavens*-IV das Merkmal Pollensterilität bewahrt. Die gleichzeitig entstandene homozygotische *flavens-flavens* — mit dem identischen *flavens*-Komplex — war spätblühend und mit Plastom IV wider Erwarten weitgehend pollenfertil.

2. Die spätblühenden *flavens-flavens*-Pflanzen. Der schon weiter oben erwähnte spätblühende *flavens-flavens*-Typ unterschied sich von den bei Renner (1942/43, 1950) und Stubbe (1953) beschriebenen normalen *flavens-flavens*-Verbindungen am auffälligsten dadurch, daß er im Freiland frühestens im September blühte. Deshalb wurde er als „Spätblüher“ bezeichnet⁷.

Leicht erkennbar sind die Spätblüher auch an der buschigen gedrängten Wuchsform, den besonders in der oberen Sproßhälfte dicht stehenden kurzen Seitentrieben und den geringen Abständen zwischen den Blättern. Gegenüber der normalen *flavens-flavens*, die im Vergleich als Frühblüher bezeichnet wird, sind weitere Erkennungs-

⁶ In bezug auf die 5-6-Chromosomen, die in *gaudens-flavens* ein Paar bilden, wurde bisher nie eine Spaltung festgestellt.

⁷ Zwischen dem späteren Blühbeginn und der abnehmenden Tageslänge besteht kein Zusammenhang, da die „Spätblüher“ auch nach Anzucht im 16-Stunden-Langtag in der Klimakammer zur Blüte kommen.

merkmale schmalere Rosettenblätter, kürzere Hypanthien, stärker behaarte Kelche und größere Brüchigkeit der Stengel. Wegen dieser Merkmale erinnern die Spätblüher an *Oe. deserens*, eine Translokationshomozygote aus *Oe. lamarckiana* (Renner 1943).

Bei der Zygotenbildung sind Gameten mit dem *flavens* (spätblühend)-Komplex gegenüber normalen *flavens*-Komplexen bevorzugt: höchstwahrscheinlich durch schnelleres Pollenschlauchwachstum (Göpel 1967). Eine zusätzliche Gonenkonkurrenz zwischen den beiden *flavens*-Typen bei der Eizellenbildung wäre jedoch auch noch denkbar.

Die Spätblühereigenschaften werden rezessiv vererbt durch einen Faktor oder eine Faktorengruppe, die der betreffende *flavens*-Komplex neu erworben haben muß, sei es durch Mutation oder sei es durch Genaustausch mit einem anderen Komplex. Alle *flavens*-Komplexe mit dem Merkmal „spätblühend“ gehen auf einen *deserens-flavens*-Bastard zurück (1950 Nr. 73). Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß zwischen dem *flavens*- und dem *deserens*-Genom ein Austausch stattgefunden hat (ausführliche Begründung s. Göpel 1967).

In *flavens-flavens*-Populationen, die in Früh- und Spätblüher spalteten, ergab die Prüfung der Pollensterilität, daß die Spätblüher nach Selbstung in grünen Sektoren (Plastom IV) nahezu normal ansetzten, während der Ansatz bei den Frühblühern deutlich reduziert war. Mikroskopische Bestimmungen der Keimungshäufigkeiten bestätigten den Selbstungsbefund: Beim Frühblüher keimten zwischen 6% und 22% — im Mittel 11,5% — und beim Spätblüher zwischen 15% und 45% — im Mittel 30,1% — der Pollenkörner je nach Individuum.⁸ Der Pollen des Spätblühers keimt im Mittel also rund dreimal so häufig wie der des Frühblühers.

Die durch Selbstung entstandenen Samen von einigen Pflanzen der beiden Typen wurden ausgesät. An Stichproben wurde geprüft, ob die Keimungshäufigkeiten des Pollens der Nachkommen dieselben sind wie die der Mutterpflanzen, oder ob das Merkmal wieder in ähnlicher Weise variiert wie bei der Population, der die Mutterpflanze angehörte. Die Auszählungen zeigten, daß letzteres der Fall ist.

3. Die Pollensterilität des *gaudens*-Komplexes in *albicans-gaudens*-Bastarden. Wenn *gaudens-flavens*-IV-Bastarde nicht ganz pollensteril sind (vgl. S. 113), kann bei Selbstungen nicht entschieden werden, ob *gaudens*- oder *flavens*-Pollenkörner keimen. Wegen Pollenschlauchkonkurrenz der beiden Genotypen (Renner 1949b, Heribert-Nilsson 1920, Harte 1961) ist es auch nicht möglich, aus der Zahl der *gaudens*- oder *flavens*-Nachkommen einer mit Mischpollen bestäubten neutralen Mutter, z. B. *albicans-percurvans*, quantitative Schlüsse zu ziehen. Deshalb wurde ebenso wie der *flavens*-Komplex in *albicans-flavens* auch der *gaudens*-Komplex in *albicans-gaudens* auf seine Pollenkeimfähigkeit geprüft.

Mehrere 1959 von Stubbe übernommene *albicans-gaudens*-IV-Pflanzen (60/145, 60/164, 60/166) erwiesen sich in ihrem Pollenverhalten auf Grund des Samenansatzes nach Selbstung als verschieden. Auch

⁸ In diesem Beispiel waren 32 Früh- und 27 Spätblüher untersucht worden; Einzelwerte s. Göpel 1967 S. 20 ff.

in deren Nachkommen variierte das Merkmal wieder beträchtlich (vgl. Göpel 1967, Tab. 3). Der Samenansatz konnte sogar an ein und derselben Pflanze von Frucht zu Frucht zwischen sehr gutem und gar keinem schwanken. Es ist unwahrscheinlich, daß hierfür genetische Unterschiede zwischen den *gaudens*-Komplexen in den Pollenkörnern der zur Selbstbestäubung verwendeten Pflanze verantwortlich sind. Es war nämlich nicht möglich, aus den wenigen Nachkommen einer solchen fast pollensterilen Pflanze normal pollenfertile Individuen zu gewinnen (z. B. 59/145). Das wäre aber zu erwarten gewesen, wenn ein „Sterilitätsgen“ in *gaudens* durch Crossing-over oder Mutation verändert wäre.

Ebenso eindeutig schließt ein weiteres Beispiel aus, daß die Keimfähigkeit eines gewissen Anteils der Pollenkörner von nahezu pollensterilen *albicans-gaudens*-IV-Pflanzen auf Genomabänderungen im *gaudens*-Pollen beruht: Der von Stubbe geprüfte *albicans-gaudens*-Bastard 55/134 hatte nach Selbstung in 8 Früchten nur insgesamt 33 Samen angesetzt, er war also weitgehend pollensteril (Wiederholungsaussaat: 10 Früchte mit 0 Samen). An einer Pflanze dieser Nachkommenschaft (58/S) ergab sich nach Selbstung in 2 Früchten wieder ein Ansatz von insgesamt 58 Samen, wovon jedoch 50 taub waren. Aus den restlichen 8 Samen konnten Pflanzen aufgezogen werden (60/156). Eine in dieser Absaat geprüfte Pflanze war wieder pollensteril. Hier bestätigte sich also abermals, daß eine Pflanze, die durch ein ausnahmsweise gekeimtes Pollenkorn entstanden ist, trotzdem inaktiven Pollen liefert. An weiteren *albicans-gaudens*-Bastarden bestätigte sich das bisher Gesagte.

Sofern die im Vergleich mit den geprüften *albicans-flavens*-Verbindungen relativ geringe Anzahl auf Pollensterilität geprüfter *albicans-gaudens*-Pflanzen zu einer generellen Beurteilung des *gaudens*-Pollens berechtigt, läßt sich sagen, daß der *gaudens*-Komplex mit Plastom IV sowohl inaktiv als auch etwas pollenaktiv sein kann. Dabei kommen jedoch fließende Übergänge vor. Auch aus einigen von Stubbe (1959) veröffentlichten Daten ist ersichtlich, daß *gaudens*-Pollen mit Plastom IV manchmal zu keimen vermag. Der *gaudens*-Komplex unterscheidet sich also prinzipiell nicht von dem vorher besprochenen *flavens*-Komplex.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse und Diskussion

Das Phänomen der plastomabhängigen Keimungsunfähigkeit von sonst wohlentwickelten Pollenkörnern zeigt nach den vorstehend geschilderten Ergebnissen eine größere Variation, als bisher erkannt wurde. Sie besteht darin, daß die Zahl der ausnahmsweise keimenden Pollenkörner bei verschiedenen Genotypen von Fall zu Fall schwankt.

Zunächst war zu untersuchen, ob diese Variation der Pollensterilität genetisch oder durch Entwick-

lungsbedingungen verursacht ist. Pflanzen, die über einen längeren Zeitraum ihrer Individualentwicklung als pollensteril befunden worden waren⁹, lieferten durch Kreuzung grün \times dieselbe weiß eine Nachkommenschaft, in der sowohl pollensterile als auch in gewissen Grenzen pollenfertile Pflanzen nebeneinander vorkommen können. Es konnte ausgeschlossen werden, daß die ausnahmsweise keimenden Pollenkörner ihre Keimfähigkeit einer erblichen Veränderung sei es durch Crossing-over, sei es durch Mutation verdanken. Das bedeutet, daß die Schwankungen im Anteil der keimenden Pollenkörner von äußeren Bedingungen beeinflußt werden und somit eine Modifikation darstellen.

Darüber hinaus besteht jedoch noch ein genotypischer Einfluß, der durch die Konstitution des Sporophyten bedingt ist.

Die zweiartigen Nachkommenschaften von komplexheterozygotischen *albicans-flavens*-Bastarden, die grün \times dieselbe weiß gekreuzt worden sind, bestehen aus *albicans-flavens*-Bastarden und homozygotischen *flavens-flavens*-Pflanzen: *Albicans-flavens*-IV ist wieder pollensteril, während *flavens-flavens*-IV nach Selbstung normal ansetzt, d. h. ihr Pollen besitzt einen ausreichenden Anteil keimfähiger Körner. Für die *gaudens-flavens*-Bastarde und ihre Nachkommenschaften gilt dasselbe.

Die ursprüngliche Auffassung (Stubbe 1959), daß die Pollensterilität allein haplontisch determiniert sein soll, kann demnach nicht zutreffen; sonst müßte nämlich der Pollen von *albicans-flavens*- und *flavens-flavens*-Pflanzen gleichermaßen inaktiv sein, weil die *flavens*-Komplexe identisch sind. Offenbar ist es aber so, daß die Inaktivierung von Gametophyten gleicher genetischer Konstitution (*flavens*-IV-Pollen) durch genotypisch verschiedene Sporophyten (*albicans-flavens*, *gaudens-flavens*, *flavens-flavens*) unterschiedlich beeinflußt wird. Der Einfluß des diploiden Sporophyten auf die Keimfähigkeit des Pollens geht jedoch nicht so weit, daß dadurch die bestehenden Unterschiede im Keimungsverhalten von Pollen mit Plastom IV einerseits und Plastom II bzw. anderen Plastomtypen andererseits aufgehoben werden.

Bisher kann noch nicht entschieden werden, ob diese Beeinflussung während der Pollenentwicklung vor der Reduktionsteilung (als eine Art von Prädetermination) oder während der Pollenentwicklung nach der Reduktionsteilung stattfindet. Zu beachten ist, daß sich das Merkmal „Keimfähigkeit“ nicht immer an der Gesamtheit des Pollens einer Pflanze gleichmäßig manifestierte, sondern nur einen gewissen Prozentsatz Pollenkörner betraf. Vielleicht spielt bei der Entscheidung darüber, ob ein Pollenkorn keimen wird oder nicht, auch die Länge der Zeit zwischen Reduktionsteilung und gereiftem Pollen eine Rolle.

⁹ Es konnte gelegentlich auch vorkommen, daß die Blüten an einem Individuum unterschiedlich pollenfertil waren.

Herrn Prof. Dr. W. Stubbe möchte ich für die Anregung zu diesen Untersuchungen, die Überlassung des Materials sowie für viele anregende Diskussionen herzlich danken.

Literatur

1. Arnold, C. G., Fellenberg, G.: Untersuchungen über Inkompatibilität bei *Oenothera*-Kreuzungen. *Z. Bot.* **52**, 532–538 (1965).
2. Emerson, S.: The genetics of self-incompatibility in *Oenothera organensis*. *Genetics* **23**, 190 (1938).
3. Göpel, G.: Über die plastomabhängige Pollensterilität bei *Oenothera*. Inaugural-Dissertation bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Köln 1967.
4. Harte, C.: Untersuchungen über die Gonenkonkurrenz bei *Oenothera* unter Verwendung der Testloci *fr*, *s* und *de*. *Z. Vererbungslehre* **92**, 142 (1961).
5. Hecht, A.: Partial inactivation of an incompatibility substance in the stigmas and styles of *Oenothera*. In: H. F. Linskens (editor), *Pollenphysiology and fertilization*, 1st ed. Amsterdam: North-Holland Publishing Company 1964.
6. Hecht, A.: The genetics of self-incompatibility in *Oenothera rhombipetala*. *Genetica* **36**, 159–171 (1965).
7. Heribert-Nilsson, N.: Zuwachsgeschwindigkeit der Pollenschläuche und gestörte Mendelzahlen bei *Oenothera Lamarckiana*. *Hereditas* **1**, 41–67 (1920).
8. Renner, O.: Versuche über die gametische Konstitution der *Oenotheren*. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre* **18**, 121–294 (1917).
9. Renner, O.: *Oenothera Lamarckiana* und ihre Bedeutung für die Mutationstheorie und für die Bastardforschung. *Sitzungsber. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München* **31**, 3 (1919a).
10. Renner, O.: Zur Biologie und Morphologie der männlichen Haplonten einiger *Oenotheren*. *Z. Bot.* **11**, 305–380 (1919b).
11. Renner, O.: Artbastarde bei Pflanzen. In: *Handb. d. Vererb.-Wiss.* Bd. II, A. Berlin 1929.
12. Renner, O.: Die pflanzlichen Plastiden als selbständige Elemente der genetischen Konstitution. *Ber. Verh. Sächs. Akad. Wiss. Leipzig, Math.-phys. Kl.*, **86**, 241–266 (1934).
13. Renner, O.: Über das Crossing-over bei *Oenothera*. *Flora* **136**, 117 (1942/43).
14. Renner, O.: Über die Entstehung homozygotischer Formen aus komplexheterozygotischen *Oenotheren*: II. Die Translokationshomozygoten. *Z. Bot.* **39**, 49 (1943).
15. Renner, O.: Artbildung in der Gattung *Oenothera*. *Naturwiss.* **33**, 211–218 (1946).
16. Renner, O.: Europäische Wildarten von *Oenothera*. II. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **63**, 129 (1950).
17. Schultz, M. E.: Incompatibility relationships in certain complex-heterozygotes of *Oenothera*. *Genetics* **47**, 819 (1962).
18. Steiner, E.: New aspects of the balanced lethal mechanism in *Oenothera*. *Genetics* **41**, 486–500 (1956).
19. Steiner, E.: Further evidence of an incompatibility allele system in the complexheterozygotes of *Oenothera*. *Amer. J. Bot.* **44**, 582 (1957).
20. Stubbe, W.: Genetische und cytologische Untersuchungen an verschiedenen Sippen von *Oenothera suaveolens*. *Z. Vererbungslehre* **85**, 180–209 (1953).
21. Stubbe, W.: Genetische Analyse des Zusammenwirkens von Genom und Plastom bei *Oenothera*. *Z. Vererbungslehre* **90**, 288–298 (1959).
22. Stubbe, W.: Untersuchungen zur genetischen Analyse des Plastoms von *Oenothera*. *Z. Bot.* **48**, 191–218 (1960).
23. Stubbe, W.: Sind Zweifel an der genetischen Kontinuität der Plastiden berechtigt? *Z. Vererbungslehre* **93**, 175–176 (1962).
24. Stubbe, W.: The role of the plastome in evolution of the genus *Oenothera*. *Genetica* **35**, 28–33 (1964).

Eingegangen 20. Februar 1970

Angenommen durch W. Seyffert

Dr. Gerhard Göpel
Botanisches Institut der Universität Düsseldorf
Ulenbergstr. 127
4 Düsseldorf (BRD)