

which are affected less by water or not affect at all. The sensitization also appears to be related to in situ system as it had little or no effect when the extracts were irradiated outside the seed.

### Summary and Conclusions

The effects of seed extracts on radiosensitivity were studied in Douglas-fir and lodgepole pine and compared with water-soaked and dry seed irradiation.

At a lower dose of radiation (1,000 R), soaking the seed in extract before irradiation stimulated the germination relative to the control.

Seed extracts appeared to have a radiosensitizing effect at higher doses of radiation in both species. This effect appears to be related to in situ processes as it was minimal when the seeds were soaked in irradiated extracts.

Experiments will be conducted to investigate whether these effects are related to systems in the embryo or in the endospenn.

Key words: **Radiosensitivity**, Seeds, *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO, *Pinus contorta* DOUGL. ex LOUD.

### Zusammenfassung

Saatgut von *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO und von *Pinus contorta* DOUGL. ex LOUD. wurde in verschiedenen Behandlungsarten radioaktiver Bestrahlung ausgesetzt. Insbesondere wurde die Empfindlichkeit von trockenem und gequollenem Samen geprüft. Gleichzeitig wurden

radioaktiv bestrahlte mit Wasser versetzte Saatgutextrakte als Quellungssubstrat benutzt.

Es zeigte sich in einigen Fällen, daß eine niedrige Dosis an radioaktiver Bestrahlung das Keimprozent gegenüber demjenigen von unbehandelten Samen sogar erhöhen kann, während höhere Dosen im allgemeinen eine deutliche Herabsetzung der Keimkraft bewirken.

### References

- D'AMATO, F. and HOFFMAN-OSTENHOF, O.: Metabolism and spontaneous mutation in plants. *Adv. Genet.* 8: 1-28 (1956). — DUGLE, J. R. and EL-LAKANY, M. H.: Check list revisions of the plants of the Whiteshell area, Manitoba, including a summary of their published radiation sensitivities. *AECL* — 3678, 31 pp. (1971). — EL-LAKANY, M. H. and SZIKLAI, O.: Effect of gamma irradiation on some western conifers. *Radiation Bot.* 10: 411-420 (1969). — GUSTAFSSON, A. and SIMAK, M.: Effect of x- and gamma-rays on conifer seed. *Medd. stat. skogforskinst.* 48 (2), 20 pp. (1958). — KAMRA, O. P., KAMRA, S. K., NILAN, R. A. and KONZAK, C. F.: Radiation response of soaked barley seeds. I-substances lost by leaching. *Hereditas*, 46: 152-170. a (1960). — KAMRA, O. P., KAMRA, S. K., NILAN, R. A. and KONZAK, C. F.: Radiation response of soaked barley seed. II-Relation of radiobiological damage to substance lost by leaching. *Hereditas*, 46: 261-273. b (1960). — MERZ, T.: The effect of extended anaerobic treatments on the chromosomes of *Vicia faba*. *J. Biochem. Cytol.*, 5: 135-142 (1959). — MICHAELIS, A. and RIEGER, R.: Cytological and metabolic researches on the active meristem of the root tip of *Vicia faba* L. II Differential distribution of chromosomal breakage and reunion points after anaerobic soaking of the seed. *Chromosoma*, 9: 514-536 (1958). — RIEGER, R. and MICHAELIS, A.: Cytological and metabolic researches on active meristem of root tip of *Vicia faba*. *Chromosoma*, 9: 238-257 (1958). — SHARMA, B.: Radiosensitizing effect of extract from germinating barley seeds. *Int. J. Radiat. Biol.* 17: 15-48 (1970).

## Vergleichende zytologische Untersuchungen der Chromosomenstruktur von *Abies borisii regis* Mattf., *A. cephalonica* Loud. und *A. alba* Mill.

Von Dimitrios MOULALIS<sup>1)</sup> und Zoë Maria ILLIES

Aus dem Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Reinbek-Hamburg

(Eingegangen August | Oktober 1975)

Das natürliche Verbreitungsgebiet von *Abies borisii regis* MATTF. umfaßt ein kleines Areal in Mittel- und Nordgriechenland. Im Süden überlappt es im Zentralpeloponnes mit dem von *A. cephalonica* LOUD. (BASSIOTIS 1956), im Norden dagegen mit *A. alba* MILL. Der in ihrem gesamten Verbreitungsgebiet ausgeprägte Polymorphismus von *A. borisii regis* ließ MATTFELD einen Hybridschwarm aus den im Norden und Süden angrenzenden Arten *A. alba* und *A. cephalonica* annehmen (MATTFELD 1926, zit. nach KLAEHN and WINIENSKI 1962), während REHDER (1958) *A. borisii regis* als eine selbständige, *A. cephalonica* verwandte und mit ihr z. T. sympatrische Art beschreibt. Zur Klärung dieser Frage sollen vergleichende zytologische Untersuchungen der Chromosomenstruktur aller 3 Arten aus Material ihres natürlichen Verbreitungsgebietes beitragen.

Das Karyogramm aller 3 Arten stellten Mergen and Burley (1964) nach Untersuchungen an ♀ Gametophyten von Arboretmaterial auf. Sie werteten dazu die jeweils besten 14 Metaphasen aus. Bei allen 3 Arten waren 5 der 12 haploiden Chromosomen heterobrachial und entsprachen der für die Gattung typischen Uniformität des Chromosomensatzes. Die Autoren weisen aber ferner auf zahlreiche sekundäre Einschnürungen und kleinere Strukturunterschiede der Chromosomen hin, die wegen ihrer hohen Variabilität bei dem begrenzten Umfang des Materials für eine Identifizierung der Chromosomen ungeeignet waren.

Störende Umwelteinflüsse auf das teilungsfähige Gewebe, wie sie bei Verwendung des haploiden Endosperms unvermeidlich sind, lassen sich bei der Samenkeimung unter gleichbleibenden kontrollierten Laborbedingungen weitgehend ausschließen. Außerdem ist bei der Verwendung des Meristems der Keimwurzel die Durchsicht eines umfangreicheren Materials möglich, als bei der Einsammlung von

<sup>1)</sup> Gastwissenschaftler auf Grund eines Stipendiums des DAAD am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Schmalenbeck, Sieker Landstr. 2. Heutige Adresse: Institut für Angewandten Waldbau und Forstgenetik der Universität Thessaloniki/Griechenland.

<sup>2)</sup> Herrn Forstdirektor Dr. DIMPLMEIER sei an dieser Stelle für die Überlassung des *A. alba*-Saatguts gedankt.

Blütenknospen am stehenden Stamm. Um diese Vorteile für die Identifizierung typischer Chromosomenstrukturen auszunutzen, wurden in den vorliegenden Versuchen Färbemethoden erprobt, die sich zur vergleichenden Untersuchung der Karyogramme der 3 Arten eignen. An Hand der hierbei gemachten Beobachtungen werden die Möglichkeiten einer weiteren Klärung der angeschnittenen Frage diskutiert.

### Material und Methoden

Die Samenproben aller 3 Arten wurden 1973 geerntet und im Samenkeller gelagert. Sie stammen aus Populationen der natürlichen Verbreitungsgebiete. Von *A. borisii regis* (Lehrforstamt Pertouli, Pinosgebirge 1200—1300 m ü.M.) und von *A. cephalonica* (Forstamt Vytina, Peloponnes 1100—1500 m ü.M.) standen Saatgutmischungen von je 10 taxonomisch identifizierten Bäumen zur Verfügung. Die *Abies borisii regis* Proben stammten aus einem Gebiet, in dem die Holzart vorherrscht, während *A. cephalonica* nur einen geringen Anteil an der Bestandesbildung hat (BASSIOTIS 1956). Für *A. alba* wurde Saatgut einer autochthonen Herkunft aus dem Bayerischen Wald verwendet.<sup>2)</sup>

Die Keimung erfolgte im Keimschrank bei Wechseltemperaturen von 20—30° C. Zur Feststellung des Zeitpunkts intensivster Zellteilung im embryonalen Gewebe wurden Proben gekeimter Samen mit 2—22 mm langen Keimwurzeln fixiert und gefärbt, und die Anzahl der Mitosen im Meristem der 2 mm langen Wurzelspitze ausgezählt.

Zur Erleichterung der Analyse morphologischer Strukturen der sehr langen Nadelholzchromosomen in der Metaphase ging der Fixierung eine kombinierte Behandlung aus Kälteschock und kurzfristiger Einwirkung von Paradichlorbenzol (PDB) voraus, die sich bei Chromosomenuntersuchungen am Knospenmeristem von *Larix* bewährt hatte (ILLIES 1966). Alle Schritte der Vorbehandlung des lebenden Materials wurden an unverletzten gekeimten Samen durchgeführt, um nicht durch Abschneiden der Wurzel einen zusätzlichen Reiz auf den Mitoseverlauf zu verursachen. Samen mit 5—15 mm langen Keimwurzeln kamen dazu direkt aus dem Keimschrank auf mit Eiswasser angefeuchtetes Fließpapier in kalte Petrischalen für 24 Std. bei +2° C in den Kühlschrank und anschließend für 5 Std. im Tageslicht bei Zimmertemperatur in eine gesättigte Paradichlorbenzollösung (PDB).

Nach Abschneiden der Wurzel und mehrmaligem gründlichen Spülen im Wasser wurde in Alkoholeisessig (3 : 1) fixiert. Anschließend wurden 2 mm lange Wurzelspitzen entweder in Karminessigsäure oder mit dem Feulgenreagenz gefärbt. Zur Karminessigsäurefärbung wurde das Material in der Farblösung in Glasröhrchen im Wasserbad zum Kochen gebracht, 2—3 Min. gekocht und danach noch heiß in einem Tropfen der Farblösung auf dem Objektträger gequetscht. Die Feulgenfärbung sowie die Herstellung aller Dauerpräparate erfolgte nach DARLINGTON and LA COUR (1960).

Alle mikroskopischen Untersuchungen und Aufnahmen wurden im Phasenkontrast ausgeführt.<sup>3)</sup>

### Ergebnisse

In den Stichproben gekeimter Samen mit 2—20 mm langen Keimwurzeln wurde die höchste Teilungsfrequenz in der Spitze 5—15 mm langer Wurzeln gefunden, während bei zunehmender Länge das Teilungswachstum zu Gunsten des Streckungswachstums zurückging. Die Untersuchung

der Chromosomenstruktur wurde daher an Keimwurzeln dieser Länge durchgeführt. Durch den Kälteschock und die Vorbehandlung der Keimlinge in PDB waren die Metaphasechromosomen nach beiden Färbemethoden gut ausgebreitet. Wie zu erwarten war, hatte die Kälte den Ablauf der Mitose während der Metaphase verzögert, so daß ihre Zahl im Gewebe vermehrt war. Der verzögerte Ablauf der Mitose kam anschließend bei Zimmertemperatur wieder in Gang, das PDB intensivte die Spiralisierung der Metaphasechromosomen und eine Veränderung der Oberflächenspannung des Plasmas bewirkte eine bessere Verteilung dieser kürzeren Chromosomen in der Zelle, so daß



Abb. 1. — *Abies borisii regis*; Metaphase nach Feulgenfärbung.

Abb. 2. — *A. borisii regis*, Metaphase nach Färbung mit Karminessigsäure.

Abb. 3. — *A. cephalonica*: a. — Chromosom mit 1 sekundären Einschnürung; b. — 2 sekundäre Einschnürungen an einem Chromosomenarm; c. — je eine sekundäre Einschnürung an jedem Arm; d. — Chromosom mit im ganzen 3 sekundären Einschnürungen.

<sup>3)</sup> Zeiss-Photomikroskop, Agfapan 25 professional Film 15 DIN.

die Beobachtung der individuellen Chromosomenstruktur erleichtert wurde. Durch die bei der Feulgenfärbung ablaufende Schiff'sche Aldehydreaktion mit der DNS wurde eine durchscheinende Färbung erzielt, so daß die Chromosomenstrukturen distinkter erkennbar waren (Abb. 1) als es durch die undifferenzierte Anfärbung der Chromosomen mit Karmin zu erreichen war (Abb. 2). Daher wird für die anstehende Fragestellung die Feulgenfärbung zu bevorzugen sein. Die im folgenden beschriebenen Beobachtungen der Chromosomenstruktur wurden jeweils an zahlreichen Metaphasen gemacht.

Bei allen 3 Arten fielen drei Chromosomenpaare durch einander ähnliche Strukturen auf: an je einem Chromosomenpaar wurden an einem Chromosomenarm eine (Abb. 3 a, 5), bei dem anderen zwei sekundäre Einschnürungen (Abb. 2, 3 b, 4) beobachtet, während ein drittes Chromosomenpaar an jedem Arm eine Einschnürung aufwies (Abb. 3 c). *A. cephalonica* hatte außerdem ein langes Chromosom mit insgesamt 3 Einschnürungen, von denen zwei an einem Arm und eine am anderen Arm lagen (Abb. 3 d, 6).

durchgeführte absolute Längenmessungen der Chromosomen oder das relative Längenverhältnis der Chromosomenarme zueinander bei Abiesarten zu vergleichen und für eine stichhaltige Chromosomenidentifizierung zu benutzen. Sie hielten darüber hinaus die beobachteten morphologischen Chromosomenstrukturen für zu variabel, um sie zur Ergänzung solcher Meßzahlen heranzuziehen. Da die Mitosen der Endospermausbildung im Frühjahr zur Zeit extremer Witterungseinflüsse stattfinden, mag die hohe Variabilität der Chromosomenstrukturen und -längenverhältnisse bei ihren Untersuchungen in gewissem Umfang auf die Verwendung gametophytischen Gewebes zurückzuführen sein. Demgegenüber wurden die von uns untersuchten Keimwurzeln unter gleichbleibenden Laborbedingungen angezogen, die beliebig wiederholbar sind. Sie können daher in so ausreichendem Maße zur Verfügung stehen, daß sich die Variabilität charakteristischer Chromosomenmerkmale abschätzen ließe. Es erscheint uns nach den vorliegenden Untersuchungen möglich, mittels der hier erprobten Färbemethode solche Strukturen so eindeutig zu de-



Abb. 4. — *A. borisii regis*, Ausschnitt: Chromosomenarm mit 2 sekundären Einschnürungen.  
 Abb. 5. — *Abies alba*: Chromosomenarm mit 1 sekundären Einschnürung; Chromosom mit anhängendem Fragment.  
 Abb. 6. — *A. cephalonica*: Chromosom mit 3 sekundären Einschnürungen.  
 Abb. 7. — *A. borisii regis*, Ausschnitt: Chromosom mit anhängendem Fragment.  
 Abb. 8. — *A. borisii regis*, Ausschnitt: Fragment ohne Zusammenhang mit einem Chromosom.

Bei *A. alba* wurde ein solches Chromosom nur in einer Zelle, bei *A. borisii regis* gar nicht gefunden. Dagegen trat bei diesen beiden Arten häufig ein stark gefärbtes knopfförmiges Fragment auf, das entweder noch durch einen dünnen Faden mit einem Chromosom verbunden war (Abb. 5, 7), oder ohne Zusammenhang mit einem Chromosom beobachtet wurde (Abb. 8).

#### Diskussion

MERGEN and BURLEY (1964) wiesen auf die Schwierigkeiten hin, im kontinuierlichen Ablauf der verschiedenen Mitosen

finieren, daß sie in Verbindung mit relativen Längenmessungen der Chromosomen zur Identifizierung bestimmter Chromosomen des Karyogramms und zum differenzierenden Vergleich der 3 Arten untereinander herangezogen werden könnten. Von solchen vergleichenden zytologischen Untersuchungen werden wertvolle Hinweise auf die Evolution der auf dem Balkan autochtonen Abiesarten erwartet.

Zur Klärung dieser Fragestellung ist ein wesentlich umfangreicheres Material aller 3 Arten erforderlich. Vor allem müßte *A. borisii regis* aus Populationen ihres gesamt-

ten Verbreitungsgebietes einbezogen werden. Bisher fehlen Stichproben noch aus dem nördlichen Randgebiet ihrer Verbreitung, in denen sie mit *A. alba* sympatrisch ist. Ebenso standen Balkanherkünfte von *A. alba* noch nicht zur Verfügung. Darüber hinaus sind sowohl *A. borisii regis* wie *A. cephalonica* aus ihrem sympatrischen Vorkommen zu ergänzen.

#### Summary

Comparative cytological investigations of the chromosome structure in *Abies borisii regis* MATT., *A. cephalonica* LOUD. and *A. alba* MILL.

From seed sampled in different sites of the distribution areas of the three species comparative cytological studies were carried out in the somatic tissue of the root tip of seedlings.

Preliminary investigations tested different staining methods suitable for a detailed identification of the morphological structure of the chromosomes.

Though the investigation was as yet limited, the 3 species revealed 3 pairs of chromosomes that seemed to be quite

similar. Further specific features in another chromosome were noticed in *A. cephalonica*, that were not observed in the other 2 species and vice versa.

In the light of the present findings the possibilities of a further extensive study regarding the relationship between *A. borisii regis* and the other two species were discussed.

**Key words:** *Abies borisii regis*, *A. cephalonica*, *A. alba*, chromosome identification.

#### Literaturverzeichnis

BASSIOTIS, K.: Die Tannenwälder Griechenlands. Jhrsber. der Land- und Forstwirtschaft. Fakultät der Universität Thessaloniki, 1956, p. 1—98. — DARLINGTON, C. D. and LA COUR, L. F.: The handling of chromosomes. London, Allen and Unwin 1960. — ILLIES, Z. M.: The development of aneuploidy in somatic cells of experimentally produced triploid larches. *Heredity* 21, 379—385 (1966). — KLAHN, F. U. and WINIENSKI, J. A.: Interspecific hybridization in the Genus *Abies*. *Silv. Genet.* 11, 130—142 (1962). — MATTFELD, J.: Die europäischen und mediterranen Pflanzenareale. Jena 1, 22—29 (1926). — MERGEN, F. and BURLEY, J.: *Abies* Karyotyp Analysis. *Silv. Genet.* 13, 63—68 (1964). — REHDER, A.: Manual of cultivated trees and shrubs. New York 1958, p. 10—18.

## Bemerkungen über die Bedeutung der Populationsgenetik und der ökologischen Genetik als Basis für forstgenetische und forstpflanzenzüchterische Arbeiten

Von M. HÜHN\*)

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Christian-Albrechts-Universität in Kiel

(Eingegangen September 1975)

**Vorbemerkung:** Die nachfolgenden Ausführungen stellen die Wiedergabe eines Vortrages dar, der im Rahmen eines Kolloquiums über Probleme der Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung im August 1975 am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung in Schmalenbeck der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft Reinbek/Hamburg gehalten wurde.

Inhaltlich handelt es sich dabei nicht um die Darstellung und Diskussion eigener wissenschaftlicher Arbeiten und Ergebnisse, sondern die folgenden Ausführungen sollen mehr in Form eines Übersichtsreferates theoretische Grundlagen verschiedener Probleme und Arbeitsgebiete aus Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung unter dem Blickwinkel einiger neuerer Entwicklungen in der Populationsgenetik und der ökologischen Genetik beleuchten, denn wir sind der Meinung, daß ein solches tieferes Verständnis der wissenschaftlichen Grundlagen züchterischer Maßnahmen bei der Planung und Durchführung von Züchtungsprogrammen unerlässlich ist.

Bei einem Teil der nachfolgenden Darlegungen aus dem Gebiet der ökologischen Genetik stütze ich mich in einigen Abschnitten stark auf ein Vorlesungsmanuskript von Prof. Dr. K. STERN — und ich habe ganz bewußt einige längere Passagen daraus in der Form von Zitaten gebracht, um die präzisen und blendend geschriebenen Formulierungen die-

ses hervorragenden Vertreters dieser neuen Blickrichtungen und Arbeitsgebiete in Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung noch einmal in Erinnerung zu bringen.

Dem Wunsch der *Silvae Genetica*-Schriftleitung, daß doch sicherlich ein größeres Interesse an einem solchen allgemeinen methodischen Übersichtsreferat bestehe, habe ich dann schließlich durch die Bereiterklärung zur Veröffentlichung dieses Vortrages entsprochen.

#### Vortrag

„In den letzten Jahrzehnten hat die Züchtungsforschung eine Reihe von Verfahren erarbeitet, die das Ziel haben, gewisse Voraussagen über den Erfolg bestimmter Züchtungsverfahren oder einzelner Maßnahmen zu machen, welche im Zusammenhang mit einem Züchtungsprogramm notwendig werden. Je sicherer und weitreichender solche Voraussagen sind, um so mehr Nutzen kann der praktische Züchter daraus ziehen, und je schwieriger die Objekte sind, mit denen er arbeitet, um so mehr lohnt es sich, solche Verfahren einzusetzen. Die meisten Forstpflanzen sind solche schwierigen Objekte. Hohe Kosten für die Anzucht jedes Individuums verteuern und lange Zeiträume zwischen den Generationen behindern hier die Züchtungsarbeit in so hohem Maße, daß man auch heute noch vielfach einer gewissen und durchaus nicht unberechtigten Skepsis gegenüber der Forstpflanzenzüchtung begegnet, obgleich andere Voraussetzungen, z. B. die genetische Variation der Baumarten, nachgewiesenermaßen günstig sind“ (STERN 1964). Diesen vor über einem Jahrzehnt von STERN

\*) Anschrift des Verfassers: Prof. Dr. MANFRED HÜHN, Christian-Albrechts-Universität Kiel/Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, 2300 Kiel, Olshausenstr. 40—60, Neue Universität/Haus S 20 a, Bundesrepublik Deutschland.