Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern

Herausgeber: Naturforschende Gesellschaft in Bern

Band: 11 (1954)

Artikel: Zytologische Untersuchungen an einigen schweizerischen Hemi-Orephyten

Autor: Rohner, Peter

Kapitel: III: Technik

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-319464

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: 12.07.2025

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

folius von der Schynigen Platte) mit den Angaben von KIHARA und ONO. Überdies hat Dr. STEINEGGER, Bern (mündliche Mitteilung), dieselben Feststellungen gemacht. ($n = \frac{1}{2}$ bei den männlichen Exemplaren in der Reifeteilung der PMZ.) Es erübrigte sich also, nochmals auf diese Arten näher einzutreten. Immerhin kann an dieser Stelle festgehalten werden, daß im Falle dieser zwei Arten beide, die Ebenenform *R. Acetosa* sowohl als auch die alpine Form *R. arifolius*, diploid sind.

2. Dasselbe gilt mutatis mutandis für die Arten *Scabiosa columbaria* und *Scabiosa lucida*, welche beide $n = 8$ aufweisen.

3. Anders steht es bei *Centaurea Scabiosa*. Diese polymorphe und systematisch sehr schwierige Art wäre vielleicht vom zytogenetischen Standpunkt aus interessant. Als ich mich näher mit dieser Art befaßte, mußte ich erkennen, daß die Überwindung der großen Schwierigkeiten systematisch-genetischer Natur in keinem Verhältnis stehen würde zu den Ergebnissen, die für meine Fragestellung zu erwarten waren. Als Nebenresultat, das sich aus der Beschäftigung mit dieser Art ergeben hat, sei nur angegeben, daß bei Muri (Bern) auf dem Bodenacker rein weibliche Stöcke mit degenerierten Antheren festgestellt wurden. Es deckt sich diese Beobachtung mit einer Angabe von LJUNGSTRÖM aus Schweden (HEGI, Flora von Mitteleuropa).

III. Technik

A. Untersuchung und Darstellung der Chromosomen

1. Die verwendeten Kernteilungsstadien

Zur Analyse der Chromosomenzahlen wurden fast ausschließlich die beiden Reifeteilungen in den PMZ verwendet. Diese Methode bietet den Vorteil, daß die Präparate für die Zählung besonders klar sind. Die Chromosomen sind von der Diakinese an mehr oder weniger kontrahiert, so daß ihre Individualisierung besser möglich ist als in einer Mitose, bei der sich die Chromosomen, die meist langgezogen sind, gegenseitig überdecken. Von den verschiedenen Stadien der Meiose eignen sich für die Bestimmung der Chromosomenzahl nicht alle gleich gut.

Außer Betracht fallen für reine Zählungen die Prophasen der ersten Reifeteilung und in jedem Fall die bei den meisten Arten deutlich ausgebildete Synapsis.

Die Diakinese ist meist schwer zu analysieren, kann aber in vielen Fällen mit einiger Mühe auch verwendet werden.

Günstig ist allgemein die Metaphase der ersten Reifeteilung, solange noch alle Bivalente ungetrennt sind. Oft ist der Reduktionsspalt deutlich sichtbar, und die Bivalenten divergieren an einem oder an beiden Enden. Die meist strenge Lagerung in einer Ebene erleichtert die Analyse sehr. Durch die große Klarheit der Verhältnisse wird der Nachteil längstens wettgemacht, daß nur die Aufsicht auf die Metaphaseplatte vom Spindelpol her verwendbar ist und alle Seitenansichten für die Auswertung verloren sind. Die verschiedenen Grade der Anaphase können recht gute Resultate liefern. Die Wanderung zu den Polen erfolgt allerdings selten ganz gleichmäßig, so daß die Chromosomen der einen Spindelhälfte, von den Polen her betrachtet, in verschiedenen optischen Ebenen liegen. Für die Analyse bedeutet dieser Umstand bei größeren Chromosomenzahlen einen Vorteil. Für die Feststellungen über besondere Vorgänge bei der ersten Reifeteilung ist die Seitenansicht der Anaphasenspindel unerläßlich.

Große Klarheit herrscht auch bei der späten Anaphase der zweiten Reifeteilung. Sobald sich aber die Alveolisierung der Telophase bemerkbar macht, werden die Verhältnisse unklar.

In besonderen Verhältnissen, besonders bei gestörter Meiose, muß die Mitose für die Abklärung der Sachlage herangezogen werden.

2. *Die Materialbeschaffung*

Die Beschaffung möglichst günstigen Materials, das viele der brauchbaren Stadien enthält, ist von großer Bedeutung. Es lohnt sich daher, auf die Arbeit vor der Fixierung große Sorgfalt zu verwenden.

Bei der Beschaffung des Blütenmaterials mit Reifeteilungen in den PMZ sind zwei Umstände besonders zu berücksichtigen. Der erste Umstand ist die Witterung. Dies geht aus den Protokollen über das Einsammeln und Verarbeiten des Materials hervor, in denen regelmäßig Notizen über die Witterung niedergelegt wurden. Es war nicht der Sinn dieser Arbeit, genaue Versuche über den Zusammenhang zwischen Witterung und Reifeteilung anzustellen, weshalb genaue phänologische Daten nicht vorliegen. Aber für die Praxis, besonders, wenn größere Exkursionen

zwecks Materialbeschaffung ausgeführt werden sollen, kann doch als Wegleitung dienen, daß befriedigende Resultate nur bei warmer Witterung zu erwarten sind. Ich darf so weit gehen, zu behaupten, daß eine Witterung, bei welcher Tropikluft herangeführt worden ist, bei welcher das Wetter infolgedessen schwül ist, am günstigsten ist. Bei ausgesprochener Bisenlage, also bei Einströmen kontinental-polarer Luft, kann nur im Hochsommer in sonniger Lage mit günstigem Material gerechnet werden. Ganz hoffnungslos ist die Lage bei Einbruch einer Kaltfront. Ich habe dies besonders deutlich am 19. Juni 1947 auf der Schynigen Platte erfahren. Am 18. Juni enthielten die gesammelten Objekte viele Reifeteilungen. Das Wetter war warm und schön, mit örtlicher Gewitterneigung. Über Nacht änderte das Wetter durch Einbruch einer Kaltfront. Die Temperatur war auf 9 ° C gesunken, und es herrschte regnerisches Wetter. Ich konnte an diesem Tage keine einzige Reifeteilung finden, obschon ich fortlaufend Proben untersuchte.

Angeregt durch eine technische Bemerkung von Gertrud Linnert (1948), habe ich vom Sommer 1949 an ihre Methode in einer modifizierten Form angewandt und dabei sehr gute Resultate, unabhängig von der Witterung, erzielt. Die Pflanzen wurden in der Botanisierbüchse, in feuchte Tücher eingehüllt, nach Hause genommen. Dort wurden sie etwa 24 Stunden lang, in einem Erlenmeyerkolben eingestellt, bei Zimmertemperatur (18 bis 22 ° C) unter einer Glasglocke gehalten. Das Resultat war in doppelter Hinsicht gut. Erstens waren bemerkenswert viele Meiosen anzutreffen, und zweitens waren im Meristem des Griffels und des Fruchtknotens genügend, zum Teil sehr schöne, Mitosen vorhanden, was mir in einem Fall (bei *Cochlearia officinalis)* sehr zustatten kam.

Der zweite Umstand, der berücksichtigt werden muß, ist das richtige Entwicklungsstadium der Blüten. Hier machen sich die Unterschiede zwischen den einzelnen systematischen Gruppen stark bemerkbar. Es muß für jede Familie, ja oft für einzelne Gattungen oder Arten festgestellt werden, in welchem Moment die Reifeteilungen zu erwarten sind. Wenn man das typische Aussehen einer Blütenknospe, die sich in diesem Stadium befindet, für eine Art einmal kennt, kann man die Reifeteilungen sehr schnell auffinden. Charakteristisch ist dabei die Größe der Blüte. Aber auch die Farben der einzelnen Teile, besonders des Perianths, sind sehr charakteristisch. Weil diese Verhältnisse bei den verschiedenen Gattungen sehr verschieden sind, ist der Wechsel von einer Gattung zur andern immer mit einem ziemlichen Zeitaufwand verbunden. Besonders schwierig ist die Beschaffung des Materials dann, wenn die Blütezeit sehr

kurz ist. Arten mit zeitlich gestaffelter Aufblühfolge an der Hauptachse oder solche, die nach dem Abblühen der Hauptachse noch an Seitenachsen weitere Blüten bilden, bieten geringere Schwierigkeiten. Immerhin ist hier die auffallende Tatsache festzuhalten, daß auch bei solchen Arten der Erfolg an den ersten Blüten, also zur Hauptblütezeit, merklich größer ist als zu einem späteren Zeitpunkt.

3. Die Vorprüfung

Als beste Methode, herauszufinden, in welchem Stadium der Blütenentwicklung Reifeteilungen zu finden sind, hat sich die Eingrenzung mittelst Quetschpräparaten erwiesen. Die Quetschpräparate von Antheren werden mit der Karmin-Essigsäuremethode nach GEITLER (1940) untersucht.

Die Stadien der Pollengenese sind nach einiger Übung sofort zu erkennen. Die zwei typischen Stadien, zwischen denen diejenigen der Reifeteilungen liegen, sind die noch zusammenhängenden Zellen des Archespor einerseits und die Pollentetraden andererseits. Wenn man sich nach dieser Vorprüfung einprägt, wie die Blüten ausgesehen haben, die die richtigen Stadien enthalten, können für die Fixierung solche ausgewählt werden. Wenn das Material überhaupt Reifeteilungen enthält, ist man sicher, daß man solche später in den Präparaten auffinden wird.

Bei dieser Vorprüfung trifft man in gutem Material auch schon die Reifeteilungen an. Es ist sogar zu empfehlen, sie aufzusuchen. Denn erstens ist man dann sicher, daß die Bedingungen für ihre Entstehung günstig waren, und zweitens ist es von Vorteil, die Chromosomenpräparate, die man auf diese Weise erhält, schon auszuwerten. Über ihre Brauchbarkeit für die Feststellung der zytologischen Verhältnisse äußert sich GEITLER sehr positiv. Es ist nicht abzustreiten, daß die Quetschpräparate manche Vorteile aufweisen, die Schnittpräparate nicht besitzen. Erstens ist man sicher, daß man immer ganze PMZ vor sich hat. Der Inhalt ist also garantiert vollständig. Dann kann die PMZ bei der Untersuchung durch einen Druck auf das Deckglas in ihrer Lage verändert werden. Eine geringe Quellung der Chromosomen ist, besonders dann, wenn sie sehr klein sind, eher günstig. Es ist überdies charakteristisch für die Karmin-Essigsäure-Färbung, daß die Chromosomen sehr selektiv gefärbt werden und das Zytoplasma, ohne Differenzierung, sozusagen farblos bleibt. Auch werden Ruhekerne nur ganz schwach gefärbt, wodurch die Zellen, die irgend ein Teilungsstadium enthalten, sofort deutlich herausleuchten.

4. Die Herstellung der Dauerpräparate

Die Blütenknospen wurden in Flemmingschem Gemisch fixiert und über Chloroform in Paraffin übergeführt. Dort, wo durch engen Zusammenschluß der Knospen in einer Infloreszenz oder durch stärkere Behaarung der Sepalen das Eindringen der Fixierungsflüssigkeit erschwert war, wurden die Objekte mittelst einer Wasserstrahlpumpe entlüftet, was nach einer Minute normalerweise vollendet war. So erhielt ich in allen Fällen gute Fixierung, trotz der Eigenschaft des Flemmingschen Gemisches, nur langsam einzudringen. Dort, wo eine Wasserstrahlpumpe nicht angeschlossen werden konnte, erreichte ich eine gute Wirkung, wenn ich die Objekte eine halbe bis zu einer Minute in ein Gemisch Flemming-96prozentigen Alkohols 1 : 1 brachte, um sie nachher in reines Flemming überzuführen.

Gefärbt wurde mit Safranin in Anilin-Wasser. Die Gegenfärbung nach kurzer Differenzierung in Salzsäure-Alkohol geschah in Anilinblau in vierprozentiger Essigsäure. Die Färbung war also eine modifizierte Flemmingsche Färbung. Eine wirklich gute Kontrastwirkung erhielt ich bei Anwendung eines Lichtfilters aus Alizarinviridin, welches in einem Rundkolben von 10 cm Durchmesser zwischen Lichtquelle und Mikroskop gestellt wurde. Die Chromosomen erscheinen dabei schwarz auf lichtgrünem Grunde. Die Möglichkeit subtilster Analyse der Chromosomenpräparate ist damit gegeben, während sonst die Flemmingsche Färbung bei künstlichem Licht nicht befriedigende Bilder liefert. Die heute am häufigsten angewandte Färbung mit Gentiana-Violett oder mit Kristallviolett nach NEWTON habe ich nach dem Rezept von BAKER (1946 bzw. 1950) auch ausgeführt. Ich gab aber der Flemmingschen Färbung den Vorzug. Erstens ist sie für alle Fälle gleich zuverlässig, und bei der Differenzierung ist sie weniger heikel als die Färbung nach Newton, die bei der Differenzierung leicht ausblaßt. Dann ist die Haltbarkeit der Safraninfärbung praktisch unbegrenzt. Dies war aber für eine Arbeit, von der ich zum voraus wußte, daß sie sich über längere Zeit hinziehen würde, von Vorteil.

Die Schnittdicke war stets $12^1/_2\,\mu$. Damit hatte ich in den zur Untersuchung gelangenden Objekten genügend viele PMZ, die intakt waren oder doch nur wenig angeschnitten. Die größten PMZ, die zur Untersuchung gelangten, hatten einen Durchmesser von rund $22\,\mu$. Die meisten waren aber erheblich kleiner. Der Durchmesser der zur Unter-

suchung gelangten Chromosomenplatten bewegten sich zwischen 2,5 μ und 11 μ.

5. *Zeichnung der Präparate*

Die Zeichnung der Präparate erfolgte mit Hilfe des Zeichnungsapparates von Leitz. Die Bestimmung der Vergrößerung geschah mittelst eines Objektmikrometers von Zeiß, der durch den Zeichnungsapparat nachgezeichnet wurde.

B. Anatomische Untersuchungen

Zum Zwecke der anatomischen Untersuchung an Blättern und Fruchtknoten wurden kleine Stücke von Blättern und ganze Fruchtknoten in Alkohol-Eisessig (Gemisch von Carnoy) fixiert. Die Schnittdicke betrug 15 μ, und es wurde mit Anilinblau gefärbt. Die Darstellung der Behaarungsverhältnisse bei *Helianthemum* erforderte eine besondere Präparation, die erlaubte, die Haare allein, aber in ihrer natürlichen gegenseitigen Lage darzustellen. Zuerst wurde die Epidermis der Blattunterseite von Frischmaterial in möglichst großen Stücken abgezogen. Dies gelang ohne Schwierigkeit, nur hafteten stets einige Zellen des Mesophylls daran, die ohne Beschädigung der Epidermis nicht entfernt werden konnten. Diese Epidermisstücke wurden mit Eau de Javelle behandelt, bis sie farblos geworden waren. Nach Auswaschen in verdünnter Salzsäure und gründlichem Wässern wurden die Stücke in Safranin etwa 6 Stunden gefärbt, dann ganz kurz in Salzsäurealkohol differenziert und über die Alkoholstufen 30 %, 50 % und 70 % in Glyzerin übergeführt. Der anfänglich noch mitgefärbte Untergrund (Zellen der Epidermis und des Mesophylls) wurde nach einiger Zeit ganz entfärbt, und nur noch die Sternhaare hielten die Farbe zurück.

C. Statistische Auswertung der Spaltöffnungsmessungen

Bei der Auswertung der Spaltöffnungsmessungen beschränkte ich mich auf die Messung der Länge, nachdem ich auch die Breite miteinbezogen hatte. Bei *Cochlearia* ist die Breite konstanter als die Länge. Die Form der Spaltöffnungen ist bei der diploiden ssp. *pyrenaica* rundlicher als bei

der tetraploiden ssp. *euofficinalis* (Tafel III, Fig. 2). Das Resultat wird aber, wenn man das Produkt aus Länge und Breite verwendet, im Prinzip gleich, wie wenn man nur die Länge berücksichtigt. Die Kurven stehen ein bißchen näher, und der Prozentsatz der Differenz der arithmetischen Mittel wird kleiner. Die Länge der Spaltöffnungen wurde mit Hilfe des Zeichnungsapparates in Form zweier Marken auf dem Zeichnungsblatt festgehalten. Mittelst des Objektmikrometers konnte dann ein Maßstab gezeichnet werden, der eine direkte Messung in μ erlaubte.

Zwei Bedingungen müssen bei den Messungen erfüllt werden. Erstens muß das Blatt, auf dem die Zeichnung gemacht wird, stets ziemlich genau am selben Ort liegen, da weite Verschiebungen den Maßstab, wenn auch nur in kleinen Grenzen, verändern. Zweitens muß dafür gesorgt werden, daß man nicht unbewußt bei der Zeichnung eine Auswahl trifft und bestimmte Formen bevorzugt. Dies kommt leichter vor, als man anzunehmen geneigt ist. Diese Fehlerquelle wird vermieden, wenn man das Präparat mittelst des Kreuztisches systematisch absucht und keine Spaltöffnung überspringt. Wenn ein Kreuztisch fehlt, kann man denselben Effekt erzielen, wenn man die Epidermis in kleine Rechtecke schneidet und bei diesen ringsherum, dem Rande nach, alle Spaltöffnungen der Reihe nach zeichnet. Bei den Messungen wurde auf ganze μ auf- und abgerundet (1 μ war auf dem Maßstab 1,1 mm lang). Diejenigen Messungen, die ziemlich genau in die Mitte zwischen zwei Teilstriche fielen, wurden als Mitte zwischen zwei Werten notiert. Am Schlusse wurden diese Messungen zu gleichen Teilen auf die beiden benachbarten Werte verteilt.

IV. Spezieller Teil

A. Silene vulgaris (Mönch) Garcke

(Silene inflata Sm; Silene venosa Ascherson)

1. Die in der Schweiz vorkommenden Formen
Wahl der untersuchten Standorte

Silene vulgaris ist bei uns häufig und weit verbreitet. Sie steigt in den Alpen sehr hoch und tritt in verschiedenen Formen auf. Die polymorphe Art weist nach Schinz und Keller (1923) neben der Hauptart die ssp. *alpina* (Lam) Schinz und Keller auf. In der kritischen Flora von Schinz