Zeitschrift: Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Tech. Hochschule, Stiftung Rübel, in Zürich

Herausgeber: Geobotanisches Institut, Stiftung Rübel (Zürich)

Band: 100 (1988)

Artikel: Natürliche Bastardisierung zwischen weissblühenden "Ranunculus"-Arten in den Alpen = Natural hybridizations between white-flowered species of "Ranunculus" in the Alps

Autor: Huber, Walter

Kapitel: 3: Methoden

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-308908

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

3. METHODEN

3.1. PFLANZENSOZIOLOGISCHE UND ÖKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

In Mischbeständen von Eltern- und Bastardtaxa sowie an Standorten reiner Elternpopulationen wurden pflanzensoziologische Aufnahmen der Blüten- und Farnpflanzen vorgenommen. Die Aufnahmeflächen umfassen oft mehrere Aren und liegen in verschiedenen Gebieten der Alpen, wenige im Jura und in den Pyrenäen. Zur Schätzung der Artmächtigkeit wurden die Deckungswerte von BRAUN-BLANQUET (1951) mit 7teiliger Skala übernommen (r, +, 1, 2, 3, 4, 5). Die Nomenklatur der aufgeführten Begleitarten entspricht jener in HESS et al. (1976, 1977, 1980) und, bei darin ausnahmsweise nicht enthaltenen Taxa, jener in TUTIN et al. (1964-1980). Kritische Arten sind im Herbarium der ETH Zürich (ZT) hinterlegt.
In den Vegetationstabellen sind die untersuchten *Ranunculus*-Taxa zuoberst aufgeführt. Darunter sind Trennarten zwischen den verschiedenen Pflanzengemeinschaften zusammengefasst, wobei auch solche mit geringer Stetigkeit berücksichtigt wurden. Die restlichen Begleitarten sind nach abnehmenden Stetigkeiten geordnet. Etliche Taxa sind nur in ein bis zwei Aufnahmen vorhanden; sie werden im Anschluss an die Tabellen beigefügt. Da die meisten Bestände nur einmal aufgenommen wurden, sind die Artenlisten nicht vollständig.
Zum Vergleich der Standorte reiner Eltern mit Bastardstandorten wurden von insgesamt 31 Aufnahmen die Mittel der ökologischen Zeigerwerte von LANDOLT (1977) berechnet. Diese empirischen Werte mit 5teiliger Skala sind wie folgt definiert:

F: Feuchtezahl (1: Trockenheitszeiger, 5: Nässezeiger, zusätzlich w: Wechselfeuchtigkeitszeiger)
R: Reaktionszahl (1: Säurezeiger, 5: Basenzeiger)
N: Nährstoffzahl (1: Magerkeitszeiger, 5: Überdüngungszeiger)
H: Humuszahl (1: Rohbodenzeiger, 5: Rohhumus- oder Torfzeiger)
D: Dispersitätszahl und Durchlüftungsmangelzahl (1: Felspflanzen, 5: Sauerstoffarmutszeiger)
L: Lichtzahl (1: Schattenzeiger, 5: Lichtzeiger)
T: Temperaturzahl (1: Hochgebirgspflanzen und arktische Pflanzen, Kältezeiger, 5: Wärmezeiger)

K: Kontinentalitätszahl (1: in ozeanischem Klima, 5: in kontinentalem Klima)

Obwohl diese Zusammenstellung an der Schweizer Flora erarbeitet wurde, sind fast alle im Ausland aufgenommenen Arten darin enthalten und weisen auf gleiche ökologische Verhältnisse hin. Bei der Berechnung wurden sämtliche Arten mit Deckungswert r und + 1mal, solche mit 1 2mal, mit 2 3mal, mit 3 4mal, mit 4 5mal und mit 5 6mal gewichtet.
Für die zusammenfassende Charakterisierung der Standorte wurden die Ergebnisse der mittleren Zeigerwerte durch weitere Beobachtungen ergänzt. Die Ionenkonzentration im Wurzelraum wurde mit dem "Hellige"-pH-Meter gemessen. Weitere ökologische Angaben finden sich in den unter den Kapiteln "Pflanzensoziologisches Verhalten" zitierten Arbeiten.

3.2. ZYTOLOGIE

3.2.1. Chromosomenzahlen

Zur Bestimmung der Chromosomenzahlen wurden Wurzelspitzen verwendet. Diese wurden 3 Stunden in 0.05%iger Colchicinlösung bei Zimmertemperatur vorbehandelt und anschliessend in Äthanol/Eisessig (3:1) während mindestens 24 Stunden im Kühlraum (3°C) fixiert. Zur Aufbewahrung über Monate wurden die fixierten Wurzelspitzen in 70%igen Äthanol übergeführt und bei -20°C gelagert. Zur Färbung der Chromosomen wurden die Wurzelspitzen in Orcein-Lactopropionsäure (DYER 1963) gegeben und darin einen bis mehrere Tage bei 3°C belassen. Vor dem Quetschen in einem Tropfen Orcein-Lactopropionsäure wurden sie bis zum Aufkochen erhitzt.
Die Chromosomenzahlen wurden stets an mehreren Individuen einer Population bestimmt. Pro Pflanze wurden 10-15 Metaphasen ausgewertet.
Für die Aufnahmen wurde ein Zeiss Photomikroskop III mit Immersionsobjektiv (Plan 100 / 1.25 Öl) und Panatomic-X Film (16 DIN) von Kodak verwendet.

3.2.2. Endomitosen

Bei den meisten der untersuchten Taxa, sogar bei solchen mit bereits polyploidem Chromosomensatz, wurden in einzelnen Wurzelspitzen neben Zellen mit

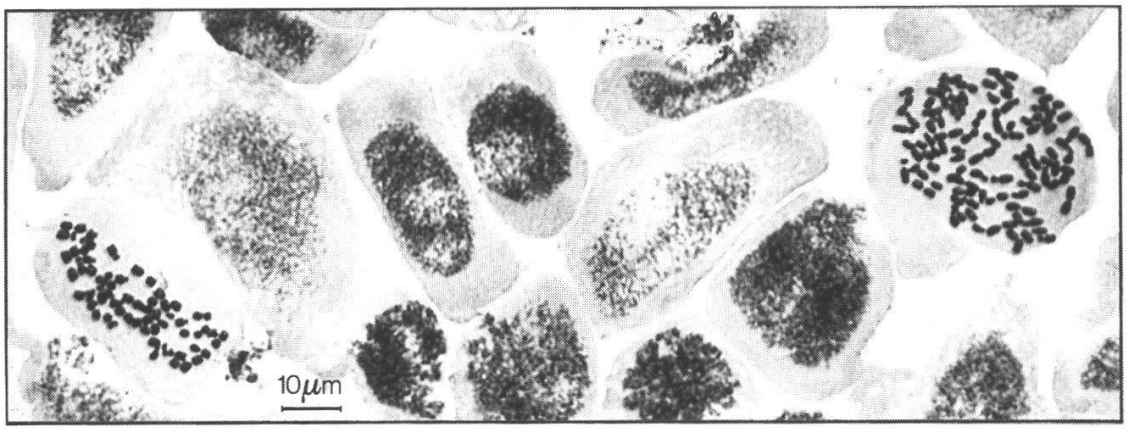

Fig. 1. Endomitose in einer Wurzelspitze von *Ranunculus kuepferi* x *R. platanifolius* (Wandflue; xc 128, Kap. 2.2); links: Zelle mit 2n = 5x = 40; rechts: Zelle mit 80 Chromosomen.
Endomitosis in a root tip of Ranunculus kuepferi x R. platanifolius (Wandflue; xc 128, chapter 2.2); left: cell with 2n = 5x = 40; right: cell with 80 chromosomes.

der charakteristischen somatischen Chromosomenzahl zugleich Zellen mit verdoppelter Anzahl Chromosomen festgestellt; so bei *Ranunculus alpestris, R. parnassifolius* (2n = 4x), *R. kuepferi* (2n = 2x, 3x, 4x), *R. pyrenaeus, R. seguieri, R. parnassifolius* x *R. seguieri* (2n = 5x), *R. kuepferi* x *R. aconitifolius* (2n = 2x, 5x), *R. kuepferi* x *R. platanifolius* (2n = 4x, 5x: Fig.1), *R. kuepferi* x *R. seguieri* (2n = 3x, 4x, 5x), *Callianthemum coriandrifolium* (2n = 2x). Zusätzlich wurde in einer Wurzelspitze von diploidem *R. kuepferi* sogar etwa die vierfache Anzahl Chromosomen beobachtet.
Auch BAUER (1954) fand bei *R. glacialis* in ein und derselben Wurzel Zellen mit 16 respektive 32 Chromosomen.
Um die richtige somatische Chromosomenzahl festzustellen, wurden pro Pflanze mehrere Wurzelspitzen verwendet und mehrere Metaphasen untersucht.

3.2.3. Chromosomen-Banding

Mit Hilfe einer Doppelfärbung mit den beiden Fluoreszenzfarbstoffen CMA und DAPI (LEEMANN und RUCH 1983) wurden die Chromosomen von *Ranun-*

culus aconitifolius, R. platanifolius, R. seguieri sowie von tetraploidem *R. kuepferi* auf Bandenmuster geprüft. Bei allen untersuchten Taxa sind vor allem DAPI-positive Banden im Centromerbereich der Chromosomen vorhanden. Da eine Karyotypunterscheidung der verschiedenen Arten aufgrund dieser Befunde nicht möglich scheint, wurden die Untersuchungen nicht weitergeführt.
In der Literatur findet man wenige Angaben über Banding-Untersuchungen bei *Ranunculus*-Arten: TANAKA und TANIGUCHI (1975) und TANIGUCHI et al. (1975) stellten an *Ranunculus japonicus* Thunb. Satelliten-Banden fest. MARKS (1976) fand bei *R. ficaria* L. Bandenmuster vor allem in B-Chromosomen. Banding-Untersuchungen in der Artengruppe des *R. polyanthemos* L. (BALTISBERGER 1980) lieferten keine taxonomisch auswertbaren Resultate.

3.3. POLLENUNTERSUCHUNGEN

Jungen Blüten wurden einige Antheren entnommen und in einem Tropfen Karminessigsäure zerdrückt, so dass sich der reife Pollen möglichst homogen im Präparat verteilte. Die normal ausgebildeten, mit Zytoplasma ausgefüllten Pollenkörner färbten sich sogleich rot an; die meist stark deformierten, sterilen Körner hingegen blieben farblos oder färbten sich höchstens stellenweise an; zweifelhafte Fälle waren selten.
Wo nichts anderes angegeben, wurde der Pollen von 10 Pflanzen je Population untersucht (1 Blüte pro Pflanze). Die Blüten stammen zum grössten Teil aus der Natur, nur wenige aus der Kultur im Gewächshaus. Die Werte von Blüten aus Kultur zeigten keinen charakteristischen Unterschied zu solchen vom natürlichen Standort.
Der verwendete Begriff "**Pollenfertilität**" beinhaltet das Verhältnis gut ausgebildeter und homogen angefärbter Pollenkörner zur Gesamtzahl von mindestens 100 Körnern je Blüte.
Der **Pollendurchmesser** wurde mit einem Messokular 10x und einem Objektiv 40:1 (1 Teilstrich = 1.6 µm) an 20 Pollenkörnern pro Blüte ausgemessen.

3.4. BESTÄUBUNGSEXPERIMENTE

Sämtliche Bestäubungen wurden im Gewächshaus durchgeführt.

Selbstbestäubungen
Bei Selbstbestäubungen durch blüteneigenen Pollen wurden die Blüten im Knospenstadium in Kunststoffnetzchen eingeschlossen. Nach einigen Tagen wurde der Pollen geplatzter Antheren an den Narben derselben Blüte abgestreift. Bei Selbstbestäubungen durch blütenfremden Pollen derselben Pflanze wurden die blüteneigenen Antheren im noch geschlossenen Zustand entfernt. Dann wurden die Narben sogleich bestäubt und die Blüte mit dem Kunststoffnetzchen umgeben.

Fremdbestäubungen
Die jungen blüteneigenen Antheren wurden vor der Bestäubung entfernt und die durch taxoneigenen Pollen bestäubten Blüten anschliessend mit Kunststoffnetzchen geschützt.
Fremdbestäubungen wurden nur bei den Elternarten durchgeführt. Es wurden jeweils zur Hälfte Bestäubungen zwischen Individuen vom gleichen Fundort und zwischen Pflanzen von verschiedenen Fundorten vorgenommen; bei keinem der untersuchten Taxa wurden jedoch gesetzmässige Unterschiede zwischen diesen beiden Fremdbestäubungstypen festgestellt.

Kreuzungen
Die Kreuzbestäubungen wurden fast immer reziprok durchgeführt. Die blüteneigenen Antheren wurden wiederum entfernt und die Blüten nach der Bestäubung geschützt.

3.5. KEIMUNGSVERSUCHE

Die Früchtchen waren nach 6-9 Wochen ausgereift und zeigten eine gelbe oder bräunliche Färbung. In diesem Zustand wurden sie geerntet und sodann auf ihre vollständige Ausbildung untersucht (Fingerdruck, Auftrieb in Wasser). Dabei wurden öfters normal aussehende Früchtchen ohne Samen festgestellt; diese wurden bei der Auswertung der Experimente nicht mitgezählt. Die geprüften Früchtchen wurden im Kühlraum (+3°C) in luftdurchlässigen Papiertüten aufbewahrt. Im Sommer oder Herbst wurden sie auf Erde ausgesät und mit einer wenige mm dicken Erdschicht zugedeckt. Zur Brechung der Keimruhe wurden die ausgesäten Früchtchen während einiger Monate im Freien überwintert. Die Keimung erfolgte im Frühling meist ein bis drei Wochen nachdem die Aussaaten ins Gewächshaus gebracht wurden. Die Kei-

mungsrate betrug im allgemeinen 50-100%.
Zur Beschleunigung der Keimung wurden an Früchtchen von *R. aconitifolius, R. platanifolius* und der tetraploiden Sippe von *R. kuepferi* erfolglos verschiedene Verfahren getestet. Dabei wurden die meist noch grünen Früchtchen teils sofort nach der Ernte (gemäss HESS 1955; Versuche a, b_1, $b_{2.1}$, b_4), teils nach ein- bis mehrmonatiger Lagerung bei 3°C (alle Versuche ausser b_4) verwendet. Pro Versuch und Taxon wurden je 50-300 Früchtchen auf ihre Keimfähigkeit getestet. Die Beobachtungszeit betrug mindestens drei Monate.

I) Aussaat auf Erde

Die Aussaaten wurden während der Beobachtungszeit im Gewächshaus feucht gehalten; bei den Versuchen b_5 und c wurde je die Hälfte der Früchtchen während 2 Wochen 4mal mit 0.05%iger Harnstofflösung gedüngt.

a) ohne Vorbehandlung
b) Kältevorbehandlungen
   b_1) Überwintern im Freien während 2 Monaten
   b_2) Vorbehandlung bei 2-3°C während 3 Monaten
      $b_{2.1}$)
bei Dauerdunkel
      $b_{2.2}$)
bei Dauerlicht
   b_3) nach 2wöchigem Stehenlassen im Gewächshaus Vorbehandlung bei 2–3°C während 6 Wochen
      $b_{3.1}$) bei Dauerdunkel
      $b_{3.2}$) bei Dauerlicht
   b_4) nach 4monatigem Stehenlassen im Gewächshaus Vorbehandlung bei 2-3°C und Dauerdunkel während 2 Monaten
   b_5) Einfrieren in feuchtem Zustand bei -7°C
      $b_{5.1}$) während 2 Wochen
      $b_{5.2}$) während 5 Wochen; alle 2 Tage für 5 Stunden auftauen lassen
c) Beschädigung der Früchtchenschale kombiniert mit Überwintern im Freien während 2 Monaten
   c_1) Aufrauhen der Früchtchenschale mit Sandpapier
   c_2) Quetschen der Früchtchenschale
   c_3) Behandlung mit H_2SO_4 conc. während 10 Minuten und anschliessendes Spülen in Wasser

II) Inkubation in Petrischalen

Die auf Filterpapier feucht gehaltenen Früchtchen wurden je zur Hälfte bei Zimmertemperatur (15 Stunden Licht, 9 Stunden Dunkel) und in der Klimakammer (Bedingungen nach FOSSATI [1980]: Temperatur bei Tag ca. 20°C, bei Nacht ca. 10°C; Luftfeuchtigkeit 80%; Licht 16 Stunden) inkubiert.

d) ohne Vorbehandlung

e) Kältevorbehandlungen

- e_1) Vorbehandlung in feuchtem Zustand bei 2-3°C
  - $e_{1.1}$) während 4 Wochen
  - $e_{1.2}$) während 8 Wochen
  - $e_{1.3}$) während 12 Wochen
- e_2) Einfrieren der Früchtchen in feuchtem Zustand bei -18°C
  - $e_{2.1}$) während 4 Wochen
  - $e_{2.2}$) während 8 Wochen
  - $e_{2.3}$) während 12 Wochen
- e_3) Inkubation bei Dauerdunkel und abruptem Temperaturwechsel: 6 Stunden bei 2-3°C, 18 Stunden bei 23°C

f) mechanische Beschädigung der Früchtchenschale in Quarzsand mit einer Schüttelmaschine (Typ LSR, Kühner AG, Basel)

- h_1) während 3 Tagen
- h_2) während 7 Tagen
- h_3) während 14 Tagen

g) Vorbehandlung mit $5 \cdot 10^{-3}$ molarer Gibberellinsäure während 6 Tagen (nach FOSSATI 1980)

h) Kombination von mechanischer Beschädigung in Quarzsand mit einer Schüttelmaschine während 14 Tagen und Behandlung mit $5 \cdot 10^{-3}$ molarer Gibberellinsäure während 6 Tagen

In all diesen Versuchen konnte innerhalb von 3 Monaten nur vereinzelt eine Keimung beobachtet werden (Keimungsrate: 0-4%).

Hingegen keimten in den Gruppen des *Ranunculus acer* L. (HESS 1953) und des *R. polyanthemos* L. (HESS 1955, BALTISBERGER 1980) etwa 80-90% der Früchtchen ohne Vorbehandlung innerhalb 4-6 Wochen nach der Aussaat. Fast so hohe Keimungsraten wurden zum Teil auch in der Gruppe des *R. alpestris* L. erhalten (FOSSATI 1980, MÜLLER und BALTISBERGER 1984). In der Gruppe des *R. montanus* Willd. keimten in dieser Zeit ohne spezielle Behandlung keine bis wenige Früchtchen (LANDOLT 1954, FOSSATI 1980, WEILENMANN 1981); durch kontinuierliche Gibberellinsäurebehandlung (vgl. ei-

gene Versuche g und h) konnte die Keimung beschleunigt und auf Raten von 10-40% gesteigert werden (DICKENMANN 1982).

Charakterisierung der Nachkommen

Da von der Ernte der Früchtchen bis zu ihrer Keimung nahezu ein Jahr vergeht und sich die Entwicklung vom Keimling bis zur blühfähigen Pflanze meist über mehrere Jahre erstreckt, kann in den wenigsten Fällen auf Merkmale der Nachkommen eingegangen werden. Immerhin war bei einigen Keimlingsgruppen schon die Form der ersten Blätter typisch. Nur bei Kreuzungen zwischen *R. aconitifolius* und *R. platanifolius* konnten die Chromosomenzahl bereits festgestellt und Beobachtungen über die Fertilität gemacht werden.