

Literature Cited

BRAUN, E. L.: Deciduous forests of eastern North America. Blakiston, Philadelphia, 596 pp. (1950). — CHEADLE, V., GIFFORD, E., Jr., and ESSAU, K.: A staining combination for phloem and contiguous tissues. Stain Technol. 28: 49-53 (1953). — ERNST, W.: The genera of the Hamamelidaceae and *Platanaceae* in the South-eastern United States. J. Arnold Arbor. 44: 193-210 (1963). — FLINT, F.: Development of the megagametophyte in *Liquidambar styraciflua* L. Madroño 15: 25-29 (1959). — HARMS, H.: Hamamelidaceae. Natürl. Pflanzenfamilien 2nd ed., 18 a: 303-345 (1930). — JOHANSEN, D.: Plant microtechnique. 1st ed. McGraw Hill Book Co., New York, 523 pp. (1940). — MAKAROVA, Z. I.: The history of the genus *Liquidambar*. Bot. Zurnal 1182-1195 (1957) (In Russian). — SARGENT, C. S.: Manual of the trees of North America. 2 volumes, 2nd ed.. Dover Publications Inc., New York, 910 pp. (1961). — SASS, J. E.: Botanical microtechnique. 3rd ed., Iowa State University Press, Ames, 228 pp. (1958). — SCHMITT, D., and PERRY, T. O.: Self-sterility in sweetgum. Forest Sci. 10: 302-305 (1964). — SHOEMAKER, D.: On the development of *Hamamelis virginiana*. Bot. Gaz. 39: 248-266 (1905). — TIPPO, O.: Comparative anatomy of the Moraceae and their presumed allies. Bot. Gaz. 100: 1-99 (1938).

Anatomische Beobachtungen zur Bewurzelung der Kurztriebe von *Pinus radiata*

Von ALICIA HOFFMANN DE C. und JOCHEN KUMMEROW

Pflanzenphysiologisches Laboratorium der Universidad de Chile, Santiago

(Eingegangen am 30. 6. 1965)

Einleitung

Es ist in jüngster Zeit wiederholt versucht worden, Kurztriebe von Kiefern zu bewurzeln, um diese als Stecklinge zum Aufbau von Klonen zu benutzen (THIMANN und DELISLE 1942, TODA 1948 und 1952, JECKALEJS 1956, ZAK und MCALPINE 1957, REINES und MCALPINE 1959, ISIKAWA und KUSAKA 1959, RUDOLPH und NIENSTAEDT 1964, MERGEN und SIMPSON 1964).

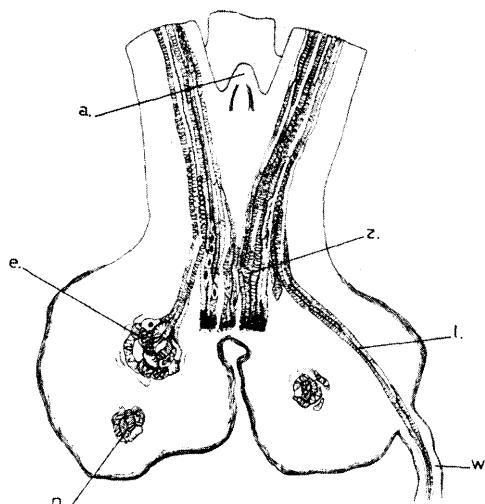


Abb. 1: Schematische Darstellung des medianen Längsschnittes durch die Basis eines Nadelbündels 4 Wochen nach dem Pflanzen im Bewurzelungskasten. Vorbehandlung: 50 ppm IBS, 24 h. Der an seiner Basis unterbrochene Zentralzyylinder (z) zeigt die Position der ursprünglichen Schnittstelle, an welcher der Kurztrieb vom Stamm abgetrennt worden war. Innerhalb von 4 Wochen hat sich der hier längsgeschnittene, kräftige Kalluswulst gebildet. a: Apikalmeristen der Kurztriebsknospe. l: Kontinuierlicher Strang von Leitgewebe, der den Zentralzyylinder des Kurztriebs mit einer neuangelegten Wurzel (w) verbindet. e: Blindes Ende eines Leitstranges im Kallus. n: Nest von spiralförmig angeordneten Tracheidalzellen. (Vergr. 25X.)

Vorstehende Arbeit wurde durch den Forschungsauftrag Nr. FG-Ch-100-1 des US-Landwirtschaftsministeriums finanziert (PL 480). Die verwendeten optischen Hilfsmittel stellte die deutsche Forschungsgemeinschaft zur Verfügung, Herrn Dr. BERT LEXEN, Washington, danken wir für sein stetiges Fördern unserer Untersuchungen.

Aus den Resultaten dieser Arbeiten können wir entnehmen, daß zumindest bei einigen Arten die Bewurzelung der Kurztriebe möglich ist, so bei *P. strobus*, *P. densi-thunbergii*, *P. densiflora*, *P. elliottii*, *P. echinata* und *P. banksiana*. Zu ähnlichem Ergebnis sind auch die Autoren dieser Arbeit bei *P. radiata* gekommen, worüber in Kürze an anderer Stelle berichtet werden soll. Die Bewurzelung ist nur der Anfang der Schwierigkeiten, welche sich einer Benutzung der Kurztriebe als Stecklinge in den Weg stellen. Nach (oder vor) der Bewurzelung muß die oft äußerst reduzierte Kurztriebsknospe zum Austrieb angeregt werden, eine Knospe, die unter normalen Umständen kaum zum Austrieb gelangt, es sei denn durch das Restitutionswachstum (COOPERRIDER 1938) nach Beschädigung des Langtriebes.

In unseren Versuchen hatte sich wiederholt gezeigt, daß kräftig bewurzelte Kurztriebe, deren Knospen sich in 2-5 cm hohe Langtriebe verwandelt hatten (Abb. 3), sehr leicht vertrockneten, wenn sie aus der feuchtigkeitsgesättigten Atmosphäre der Anzuchtkästen in das Freiland verpflanzt wurden, wo sie recht häufig Bedingungen ausgesetzt waren, die eine hohe Transpiration erforderten. Wir vermuten, daß anatomische Ursachen die ausreichende Wasserversorgung der jungen Triebe in Frage stellten. Im folgenden sollen die wichtigsten Resultate unserer diesbezüglichen Studien mitgeteilt werden.

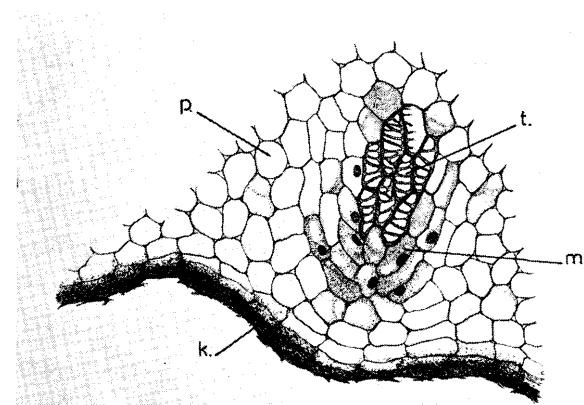


Abb. 2: Graphische Darstellung einer im peripheren Kallusparenchym entstehenden Wurzel. p: Kallusparenchym. t: Tracheiden. m: Meristematische Zellen, welche sich zum Wurzelspitzenmeristem herausdifferenzieren. k: Den Kallus umhüllendes Korkgewebe. (Vergr. 60X.)

Material und Methode

Bei 3½-jährigen Bäumen von *Pinus radiata* D. DON (Herkunft: Mischsaatgut, Tejas Verdes, Zentralchile) wurden aus der Stammmitte Kurztriebe mit 2–4 mm² großen Rindenschildchen an ihrer Basis abgeschnitten. Diese „Stecklinge“ wurden für 24 h in eine Lösung von 50 ppm Indol-3-buttersäure (IBS) gestellt und dann in Kästen mit feuchtem Flußsand zum Bewurzeln angesetzt. In etwa 7tägigen, wenn nötig auch kürzeren Abständen entnahmen wir dem

Sand einige Stecklinge und fixierten die Kurztriebbasen in Formalin/Essigsäure. Die Schnittpräparate stellten wir teils von Hand, teils nach der üblichen Einbettung in Paraffin mit dem Mikrotom her. Färbung erfolgte mit Safranin und Hämatoxilin nach HARRIS (JOHANSEN 1940).

Ergebnisse

Etwa 20 Tage nach dem Stecken ließen die Kurztriebbasen deutlich Kallusbildung erkennen. Nach weiteren 10 Ta-

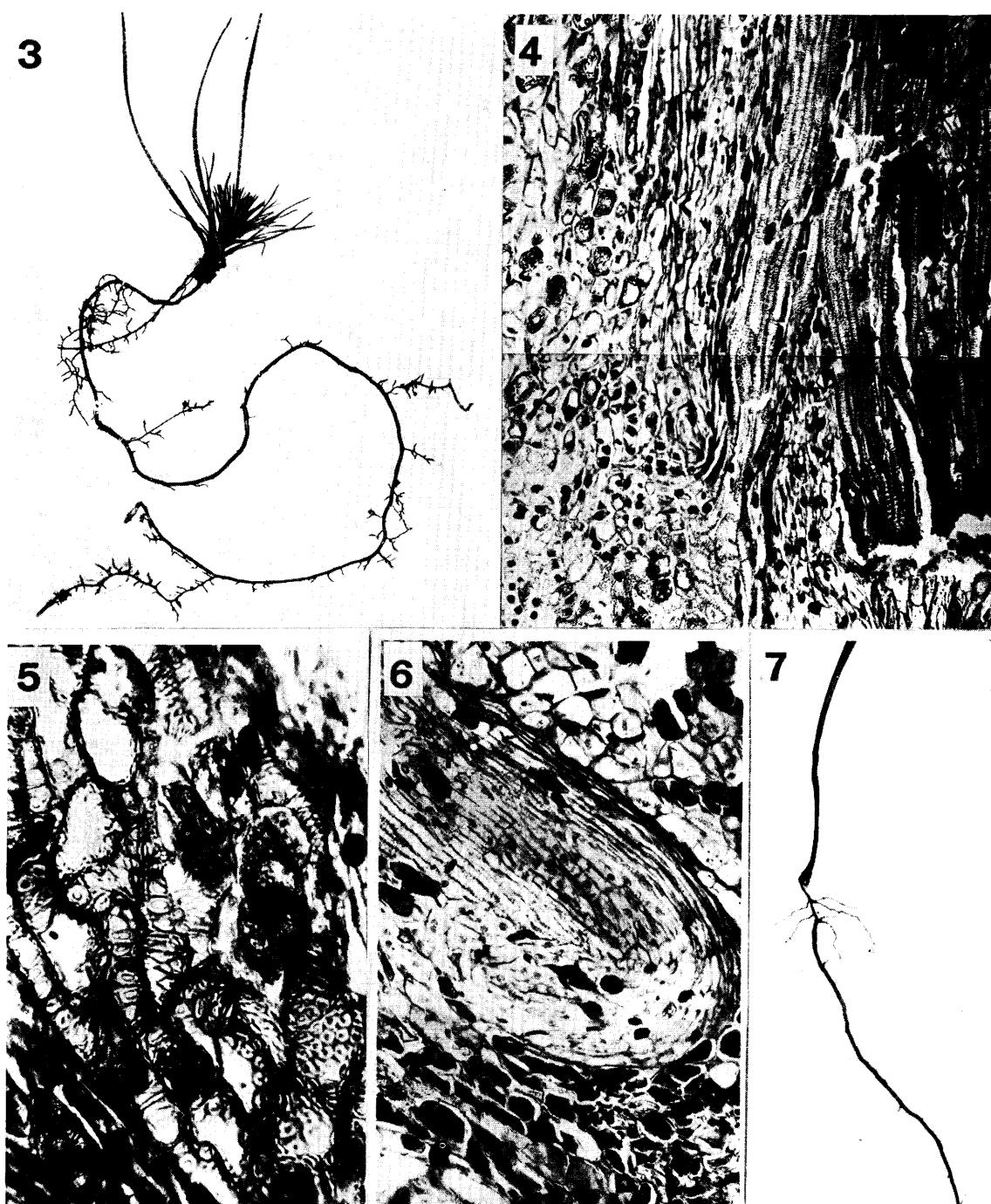


Abb. 3–7. — Abb. 3: Bewurzelter Kurztrieb von *P. radiata*, dessen Knospe sich in einen jungen Langtrieb verwandelt hat. — Abb. 4: Medianer Längsschnitt durch die Basis eines Kurztriebes, der im Bewurzelungskasten einen kräftigen Kallus gebildet hat. Die ursprüngliche Schnittstelle (rechts unten) ist vom Kallus überwallt. Vom zentralen Xylem hat sich ein Tracheidenstrang links seitlich abgezweigt, der im Kallusgewebe blind endet. Links unten Parenchymzellen, die sich zu Tracheiden differenzieren. (Vergr. 110×.) — Abb. 5: Längsschnitt durch den Kallus eines Kurztriebs. Die kurzen und breiten Tracheidalzellen finden sich als unregelmäßig verteilte Knäuel im Kallusgewebe. (Vergr. 390×.) — Abb. 6: Längsschnitt durch die Spitze einer jungen Wurzel, die den Kallus durchwächst. (Vergr. 120×.) — Abb. 7: Bewurzelter Kurztrieb von *P. radiata*. Die basalen 18 mm der Wurzel sind dünn und verzweigt. Der sich ohne Übergang anschließende Wurzelabschnitt ist doppelt so stark und kaum verzweigt.

gen waren die ersten Wurzelspitzen vorhanden. So wie von REINES und MCALPINE (1.c.) und neuerdings wieder von MERGEN und SIMPSON (1.c.) für *P. ellottii* beschrieben, bildet sich bei unserer Species das Kallusgewebe aus dem Mark und der Kurztriebrinde heraus. Vom Kambium ausgehend, ein wenig oberhalb der Schnittstelle, an welcher der Kurztrieb vom Baume getrennt worden war, setzt Differenzierung von tracheidalen Elementen ein. Diese bilden, leicht divergierend, im Kallus Leitgewebestränge aus (vgl. Abb. 4). Einige dieser Stränge durchwachsen den Kallus, um sodann den Beginn des Zentralzyllinders einer neuen Wurzel zu bilden (Abb. 1, l). An der Wurzelspitze hat sich indessen ein Meristem ausdifferenziert, und die Wurzel beginnt mit dem Längenwachstum. Nicht immer konnten wir bei den Wurzelanlagen ein kontinuierliches Leitgewebe auffinden; vielmehr war es gelegentlich unterbrochen. Die Tracheiden sind in diesen Fällen zunächst langgestreckt, werden dann aber kurz und breit, verlieren die Orientierung, und der Tracheidenstrang endet inmitten des Kallus als eine ungeordnete Anhäufung von meist spiraling angeordneten Tracheiden (Abb. 1, e und 5). Außerdem kommt es im Kallusparenchym zur Differenzierung von ähnlichen Tracheidenknäueln (Abb. 1, d), wie sie auch schon von REINES und MCALPINE (1.c.) beobachtet worden waren, und die offensichtlich keine Verbindung zur Hauptmasse des Leitgewebes haben. Bei einigen dieser Nester eigentlich geformter Tracheidalzellen, die nahe an der Kallusoberfläche gelegen sind, verlängern sich die Tracheiden im Zuge einer Wurzeldifferenzierung und treten als Beginn des Zentralzyllinders in diese Wurzelneubildung ein (Abb. 2 und 6). Bei den auf diese Weise gebildeten kurzen Wurzeln fehlt häufig die direkte Leitgewebeverbindung zwischen der Wurzel und dem Xylem des Kurztriebes. In Wurzeln, die schon eine Länge von 1–2 cm erreicht hatten, konnten wir „Leitgewebelücken“ bis zu 1,5 mm Länge beobachten. Diese Leitgewebe-Unterbrechungen lagen immer dicht an der Kallusoberfläche.

Bei einigen aus dem Kallusgewebe herausdifferenzierenden Wurzeln fiel folgende morphologische Besonderheit auf: Die Wurzelbasis ist auffällig dünn; es scheint, als bilde das Korkgewebe, welches den Kallus überzieht, einen Ring, den zu weiten der Druck der in die dicke wachsenden Wurzel nicht ausreicht. Wiederholte Beobachtungen, daß bei ins Freiland verpflanzten Nadelbündeln die ersten mm der Wurzeln sich nicht verdickten, sondern daß der Prozeß intensiveren Dickenwachstums erst weiter wurzel-

spitzenwärts einsetzte, dergestalt daß eine basale Portion der Wurzeln äußerst dünn und spröde blieb (Abb. 7).

Eine 15 cm lange Wurzel, welche diese Besonderheit aufwies, wurde näher analysiert. In der dünnen Basalzone betrug der Wurzeldurchmesser 0,9 mm, wovon auf den Zentralzyllinder 0,5 mm entfielen. Im Augenblick der Untersuchung hatte hier das sekundäre Dickenwachstum eingesetzt (Abb. 8). In der 2 cm weiter wurzelpitzenwärts gelegenen Zone größter Verdickung betrug der Wurzeldurchmesser 1,8 mm. Hier war noch keine Differenzierung des Kambiums erkennbar (Abb. 9) und der größere Durchmesser beruhte ausschließlich auf intensiverer Teilungstätigkeit des Marks und der Rinde. Leitgewebe ist nur wenig vorhanden.

Diskussion

Die im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Anomalien an den Wurzeln der Kurztriebe – unvollständig durchdifferenziertes Leitgewebe im Wurzelansatz, sprunghafte Verdickung des Wurzeldurchmessers – könnten dazu beitragen, das von uns häufig beobachtete Vertrocknen bewurzelter und ausgetriebener Nadelbündel zu erklären. Es ist offensichtlich, daß gerade bei Beginn der Entwicklung eines Langtriebes aus einer Kuratriebknospe heraus die Wasseranforderungen besonders hoch sind. Günstige Temperaturen lassen den jungen Sproß schneller austreiben, als die Differenzierung der Wurzel vorstatten geht. Dieser „stress“ in Bezug auf den Wasserhaushalt wirkt sich besonders dann für den jungen Langtrieb katastrophal aus, wenn die Differenzierung des Leitgewebes auch noch unharmonisch verläuft.

Wir sind uns darüber klar, daß die „unharmonische“ Entwicklung der Wurzel und der Differenzierung ihres Leitgewebes gerade durch unsere IBS-Behandlung hervorgerufen worden sein dürfte. Durchaus vergleichbar unseren Beobachtungen sind die Feststellungen von FOSKET und ROBERTS (1964), die durch hohe IES-Gaben bei Sproßsegmenten von Coleus ungeordnete Anhäufungen von Gefäßelementen im Wundkallus fanden. Weitaus schwieriger erscheint es uns, eine Erklärung für die abrupte Verdickung der Wurzel zu finden. Es könnte mit einer plötzlichen Änderung der Ernährungsbedingungen zusammenhängen, wenn die Nadelbündel aus den Bewurzelungskästen mit reinem Sand in das Freiland verpflanzt werden. Es könnte aber auch Folge einer Infektion mit einem tierischen Parasiten sein. Auf Nematodeninfektion hindeutende Strukturen sind von uns im Kallusgewebe gefunden worden. Daß

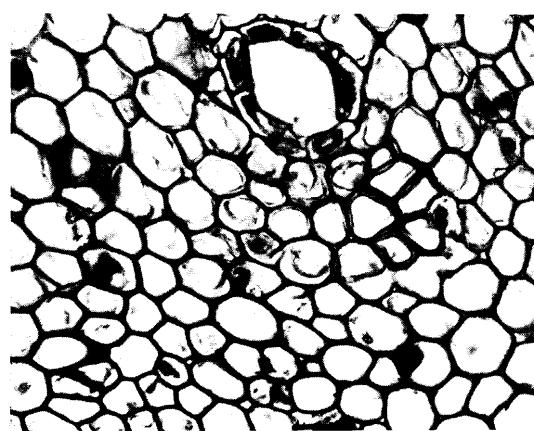
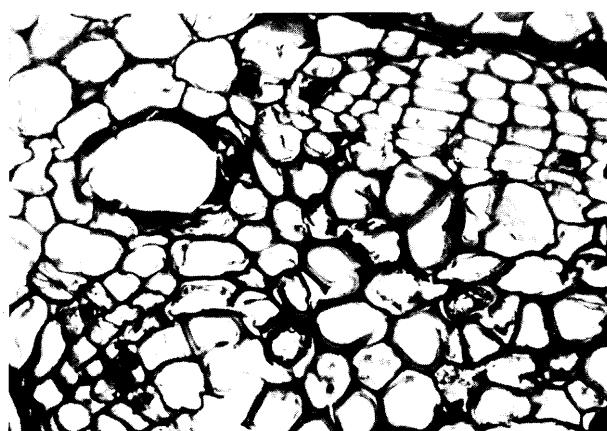


Abb. 8—9. — Abb. 8 (links): Querschnitt durch den Zentralzyllinder der in Abb. 7 gezeigten Wurzel im dünnen Basalteil. Sekundäres Dickenwachstum hat eingesetzt. Links oben Harzkanal. (Vergr. 380×.) — Abb. 9 (rechts): Querschnitt durch den Zentralzyllinder der in Abb. 7 gezeigten Wurzel im Abschnitt größten Durchmessers. Leitgewebe ist nur spärlich vorhanden, auch sind keine Anzeichen für das Einsetzen des sek. Dickenwachstums erkennbar. (Vergr. 380×.)

durch Parasitenbefall der Wuchsstoffhaushalt von Pflanzen gewaben und damit die morphologische Struktur beeinflußt wird, ist hinlänglich bekannt und wurde für eine Picea-Art erst kürzlich wieder von BALCH, CLARK und BONGA (1964) gezeigt. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob sich mit zunehmender Entwicklung die beobachteten Störungen ausgleichen oder ob eine dauernde Schädigung von aus solchen Stecklingen hervorgegangenen Pflanzen bestehen bleibt.

Zusammenfassung

Es wird nach der Ursache des in zahlreichen Fällen beobachteten Vertrocknens der Kurztriebe von *P. radiata* gesucht, die nach einer IBS-Behandlung Wurzeln gebildet hatten und spontan zu kleinen Langtrieben ausgewachsen waren. Die anatomische Analyse ergab, daß häufig die kontinuierliche Verbindung von Leitgewebe zwischen Sproß und Wurzel fehlt. Dies könnte, wenigstens z. T. die einangs gestellte Frage beantworten. Außerdem wird eine recht häufig auftretende Anomalie beim Dickenwachstum der Wurzeln von Kurztrieben beschrieben.

Resumen

Se busca la causa que en numerosos casos produce la muerte de fasciculos de *P. radiata*, que habian formado raices despues de un tratamiento con AIB y brotado espontaneamente. El analisis anatomico indica ausencia frequente de comunicacion vascular directa entre raiz y tallo. Esto podria contestar, al menos en parte, la pregunta planteada. Ademas se describe una anomalia, que aparece a menudo, del engrosamiento secundario de las raices de los fasciculos.

Summary

Title of the paper: Anatomic observations on the rooting of short shoots of *Pinus radiata*.

An attempt is made to determine the cause of the frequently observed mortality of short shoots of *Pinus radiata*, which initially had been forming long shoots after treatment with IBA. Anatomic studies revealed that a continuous vascular tissue between shoot and root was often lacking. This, therefore, is at least a partial answer. A description of a frequent anomaly in diameter growth of the roots of short shoots is also given.

Literatur

- BALCA, R. E., CLARK, J., and BONGA, J. M.: Hormonal action in production of tumors and compression wood by an aphid. *Nature (Lond.)* 202, 721–722 (1964). — FOSKET, D. E., and ROBERTS, L. W.: Induction of wound-vessel differentiation in isolated *Coleus* stem segments in vitro. *Amer. J. Bot.* 51, 19–25 (1964). — ISIKAWA, H., and KUSAKA, M.: The vegetative propagation of cuttings of *Pinus* species. I. Vegetative propagation of Japanese black pine using leaf-bundles. *Gov't. For. Exp. Sta. Meguro, Tokyo, Bull.* 116, 59–64 (1959). — JECKALEJS, H. J.: The vegetative propagation of leaf bundle cuttings of red pine (*Pinus resinosa*). *For. Chron.* 32, 89–93 (1965). — JOHANSEN, D. A.: Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Co., New York, 1940. — MERGEN, F., and SIMPSON, B. A.: Asexual propagation of *Pinus* by rooting needle fascicles. *Silvae Genetica* 13, 133–139 (1964). — REINES, M., and McALPINE, R. G.: The morphology of normal, callused, and rooted dwarf shoots of slash pine. *Bot. Gaz.* 121, 118–124 (1959). — RUDOLPH, T. D., and NIENSTAEDT, H.: Rooting, shoot development and flowering of Jack pine needle fascicles. *Silvae Genetica* 13, 118–123 (1964). — THIMANN, K. V., and DELISLE, A. L.: Notes on the rooting of some conifers from cuttings. *Journ. Arnold Arbor.* 23, 108–109 (1942). — TODA, R.: Rooting response of leaf bundle cuttings of pine. *Bull. Tokyo Univ. For.* 36, 42–48 (1948). — TODA, R.: Rooting ability of pine leaf bundle cuttings can be improved by environmental control before their collection. *Bull. Gov't. For. Exp. Sta. Meguro, Tokyo,* 57, 205–208 (1952). — ZAK, B., and McALPINE, R. G.: Rooting of shortleaf and slash pine needle bundles. *S. E. For. Exp. Stat. Res. Note* 112, 2 pp. (1957).

Vorbehandlung der Koniferensamen für Chromosomenuntersuchungen¹⁾

Von MILAN SIMAK und CHRISTA HAPPEL

Institut für Forstgenetik, Forstliche Hochschule, Stockholm 50

(Eingegangen am 8. 6. 1965)

Einleitung

Die Chromosomenzahl der Nadelholzarten liegt relativ hoch (in den meisten Fällen $2n = 24$) und die Chromosomen selbst sind verhältnismäßig lang. Um gute zytologische Quetschpräparate zu erhalten, ist es darum notwendig, die Chromosomen auf geeignete Länge zu kontrahieren und sie auch gut in den Zellen verteilen zu können. Eine von uns ausgearbeitete Methode, welche sich in dieser Hinsicht gut bewährte, wird hier zuerst in einigen Punkten kurz beschrieben und nachher näher kommentiert.

Als Material dienten Wurzelspitzen der keimenden Samen von *Picea abies*, *Pinus silvestris* und *Larix decidua*.

Anleitung

1. Material und Vorkeimung

Frische Samen werden nach einstündigem Einweichen in Wasser (ca. 20°C) zur Keimung auf nasses Filterpapier in einer Petrischale ausgelegt.

¹⁾ Diese Arbeit ist ein Teil eines Versuchsprogramms, das von der „Carl Trygger-Stiftung für wissenschaftliche Forschung“ (Stockholm) unterstützt wird.

2. Keimlingsauswahl

Wenn die Wurzelspitzen halbe bis einfache Samenlänge erreicht haben, sind zahlreiche Zellteilungen darin enthalten, und die Samen eignen sich am besten für die zytologischen Untersuchungen.

3. Kältebehandlung

Um Kontraktion der Chromosomen zu erreichen, werden die ausgewählten Keimlinge in der Petrischale 4–6 Tage lang einer konstanten Temperatur von 0°C ausgesetzt.

4. Wärmebehandlung

Anschließendes Aufbewahren der Petrischale mit den Keimlingen bei Zimmertemperatur (ca. 20°C) für 60–120 Minuten fördert die gute Verteilung der Chromosomen beim Quetschen der Präparate.

5. Fixierung

Die Keimlinge werden 1–2 Stunden in einer Mischung aus absolutem Alkohol und Eisessig (3 : 1) fixiert.