

ÜBER DIE PSEUDOGAME FORTPFLANZUNG BEI POTENTILLA

von

G. GENTSCHJEFF

Laboratorium für Vererbungsforschung der Universität, Sofia

(Manuskript eingegangen am 30. August 1937)

Mit 1 Tafel.

Die Gattung *Potentilla* enthält eine Anzahl apomiktisch sich fortpflanzender Arten. Während MÜNTZING (1928) die Fortpflanzungsverhältnisse der Gattung *Potentilla* auf experimentalem Wege untersucht hatte, machte POPOFF (1935) den Versuch, gleichzeitig experimentell und zytologisch diese Erscheinungen zu erforschen. Diesen Studien zufolge erscheint die Gattung *Potentilla* als ein geeignetes Objekt für die experimentelle und gleichzeitig zytologische Untersuchung des Problems. Wenn man in Betracht zieht, dass bei der Gattung *Potentilla* die Artkreuzungen technisch leichter durchzuführen sind als bei den Gattungen *Taraxacum*, *Hieracium* u. a., wo ebenso die obligat apomiktische Fortpflanzung eine oft vorkommende Erscheinung ist, so erhellt daraus, dass die Gattung *Potentilla* sich für eine Prüfung der Anschauungen eignet, wonach als Ursache für die ungeschlechtliche Fortpflanzung die Hybridisation betrachtet wird. (ERNST 1918).

Während der Jahre 1934, '35, '36 sind zum Zwecke einer solchen Prüfung an dem genetischen Laboratorium in Sofia zahlreiche Kreuzungen zwischen verschiedenen Arten der Gattung *Potentilla* vorgenommen worden. Die vorliegende Mitteilung bezieht sich nur auf eine vergleichend embryologische Untersuchung der Arten *P. nepalensis* ($2n=42$) und *P. argyrophylla* ($2n=63$), sowie des Bastards *P. nepalensis* ($2n=42$) \times *P. splendens* ($2n=28$).

Zum Zwecke der zytologischen Untersuchungen wurden Präparate

von Blütenknospen hergestellt. Während für das Studium der Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen das Material auf 8 Mikronen geschnitten wurde, wurde dasjenige für die embryologischen Untersuchungen auf 8–25 Mikronen geschnitten. Als Fixativ ist die NAVASCHIN'sche Lösung und als Färbemittel Haematoxylin — HAIDENHAIN verwendet worden.

Bei den Kreuzungsversuchen, in welchen *P. nepalensis* von 15 anderen *Potentilla*-Arten bestäubt wurde, erhielt man nur bei zwei Kreuzungen Bastarde und von keiner Kreuzung eine matroklone Nachkommenschaft, was uns zu der Überzeugung führt, dass *P. nepalensis* eine sexuell sich fortpflanzende Art ist.

Die andere von uns untersuchte Art *P. argyrophylla* hatte $2n=63$ Chromosomen und war im Habitus eine echte *P. argyrophylla*, mit dem Unterschied, dass sie anstatt rot, wie die meisten *Argyrophyllen*, gelb blühte. Im Jahre 1935, in dem POPOFF sich mit ihr befasste, hatte die Pflanze keine aktiven Pollen. Die Beobachtungen im folgenden Jahre jedoch zeigten, dass diese Pflanze gleich ihrer Nachkommenschaft aktive Pollen produzierte. Deswegen sind wir geneigt, die von POPOFF beobachtete Pollensterilität auf physiologische Störungen zurückzuführen.

Von dem Bastard *P. nepalensis* × *P. splendens* wurden nur zwei gut entwickelte und reichlich blühende Pflanzen gezogen, welche ihrem Aussehen nach ein Mittelding zwischen den Eltern waren. Beide Hybriden waren vollständig steril. Die zytologischen Untersuchungen haben bewiesen, dass die Pollenmutterzellen schon in der Synapsis degenerieren.

Aus den erwähnten Kreuzungsversuchen erhellt, dass die eine Elternpflanze: *P. nepalensis* sich geschlechtlich fortpflanzt; in Bezug auf die andere Elternpflanze jedoch haben wir keine Angaben, da dieselbe sofort nach vollzogener Hybridisation in Verlust geraten war. Aus den Angaben von POPOFF (1935, S. 511, Tabelle I) ist aber ersichtlich, dass diese *P. splendens* Pflanze bestäubt mit Pollen von vierzehn anderen *Potentilla*-Arten in keinem Fall matroklone Nachkommenschaft hervorbrachte, während sie als Bestäuber von drei anderen Arten eine solche Nachkommenschaft stimulierte. Dies lässt uns vermuten, dass die Pflanze zu einer sich geschlechtlich fortpflanzenden Art gehört.

Die Embryoentwicklung der Gattung *Potentilla* ist von JÖNSSON

(1879/80), VESQUE (1879) und PECHOUTRE (1902) untersucht worden. Verhältnismässig jünger sind die Untersuchungen von FORENBACHER (1913). Neuestens hat POPOFF (1935) auf Grund experimenteller und zytologischer Angaben zur Aufklärung der bei dieser Gattung vorkommenden Pseudogamie beigetragen. Durch diese Untersuchungen ist er zu dem Resultat gelangt, dass bei einigen Fällen Aposporie, bei anderen Nuccellarembryonie durch das Wachstum der eigenen wie der fremden Pollen hervorgerufen wurde.

Bei unseren Untersuchungen wurden 50 Blüten der Hybride *P. nepalensis* × *P. splendens* mit Pollen von *P. nepalensis* bestäubt. Ebensoviele Blüten wurden isoliert und blieben unbestäubt. Dabei wurde keine Kastrierung vorgenommen, da wie erwähnt, die Pollenmutterzellen dieser Hybride schon in der Synapsis degenerieren. Die für die zytologischen Untersuchungen bestimmten bestäubten und unbestäubten Blüten wurden in der Folge zwölf Tage hindurch je nach 24 Stunden fixiert. Ausserdem wurden verschiedene grosse Blütenknospen fixiert, um eine Untersuchung der Stadien vor der Embryoentwicklung zu ermöglichen. Auf die gleiche Weise wurde die Embryoentwicklung bei *P. nepalensis* und *P. argyrophylla* untersucht.

Es ist bekannt, dass viele Gattungen der Rosaceen, zu welchen auch *Potentilla* gehört, mehrzelligen weiblichen Archespor besitzen (SCHNARF 1931). Mit fortschreitender Entwicklung differenzieren sich die Archesporzellen; nur diejenige, die eine Mittelstellung hatte, vergrössert ihren Kernumfang und tritt in ein synapsisähnliches Stadium ein (Tafel I, Abb. 1). Sehr oft erscheinen gleichzeitig 2 oder 3 solcher Zellen, wobei sie nach deren Degeneration durch andere, ihnen gleiche lateral oder unterhalb angeordnete ersetzt werden (Tafel I, Abb. 2). Gewöhnlich geht eine von den Embryosackmutterzellen der Blüten, die sich in einem Stadium unmittelbar vor dem Blühen befinden, eine Reduktionsteilung ein. Mit fortschreitender Entwicklung bildet eine solche Embryosackmutterzelle den Embryosack, der sich dann in der Länge der Samenanlage erweitert (Tafel I, Abb. 3). Es ist zu bemerken, dass bei *P. nepalensis* eine Reduktionsteilung in den Embryosackmutterzellen selten beobachtet wurde. Unter einigen Hunderten Samenanlagen konnten wir nur in zwei Fällen Embryosackmutterzellen in der Diakinese beobachten, wo 21 bivalente Chromosomen sehr deutlich zu unterscheiden waren. Einen

solchen Fall zeigt uns Abbildung 1a und 1b, wo die Chromosomen in zwei Schnitten zu sehen sind. In keinem Fall wurde Tetradenbildung beobachtet, was uns in dem Glauben bekräftigt, dass sich in diesem

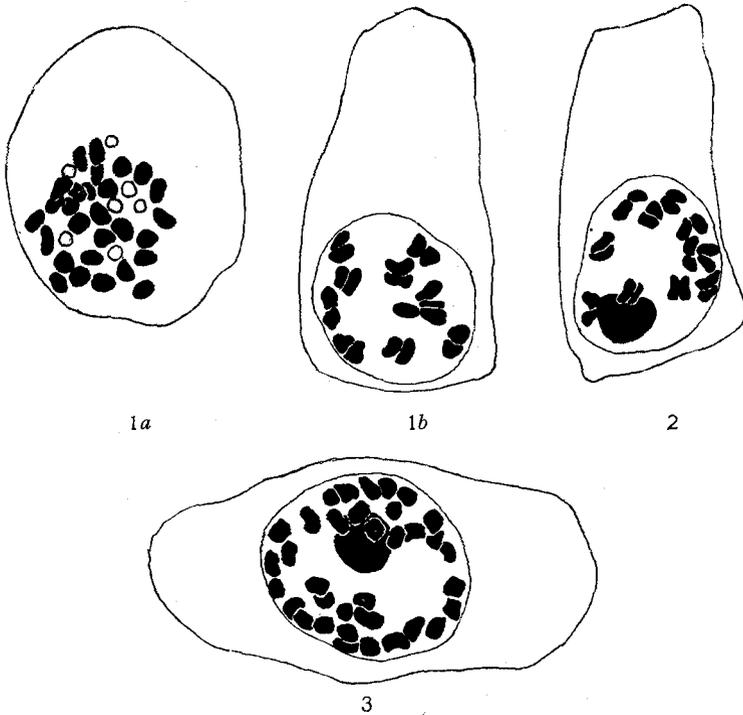


ABB. 1-3. *P. nepalensis*. Embryosackmutterzelle in Diakinese (1a, b); *P. argyrophylla*. Pollenmutterzelle in heterotyper Metaphase (2); *P. nepalensis* × *P. splendens*. Embryosackmutterzelle in Diakinese (3).

Vergröss. etwa 1850 mal.

Falle der Embryosack direkt aus der Embryosackmutterzelle entwickelt.

Bei kastrierten Blüten von *P. nepalensis*, beginnt die Degeneration der Embryosäcke erst 4-5 Tage nach dem Verblühen, wogegen bei selbstbestäubten Blüten 3 Tage nach der Bestäubung 2-5 zellige Embryos in einer verhältnismässig geräumigen Embryosackhöhle zu sehen sind (Tafel I, Abb. 4).

Bei *P. argyrophylla* ($2n=63$) verläuft die Embryoentwicklung bei den selbstbestäubten Blüten auf gleiche Weise wie bei den mit frem-

den Pollen bestäubten. Nach Angaben von POPOFF (1935) hatte die Pflanze $2n=63$ Chromosomen und zeichnete sich durch eine pseudogame Fortpflanzung aus. Unsere zytologischen Untersuchungen der Pollenmutterzellen ergaben, dass während der heterotypischen Metaphase 28 bivalente und 7 univalente Chromosomen zu sehen waren (Abb. 2), was zu der Vermutung Anlass gibt, dass diese Pflanze eine hybride Herkunft habe. Ausserdem sind wir der Ansicht, dass die grosse Zahl bivalenter Chromosomen einen verhältnismässig grossen Prozentsatz wachstumfähiger Pollen bedingt. Dass diese Pflanze

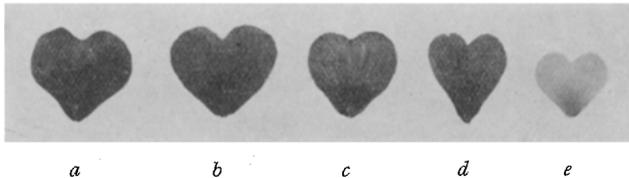


ABB. 4a-e. Kronenblätter von *P. argyrophylla* ($2n = 56$) (a), *P. argyrophylla* ($2n = 63$) (e) und von drei F_1 Hybriden der Kreuzung *P. argyrophylla* ($2n = 56$) \times *P. argyrophylla* ($2n = 63$) (b, c, d).

einen wachstumfähigen Pollen besitzt, zeigen jene Versuche, bei welchen *P. argyrophylla* ($2n=63$) mit 11 anderen Arten der Gattung *Potentilla* (*P. sanguisorbifolia*, *P. Knapii*, *P. aurea*, *P. nepalensis*, *P. Hookeriana*, *P. atrosanguinea*, *P. procumbens*, *P. Gibsonis*, *P. argyrophylla* ($2n=56$), *P. norvegica* und *P. Kippiana*) gekreuzt wurde. So wurde bei den Kreuzungen, bei welchen *P. argyrophylla* ($2n=63$) als Mutterpflanze verwendet wurde, matroklone Nachkommenschaft erhalten, (*P. argyrophylla* ($2n=63$) \times *P. nepalensis* ($2n=42$), *P. argyrophylla* ($2n=63$) \times *P. atrosanguinea* ($2n=56$), *P. argyrophylla* ($2n=63$) \times *P. Gibsonis* ($2n=56$) und *P. argyrophylla* ($2n=63$) \times *P. argyrophylla* ($2n=56$)), wogegen aber die reziproken Kreuzungen nur echte Hybriden hervorbrachten (*P. argyrophylla* ($2n=56$) \times *P. argyrophylla* ($2n=63$) und *P. norvegica* ($2n=70$) \times *P. argyrophylla* ($2n=63$)). Der Bastardcharakter der Pflanzen dieser Kreuzungen ist an dem gesamten Habitus, besonders an Grösse, Form und Farbe der Kronenblätter zu erkennen. In Bezug auf die Kronenblätter gibt Abbildung 4 Aufschluss über die Aufspaltung bei der Kreuzung *P. argyrophylla* ($2n=56$) \times *P. argyrophylla* ($2n=63$). In der Abbildung ist mit a das rote Kronenblatt von *P. argyrophylla* ($2n=56$), mit e das

gelbe Kronenblatt von *P. argyrophylla* ($2n=63$) und mit *b*, *c*, *d* sind die Kronenblätter von den 3 hybriden Pflanzen bezeichnet. Die zytologischen und experimentellen Beobachtungen über die Mutterpflanzen (*P. argyrophylla* ($2n=56$) und *P. norvegica* ($2n=70$)), die an den beiden erwähnten Kreuzungen teilnahmen, zeigen, dass dieselben durch eine normale Meiosis und sexuelle Fortpflanzung gekennzeichnet sind. Dies beweist andererseits, dass in den erwähnten Kreuzungen die beobachtete Aufspaltung durch die Vaterpflanze *P. argyrophylla* ($2n=63$) bedingt ist.

Unsere Untersuchungen stellen fest, dass die anfänglichen Stadien in der Embryosackentwicklung von *P. argyrophylla* sich nicht von jener der *P. nepalensis* unterscheiden. Auffallende Abweichungen treten erst in späteren Stadien ein. Bei *P. argyrophylla* sind im Gegensatz zu *P. nepalensis* selten unmittelbar vor dem Blühen fertige Embryosäcke beobachtet worden, wogegen jedoch nach der Bestäubung fast in jeder Samenanlage Anzeichen von Embryosackbildungen erkennbar waren. Samenanlagen mit mehreren Embryosäcken sind häufig beobachtet worden. So zeigt Abbildung 5 (Tafel I) den mittleren Teil einer Samenanlage von solchen Blüten, die einen Tag nach der Bestäubung fixiert wurden und in welchen deutlich 3 Embryosäcke zu sehen sind.

Die verhältnismässig sehr geringe Zahl von Embryosäcken in den Blüten, die kurz vor ihrem Öffnen fixiert worden sind, zeigt, dass bei einer grossen Zahl von Samenanlagen, die Embryosackmutterzellen meist in einem Stadium vor der Embryosackentwicklung degenerieren. Andererseits beweist das Erscheinen einer grossen Zahl von Embryosäcken nach der Bestäubung, dass dieselben eine durch das Pollenwachstum stimulierte apomiktische Herkunft haben.

SCHIMOTOMAI (1935) ist der Ansicht, dass der Ausfall der Reduktionsteilung in der Embryosackmutterzelle von *P. hirta* die Bildung von diploiden Embryosäcken bedingt. Bei *P. argyrophylla* ($2n=63$) sind wir nicht geneigt, eine solche Entwicklung zu vermuten, da wir nicht imstande waren, solch einen Vorgang in den Embryosackmutterzellen zu beobachten. Auf Grund oben auseinandergesetzter Erfahrung sind wir zu vermuten geneigt, dass *P. argyrophylla* eine obligat apomiktische Art sei, deren Fortpflanzung einem durch Pollenwachstum stimulierten aposporen Vorgang zuzuschreiben ist.

Gewöhnlich beginnt die Embryobildung bei *P. argyrophylla* 3 Tage

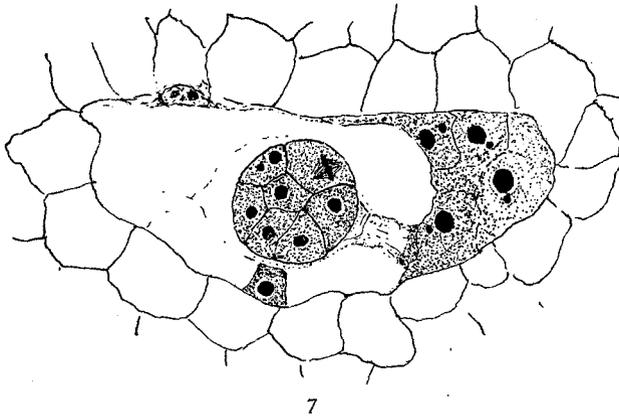
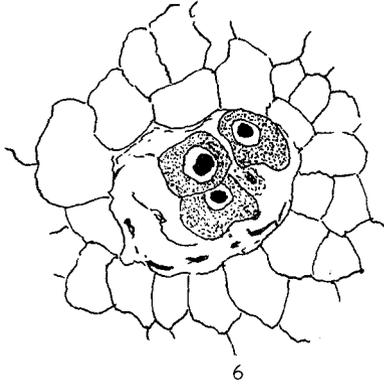
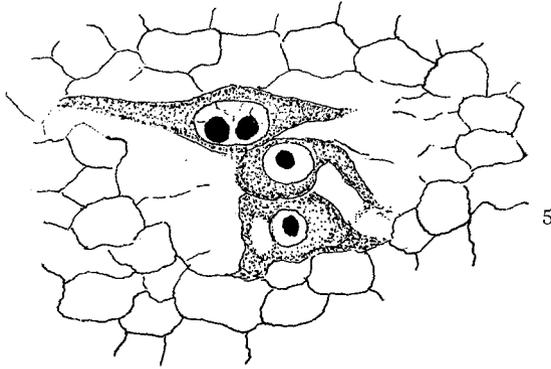


ABB. 5-7. *P. nepalensis* × *P. splendens*. Embryonal sich entwickelnde Zellen in den Nucellus (5, 6); Embryo, fünf Tage nach der Bestäubung (7). Vergröss. etwa 500 mal.

nach der Bestäubung (Tafel I, Abb. 6). Es ist andererseits zu bemerken, dass trotz zahlreicher Embryosäcke, die in einer Samenanlage in Erscheinung treten, sich immer nur ein Embryo bildet, u. zw. in jenem Embryosack, dessen Lage und Alter seine raschere Entwicklung begünstigt.

Anders vollzieht sich der Vorgang in der Embryoentwicklung bei der Hybride *P. nepalensis* × *P. splendens*. Es ist zu bemerken, dass diese Hybride allein keine Samen ansetzt, jedoch mit Pollen von *P. nepalensis* bestäubt, Samenansatz aufweist. Aus diesem Grunde wurden zytologische Untersuchungen über die Embryoentwicklung in noch nicht geöffneten Blütenknospen, mit unbestäubten und vorher isolierten Blüten und in mit Pollen von *P. nepalensis* bestäubten Blüten vorgenommen. Die Resultate haben bewiesen, dass die Embryoentwicklung nach dem Verblühen bei den unbestäubten anders als bei den bestäubten verläuft.

Die ersten Stadien in der Embryosackentwicklung dieser Hybride sind mit denjenigen von *P. nepalensis* identisch. Während bei *P. nepalensis* die Samenanlagen von Blüten, die unmittelbar vor dem Öffnen fixiert wurden, gut entwickelte Embryosäcke enthalten, konnten wir bei *P. nepalensis* × *P. splendens* trotz der grossen Zahl von Samenanlagen, die wir untersuchten, keinen Embryosack finden. Es hat sich herausgestellt, dass in den Samenanlagen der Blüten, die 1–6 Tage nach dem Öffnen fixiert wurden, keine Spur von Embryosäcken vorhanden war. Diese frühzeitige Degeneration in den Embryosackmutterzellen entspricht der in den Pollenmutterzellen beobachteten Degeneration während der Synapsis. Nur einem einzigen Fall begegneten wir, wo die Embryosackmutterzelle sich scheinbar in Diakinese vorfand und zwar hatte es den Anschein, als sei eine grosse Anzahl von univalenten Chromosomen vorhanden (Abb. 3).

Wie schon erwähnt, verläuft die Embryoentwicklung dieser Hybride während des Pollenwachstums auf gänzlich verschiedene Art. So ist bei Blüten, die mit Pollen von *P. nepalensis* bestäubt und sukzessive 1–12 Tage nach der Bestäubung konserviert wurden, eine gewisse Zahl von Samenanlagen (10–20%) in embryonaler Entwicklung beobachtet worden. Die Textabbildungen 5 und 6 (Abb. 7, Tafel I) stellen den Inhalt von Samenanlagen, die 2 Tage nach der Bestäubung fixiert wurden, dar. In diesen Samenanlagen sind unter den gewöhnlichen Nucellarzellen 3 verhältnismässig grössere, plasma-

reiche vorhanden, die in jenem Teil der Samenanlage eingefügt sind, in dem sich gewöhnlich der Embryosack entwickelt. Die in späteren Stadien gemachten Beobachtungen veranlassen uns zu vermuten, dass bei den weiteren Teilungen die Zellen ein embryonales Gewebe bilden, weshalb erst am fünften Tag nach der Bestäubung ein gut entwickelter aber in eine schmalere Embryosackhöhle eingebetteter Embryo zu sehen ist (Textabb. 7; Abb. 8, Tafel I).

Die erwähnten Beobachtungen über die Embryoentwicklung beweisen, dass das Pollenwachstum unerlässlich für die embryonale Entwicklung gewisser somatischer Zellen der Samenanlage ist. Aus ihrer Lage lässt sich der Schluss ziehen, dass diese Zellen sich in denjenigen Teilen der Samenanlage befinden, in welchen bei geschlechtlicher Fortpflanzung die Eizellen und Synergiden zu finden sind. Aus den gemachten Erfahrungen geht jedoch nicht klar hervor, wie aus den embryonal sich verhaltenden Nucellarzellen der Embryo entsteht. Obwohl selten, wurde doch als Folge des Pollenwachstums eine Aneinanderreihung von Zellen beobachtet, die sehr an eine einem Embryosack ähnliche Höhle erinnerte. Manchmal ist sogar in einer solchen ein Embryo beobachtet worden, der sich in jenem Teil der Höhle befindet, die bei einem normalen Embryosack der Stelle der Eizelle entspricht. (Abb. 9, Tafel I). Dies führt uns zu der Überzeugung, dass in solchen Fällen die Embryoentwicklung doch einen aposporen Ursprung habe.

Die Ansichten bezüglich der Ursachen, welche die embryonale Entwicklung einer unbefruchteten Eizelle oder einer gewöhnlichen somatischen Zelle bedingen, sind verschieden. HABERLANDT (1921–1927) hat einen Versuch unternommen, die Vorgänge aufzuklären. Auf Grund seiner Untersuchungen, die Einflüsse betreffend, welche die Nekrohormone auf die Zellteilung ausüben, gelangte er zu dem Resultat, dass sie von Bedeutung für die apomomiktische Fortpflanzung seien. So ist er der Ansicht, dass die Entartung der Synergiden, sowie der Nucellarzellen in irgendwelcher Beziehung zur parthenogenetischen Fortpflanzung stehe, welche bei *Hieracium* und *Taraxacum* beobachtet wurde. Er ist geneigt, ebenso die apospore Entwicklung in der Untergattung *Pilosella* denselben Ursachen zuzuschreiben. Andererseits nimmt er seinen Erfolg, durch Verletzungen in den unbefruchteten Samenanlagen von *Oenothera*, *Lamarckiana* adventive Embryonen zu erzeugen, als Bestätigung seiner Vermutungen an.

Unserer Ansicht nach könnten die Erscheinungen, welche die pseudogame Fortpflanzung bei *Potentilla* begleiten, durch die Voraussetzungen von HABERLANDT, nicht vollständig aufgeklärt werden. Unseren Beobachtungen zufolge waren bei den *Potentilla*-Arten in den allerersten Stadien der Embryoentwicklung eine Reihe von Degenerationserscheinungen wahrnehmbar, welche ebenso charakteristisch für die sexuell, wie für die apomiktisch sich fortpflanzenden Arten sind. Als Folge dieser Vorgänge ist der mittlere Teil der Samenanlage u. zw., dort, wo sich der Embryo ausbilden muss, mit Resten von degenerierten Embryosackmutterzellen ausgefüllt. Die Degenerationsprodukte allein sind hier nicht für die nachträgliche embryonale Entwicklung massgebend, denn wie schon erwähnt, tritt diese Entwicklung erst mit Beginn des Pollenwachstums ein. Es ist nicht ausgeschlossen, dass einerseits das Vorhandensein solcher Degenerationsprodukte, bzw. die dadurch gebildeten Nekrohormone, andererseits die stimulative Einwirkung des Pollenwachstums die pseudogame Entwicklung bedingen.

LITERATUR

1. ERNST, A., 1918. Bastardierung als Ursache der Apogamie im Pflanzenreiche, Jena.
2. FORENBACHER, A., 1913. Rasplodne prilike u roda *Potentilla*. (Rad. Jugoslavenske Akademije Znan. umjednosti 200 Mat. Prirod. Razred 55, Zagreb, 132–160.
3. HABERLANDT, G., 1921a. Über experimentelle Erzeugung von Adventivembryonen bei *Oenothera Lamarckiana*. Sitzb. preuss. Akad. Wiss. 40, 695–725.
4. HABERLANDT, G., 1921b. Die Entwicklungserregung der Eizellen einiger parthenogenetischer Kompositen. Sitzb. preuss. Akad. Wiss. 861–881.
5. HABERLANDT, G., 1922. Die Vorstufen und Ursachen der Adventivembryone. Sitzb. preuss. Akad. 386–406.
6. HABERLANDT, G., 1923. Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Betr. allg. Bot, Haberlandt. 2. 1–53.
7. HABERLANDT, G., 1927. Zur Zytologie und Physiologie des weiblichen Gametophyten von *Oenothera*. Sitzb. preuss. Akad. 33–47.
8. JÖNSSON, B., 1879/80. Om embryosäckens utveckling hos Angiosperma. Lunds Univ. Arsskr. 16.
9. MÜNTZING, A., 1928. Pseudogamie in der Gattung *Potentilla*. Hereditas (Lund) 11, 267–283.

10. PECHOUTRE, F., 1902. Contribution à l'étude du développement de l'ovule et de la graine des Rosacées. Ann. Sci. mat. 8. Sér. Bot. 16, 1-158.
 11. POPOFF, A., 1935. Über die Fortpflanzungsverhältnisse der Gattung *Potentilla*. Planta, Arch. f. wiss. Botanik, Bd. 24, H. 3, 510-522.
 12. SCHNARF, K., 1931. Vergleichende Embryologie der Angiospermen, Berlin.
 13. SHIMOTOMAI, N., 1935. Zur Kenntnis der Pseudogamie bei *Potentilla*. Proc. Imp. Akad. Tokyo. Vol. 11, 338-339.
 14. VESQUE, J., 1879. Nouvelles recherches sur le développement des phanerogames angiospermes. Ann. Sci, mat. bot. Sér. 6-8. 261-390.
-