

Cytogenetik des Endosperms

Autor(en): **Rutishauser, Alfred**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **66 (1956)**

PDF erstellt am: **25.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-46620>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Cytogenetik des Endosperms

Von Alfred Rutishauser

Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich

Eingegangen am 13. September 1956

Einleitung

Das Endosperm der Blütenpflanzen ist ein kurzlebiges Gewebe. Es entwickelt sich im Anschluß an eine Befruchtung aus der Zentralzelle des Embryosacks (ES) kurz bevor die befruchtete Eizelle sich zu teilen beginnt, stirbt aber schon sehr früh ab und hinterläßt in den Tochterpflanzen keine bleibenden Spuren. Da es im entwickelten Zustande mit Reservestoffen angefüllt ist, wird es als Nährgewebe betrachtet. Neuere Untersuchungen haben aber gezeigt, daß die Bedeutung des Endosperms weit über diejenige eines bloßen Nahrungsspeichers hinausgeht. Wie vor allem Brink, Cooper, Blakeslee und seine Mitarbeiter sowie Müntzing, Håkansson u. a. gezeigt haben (vgl. Brink und Cooper, 1947), übt es schon sehr früh auf den wachsenden Embryo einen entwicklungsregulatorischen Einfluß aus. Der Embryo entwickelt sich nicht oder nicht normal, wenn das Endosperm aus irgendeinem Grunde nicht ausgebildet wird. Die normale Entwicklung des Endosperms ist für die Samenfertilität einer Blütenpflanze von entscheidender Bedeutung.

Merkwürdigerweise sind manche Eigenschaften dieses für die Angiospermen lebenswichtigen Gewebes nur sehr mangelhaft bekannt. Das gilt vor allem für seine Cytologie. Die meisten Angaben über die Chromosomenzahlen der Endosperme sind indirekt aus dem Typus der ES-Entwicklung und der dafür charakteristischen Kernverschmelzungen in der Zentralzelle erschlossen worden. Da in den befruchteten Zentralzellen der ES, die sich nach dem Normaltypus entwickelt haben, drei haploide Kerne, zwei Polkerne und ein Spermakern, miteinander verschmelzen, ist anzunehmen, daß die meisten Endosperme triploid sind. Die Entdeckung anderer Typen der ES-Entwicklung, vor allem des *Oenothera*-Typus und der tetrasporen ES, zeigt aber, daß diese Regel häufig durchbrochen wird. Endospermentwicklung ist auch bei niedrigerem und höherem Polyploidiegrad möglich. Dabei scheint die Anzahl der Chromosomensätze, welche im Endosperm vorhanden sind, für eine bestimmte Art charakteristisch zu sein.

Neben diesen artgebundenen cytologischen Unterschieden zwischen den Endospermen sind aber schon sehr früh auch individuelle Schwankungen im cytologischen Verhalten der Nährgewebe gefunden worden. In der embryologischen Literatur sind eine Unzahl Angaben über Größen- und Formunterschiede der Endospermkerne, über Kern- und Spindelverschmelzungen enthalten, die beweisen, daß sich gerade das Endosperm durch eine außerordentliche Mannigfaltigkeit der cytologischen Vorgänge auszeichnet, welche in ihm ablaufen. Selbst die Annahme einer über das ganze Endosperm konstanten Chromosomenzahl wird dadurch in Frage gestellt.

Aus der oben skizzierten Situation heraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Cytologie des Endosperms durch direkte Analysen der Mitosen und nicht nur durch Untersuchung von Kernverschmelzungen und Kernformen aufzuklären. Die technischen Vorarbeiten zu einer Cytologie des Endosperms sind im Jahre 1949 begonnen worden. Über die Resultate dieser nur zum Teil veröffentlichten Untersuchungen soll hier kurz berichtet werden.

Die vorliegende Arbeit ist mit Hilfe einer Subvention des *Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* ausgeführt worden.

I. Methoden

Die üblichen Paraffinschnittmethoden eignen sich in der Regel nicht für die Herstellung cytologischer Endospermpräparate. Schrumpfungen lassen sich auch bei sorgfältigster Fixierung kaum vermeiden, die Chromosomen sind daher meist zu eng ineinander verflochten, als daß eine genaue Analyse der Mitosen möglich wäre. Bessere, zum Teil sehr gute Resultate können dagegen mit der Endospermquetschmethode erzielt werden. Sie wurde in Zusammenarbeit mit H u n z i k e r (vgl. R u t i s h a u s e r und H u n z i k e r, 1950) ausgearbeitet und von L a C o u r (1954) und M o r r i s o n (1955) weiterentwickelt. Erste Versuche mit Samen von *Ranunculus auricomus* haben ergeben, daß Endosperm und sporogenes Gewebe sich unter dem Einfluß der Hydrolyse mit n HCl voneinander trennen. Das Endosperm läßt sich dann in toto aus den Samen herauslösen und entweder für anatomische Untersuchungen verwenden oder zu Nuclealquetschpräparaten verarbeiten. Das Verfahren gelingt bis jetzt nur nach Fixierung mit Carnoy oder Alkohol-Eisessig. Fixiert werden in der Regel die jungen Samen oder die geöffneten Früchte. Nach der Fixierung werden die Samen in 80% oder 100% Alkohol überführt und darin über Nacht aufbewahrt. In dieser Flüssigkeit können sie aber auch bei einer Temperatur von $\pm 0^\circ$ C bis drei Wochen verbleiben, ohne daß die Chromosomen ihre Färbbarkeit verlieren. Aufbewahren in Carnoy bei $\pm 0^\circ$ C ist ebenfalls möglich.

Nach der Überführung der fixierten Samen in Wasser werden sie der üblichen Feulgenbehandlung unterworfen. Da die Rosanilinsäure oft nur langsam in die Samen eindringt, ist es angezeigt, sie vor der Zerlegung in Leitungswasser stehen zu lassen. Nachfärbung mit Orcein hat sich ebenfalls als vorteilhaft erwiesen.

Die Zerlegung der Samen erfolgt am besten mit Präpariernadeln unter einer Binokularlupe in 45-%-Essigsäure. Meist lassen sich dann die Endosperme unverletzt herauslösen, bei manchen Liliaceen mitsamt dem eingeschlossenen Embryo.

II. Chromosomenzahl des Endosperms

1. Sexuelle Pflanzen

Abhängigkeit von der Embryosackentwicklung

Die Chromosomenzahl des Endosperms ist in erster Linie abhängig vom Typus der ES-Entwicklung bzw. vom Umfang der Kernverschmelzungen, welche für den betreffenden Entwicklungstypus charakteristisch sind.

Tabelle 1
Embryosackentwicklung und Chromosomenzahl des Endosperms

Typus der ES-Entwicklung	Chromosomenzahl des Endosperms	Typus der ES-Entwicklung	Chromosomenzahl des Endosperms
Normaltypus (NT)	3n	<i>Penaea</i>	5n
<i>Oenothera</i>	2n	<i>Plumbago</i>	5n
<i>Allium</i>	3n	<i>Fritillaria</i>	5n
<i>Drusa</i>	3n	<i>Plumbagella</i>	5n
<i>Peperomia</i>	8n-10n ¹	<i>Adoxa</i>	3n

¹ Einzelne Arten entwickeln bis 15ploides Endosperm.

In Tabelle 1 sind die Polyploidiegrade der Endosperme angegeben, die für die zehn Haupttypen der ES-Entwicklung erwartet werden müssen. Sie variieren zwischen 2 n und 10 n.

Nur einige dieser Zahlen konnten bisher durch direkte cytologische Untersuchung der Endospermmitosen verifiziert werden. Die Ergebnisse von Zählungen, die mit der Endospermquetschmethode bisher erzielt worden sind, wurden in Tabelle 2 zusammengestellt. In allen Fällen, wo gleichzeitig embryologische und cytologische Untersuchungen durchgeführt worden sind, stimmt die am häufigsten gefundene Chromosomenzahl des Endosperms mit den erwarteten Werten überein. Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß der Polyploidiegrad des Endosperms in erster Linie vom Typus der ES-Entwicklung abhängt.

Tabelle 2

Entwicklungstypus des Embryosacks und Chromosomenzahlen der Endosperme

Art	<i>n</i>	Chromosomen- zahl des Endosperms	Autor
1. Normaltypus			
<i>Secale cereale</i>	7	21	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Triticum aestivum</i>	21	63	Morrison (1955)
<i>Ranunculus acer</i>	7	21	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Ranunculus bulbosus</i>	8	24	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Ranunculus cassubicifolius</i>	8	24, 48	Rutishauser (1953)
<i>Ranunculus repens</i>	16	48	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Ranunculus carinthiacus</i> .	8	24 ¹	Landolt (1954)
<i>Ranunculus grenierianus</i> .	8	24 ¹	Landolt (1954)
<i>Ranunculus oreophilus</i> ...	8	24 ¹	Landolt (1954)
<i>Ranunculus aduncus</i>	8	24 ¹	Landolt (1954)
<i>Ranunculus montanus</i> s.str.	16	48 ¹	Landolt (1954)
<i>Delphinium ajacis</i>	8	24	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Nigella damascena</i>	6	18	Rutishauser und Hunziker (1950)
2. Alliumtypus			
<i>Paris quadrifolius</i>	10	30	Rutishauser und La Cour (1956)
<i>Trillium grandiflorum</i> ...	5	14, 15, 16, 17 30, 45, 60	Rutishauser (1956)
<i>Trillium cernuum</i>	5	15	²
<i>Trillium erectum</i>	5	15, 30	²
<i>Trillium luteum</i>	5	15	²
3. Fritillariatypus			
<i>Fritillaria meleagris</i>	12	60, 180	²
<i>Fritillaria imperialis</i>	12	60	²
<i>Fritillaria libanotica</i>	12	60	²
<i>Lilium candidum</i>	12	60, 120	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Lilium speciosum</i>	12	60	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Lilium henryi</i>	12	60, 72	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Lilium regale</i>	12	60	Rutishauser und Hunziker (1950)
<i>Lilium martagon</i>	12	60	²

¹ Gelegentlich wurden auch höher polyploide Zahlen gefunden.² Eigene unveröffentlichte Resultate.

In der Regel halten die Nährgewebe der Angiospermen mit großer Treue an der für sie charakteristischen Chromosomenzahl fest. Unter 717 Endospermen von *Trillium grandiflorum* wiesen nur 7 geringe Abweichungen von der triploiden Zahl auf (Rutishauser, 1956 b). Ferner waren alle 40 untersuchten Endosperme von *Fritillaria meleagris* pentaploid ($5n = 60$, Abb. 1, b, c), wobei allerdings in einzelnen Fällen die Chromosomenzahl nur mit einer Genauigkeit von ± 1 bestimmt werden konnte. Ob sich die Variabilität, die sich beim Aufbau der Zentralzelle mancher Arten nachweisen läßt (z. B. bei *Erythronium americanum*, H a q u e ,

1951), auf den Polyploidiegrad des Endosperms auswirkt oder ob dann nur bestimmte Zentralzellen zu Endospermen auswachsen, entzieht sich noch unserer Kenntnis.

Abhängigkeit von andern Faktoren

Ein Blick auf Tabelle 2 zeigt, daß in den Endospermen neben den erwarteten auch andere Chromosomenzahlen erscheinen. Höhere und niedrigere Polyploidiegrade, Gemische verschiedener Polyploidiegrade sowie aneuploide Chromosomenzahlen sind um so häufiger, je mehr

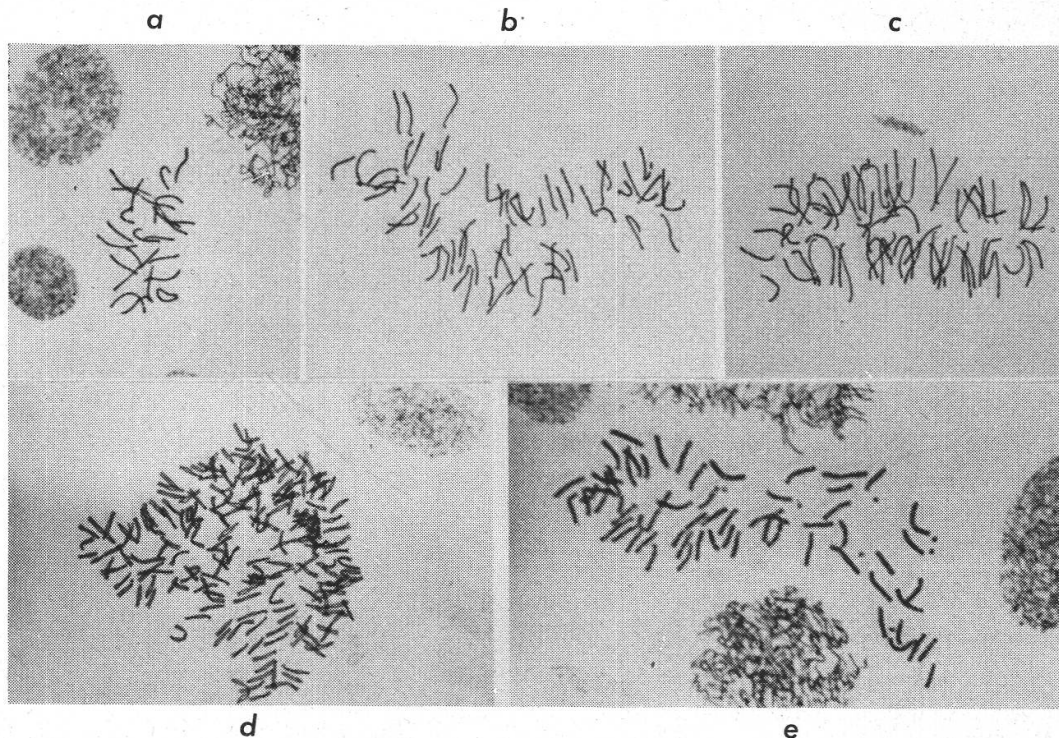


Abbildung 1

a—d Fritillaria meleagris; *e Fritillaria imperialis*; *a* Metaphase eines Embryos ($2n = 24$); *b, c* Metaphasen von Endospermen ($5n = 60$); *d* Endosperm-metaphase ($15n = 180$); *e* Endosperm-metaphase ($5n = 60 +$ Fragmentchromosomen) $\times 350$

Analysen durchgeführt worden sind. Die erwarteten Zahlen ($3n$ und $5n$) stellen nur die am häufigsten gefundenen Werte dar.

Die Ursachen für die Variabilität der Chromosomenzahlen der Endosperme sind verschiedener Art. Die Variabilität kann auf Schwankungen der Chromosomenzahl in den Gameten zurückgehen oder erst während der Entwicklung des Endosperms auftreten. Die cytologischen Untersuchungen von *Trillium grandiflorum* und andern Arten (Rutishauser, 1956 b, Rutishauser und La Cour, 1956 a, b) erlauben den Schluß, daß die aneuploiden Chromosomenzahlen durch Einkreuzung von hypo- oder hyperhaploiden Gameten zustande kommen. Bei *T. grandiflorum* ($2n = 10$) wurden unter 717 Endospermen

7 aneuploide mit 14, 16 bzw. 17 Chromosomen gefunden. In allen Mitosen desselben Endosperms fehlte jeweils das gleiche Chromosom, oder es war im Überschuß vertreten. Aus der Zahl der überschüssigen bzw. in Minderzahl vorhandenen Chromosomen läßt sich ermitteln, daß in 6 Fällen die männliche Gamete, in einem die weibliche aneuploid waren. Ursache für die Entstehung solcher Gameten ist vermutlich Nondisjunction. Es ist aber wahrscheinlich, daß auch im Verlaufe der Endospermentwicklung (somatisches) Nondisjunction vorkommt. Bei *Trillium grandiflorum* können in triploiden Endospermen gelegentlich Mitosen mit 16 oder 14 Chromosomen gefunden werden, bei *Fritillaria meleagris* erscheinen neben pentaploiden Mitosen solche mit nur 59 Chromosomen. Da aber in Quetschpräparaten immer die Möglichkeit der Abspaltung einzelner Chromosomen besteht, läßt sich der Umfang dieser Erscheinung nur schwer abschätzen.

Viel unregelmäßiger noch als die Chromosomen des normalen Satzes werden die B- oder Fragmentchromosomen auf die Endosperme verteilt (Rutishauser, 1956 a). Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, ist die Verteilung der Fragmentchromosomen (fr) von *Trillium grandiflorum* auf der männlichen Seite (Kreuzung $o \times fr$) vollkommen normal, auf der weiblichen ($fr \times o$) dagegen erscheinen zu viele Endosperme mit 2-fr-Chromosomen (da die weibliche Pflanze zwei haploide Polkerne zum triploiden Chromosomensatz des Endosperms beisteuert, entsprechen die 2-fr-Endosperme der Kreuzung $fr \times o$ den Endospermen mit einem fr der Kreuzung $o \times fr$). Die Differenz zwischen den beiden Kreuzungen weist darauf hin, daß die Fragmentchromosomen in der Meiose der PMZ normal verteilt werden, in den Meiosen der EMZ dagegen in die Dyade wandern, die später zum ES auswächst. Die Verteilung der Fragmentchromosomen ist auf der weiblichen Seite gerichtet.

Tabelle 3
Verteilung der Fragmentchromosomen (fr) auf die F₁-Endosperme von *Trillium grandiflorum*

Kreuzungskombination	Anzahl Versuche	Zahl der Fragmente im Endosperm				n
		0	1	2	3	
$o \times fr$	17	166	183	—	—	349
$fr \times o$	7	27	2	175	1	205
$fr \times fr$	5	5	4	31	21	61

Eine weitere Ursache für die Variabilität der Chromosomenzahl im Endosperm besteht darin, daß auch in bezug auf *Zahl und Verschmelzungsgrad der Pol- und Spermakerne* Variationen möglich sind. Das geht besonders aus den Ergebnissen von Kreuzungsversuchen zwischen *Paris quadrifolius* ($2n = 20$) und Arten der Gattung *Trillium* ($2n = 10$) klar

hervor. In den hybriden Endospermen der Kreuzung *P. quadrifolius* × *Trillium* sollten die Kerne aus 20 *Paris*- und 5 *Trillium*-Chromosomen zusammengesetzt sein. Diese Zahlen wurden tatsächlich auch in den

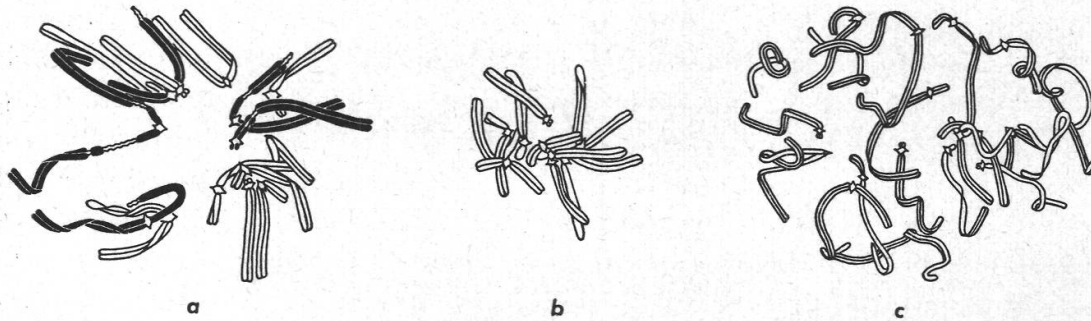


Abbildung 2

a, b Mitosen eines hybriden Endosperms der Kreuzung
Paris quadrifolius × *Trillium cernuum*

a 10 *Paris*- und 5 *Trillium*-Chromosomen, b 10 *Paris*-Chromosomen; c Späte Prophase eines Endosperms der Kreuzung *Paris quadrifolius* × *Trillium grandiflorum* mit 20 *Paris*-Chromosomen. (*Paris*-Chromosomen im Umriß gezeichnet, *Trillium*-Chromosomen schwarz) ×750

meisten Endospermen gefunden (Rutishauser und La Cour, 1956 a, b). Daneben erschien aber auch ein Endosperm mit 20 *Paris*-Chromosomen und ein weiteres, dessen eine Hälfte Kerne mit 10 *Paris*-

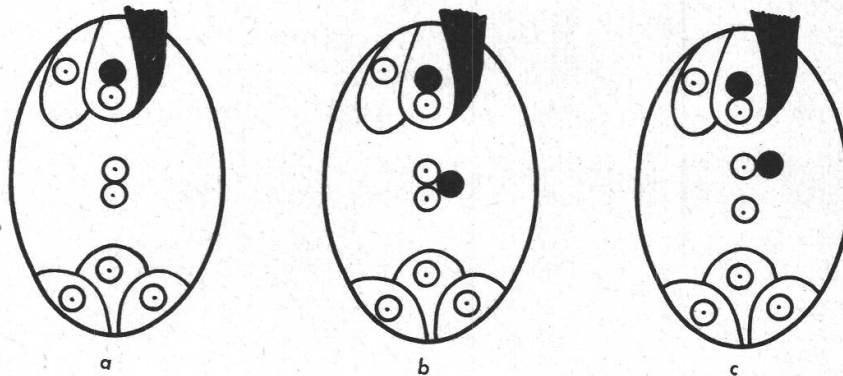


Abbildung 3

Schematische Darstellung der Befruchtung im Embryosack sexueller Pflanzen (Spermakern und Pollenschlauch schwarz)
a Zentralzelle unbefruchtet; b Verschmelzung der beiden Polkerne und des Spermakerns; c Verschmelzung eines Polkerns mit einem Spermakern, der zweite Polkern bleibt frei

und 5 *Trillium*-Chromosomen und dessen andere Hälfte Kerne mit nur 10 *Paris*-Chromosomen enthielt (Abb. 2 a—c). Es ist klar, daß sich im ersten Falle eine unbefruchtete Zentralzelle weiter entwickelt hat; im letzteren dagegen wurde einer der beiden Polkerne von einem Sperma-

kern befruchtet, bevor er mit dem zweiten verschmelzen konnte. Beide Polkerne waren teilungsfähig (Abb. 3).

Als letzte Ursache für die Variabilität der Chromosomenzahl im Endosperm seien die Vorgänge erwähnt, die zu ihrer Verdoppelung und Vervielfachung führen (Abb. 1 d). Diese Erscheinung ist im Endosperm nicht selten. Ich konnte sie bei allen Arten nachweisen, für die genügend Zählungen durchgeführt worden sind. Für ihr häufiges Auftreten sprechen ferner die Angaben über Riesenkerne, die in der embryologischen Literatur an zahllosen Stellen zu finden sind. Als Ursache für ihre Entstehung kommen drei Vorgänge in Betracht:

1. Verschmelzung von Kernspindeln
2. Endomitosen und
3. spontane Chromosomenbrüche mit nachfolgenden Reunionen.

Es ist in der Regel nicht möglich, Fall 1 und 2 auseinander zu halten. Spindelverschmelzungen sind von vielen Embryologen beschrieben worden. Brock (1955) betrachtet sie als wichtigste Quelle für die Polyploidie des Endosperms von Hyazinthen. Endomitotische Teilungen ließen sich dagegen bis jetzt nicht einwandfrei nachweisen. Ihr Vorhandensein ergibt sich indirekt aus dem Befund, daß Riesenkerne und hochpolyploide Mitosen bei vielen Pflanzen, so zum Beispiel *Ranunculus auricomus* (Rutishauser, 1953) und *Trillium grandiflorum* (Rutishauser, 1956 b) häufig sind, obwohl nie Spindelverschmelzungen gesehen werden konnten.

Daß auch spontane Chromosomenbrüche zur Entstehung hochpolyploider Kerne Anlaß geben können, geht aus cytologischen Untersuchungen an *Ranunculus auricomus* (Rutishauser, 1953) und an *Lilium*-Bastarden (Brock, 1954) hervor. Da im nucleären oder helobialen Endosperm anfänglich keine Zellwände ausgebildet werden, bleiben Brücken, welche durch Schwesterstrangvereinigung zentrischer Fragmente entstehen, häufig erhalten. Die beiden Tochterkerne bleiben so vereinigt und bauen hantelförmige Kerne auf. Riesen- und Hantelkerne sind in der Regel nicht zufällig über das Endosperm verteilt. Bei Endospermen mit nucleärer Entwicklung treten sie vorzugsweise in der Nähe der Antipoden auf. Endosperme, die sich nach dem helobialen Typus entwickeln, zeigen eine auffällige Häufung abnormer Kerne in der chala-zalen Kammer. Diese beiden Beobachtungen sprechen dafür, daß sowohl die Verdoppelung der Chromosomenzahl wie auch die spontanen Chromosomenbrüche letztlich durch Stoffwechselforgänge ausgelöst werden.

2. Apomiktische Pflanzen

Die cytologischen Vorgänge im Endosperm autonom apomiktischer Pflanzen (diploide Parthenogenesis) liegen noch völlig im dunkeln. Nach Gustafsson (1946) sind bezüglich der Chromosomenzahl drei Fälle realisiert:

1. Die beiden unreduzierten Polkerne verschmelzen, das Endosperm führt infolgedessen die doppelte somatische Chromosomenzahl.
2. Die beiden Polkerne verschmelzen oder bleiben frei; je nachdem werden Endosperme mit der somatischen oder der doppelt-somatischen Chromosomenzahl ausgebildet.
3. Die beiden Polkerne verschmelzen nicht, die Chromosomenzahl des Endosperms entspricht dann jener des Embryos und des mütterlichen Gewebes.

Diese Auffassung hat sich aus der Interpretation embryologischer Präparate ergeben. Cytologische Beweise stehen noch aus. Solche Untersuchungen wären aber schon deshalb erwünscht, weil Rückschlüsse aus embryologischen Untersuchungsergebnissen auf die Cytologie oft unsicher sind.

Besser bekannt als die autonom apomiktischen sind die pseudogamen Pflanzen, die Apomikten also, deren Blüten bestäubt werden müssen, damit sich ihre unreduzierten und nicht befruchteten Eizellen normal entwickeln können. Die Literatur über die Auslösung der Embryoentwicklung und die Cytologie des Endosperms pseudogamer Pflanzen ist in einer früheren Arbeit besprochen worden (R u t i s h a u s e r, 1953). Eine neuere Übersicht stammt von N y g r e n (1955). Da in bezug auf die Interpretation Differenzen vorliegen, ist es notwendig, die Tatsachen und die daraus gezogenen Schlüsse nochmals kurz darzustellen.

Ausgangspunkt für die cytologische Untersuchung des Endosperms pseudogamer Arten bildete in allen Arbeiten die Frage, ob die Zentralzelle befruchtet werden müsse, damit sie sich zum Endosperm entwickle, oder ob der bloße Kontaktreiz des auswachsenden Pollenschlauches genüge, um die Entwicklung in Gang zu bringen. Die Lösung des Problems schien einfach zu sein: Befruchtung zweier unreduzierter Polkerne durch einen reduzierten Spermakern müßte pentaploides Endosperm ergeben, «autonome» Entwicklung der Zentralzelle dagegen tetraploides. Die Auszählung der Chromosomen von Endospermmitosen brachte kein eindeutiges Resultat. Schon N o a c k (1939), der die Cytologie des Endosperms von *Hypericum perforatum* untersuchte, fand neben befruchteten Endospermen andere, die sich «autonom» entwickelt hatten. N y g r e n (1950) gibt für *Poa arctica* ssp. *caespitosa* ($2n = 56$) triploide, tetraploide und pentaploide Endosperme an und betrachtet die tetraploiden als Indiz für «autonome» Entwicklung des Endosperms. Wie N o a c k ist er der Meinung, daß Befruchtung der Polkerne nicht notwendige Voraussetzung für die Entwicklung des Endosperms sei.

Die Zählungen, welche an insgesamt 276 Endospermen von *Ranunculus auricomus* s. l. ($4n = 32$) ausgeführt worden sind (R u t i s h a u s e r, 1953), ergaben ein anderes Resultat. Sie zeigten, daß die Variabilität der Chromosomenzahlen viel höher ist als bei sexuellen Pflanzen

Tabelle 4
 Chromosomenzahlen der Endosperme von *Ranunculus auricomus*, $n = 8$

Kreuzung	Chromosomenzahlen der Endosperme												
	4n	5n	6n	7n	8n	9n	10n	11n	12n	13n	14n	15n	16n
4n × 4n Selbstung	2	—	7	—	3	—	38	—	117	—	1	—	2
Interspezifische Kreuzungen .							7	—	67	—	—	—	1
4n × 2n ¹	—	2	1	—	—	1	27						

¹ Diploide Pflanzen sexuell.

(Tabelle 4). In Selbstungen und interspezifischen Kreuzungen des Typus $4n \times 4n$ wurden nicht weniger als 7 verschiedene polyploide Zahlen gefunden. Es ist nicht leicht, die erhaltenen Zahlen zu interpretieren. Zwei voneinander differierende Versuche sind unternommen worden:

Ursprünglich (vgl. Nygren, 1955) wurde die große Variabilität der Chromosomenzahlen von *Ranunculus auricomus* auf Grund folgender Annahmen erklärt:

1. Ausbildung reduzierter und unreduzierter Embryosäcke (partielle Aposporie).
2. Ausbildung reduzierter und unreduzierter Pollenkörner.
3. Einfache und doppelte Befruchtung der Zentralzelle. Im letzteren Falle sind zwei Möglichkeiten realisiert:
 - a) doppelte Befruchtung der Zentralzelle durch zwei unreduzierte Spermakerne;
 - b) doppelte Befruchtung der Zentralzelle durch einen reduzierten und einen unreduzierten Spermakern.

Diese Interpretation erlaubt es, alle gefundenen Werte aus einer bei Apomikten häufig beobachteten Erscheinung — partielle Apomeiose — abzuleiten. Sie macht allerdings eine Hilfshypothese — doppelte Befruchtung der Zentralzelle — notwendig.

Embryologische Untersuchungen und die Aufklärung des Fortpflanzungsmodus der diploiden Kleinart *R. cassubicifolius*, die bei den Kreuzungsversuchen des Typus $4n \times 2n$ benützt worden ist, sprechen aber dafür, daß diese Interpretation etwas abgeändert werden muß. *R. cassubicifolius* ($2n = 16$) ist total sexuell. Die Pflanze erzeugt, bestäubt mit Pollen tetraploider Kleinarten, triploide Nachkommen ($3n = 24$), und die Endosperme selbstbestäubter Blüten sind ebenfalls triploid. Der Pollen dieser Kleinart dürfte daher stets haploid sein ($n = 8$). Bei Kreuzungen zwischen pseudogamen Tetraploiden und *R. cassubicifolius* entstehen nun aber vorwiegend decaploide ($10n = 80$) und nur selten enneaploide ($9n = 72$) Endosperme (Tabelle 4). Die decaploide Chro-

mosomenzahl muß entstanden sein durch doppelte Befruchtung zweier unreduzierter Polkerne mit zwei reduzierten Spermakernen ($32 + 32 + 8 + 8 = 80$). Damit ist doppelte Befruchtung der Zentralzelle nachgewiesen. Sie konnte kürzlich auch direkt beobachtet werden.

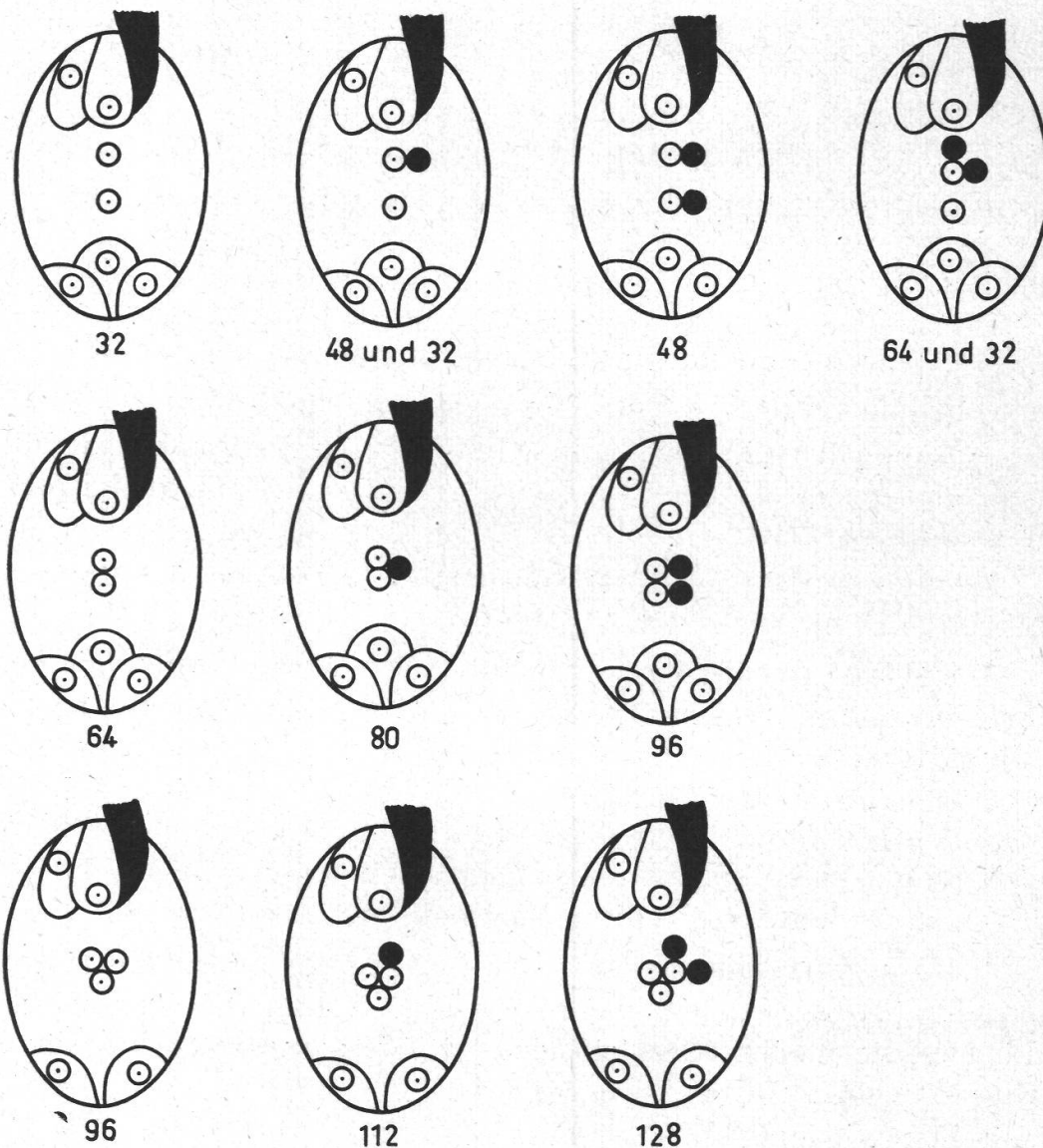


Abbildung 4

Schematische Darstellung der Befruchtung im Embryosack pseudogamer Kleinarten von *Ranunculus auricomus* s. 1. ($4n = 32$) und die daraus resultierenden Chromosomenzahlen der Endosperme (Spermakernen und Pollenschlauch schwarz)

- Aus embryologischen Untersuchungen ging ferner hervor, daß
1. die beiden Polkerne zur Zeit der Befruchtungsreife nicht immer verschmolzen sind und daß
 2. auch Zentralzellen mit drei Polkernen ausgebildet werden. Partielle Apomeiose wurde dagegen bisher nicht gefunden.

Diese Beobachtungstatsachen führen zu einer Interpretation, welche die Variabilität der Chromosomenzahlen pseudogamer *Auricomi* in der Hauptsache auf zwei Variable zurückführt, nämlich:

1. die Zahl und den Verschmelzungsgrad der Polkerne und
2. die Zahl der Spermkerne, die mit den Polkernen verschmelzen.

Dazu kommt noch eine dritte, die allerdings selten realisiert sein dürfte, die Verdoppelung der Chromosomenzahl aller Endospermkerne durch endomitotische Vorgänge. In Abbildung 4 sind einige Befruchtungsstadien gezeichnet, die auf Grund der unter 1. und 2. aufgeführten Variablen zu erwarten sind.

Sowohl die ursprüngliche Interpretation wie auch die spätere führen zu der Auffassung, daß die Endosperme pseudogamer *Auricomi* in der Regel befruchtet sind. Wie bei sexuellen Pflanzen (vgl. *Paris quadrifolius*) ist aber ausnahmsweise auch Entwicklung unbefruchteter Zentralzellen möglich.

Wie Fertilitätsuntersuchungen gezeigt haben, bedeutet die große Variabilität der Chromosomenzahlen im Endosperm pseudogamer Pflanzen nicht, daß die Entwicklung unabhängig ist von der Zahl der in diesem Gewebe vorhandenen Chromosomengarnituren. Es scheint, daß die duodecaploide Zahl ($12n = 96$) für die meisten Kleinarten von *R. auricomus* optimale Entwicklung gewährleistet. Die Beziehungen zwischen Fertilität und Chromosomengarnitur sind aber komplexer Art. Nicht nur quantitative, auch qualitative Faktoren spielen eine Rolle (R u t i s h a u s e r, 1954).

III. Genetik des Endosperms

Endosperm und Embryo entwickeln sich im Anschluß an eine Verschmelzung haploider Kerne. Je nach dem Entwicklungstypus des Embryosacks ist dabei die Zahl der Gametenkerne, welche von der weiblichen Pflanze herkommen, im Endosperm um das Zwei- bis Neunfache größer als jene der Pollenpflanzen. Eine Ausnahme bilden nur die *Oenotheraceen*: dort sind auch die Endospermkerne aus nur je einem männlichen und weiblichen Gametenkern aufgebaut.

Obwohl sich nun aber beide Gewebe, das Endosperm und der Embryo, aus einer befruchteten Zelle ableiten, verläuft ihre Entwicklung doch in ganz verschiedenen Richtungen. Das Endosperm behält stets den Charakter eines Gewebes bei. Es ist, im Gegensatz zum Embryo, nur sehr wenig differenzierungsfähig und scheint nie dazu befähigt zu sein, einen neuen Organismus aufzubauen. Alle Angaben über sogenannte Endospermembryonen haben sich als unrichtig erwiesen oder sind zumindest unsicher. Man muß daher annehmen, daß die Entwicklungsrichtung des Endosperms schon bei der Anlage der Zentralzelle festgelegt wird.

Abweichungen gegenüber dem Embryo ergeben sich auch in bezug auf die Zahl der möglichen Genotypen. Diese sind in Tabelle 5 für die Kreuzung $C_1C_2 \times C_1C_1$ zusammengestellt worden. Die Bezeichnungen C_1 und C_2 bedeuten dabei entweder zwei Allele oder aber die homologen Partner eines heteromorphen Chromosomenpaares. Aus Tabelle 5 ist ersichtlich, daß die Zahl der Genotypen der Endosperme je nach dem Entwicklungstypus des Embryosacks zwischen 1 und 3 variiert. Beim Embryo beträgt sie dagegen stets 2. Die verschiedene Zahl von Genotypen im Endosperm kann auf zwei Faktoren zurückgeführt werden, nämlich

1. auf die Anzahl der Sporenkerne, die am Aufbau des Embryosacks beteiligt sind, und
2. auf die Anzahl der Polkerne, welche miteinander verschmelzen.

Tabelle 5
Genotypen von Embryonen und Endospermen der Kreuzung $C_1C_2 \times C_1C_1$

Typus der ES-Entwicklung	Genotypus des		Zahl der Genotypen der Endosperme
	Embryos	Endosperms	
NT	C_1C_1 C_1C_2	$C_1C_1C_1$ $C_1C_2C_2$	2
<i>Oenothera</i>	C_1C_1 C_1C_2	C_1C_1 C_1C_2	2
<i>Allium</i> (<i>Drusa</i>)	C_1C_1 C_1C_2	$C_1C_1C_1$ $C_1C_1C_2$ $C_1C_2C_2$	3
<i>Penaea</i> <i>Fritillaria</i> <i>Plumbago</i> <i>Plumbagella</i>	C_1C_1 C_1C_2	$C_1C_1C_1C_2C_2$	1
<i>Adoxa</i>	C_1C_1 C_1C_2	$C_1C_1C_1$ $C_1C_1C_2$ $C_1C_2C_2$	3

Pflanzen mit monosporen Embryosäcken (NT- und *Oenothera*-Typus) entwickeln im Anschluß an die Kreuzung $C_1C_2 \times C_1C_1$ Endosperme des Genotypus $C_1C_1C_1$ und $C_1C_2C_2$ bzw. C_1C_1 und C_1C_2 . Unterschiede gegenüber dem Embryo ergeben sich, vorausgesetzt, daß ein quantitativer Effekt der Gene vorliegt (z. B. $C_2 > C_1$ aber $C_2 < C_1C_1$), nur dadurch, daß in der reziproken Kreuzung $C_1C_1 \times C_1C_2$ keine phänotypischen Differenzen zwischen den verschiedenen Endospermen ($C_1C_1C_1$ und $C_1C_1C_2$) gefunden werden könnten. Bei Pflanzen mit *Oenothera*-Typus fällt auch diese Differenz noch weg.

Besonders interessant sind in bezug auf das genetische Verhalten des Endosperms die Pflanzen mit bisporen Embryosäcken (*Allium*-

Typus). Es ist an anderer Stelle (Rutishauser, 1955 a, b, 1956 b) schon gezeigt worden, daß in diesem speziellen Falle die cytologischen Konsequenzen des Crossing-over nachgewiesen werden können. Voraussetzung dafür ist das Vorhandensein von heteromorphen Chromosomenpaaren. Die Vorgänge, welche sich im Verlauf der Entwicklung des Embryosacks und des Endosperms abspielen, sind in Abbildung 5 für das

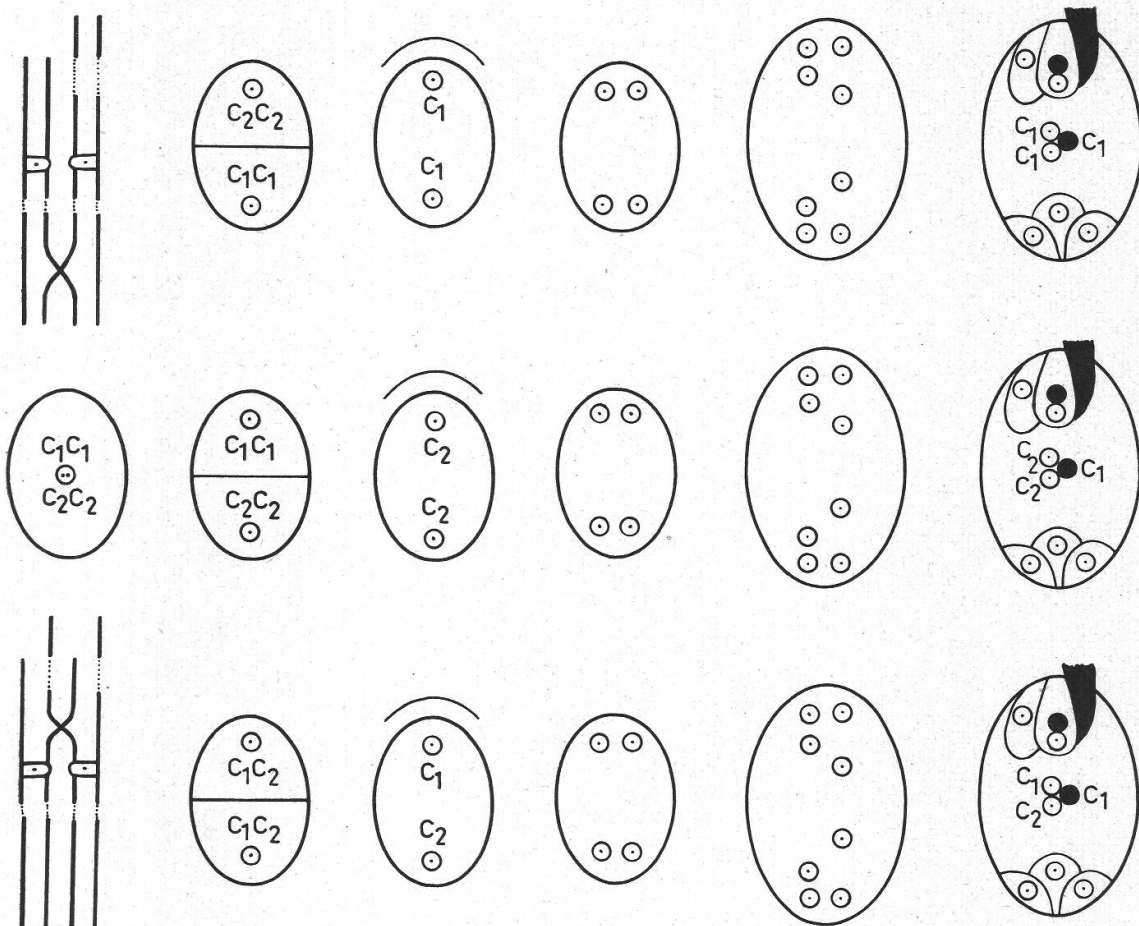


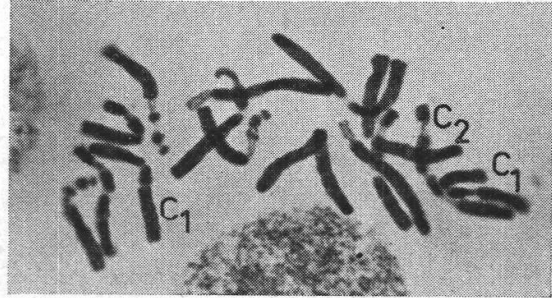
Abbildung 5

Entwicklung des Embryosacks (*Allium*-Typus) von *Trillium grandiflorum* und Verteilung der Chromatiden eines heteromorphen Chromosomenpaares C_1C_2 . Das C_1 -Chromosom besitzt eine, das C_2 -Chromosom zwei heterochromatische Segmente (Euchromatin ausgezogen, Heterochromatin punktiert). Weitere Erklärungen im Text

heteromorphe Chromosomenpaar C_1C_2 dargestellt. Die beiden heteromorphen Chromosomen unterscheiden sich in der Zahl der heterochromatischen Segmente; das C_1 -Chromosom besitzt eine, das C_2 -Chromosom zwei solche Regionen. Je nach der Zahl und der Lage der Chiasmata gelangen in die Embryosackzelle Chromatidenpaare des Typus C_1C_1 , C_2C_2 (reduktionelle Teilung) oder C_1C_2 (äquationelle Teilung). Es entstehen daher nach einer Kreuzung des Typus $C_1C_2 \times C_1C_1$ dreierlei Endospermgenotypen, nämlich $C_1C_1C_1$, $C_1C_2C_2$ und $C_1C_1C_2$ (Abb. 5, 6). Es kann so

unter der oben genannten Voraussetzung die Lage und Häufigkeit der Chiasmata bestimmt werden. Auch bei Pflanzen mit *Allium*-Typus der Embryosackentwicklung sind genetische Differenzen zwischen den En-

Abbildung 6
Endospermmitose
von *Trillium grandiflorum*
Kreuzung $C_1C_2 \times C_1C_1$, Chromosomenkomplement des Endosperms $C_1C_1C_2$. Die übrigen Chromosomen sind homomorph $\times 750$



dospermen reziproker Kreuzungen zu erwarten. Aus der Kreuzung $C_1C_1 \times C_1C_2$ gehen nur Endosperme mit den Genotypen $C_1C_1C_1$ und $C_1C_1C_2$ hervor.

Ähnlich wie der *Allium*-Typus verhält sich vermutlich auch der *Adoxa*-Typus (Abb. 7). Die Endosperme der Kreuzung $C_1C_2 \times C_1C_1$ erscheinen ebenfalls in drei Genotypen. Ob das gleiche auch für den *Drusa*-

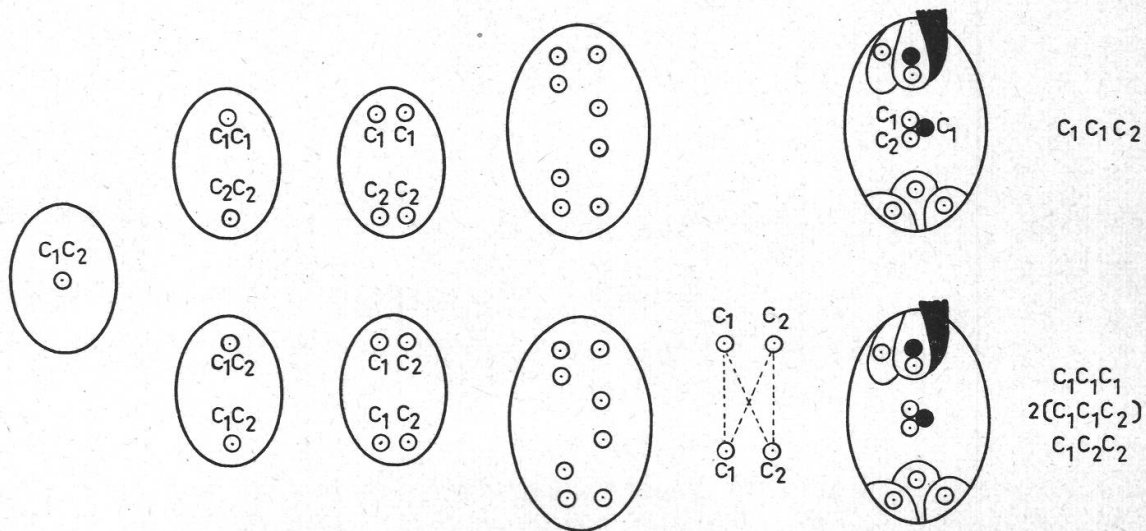


Abbildung 7

Entwicklung des Embryosacks nach dem *Adoxa*-Typus und Verteilung der Chromatiden eines heteromorphen Chromosomenpaares C_1C_2

Typus zutrifft, hängt davon ab, von welchem der drei chalazalen Sporenkerne der zweite Polkern abstammt.

Am Aufbau der Endospermkerne von Pflanzen mit *Penaea*-, *Fritillaria*-, *Plumbago*- und *Plumbagella*-Typus beteiligen sich jeweils alle vier Sporenkerne. Es werden somit alle vier Chromatiden eines Bivalenten wieder zusammengeführt. Der primäre Endospermkern einer C_1C_2 -Pflanze muß daher die Konstitution $C_1C_1C_2C_2$ haben, das Endosperm der

Kreuzung $C_1C_2 \times C_1C_1$ die Konstitution $C_1C_1C_1C_2C_2$ (Abb. 8). Im Gegensatz zu allen übrigen Typen der Embryosackentwicklung wird in diesen Fällen erreicht, daß alle Endosperme einer heterozygoten Pflanze denselben Genotypus aufweisen. *Penaea*-, *Fritillaria*-, *Plumbago*- und *Plumbagella*-Typus der Embryosackentwicklung führen zu einer erhöhten

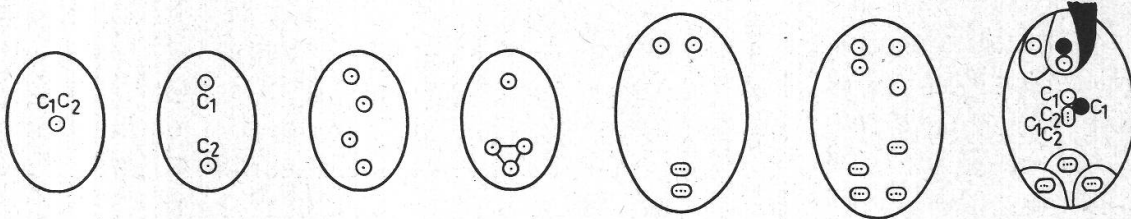


Abbildung 8

Entwicklung des Embryosacks nach dem *Fritillaria*-Typus und Verteilung der Chromatiden eines heteromorphen Chromosomenpaares C_1C_2

Stabilität des Endosperms. Dasselbe trifft vermutlich auch für den *Peperomia*-Typus zu. Nur scheint dort nach *Fagerlinds* Untersuchungen (1939) von *Peperomia pellucida* zu schließen, die Zahl der Polkerne großen Schwankungen unterworfen zu sein.

IV. Spontane Chromosomenbrüche im Endosperm

McClinck (1939) hat darauf hingewiesen, daß sich zentrische Chromosomenfragmente im Endosperm anders verhalten als im Embryo. Während die gebrochenen Enden im embryonalen Gewebe heilen, wodurch die Fragmente stabil werden, sind sie im Endosperm infolge des «breakage-fusion-bridge cycle» dauernden Veränderungen unterworfen. Als genetische Konsequenz dieser chromosomalen Variation erscheint das Phänomen der Variegation.

Spätere Untersuchungen an Arten der Gattungen *Ranunculus* (*Rutishauser*, 1953), an Lilien, Hyazinthen (*Brock*, 1954, 1955) und vor allem an *Trillium grandiflorum* (*Rutishauser*, 1956 b) haben dann gezeigt, daß nicht nur zentrische Chromosomenfragmente, welche durch den Pollen ins Endosperm eingeführt worden sind, Veränderungen erleiden, sondern daß auch normale Chromosomen im Verlaufe der Endospermentwicklung brechen und Reunionen eingehen können. Bei *Trillium grandiflorum* beträgt die Frequenz dieser spontanen Chromosomenbrüche 1,06 %. In den Wurzeln derselben Art werden dagegen nur selten Chromosomenaberrationen gefunden. Die Chromosomen des Endosperms sind also dem Phänomen der spontanen Chromosomenbrüche bedeutend stärker ausgesetzt als jene der Wurzelspitzen. Die im Endosperm gehäuft auftretende Variegation mancher Gene ließe sich auch auf dieser Grundlage verstehen.

Die Ursachen für die erhöhte Frequenz spontaner Chromosomenbrüche im Endosperm sind noch nicht bekannt. Doch bestehen gute Gründe für die Annahme, daß sie durch Bildung und Anhäufung mutagener Agenzien zustande kommt.

Summary and Conclusions

The above synopsis of cytological and genetic experimental results obtained from endosperms of numerous flowering plants show clearly that there are differences between the cyto-genetics of the endosperm and of the embryo. In crosses between *diploid-sexual* plants the chromosome number of the embryo deviates relatively seldom from the diploid number. The degree of polyploidy of the endosperm however shows considerable variation. It is first of all dependent on the type of embryo-sac development, particularly on the number of polar nuclei which fuse. Triploid and pentaploid endosperms are most frequently formed.

Exceptionally, e. g. after pollination from a foreign genus, unfertilized central cells can develop further, or mosaic endosperms can appear because of the fusing of only one polar nucleus with the sperm nucleus, while the other one undergoes further divisions unfertilized.

But the chromosome number given by the fertilization of the central cell is not always kept. In all cytologically well investigated endosperms doubling of the chromosome number of single nuclei was observed. They arise because of spindle fusions, endomitotic divisions, and presumably also because of bridge-building following spontaneous chromosome breakage.

In *apomictic* (pseudogamous) plants variability of chromosome numbers in the endosperms is still higher than in sexual plants and can be attributed to the following variables:

1. number of polar nuclei, building up the embryo-sac;
2. number of spermnuclei fusing with the secondary embryo-sac nucleus (single and double fertilization of the central cell).

Differences between embryo and endosperm exist also from the genetic point of view. It was shown in the example $C_1C_2 \times C_1C_1$ that the number of genotypes in the endosperm varies, while in the embryo they always amount to two. The cause of this is again the great variability in the development of the embryo-sac. Three modes of behaviour can be distinguished:

1. The endosperms of monosporic embryo-sacs appear like the embryos in two genotypes.
2. In the endosperms of bisporic embryo-sacs three genotypes are to be expected. The embryo-sacs in this case develop from a dyad cell and therefore contain in their nuclei two of the four chromatides

of a bivalent. The two chromatides unite on the fusion of the polar nuclei after they have been previously divided in the second meiotic division (which corresponds to the first step of division in the embryo-sac development). According to whether cross-over has taken place or not between the centromere and the locus of the pair of alleles central cells of the genotype C_1C_1 , C_2C_2 or C_1C_2 will be expected.

The tetrasporic embryo-sacs of the *Adoxa*-type and possibly also of the *Drusa*-type presumably behave like the bisporic embryo-sacs.

3. Only one genotype is to be expected in the endosperms of all tetrasporic embryo-sacs of the *Penaea*-, *Fritillaria*-, *Plumbago*- and *Plumbagella*-types. The four polar nuclei of the central cell in this case are derived from descendants of all four macروسپores. So all four chromatides of a bivalent are brought together again. The pentaploid endosperms of the four types mentioned thus achieve a high degree of stability.

Apart from these peculiarities dependent on the developmental type of the embryo-sac individual variations are also to be expected in genetic behaviour. These arise particularly from the fact that the frequency of spontaneous chromosome breakage in the endosperm is significantly higher than in other tissues of the plant structure. They are further intensified by *McClintock*'s breakage-fusion-bridge cycle, which is not obligatory for all endosperms however.

Literatur

- Brink, R. A., and Cooper, O. C., 1947. The endosperm in seed development. *Bot. Review*, **13**, Nr. 8/9, 423—541.
- Brock, R. D., 1954 a. Spontaneous chromosome breakage in *Lilium* endosperm. *Ann. of Bot. N. S.*, **18**, 7—14.
- 1954 b. Fertility in *Lilium* hybrids. *Heredity*, **8**, 409—420.
- 1955. Chromosome balance and endosperm failure in *Hyacinths*. *Heredity*, **9**, 199—222.
- Fagerlind, F., 1939. Die Entwicklung des Embryosackes bei *Peperomia pellucida*. *Arkiv för Bot.*, **29 A**, 1—15.
- Gustafsson, A., 1946. Apomixis in higher plants. Part I. *Lunds Univ. Arsskr. N. F. Avd. 2*, Nr. 3, **42**, 3—66.
- Haque, A., 1951. The embryo-sac of *Erythronium americanum*. *Bot. Gaz.*, **112**, 495—500.
- La Cour, L. F., 1954. Smear and squash techniques in plant cytology. *Laboratory practice*, **3**, 326—330.
- Landolt, E., 1954. Die Artengruppe des *Ranunculus montanus* Willd. in den Alpen und im Jura. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.*, **64**, 9—83.

- Maheshwari, P., 1947. Tetranucleate embryosacs in angiosperms. *Lloydia*, **10**, 1—18.
- 1950. An introduction to the embryology of Angiosperms. New York 1950.
- McClintock, B., 1939. The behaviour in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **25**, 405—416.
- Morrison, J. W., 1955. Fertilization and postfertilization development in Wheat. *Canad. Journ. Bot.*, **33**, 168—176.
- Noack, K. L., 1939. Über Hypericumkreuzungen. VI. Fortpflanzungsverhältnisse und Bastarde von *Hypericum perforatum*. *Z. ind. Abst.- und Vererbungslehre*, **3**, 241—285.
- Nygren, A., 1950. Cytological and embryological studies in arctic Poae. *Symb. Bot. Uppsala*, **X**, **4**, 64 S.
- 1955. Apomixis in the Angiosperms. II. *Bot. Rev.*, **20**, Nr. 10, 578—649.
- Rutishauser, A., 1953. Die Entwicklungserregung des Endosperms bei pseudogamen Ranunculusarten. *Mitt. Nat.forsch. Ges. Schaffhausen*, **25**, 1—45.
- 1954. Entwicklungserregung der Eizelle bei pseudogamen Arten der Gattung Ranunculus. *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss.*, **10**, 491—512.
- 1955 a. Das Verhalten der Chromosomen in arteigener und artfremder Umgebung. *Viertelj. Nat. Ges. Zürich, C* (1955), 17—26.
- 1955 b. Genetics of endosperm. *Nature*, **176**, 210.
- 1956 a. Genetics of fragment chromosomes in *Trillium grandiflorum*. *Heredity*.
- 1956 b. Chromosome distribution and spontaneous chromosome breakage in *Trillium grandiflorum*. *Heredity* (im Druck).
- und Hunziker, H. R., 1950. Untersuchungen über die Zytologie des Endosperms. *Arch. J.-Klaus-Stiftg. f. Vererbungsforschg.*, **25**, 477—483.
- and La Cour, L. F., 1956 a. Spontaneous chromosome breakage in endosperm. *Nature*, **177**, 324—325.
- and La Cour, L. F., 1956 b. Spontaneous chromosome breakage in hybrid endosperms. *Chromosoma*, **8**, 317—340.
- Schnarf, K., 1927. Embryologie der Angiospermen. *Handb. der Pflanzenanat.* **II**, **Abt. 2**, T. 689 S.
- 1931. Vergleichende Embryologie der Angiospermen. 354 S.