

## Polysomatie im Meristem von Einzelbaumabsaaten bei *Picea abies*"

Von Z. M. ILLIES

(Eingegangen am 20. 1. 1958)

Um Polyploide zu Züchtungszwecken bei *Picea abies* aufzufinden, wurden Sämlinge, die in bestimmten Einzelbaumabsaaten unter den normalen durch einen gedrungenen, dickeren Wuchstyp auffielen, ausgelesen. Die zytologische Untersuchung der Wurzelspitzen dieser Pflanzen zeigte starke Mixoploidie (ILLIES 1953). Auch in den Embryonen einiger sehr spät keimender Samen dieser Absaaten wurden nebeneinander die verschiedensten euploiden und aneuploiden Valenzstufen von der diploiden Chromosomenzahl ( $2n=24$ ) bis zur oktoploiden gefunden (Abb. 1). Während aus den letzteren keine Pflanzen erzogen werden konnten, gingen aus den mixoploiden Keimlingen gedrungene dicknadelige Pflanzen hervor, die dreijährig z. T. Zwergfichten ähnelten, z. T. etwas wüchsiger Typen erkennen ließen. Auch diese erreichten jedoch nicht die Wüchsigkeit normaler, gleichaltriger Fichten (Abb. 2). Ihr Nadel- und Verzweigungstyp ähnelt jenem ca. 50jähriger Zwergfichten im Arboretum. Diese Dbereinstimmung der zuerst nach Wuchs- und Nadeltyp und anschließend nach



Abb. 1. — Annähernd oktoploide Zelle aus einem sehr spät keimenden Embryo. In der Bildebene sind nicht alle Chromosomen zu sehen.

Chromosomenzahlbestimmung an den Wurzelspitzen ausgelesenen mixoploiden Pflanzen mit Zwergformen der gleichen Holzart sollte aber nicht allein als Beweis für einen ursächlichen Zusammenhang dieser Fichtentypen und der Polyploidie angesehen werden. Die starke Mixoploidie der untersuchten Keimwurzeln legte die Vermutung nahe, daß unabhängig von der Entstehung polyploider Pflanzen Zellen mit endomitotischer Polyploidie als ein normales Entwicklungsstadium der Gewebedifferenzierung auch bei Gymnospermen auftreten, wie es in zahlreichen Untersuchungen u. a. an Angiospermen festgestellt

\*) Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert, wofür an dieser Stelle gedankt sei.



Abb. 2. — Drei verschiedene große mixoploide, 3jährige Pflanzen, ausgelesen als kurznadelige dicke Sämlinge. — Links: gleichalte normale Kontrollpflanze.

wurde (zusammenfassende Arbeiten: D'AMATO 1952, GEITLER 1948, 1953; TSCHERMAK-WOESS 1956).

Da sich die bisherigen Beobachtungen lediglich auf zytologische Untersuchungen einiger Keimlingsanomalien beschränkten, war diese Frage an einem größeren Material ohne vorherige morphologische Auslese zu prüfen. Dies geschah durch die Kontrolle der Mitosen im Meristem eben gekeimter Embryonen.

### Versuchsmethoden und -ergebnisse

Einzelbaumabsaaten der Ernte 1954, in denen bei den früheren Beobachtungen dicke Sämlinge ausgelesen worden waren, sowie als Vergleich Absaaten von drei weiteren Bäumen aus dem gleichen Jahr, in denen keine Keimlingsanomalien gefunden worden waren, wurden in Petrischalen zwischen mit Wasser feucht gehaltenem Fließpapier zum Keimen ausgelegt. Bei dieser Anordnung konnten die Keimlinge gleichmäßig in der gewünschten Größe entnommen werden. Außerdem ließen sich alle keimenden Samen einer Probe unabhängig von ihrer Triebkraft erfassen. Nach Hervortreten 2 bis 3 mm langer Keimwurzeln wurden die ganzen Embryonen herauspräpariert und in Alkohol-Eisessig fixiert. Vor Herstellung der Karminessigsäure-Quetschpräparate wurden sie in Sproß- und Wurzelstück zerteilt, um später beide Hälften getrennt zu untersuchen und einen Überblick über das Gewebe des ganzen Embryos zu gewinnen. Die meisten Samen keimten in der Zeit vom 5. bis 14. Tag nach dem Auslegen. Am 23. Tag nach Versuchsbeginn wurden die bis dahin noch nicht gekeimten Samen geöffnet, die darin noch gefundene Embryonen fixiert und der Anteil hohler Samen festgestellt.

Tabelle 1 enthält in den Spalten a + b die Bezeichnung der Bäume, von denen Saatgut verwendet wurde, die Anzahl der in ihm 1955 (Ernte 1954) gefundenen Anomalien unter den im Gewächshaus ausgesäten Sämlingen, sowie die Ergebnisse der an diesen zur Bestimmung der Chro-

Tab. 1. — Feststellung der Chromosomenzahlen an Sämlingen und Embryonen von 8 Einzelbaumabsaaten, Ernte 1954

a Baum-Nr.	b					c										
	Auslese dicker Sämlinge 1955 (Ernte 1954)			Embryountersuchungen 1957 (Ernte 1954)												
	Samenmenge		dicke Sämlinge		Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen	Samenzahl	gekeimte Samen	bei Versuchsschluß	Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen			Anzahl	in der Wurzel	im Sproß		
	Gesamtanzahl	davon volle Körner nach Keimergebnis 1957	Anzahl	in % d. vollen Körner	Anzahl	Chromosomenzahlen			Anzahl	in % voller Körner		Anzahl	Chromosomenzahlen	Anzahl	Chromosomenzahlen	
809 × 766	1709	1538	4	0,3	Keine zytolog. Untersuchungen	100	83	7	10	3	3	3	28—30	1	28—30	
809 × 887	1752	1683	2	0,1		50	39	9	2	—	—	—	—	—	—	
764	755	679	2	0,3	1	36	50	44	1	5	8	18	8	24, 27, 30, 36	5	30—36
813	762	700	3	0,4	1	36, 48	50	42	4	4	7	15	5	24, 27, 36.	7	27, 30, 36
853	680	557	4	0,7	2	24, 36	50	36	5	9	11	27	9	24, 30, 36, 48 u. m.	11	24, 30, 36 u. m.
873	495	346	—	—	—	—	50	19	16	15	2	6	2	24, 30, 36 u. m.	—	—
874	618	494	—	—	—	—	48	28	12	8	—	—	—	—	—	—
762	664	558	—	—	—	50	33	9	8	—	—	—	—	—	—	—

mosomenzahl damals vorgenommenen Stichproben. Unter Tabelle 1 c sind die Daten der mit dem gleichen Saatgut vorgenommenen, hier beschriebenen Embryountersuchungen zusammengefaßt. Ein Vergleich der Spalten b und c zeigt, daß abweichende Chromosomenzahlen fast nur in den schon früher dafür bekannten Nachkommenschaften, in denen auch die Keimplingsanomalien auftraten, festgestellt wurden, während in den Embryonen von zwei der drei Vergleichsbäume nur normale Mitosen mit 24 Chromosomen, im dritten Vergleichsbau nur an zwei Embryonen von 35 vollen Samen (6%) anomale Mitosen gefunden wurden. Die im Verhältnis zu den übrigen Samenproben sehr niedrige Werte sowohl der Sämlings- als auch der Embryoanomalien in dem Saatgut der beiden Kreuzungen

desselben Mutterbaums mit zwei verschiedenen ♂ lassen vermuten, daß hier der ♀ Elter von entscheidendem Einfluß bei der Embryoausbildung gewesen sein muß. Da es sich bei dem in Spalte c zusammengefaßten Untersuchungsmaterial um eben erst gekeimte Embryonen handelte, ließen sich diese Bestimmungen völlig unabhängig von einer Auslese nach morphologischen Gesichtspunkten durchführen. Sowohl in den Wurzelspitzen als auch in den Sprossen war die Teilungsrate groß genug, um bei der Auszählung der Mitosen sichere Ergebnisse zu erhalten.

In den Samenproben, in denen Embryonen mit mixoploidem Gewebe auftraten, wurden zahlreiche Übergänge zwischen den einzelnen Stadien der Mitosen, besonders zwischen Pro- und Metaphase gefunden, die in den normalen diploiden Embryonen nicht beobachtet wurden. Inselartige Vorkommen verschieden weit fortgeschrittener Prophasen mit großen chromatinhaltigen Kernen und solchen, in denen sich eine ungewöhnlich große Anzahl Chromosomen auszudifferenzieren begann, fielen dabei besonders auf. Da die Gymnospermchromosomen sehr lang sind, ließ sich ihre Anzahl in diesem Stadium nicht exakt bestimmen. Z. T. lagen aber die Chromosomen in späten Prophasen so dicht paarweise nebeneinander, daß endomitotische Vorgänge vermutet werden könnten (Abb. 3). Die Metaphase verlief dagegen regelmäßig, war gut erkennbar mit teils normal diploiden, teils tetraploiden Chromosomenzahlen, die gelegentlich den Eindruck von Diplochromosomen machten (Abb. 4a). In manchen Fällen wurden aber auch aneuploide, bis zu etwa hexaploiden Chromosomenzahlen festgestellt (Abb. 4b). Der Gesamtüberblick über dieses Gewebe war sehr viel unregelmäßiger als in Präparaten, in denen die Mitose normal verlief, da Zellen mit sehr großen lockeren Ruhekernen, vielfältigen Prophasen und höherchromosomigen weiteren Teilungsstadien inselartig im normalen Gewebe verteilt waren.

Durch Untersuchungen an den verschiedensten Gattungen der Angiospermen konnte endomitotische Polyploidie, besonders bei der Ausdifferenzierung der Gewebe, nachgewiesen werden (Lit. s. o.), die aber bei ungehemmter normaler Entwicklung nicht sichtbar sei, sondern als inneres Kernwachstum ablaufe. Von den Gymnospermen wurden bisher nur *Ginkgo biloba* und *Pinus montana* in diese Untersuchungen miteinbezogen, ohne daß aber bei beiden Arten endomitotische Polyploidie festgestellt wurde (TSCHERMAK-WOESS und DOLEZAL 1953). Hierauf deuteten auch die sehr verschiedenen Größen der Ruhekerne hin (TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA 1953). Bei einigen in der vorliegenden Arbeit geschilderten zytologischen Be-



Abb. 3. — Späte Prophase mit evtl. endomitotisch entstandenen, paarweise zusammenliegenden Chromosomen.



Abb. 4. — (a) Links: Metaphase mit 48 Diplochromosomen. — (b) Rechts: Aneuploide Metaphase (zwischen 60 und 70 Chromosomen).

obachtungen an Fichte wurde anfänglich die Möglichkeit einer ähnlichen Deutung, wenngleich mit allem Vorbehalt in Betracht gezogen. Daß es sich bei den auftretenden Erscheinungen um endomitotische Polyploidie handelt, wäre nur durch die Feststellung zu belegen, daß sich in den untersuchten Embryonen die normalerweise nacheinander auftretenden Vorgänge der Mitose und Endomitose zeitlich überschritten, so daß die letztere schon während der noch ablaufenden Mitose einsetzte. Hierzu konnten aber keine eindeutigen Beobachtungen gemacht werden. Andererseits wurden aber nicht nur Vielfache der diploiden Ausgangszahl festgestellt, sondern auch aneuploide Zahlen, wie sie schon bei früheren Untersuchungen beschrieben wurden (KIELLANDER 1951, ILLIES 1952). Diese Beobachtungen sowie die Tatsache, daß diese polyploiden und aneuploiden Chromosomenzahlen lediglich in Embryonen solcher Einzelbaumnachkommenschaften beobachtet wurden, in denen auch die erwähnten kürzeren und dickeren Sämlinge mit polysomatischer Zellstruktur auftraten, spricht aber für die Annahme pathologischer Kernanomalien (GEITLER 1953). Die baumweisen Unterschiede weisen außerdem auf genetisch verschiedene Veranlagung hin.

Einen Zusammenhang zwischen der Polysomatik und vermindertem Wachstum legt auch ein Vergleich der Anteile (Zahl sowie besonders Prozente) der im Sämlingsalter ausgelesenen polysomatischen dicken Pflanzen mit den Polysomatieanteilen im Keimversuch nahe (Tab. 1). Der geringe Anteil polysomatischer Sämlinge gegenüber den entsprechenden Werten unter den Embryonen scheint auf eine herabgesetzte Triebkraft der letzteren hinzuweisen, so daß ihr Anteil schon unter den Sämlingen geringer ist, auch wenn eingeräumt werden muß, daß sich bei der unter diesen lediglich nach morphologischen Gesichtspunkten durchgeföhrten Auslese derartige Typen nicht erschöpfend erfassen lassen, wie es bei der systematischen Fixierung aller gekeimten Embryonen möglich war. Hiermit wäre auch das Auftreten polysomatischen Gewebes in

einigen Embryonen der Nachkommenschaft Th 873 zu erklären. Sie war ursprünglich als Kontrolle in den Versuch genommen worden, da bei ihr keine Sämlingsanomalien bekannt waren. Auch ihr auffallend niedriges Keimprozent (38%) weist auf Unwüchsigkeit in der Embryoentwicklung hin.

Zusammenfassend muß vermutet werden, daß das hier beobachtete Auftreten euploider und aneuploider Chromosomenzahlen nur ein Symptom der Wachstumsanomalien ist, wie es beispielsweise auch die schlechte Triebkraft und der Zwergwuchs sind. Diese Annahme stimmt auch mit Chromosomenzahlbestimmungen überein, die im Gewebe der Nadelbasis junger Knospen der 50jährigen Zwergfichten durchgeführt wurden. Bei 6 von 18 dieser Fichten wurde Polysomatik im Gewebe festgestellt. Ein Hinweis für den endomitotischen Ursprung der Zellen mit höheren Chromosomenzahlen wurde auch bei diesen Zwergfichten nicht gefunden.

Im ganzen zeigen die Ergebnisse dieser drei verschiedenen Serienuntersuchungen, daß Individuen mit derartigem polysomatischen Gewebe durch ihre Wachstums-hemmung normalerweise schon während der Jugendentwicklung unterdrückt und ausgemerzt werden und nur gelegentlich zu älteren Zwergfichten heranzuwachsen vermögen. Zu diesen Typen sind dann wahrscheinlich auch die von KIELLANDER (1951) und ILLIES (1952) beschriebenen polyploiden Fichten zu rechnen, bei denen neben triploiden und tetraploiden auch aneuploide Zellen und mixoploide Gewebe festgestellt wurden, die an ihrem zwergigen Wuchs und ihren kurzen dicken Nadeln von den normalen diploiden Fichten zu unterscheiden waren. KIELLANDER weist in diesem Zusammenhang darauf hin, daß Fichten dieses Types in den Hochbaumschulen als Zierbäume ausgelesen wurden, und nimmt an, daß diese ebenfalls polyploide und aneuploide Individuen sind. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen vermuten, daß es sich auch bei diesen früheren Beschreibungen um veranlagungsmäßig bedingte

pathologische Erscheinungen der Polysomatie handelt ebenso wie bei den hier erwähnten Zwergfichten, soweit diese nicht diploid sind. Aufschluß hierüber wie über ihre Bedeutung für die Polyploidiezüchtung wird von der in Aussicht genommenen zytologischen Untersuchung einiger am hiesigen Institut vorhandener Nachkommenschaften aus der Kreuzung zweier 50jähriger Zwergfichten untereinander und mit normalen Fichten (LANGNER 1954) erwartet.

### Zusammenfassung

1. In Einzelbaumabsaaten von Fichte aufgefundene Sämlinge mit kürzeren und dickeren Sprossen und Nadeln unterschieden sich auch durch starke Mixoploidie des Meristems von den morphologisch normalen.

2. Unter den eben gekeimten Embryonen der gleichen Nachkommenschaften konnte ein noch größerer Anteil solcher Kernanomalien im embryonalen Gewebe festgestellt werden, während in zum Vergleich herangezogenen anderen Einzelbaumabsaaten, in denen keine morphologischen Anomalien gefunden worden waren, bis auf eine Ausnahme sämtliche untersuchten Embryonen einheitlich diploide Meristem aufwiesen.

3. Da die kürzeren, dickeren Sämlinge 3jährig einen zwergfichtenähnlichen Habitus zeigten, wurden auch 18 50jährige Zwergfichten in die zytologischen Untersuchungen mit einbezogen. Von diesen wiesen sechs ebenfalls die gleichen Kernanomalien auf.

4. Nach den bisherigen Ergebnissen kann angenommen werden, daß es sich bei den mitgeteilten Beobachtungen nicht um endomitotische Polyploidie, wie sie bei den Angiospermen normalerweise in der Differenzierungszone der Gewebe vorkommen kann, sondern um eine veranlagungsmäßig bedingte pathologische Polysomatie handelt. Der weiteren Klärung, auch im Hinblick auf eine mögliche Bedeutung dieser Erscheinung für die Polyploidiezüchtung, sollen bereits durchgeführte Kreuzungsversuche mit mixoploiden Zwergformen dienen.

### Summary

Title of the paper: *Polysomaty in the Meristems of progeny of individuals of Picea abies*.

1. Seedlings with abnormally short and thick shoots and needles found in the progeny of single trees of *Picea abies* also differed from the normal by showing more or less mixoploidy in the meristem.

2. Newly germinated embryos of the same progenies showed similar abnormalities in the embryological tissue while in the progeny of other trees used for comparison (in which no morphological abnormalities occurred) all but one embryo showed diploid meristems.

3. Because the shorter and thicker seedlings looked, at the age of 3 years, like dwarf spruces cytological investigations were also carried out on eighteen 50 year old

dwarf spruces. Eight of them showed the same abnormalities.

4. It must be supposed that the observations made don't depend on endomitotic polyploidy (which is well known in the differentiation of tissues in the Angiosperms) but on pathological polysomaty. These problems as well as the question of the importance of these observations for the breeding of polyploids will be studied by means of crossing experiments using mixoploid dwarf spruces.

### Résumé

Titre de l'article: *Polysomie observée dans les méristèmes de descendants individuels de Picea abies*.

1. On a observé parmi des descendances individuelles d'épicéa des semis avec des pousses et des aiguilles anormalement courtes et épaisses; ces semis diffèrent également des semis normaux par le fait que leurs méristèmes sont plus ou moins mixoploïdes.

2. Des embryons en germination des graines appartenant à ces mêmes descendances présentent des anomalies analogues dans les tissus embryonnaires, tandis que dans les descendances-témoins (où aucune anomalie morphologique n'a été relevée), tous les embryons, sauf un, présentent des méristèmes diploïdes.

3. Les semis plus courts et plus épais ressemblent, à 3 ans, à des épicéas nains; aussi des études cytologiques furent entreprises sur 18 épicéas nains âgés de 50 ans. Huit d'entre eux présentent les mêmes anomalies.

4. On suppose que ces observations ne se rapportent pas à un cas de polyploidie endomitotique (bien connue dans la différenciation des tissus chez les Angiospermes), mais plutôt à un cas de polysomie pathologique. Ces problèmes, ainsi que leur incidence sur l'amélioration par production de polyploïdes, seront étudiés en utilisant ces épicéas mixoploïdes dans des croisements.

### Literatur

- D'AMATO, F.: Polyploidy in the differentiation and function of tissues and cells in plants. *Caryologia* 4, 311—358 (1952). — GEITLER, L.: Ergebnisse und Probleme der Endomitoseforschung. *Österr. Bot. Z.* 95, 277 (1948). — GEITLER, L.: Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. *Protoplasmatologia, Hdb. f. Protoplasma-forschung* 4, C., Wien, Springer Verlag, 1953. — ILLIES, Z. M.: Auslese und künstliche Herstellung Polyploider bei *Larix* und *Picea*. *Z. Forstgenetik* 1, 58 (1952). — ILLIES, Z. M.: Keimplingsabnormalitäten bei *Picea abies* (L.) KARST. *Z. Forstgenetik* 2, 28—32 (1953). — KIEL-LANDER, C. L.: Polyploidy in *Picea abies*. *Hereditas* 36, 513—516 (1950). — LANGNER, W.: Blütenbildung an Zwergfichte. *Z. Forstgenetik* 3, 138 (1954). — TSCHERMAK-WOESS, E.: Karyologische Pflanzenanatomie. Ein kritischer Überblick. *Protoplasma* 46, 798—834 (1956). — TSCHERMAK-WOESS, E., und DOLEZAL, R.: Durch Seitenwurzelbildung induzierte und spontane Mitosen in den Dauerwurzeln der Wurzeln. *Österr. Bot. Z.* 100, 358—402 (1953). — TSCHERMAK-WOESS, E., und HASITSCHKA, G.: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. *Chromosoma* 5, 574—614 (1953).