©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Keimung colchicinierter *Marchantia*-Sporen

Von

Walter MADER

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 1 Abbildung

Eingelangt am 12. Jänner 1952

Da die gärtnerische und landwirtschaftliche Praxis der polyploidisierenden Wirkung des Colchicins besonderes Interesse entgegenbringt, haben die Arbeiten auf diesem Gebiete in erster Linie Angiospermen als Versuchspflanzen gewählt, die Fülle der Literatur darüber ist kaum mehr zu überblicken. Verschwindend gering ist im Vergleich damit die Zahl der Untersuchungen über die Wirkung des Colchicins auf Sporenpflanzen. Zu erwähnen ist in dieser Hinsicht in erster Linie die eingehende Arbeit von ROSENDAHL (1940); sie hat als erste die Colchicinwirkung an Farnen studiert. Ihre Beobachtungen beschränken sich auf die morphologischen Veränderungen der behandelten Pflanzen, vor allem der frühen Entwicklungsstadien des Gametophyten. Aus dem Riesenwuchs der Zellen, der sich ergab, schließt ROSENDAHL auf die Polyploidisierung der Keimpflanzen, der karyologische Nachweis dafür wurde jedoch nicht erbracht. Die Aufgabe meiner Arbeit war es, die Wirkung des Colchicins auf den Keimungsbeginn der Sporen von *Marchantia* und auf die weitere Entwicklung des Keimlings zu studieren. Versuchspflanze war ausschließlich *Marchantia polymorpha* L.; sie stammte aus der „Höll" bei Kallwang, Niedere Tauern, und wurde im Versuchsgarten, bzw. im Versuchsgewächshaus des Pflanzenphysiologischen Institutes weiter kultiviert.

Colchicinierung

Als Nährboden für die keimenden Sporen wurde der Nähragar nach BURGEFF (1943) verwendet. Um Pilzbefall zu verhindern, mußten sämtliche Gefäße, Geräte, sowie die Nährlösung selbst sterilisiert werden. Colchicin ist jedoch nicht hitzebeständig, so daß die jeweils erforderliche Colchicinmenge erst nach Abkühlung des Agars auf 40° C beigefügt werden konnte. Es wurde zu allen Versuchen „Colchicinum puriss. cryst. Merck" verwendet. Zur Herstellung der einzelnen Colchicinkonzentrationen wurde die Methode nach ROSENDAHL (1940) mit Erfolg angewandt. Die Kulturen wurden in Petrischalen mit 7 cm Durchmesser angelegt. Die bei höheren Konzentrationen (ab 0,8%) auftretende schlechte

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Löslichkeit des Colchicins konnte zum Teil durch leichte Erwärmung des in Aqua dest. gelösten Colchicins bis auf höchstens 40° C, zum Teil durch gründliches und langdauerndes Schwenken der Agarmischung bei langsamer Abkühlung behoben werden.

Um die für *Marchantia polymorpha* wirksamen Colchicinkonzentrationen zu ermitteln, war es nötig, Vorversuche anzustellen. Es konnte festgestellt werden, daß Marchantia-Sporen auf Konzentrationen unter 0,1% überhaupt nicht ansprechen. Die tödliche Konzentration liegt zwischen 1,6 und 1,8%.

Keimungsbeginn

Sporen auf colchicinfreiem Nähragar sind nach 24 Stunden deutlich gequollen, nach etwa 48 Stunden reißt die Sporenwand und der „Keimschlauch" tritt aus (LEITGEB 1877). Es ist nun festzustellen, daß Colchicinkonzentrationen von 0,1—0,4% in den meisten Fällen beschleunigend auf das Auskeimen wirken. Sporen, die auf 0,1% Colchicinagar ausgepinselt werden, sind zum Teil schon nach 16—18 Stunden so stark angequollen wie die Kontrollen nach 24 Stunden und keimen auch zum Großteil bereits nach 30 Stunden aus. Wesentlich deutlicher tritt dieser Effekt bei Colchicinkonzentrationen von 0,2—0,4% zutage. Auch bei 0,6%igen Colchicinnährböden keimt mitunter ein Teil der Sporen bereits nach 30 Stunden aus. Jedoch der größte Teil zeigt hier bereits deutliche Keimungshemmungen. Höhere Colchicinkonzentrationen dagegen wirken deutlich hemmend auf das Auskeimen der Sporen. Es keimen beispielsweise die Sporen auf 1% Colchicinagar erst nach drei Tagen. Die Quellung tritt allerdings übereinstimmend mit den Kontrollen bereits nach 24 Stunden auf. Folgende Tabelle gibt eine Übersicht des Keimungsbeginnes der *Marchantia*-Sporen bei verschiedenen Colchicinkonzentrationen.

Erste Keimungsstadien

% Colchicin	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,6
Keimung nach Stunden	36	30	24—28	24			
Keimung nach Tagen					4—6	6—8	über 10

Bei der Keimung und Entwicklung spielt sowohl die Ernährung als auch das Licht eine große Rolle. Geringfügige Änderungen einer dieser Bedingungen können bereits weitgehende Abweichungen hervorrufen. Es ist daher bei allen Versuchen streng darauf zu achten, daß die Menge und Einfallsrichtung des Lichtes gleich bleiben.

Auf colchicinfreiem Nährboden gekeimte Sporen entwickeln zuerst einen 0,3 mm langen Keimschlauch, an dessen Ende sodann die ersten Wandbildungen auftreten. Im allgemeinen folgen auf die erste der so

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

abgeschnürten Zellen noch zwei bis drei, manchmal auch mehr kettenförmig aneinandergereihte Zellen, ehe es zu einer flächigen Entwicklung des Thallus kommt. Die erste Bildung eines Rhizoids ist bei etwa 70% der Fälle erst bei einem Drei- bis Vier-Zellenstadium oder auch erst später zu beobachten. MENGE (1930) bezeichnet diese Art der Entwicklung als einen Sonderfall und stellt fest, daß fast durchwegs aus der Spore ein Rhizoid hervorgeht, später erst am entgegengesetzten Pol der Spore die Keimschlauchentwicklung einsetzt. Dieses abweichende Verhalten bei den hier vorliegenden Versuchen dürfte vielleicht auf die andere Konsistenz des Agars zurückzuführen sein. MENGE verwendet eine 2%ige Agargrundlage, während der hier verwendete BURGEFF-Agar 1%ig ist.

Bei höheren Colchicinkonzentrationen gehen in den ersten 14 Tagen z. T. gar keine, z. T. nur ein bis zwei Teilungen vor sich. Es wurde in solchen Fällen die Beobachtung der ersten Keimungsstadien auf vier Wochen ausgedehnt. Die Kontrollen sind nach vier Wochen bereits zu kräftigen, flächigen Thalli herangewachsen und die einzelnen Thalluslappen beginnen sich schon dichotom zu verzweigen.

Auf 0,1% Colchicinagar gekeimte Sporen entwickeln sich fast gleich den colchicinfreien Kontrollen. Auch hier tritt in zahlreichen Fällen die Rhizoidentwicklung erst später, d. h. im Drei- bis Fünf-Zellstadium ein. Im übrigen verläuft die Entwicklung völlig normal. Da eine Colchicinkonzentration von 0,1% in den ersten 14 Tagen keine merklichen Abweichungen von den Kontrollen zur Folge hat, wird bei den weiteren Versuchsserien diese Konzentration nicht mehr miteinbezogen. Die auf 0,1% Colchicinagar gekeimten Sporen weisen gegenüber den Kontrollen lediglich eine kaum merkliche Wachstumshemmung auf, die jedoch erst nach zwei bis drei Wochen deutlich wird. Vergrößerung der Zellen, wie sie für Colchicinwirkung charakteristisch ist, tritt hier noch nicht auf.

Eine Colchicinkonzentration von 0,2% ruft außer der bereits erwähnten Keimungsbeschleunigung schon in den ersten 14 Tagen deutlichere Veränderungen hervor. Eigenartig mutet bei dieser und allen weiteren Colchicinkonzentrationen die Tatsache an, daß einzelne Pflanzen deutliche Colchicinwirkung durch Vergrößerung der Zellen bei gleichzeitiger Hemmung der Teilungen aufweisen, während andere Keimlinge daneben sich gar nicht oder nur wenig von der Kontrolle unterscheiden. Das Verhältnis von nichtgeschädigten zu geschädigten Keimlingen verschiebt sich mit steigender Konzentration zugunsten der geschädigten. Bei 0,2% Colchicin bemerkt man bereits fünf Tage nach dem Auskeimen, daß etwa 10% der Sporen lediglich den Keimschlauch entwickelt haben, die Kontrollen und die restlichen 90% der Sporen bereits zwei, im Höchstfall auch drei Zellen aufweisen. In den nächsten sieben Tagen

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

beginnen sich auch die bisher ungeteilten Keimschläuche weiter zu teilen. Die Zellen sind jedoch teilweise schon deutlich vergrößert.

Eine Colchicinkonzentration von 0,4% verursacht bereits in den ersten Tagen der Sporenkeimung deutliche Veränderungen. Die Sporen keimen zwar rasch aus, weitere Teilungen des Keimschlauches aber treten erst nach mehreren Tagen auf. Auffallend ist der hohe Prozentsatz gekeimter Sporen bei 0,4% Colchicin. Er bewegt sich zwischen 80—95% und ist somit zum Teil höher als bei den Kontrollen, die im Durchschnitt nur zu etwa 80% keimen. Der Keimschlauch wird hier allgemein sehr breit, nahezu blasig aufgetrieben. Bei den Kontrollen ist er nach drei Tagen 0,5 mm lang, während er bei 0,4% Colchicin nach dieser Zeit höchstens 0,1 mm lang ist. Weitere Teilungen treten hier erst nach sieben bis acht Tagen auf. Doch können wir nach 12 Tagen noch einzellige blasig aufgetriebene oder eigenartig verzweigte Keimlinge finden. Bei derartig verzweigten Formen haben höchstwahrscheinlich Kernteilungen bereits stattgefunden, doch ist die Wandbildung unterblieben. Häufig sind auch flaschenförmige Gebilde, die meist nur aus zwei Zellen bestehen. Daneben treten allerdings wieder völlig normal entwickelte Keimlinge auf. Nach 14 Tagen finden wir auf 0,4% Colchicinagar etwa 10% normale Keimlinge mit deutlichem kleinen flächigen Thallus, 60% gehemmte Keimlinge mit drei bis vier großen blasigen Zellen; 30% der Keimlinge sind auf dem Ein- höchstens Zweizellenstadium stehengeblieben. Nach vier Wochen haben sich auf dem 0,4%igen Colchicinnährboden die oben erwähnten 10% normaler Keimlinge zu kräftigen flächigen Thalli entwickelt, die jedoch an Größe nicht an die Kontrollen heranreichen Abb. 1 a, b). Aus den 60% der gehemmten Keimlinge gehen fädig aufgelöste, mehrästige Thalli hervor, bei denen die Zellen auffallend ungleich groß sind. Von den restlichen 30% der nur ein- bis zweizelligen Keimlinge ist nach vier Wochen etwa die Hälfte zu fädigen Thalli herangewachsen, während der Rest auf dem Zwei- höchstens Vier-Zellstadium stehen geblieben ist. Die Zellen sind hier teilweise auffallend groß. Man könnte fünf normale Thalluszellen in eine derartig colchicingeschädigte einbauen.

Die Wirkung einer Colchicinkonzentration von 0,6% äußert sich vor allem in einem hohen Prozentsatz ungekeimter Sporen. Es keimen von 100 durchschnittlich nur 50 Sporen aus. Bei etwa 10% der keimungsfähigen Sporen tritt noch Keimungsbeschleunigung auf. Die Sporenwand platzt früher als bei den Kontrollen und ein kurzer Keimschlauch tritt aus. Auf dieser Entwicklungsstufe bleiben die Keimlinge dann meistens etwa 14 Tage. Nach dieser Zeit setzen Teilungen ein und nach vier Wochen bestehen die Keimlinge aus maximal fünf Zellen. Die restlichen 90% der keimungsfähigen Sporen keimen überhaupt erst im Verlauf einer Woche, oft erst nach zehn Tagen aus. Bis zum Auskeimen

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

sind die Sporen auffällig gequollen, oft doppelt so groß wie die Sporen der Kontrollen knapp vor deren Auskeimen. Bei 0,6% Colchicingehalt des Nährbodens entwickeln sich die bereits bei 0,4% erwähnten flaschenartigen und blasig aufgetriebenen Formen noch wesentlich deutlicher. Bei vier Wochen alten *Marchantia*-Keimlingen auf 0,6% Colchicinagar sind völlig normal entwickelte Keimlinge kaum zu finden. Unter 100 Keimlingen ist mitunter nur einer ähnlich gut wie die Kontrollen entwickelt.

Eine Colchicinkonzentration von 0,8% wirkt sehr giftig. Die Sporen quellen schnell und stark in den ersten zwei Tagen nach der Aussaat. Die Keimung erfolgt jedoch sehr spät, meistens erst nach sechs bis acht Tagen. Der Prozentsatz der ungekeimten Sporen ist noch höher als bei 0,6% Colchicin. Bei einigen Reihen blieben bis zu 80% der Sporen ungekeimt. In den ersten zwei Wochen wird aus der mächtig gequollenen Spore nur ein kurzer Ansatz zu einem Keimschlauch sichtbar (Abb. 1 c). Ein Teil der Keimlinge bleibt auch weiterhin auf dieser Entwicklungsstufe stehen und stirbt nach vier Wochen ab. Andere, etwa 10% des gekeimten Materials, erreichen nach dieser Zeit im Höchstfalle das Drei-Zellstadium. Schlauchartige Auswüchse, jedoch ohne Wandbildung, sind nicht selten (Abb. 1 d). Eine völlig normal verlaufende Entwicklung, die Keimlinge von der Gestalt der Kontrollen liefern würde, unterbleibt hier ganz. Lediglich zwei bis drei von 100 Keimlingen besitzen nach vier Wochen acht bis zehn Zellen. Auch bei diesen ist eine Vergrößerung der einzelnen Zellen stets deutlich sichtbar und sicher als Colchicinwirkung anzusehen.

1,6% Colchicin im Nährboden erweist sich als absolut tödlich für *Marchantia*-Sporen-Keimlinge. Es ist bei dieser Konzentration allerdings kaum möglich, das Colchicin, das thermolabil ist, restlos zu lösen. Daher dürfte die eigentliche Letaldosis etwas tiefer liegen, etwa bei 1,4%.

In den ersten zehn Tagen keimen ungefähr 5% der Sporen aus. Der Keimschlauch bleibt nur eine kleine warzenartige Vorwölbung an der stark gequollenen Spore. Zellteilungen mit Wandbildungen gehen nicht vor sich, nach zwei bis drei Wochen sind alle Keimlinge abgestorben.

Weiterentwicklung colchicinierter Keimlinge auf reinem Agar und Erde

Da vor allem die großzelligen, abnorm gestalteten Keimlinge auf höheren Colchicinkonzentrationen ihre Weiterentwicklung bald einstellen und absterben, war es von Interesse, die Weiterentwicklung solcher vermutlich polyploider Formen auf colchicinfreien Nährmedien zu verfolgen.

Die Keimlinge wurden zu diesem Zwecke vorsichtig von der Agaroberfläche gelockert, was durch öfteres Spülen mit Aqua dest. erreicht wurde und schließlich auf BURGEFF-Agar übertragen. Es war nun fest-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

zustellen, daß an Keimlingen hoher Colchicinkonzentrationen, die drei bis vier Wochen im gleichen Entwicklungszustand verharrt hatten, bereits nach 24—28 Stunden wieder Zellteilungen einsetzten. Keimlinge niedriger Colchicinkonzentrationen entwickeln sich ähnlich den Kontrollen zu breitflächigen Thalli.

Bereits bei 0,4% Colchicinvorbehandlung sind verschiedene Thallusformen zu unterscheiden. Zum Teil wachsen die Keimlinge zu flächigen Thallusformen aus, wobei die erst angelegten „Riesenzellen" nicht in den Thallus miteinbezogen werden. Nicht selten sind aber auch die Thalli, die zu fädig verzweigten Gebilden herangewachsen sind. Mitunter ist dazwischen auch ein breiterer Thalluslappen anzutreffen. Es zeigt sich dabei stets, daß die fädigen Thallusstücke aus großen, wahrscheinlich polyploiden Zellen bestehen, während die breiteren Thalluslappen gleiche Zellgrößen wie die Kontrolle aufweisen.

Auf 0,8% Colchicinagar gekeimte Sporen, die bereits drei Wochen im Einzellstadium verharrten, bilden schon nach zwei Tagen weitere Zellen. Auch diese, auf colchicinfreiem Nährmedium erfolgten Teilungen liefern in der Mehrzahl große, blasig aufgetriebene Zellen. Die Thalli sind durchwegs fädig verzweigt, breitere Thalluslappen treten nur selten auf.

Keimlinge von 1%-, 1,2%-, 1,4%-, 1,6%igem Colchicinagar verhalten sich kaum anders. In allen Fällen setzt bald nach der Übertragung auf colchicinfreien Agar lebhafte Zellbildung ein. Mit steigender Konzentration der Vorbehandlung werden Zellen normaler Größe immer seltener und treten gegenüber den abnorm gestalteten „Riesenzellen" völlig zurück. Von 1,6%igem Colchicinagar übertragene Keimlinge waren nach sechswöchigem Wachstum auf colchicinfreiem Agar zu vielfädigen Gebilden ausgewachsen, die durchwegs aus großen blasigen Zellen bestanden.

Haben die Keimlinge auf colchicinfreiem Agar eine entsprechende Größe erreicht, so können sie auf Erde übertragen werden. Dazu mischt man am vorteilhaftesten Gartenerde, Sand und Torf zu gleichen Teilen nach Döpp (1935). Die Erde muß stets feucht gehalten werden. Als Kulturgefäße bewähren sich vor allem Tonschalen, die man in der ersten Zeit mit Glasplatten zudeckt. Haben sich die Thalli mit ihrem Rhizoidschopf fest verankert, so kann man die Kulturen bereits zeitweise abdecken und mit der Zeit völlig frei stehen lassen. Werden die Erdkulturen jedoch nicht im Glashaus, sondern in den Laboratoriumsräumen mit einer durchschnittlichen Luftfeuchtigkeit von 30—50% angelegt, so empfiehlt es sich, auch später die Kulturen mit Glasstürzen bedeckt zu lassen.

Es zeigt sich nun, daß nach der Übertragung von colchicinfreiem Agar auf Erde keine weiteren Unterschiede in der Entwicklung auf-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

treten. Vielmehr wird die durch mehrere Wochen auf colchicinfreiem Nährboden eingeschlagene Entwicklungsrichtung weiter verfolgt.

Kontrolle, 0,1% und 0,2% vorbehandelte Keimlinge entwickeln sich zu kräftigen, flächigen Thalli. Keimpflanzen auf 0,4%igem Colchicinagar wachsen dagegen auf Erde zum Teil in fädiger Form mit ausgesprochen großen Zellen, zum Teil als flächige kleinzellige Thalli weiter. Keimlinge aus hohen Colchicinkonzentrationen entwickeln sich ebenfalls in gleicher Weise weiter wie auf BURGEFF-Agar.

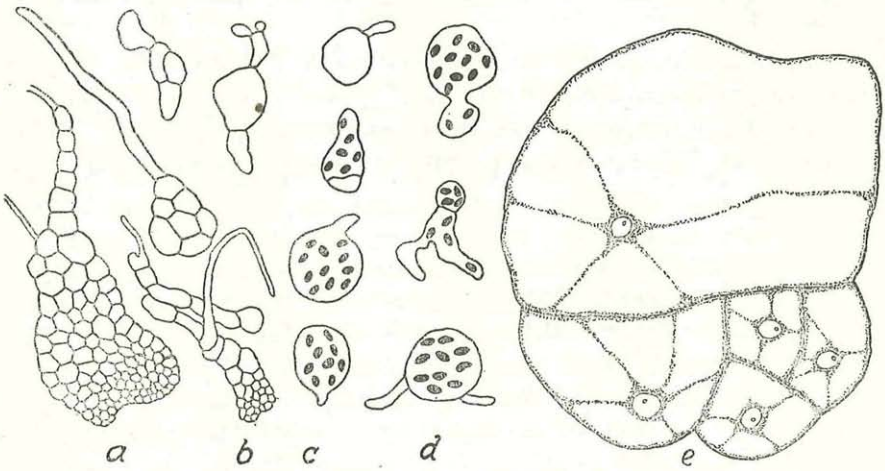

Abb. 1. *Marchantia* Sporenkeimlinge; a) 14 Tage alt auf BURGEFF-Agar, Kontrolle. — b) 14 Tage alt auf BURGEFF-Agar mit 0.4% Colchicin. — c) 2 Wochen alt auf BURGEFF-Agar mit 0.8% Colchicin. — d) 4 Wochen alt auf BURGEFF-Agar mit 0.8% Colchicin. — e) 3 Wochen alt auf BURGEFF-Agar mit 0.6% Colchicin. — Vergrößerung: a, b etwa 30fach, c, d etwa 60fach, e etwa 200fach.

Wachstum colchicinierter *Marchantia*-Keimlinge auf verschiedenen Nährböden

In welchem Maße die Zusammensetzung der Nährlösung, bzw. die Festigkeit (der Wassergehalt) des Agars das Wachstum von *Marchantia polymorpha* und auch die Giftwirkung des Colchicins beeinflußt, zeigen folgende Versuche.

Bei den meisten Versuchen wurde folgende Nährlösung verwendet: BURGEFF-Agar nach BURGEFF (1943).

KH_2PO_4	0,5 g
$MgSO_4$	0,25 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,05 g
$CaCl_2$	0,05 g

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

$(NH_4)_2SO_4$	0,04 g
Aqua dest.	1000 ccm
Agar	7,5 g

Die Sporen entwickeln auf diesem Agar außerordentlich lange Keimschläuche, die erst durch weitere Zellteilungen kleinere, aber noch langgestreckte Zellen entwickeln. Später kommt es zur Bildung einer Zellplatte, von der aus ein normales Wachstum des ganzen Thallus einsetzt. Das Wachstum der Rhizoiden beginnt im Drei- bis Fünf-Zellstadium.

Dieser Entwicklung steht gegenüber das Wachstum auf einer anderen Agargrundlage, deren Wasser- und Nährsalzgehalt ein anderer ist.

Auf dieser Nährlösung nach MEYER auf einem 2%igen Agar (siehe DÖPP 1935) wurden ebenfalls Sporen ausgesät. Nährlösung nach MEYER:

KH_2PO_4	1,0 g
NH_4NO_3	1,0 g
$MgSO_4 . 7 H_2O$	0,3 g
$CaCl_2 . 6 H_2O$	0,1 g
NaCl	0,1 g
$FeCl_3 . 6 H_2O$	0,01 g
Aqua dest.	1000 ccm
Agar	20,0 g

Hier entwickeln sich die Sporen fast durchwegs in der von MENGE (1930) angegebenen Art. Der Keimschlauch bleibt verhältnismäßig kurz. Auffallend ist die dunkelgrüne Färbung der Chloroplasten. Die jungen Thalli machen einen viel gedrungeneren und kräftigeren Eindruck als die auf anderen Substraten gezogenen. Die Ursache dieser auffallenden Unterschiede in der Entwicklung liegt sowohl in der Zusammensetzung der Nährlösung als auch in der Konsistenz des Agars. Versuche bei gleicher Nährsalzkonzentration auf einem 0,75%igem Agar zeigen, daß die dunkelgrüne Farbe der Chloroplasten an die Zusammensetzung der Nährlösung gebunden ist, während die Wuchsform des Keimlings nur von der Festigkeit (dem Wassergehalt) des Substrates abhängt. Es läßt sich feststellen, daß bei BURGEFF-Nährlösung mit Sicherheit die von MENGE (1930) beschriebene Keimungsform überwiegt, sobald eine 2%ige Agargrundlage verwendet wird.

Daß die Zusammensetzung des Nährbodens auch die Giftwirkung des Colchicins zu beeinflussen vermag, zeigen folgende Versuche. Es wurden an zwei Parallelreihen auf 0,75%igem BURGEFF-Agar und zugleich auf 2%igem MEYER-Agar die Entwicklung der Sporenkeimlinge bei verschiedenen Colchicinkonzentrationen beobachtet.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Schon bei oberflächlicher Betrachtung der Ergebnisse kann man feststellen, daß eine deutliche Giftwirkung bei Kultur auf MEYER-Agar erst bei einer wesentlich höheren Colchicinkonzentration eintritt und daß die Lebensdauer dieser Keimlinge durchschnittlich um zwei Wochen länger ist, als die derjenigen auf BURGEFF-Agar. Eine Colchicinkonzentration von 0,1% bedingt keinerlei merkliche Abweichung von der Kontrolle. Es sind jedoch die Keimlinge auf MEYER-Agar wesentlich gedrungener als die von BURGEFF-Agar. Noch deutlicher kommt dieser Unterschied in der Flächenentwicklung bei einer Colchicinkonzentration von 0,2 zum Ausdruck. Während man auf MEYER-Agar gut entwickelte Kontrollen vor sich zu haben glauben könnte, sind auf BURGEFF-Agar schon merkliche Hemmungen zu verzeichnen. Erst bei einer Konzentration von 0,5% sind in den ersten Teilungsstadien auf MEYER-Agar Zellvergrößerungen und vereinzelt Hemmungen im ganzen Wachstum zu sehen. Gleich alte Keimlinge auf BURGEFF-Agar zeigen die Kümmerformen, die neben Mehrzellstadien da und dort über das Drei- bis Fünf-Zellstadium nicht mehr hinauskommen. Selbst bei 0,8% Colchicin sind auf MEYER-Agar neben lebensunfähigen, ein- bis zweizelligen Exemplaren noch vielfach stark gehemmte Mehrzellstadien zu finden, während in der Parallelreihe das Ein- bis Zweizellstadium höchst vereinzelt überschritten wird und nur selten Keimlinge mit einigermaßen normalem Aussehen (aber weitgehend gehemmt) anzutreffen sind.

Diese Erscheinung läßt sich wohl dadurch erklären, daß gerade der MEYER-Agar einerseits durch seinen hohen Gehalt an Kalium, wie durch reicheren Salzgehalt auf das Wachstum der Keimlinge günstig wirkt, andererseits die festere Agargrundlage widerstandsfähigere Pflanzen liefert. Diese Keimlinge sind nun wesentlich resistenter als die zarten Pflanzen auf BURGEFF-Agar und sprechen daher auf Colchicingaben nicht so rasch an. Die folgende Tabelle bringt eine Gegenüberstellung der Keimlinge von BURGEFF- und MEYER-Agar in ihrem Verhalten zu verschiedenen Colchicinkonzentrationen:

C. Konz.	BURRGEFF-Agar 0,75%ig
0,1	Keine wesentlichen Veränderungen, Keimschlauch mitunter etwas kürzer.
0,4	Etwa 60% der Keimlinge mit deutlich vergrößerten Zellen.
0,8	50% ungekeimt, Keimung größtenteils im Zweizellstadium verharrend, abnorme Formen.
1,6	60% ungekeimt, 1—2 Zellstadium, „Riesenzellen“ nach zwei Wochen bereits absterbend.

Kontrolle: hellgrüne langgestreckte Formen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

C. Konz.	MEYER-Agar 2%ig
0,1	Keine wesentlichen Veränderungen, kräftige gedrungene Pflanzen, keine „Riesenzellen".
0,4	Kaum 10% der Keimlinge mit schwach vergrößerten Zellen, geringe Abweichungen von der Kontrolle.
0,8	30—40% ungekeimt, oft bis zu acht Zellen gebildet, „Riesenzellen" häufig, abnorme Zellformen.
1,6	40—60% ungekeimt, bis zu Drei-Zellstadien, „Riesenzellen", nach vier Wochen zum größten Teil noch lebend.

Kontrolle: Kräftige, gedrungene, dunkelgrüne Formen.

Cytologische Untersuchungen

Während sich die Beobachtungen ROSENDAHL's (1940) nur auf morphologische Veränderungen durch das Colchicin erstrecken, wurde hier der Versuch unternommen, Kernveränderungen, bzw. Veränderungen der Chromosomenzahl festzustellen. Zu diesem Zwecke wurden die jungen Gametophyten nach 14—20tägiger Colchicinbehandlung kurz in CARNOY'schem Gemisch (Alkohol : Eisessig = 75 : 25) fixiert und sodann nach der bei HAUPT (1932 a) angeführten Methode mit Karmin-Eisessig gefärbt. Die Färbbarkeit der *Marchantia*-Zellkerne ist sehr verschieden. Wie schon HAUPT (1932 b) erwähnt, färben sich Kerne etiolierter und unter sonstigen ungünstigen Bedingungen gezogener Keimlinge nicht oder kaum. Die Autorin verwendet daher zu ihren cytologischen Untersuchungen kräftige, unter normalen Bedingungen gezogene Pflanzen. Das colchicinierte Material war nun von vornherein ungünstigen Lebensbedingungen unterworfen; einerseits durch den Einfluß des Giftes, andererseits durch die von der Natur abweichenden Feuchtigkeits- und Substratbedingungen in der Kulturschale. Die Versuchspflanzen waren in diesem Falle, wie es auch spätere Vergleiche mit Thalli vom natürlichen Standort zeigten, in bezug auf Kernfärbbarkeit etiolierten Marchantien gleichzusetzen. Durch längere, bis zwölfstündige Kälteeinwirkung von Karmin-Eisessig und darauffolgende kurze Abkochung konnten zum Teil brauchbare Resultate erzielt werden. Kernteilungen waren außerordentlich selten, von 100 lediglich in zwei bis drei Präparaten zu sehen. Da die Chromosomen von *Marchantia polymorpha* außerordentlich klein sind, war es mit den zur Verfügung stehenden optischen Mitteln nicht möglich, Chromosomenzählungen durchzuführen; die Untersuchungen mußten lediglich auf die Vergleiche der Kerngrößen beschränkt bleiben.

Bei einer Konzentration von 0,025% Colchicin waren an ungefähr vier Wochen alten Keimlingen in bezug auf Zellgröße und Zellenzahl keinerlei Unterschiede gegenüber den Kontrollen festzustellen. Es war

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

daher nicht verwunderlich, daß auch die Kerngröße mit der der Kontrollen völlig übereinstimmte.

Eine Colchicinkonzentration von 0,4%, die deutliche Zellvergrößerung zur Folge hatte, wirkte sich auch auf die Kerngröße aus. Die Kerne waren gegenüber den Kontrollen um etwa $^1/_3$ bis $^1/_2$ größer. Bei höheren Konzentrationen (z. B. 0,6%) wurden vor allem ausgesprochene Riesenzellen, die das fünffache Volumen normaler Zellen aufwiesen, untersucht. Dabei zeigt es sich, daß eine Vergrößerung der Kerne im allgemeinen gegenüber einer Konzentration von 0,4% nicht festzustellen war (Abb. 1 e).

Selbst bei starken Colchicinschädigungen waren keine mehrkernigen Zellen zu beobachten. Bei den ausgesprochenen Riesenzellen waren die Größenverhältnisse Kern : Zellvolumen wesentlich zugunsten des Zellvolumens verschoben und mit den daneben vorkommenden Zellen normaler Größe nicht im Einklang.

Bemerkenswert war ferner, daß bei steigender Colchicinkonzentration die Färbbarkeit der Kerne rasch abnahm.

Zusammenfassung

1. Schwache Colchicinkonzentrationen wirken auf den Keimungsbeginn der Sporen beschleunigend, das Optimum liegt bei 0,4% Colchicin. Höhere Konzentrationen hemmen deutlich das Auskeimen der Sporen.

2. Nicht alle Sporenkeimlinge weisen Anzeichen einer Schädigung auf. Der Prozentsatz der geschädigten Keimlinge nimmt mit steigender Colchicinkonzentration zu.

3. Eine Konzentration von 0,1% bedingt nur eine geringe Wachstumshemmung der Sporen-Keimpflanzen.

4. Deutliche Veränderungen der Sporenkeimlinge sind schon bei einer Colchicinkonzentration von 0,2—0,4% zu bemerken. Blasig aufgetriebene und einzellige Individuen sind neben normal entwickelten Keimlingen nicht selten. Auf 0,6% Colchicinagar keimen die Sporen vielfach sehr schwer aus oder bleiben überhaupt lange Zeit auf dem Einzellstadium. Zu vereinzelten Zellteilungen kommt es erst später.

5. Bei einer Konzentration von 0,8% treten nur in wenigen Fällen Zellteilungen auf. Eine Konzentration von 1,6% wirkt unbedingt tödlich.

6. Eine Weiterentwicklung colchicingeschädigter Keimlinge nach Übertragung auf reinem Agar ist durchaus möglich.

7. Die Zusammensetzung des Nährbodens so wie der Wassergehalt des Agars beeinflussen nicht nur das Wachstum der Sporenkeimlinge von *Marchantia polymorpha*, sondern auch die Giftwirkung des Colchicins.

8. Ein Vergleich der Zellkerngrößen von colchicinierten und auf gewöhnlichem BURGEFF-Agar gezogenen Sporenkeimlingen ergab, daß

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

im Laufe der Entwicklung bei höheren Colchicinkonzentrationen die Vergrößerung der Kerne mit der der Zellen nicht Schritt hält, daß sich also die Kern-Zellrelation wesentlich zugunsten der Zellgröße verschiebt. Mehrkernige Zellen oder Kernfragmentationen wurden nicht beobachtet.

Literaturverzeichnis

BURGEFF, 1943: Genetische Studien an *Marchantia*. Jena.

DÖPP, 1935: Die Kultur von Moosen und Farnen für Unterrichtszwecke. Der Biologe 4.

HAUPT, 1932 a: Beiträge zur Zytologie der Gattung *Marchantia* (L.) I. Z. ind. Abst. u. Vererb.-Lehre 62.

— 1932 b: Beiträge zur Zytologie der Gattung *Marchantia* (L.) II. Z. ind. Abst. u. Vererb.-Lehre 63.

LEITGEB, 1877: Keimung der Lebermoossporen in ihrer Beziehung zum Licht. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien 74.

MENGE, 1930: Die Entwicklung der Keimpflanzen von *Marchantia polymorpha* und *Plagiochasma rupestre* (FORSTER) STEPHANI. Flora 24.

ROSENDAHL, 1940: Versuche zur Erzeugung von Polyploidie bei Farnen durch Colchicinbehandlung sowie Beobachtung an polyploiden Farnprothallien. Planta 31.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1952

Band/Volume: 4_1_3

Autor(en)/Author(s): Mader Walter

Artikel/Article: Keimung colchicinierter Marchantia-Sporen. 109-120