

Aus dem Botanischen Institut der Universität zu Köln

Läßt sich der Vernalisationsprozeß selektiv hemmen?

Untersuchungen an *Secale cereale* und *Triticum aestivum*

Von KLAUS NAPP-ZINN

Mit 5 Abbildungen

I. Einleitung

Die Beobachtungen von GREGORY und PURVIS (1938a, b) über den Sauerstoff- und Kohlenhydratbedarf des Vernalisationsvorganges bei Petkuser Winterroggen hatten darauf schließen lassen, daß Atmung eine wesentliche Voraussetzung dafür ist, daß bei Wintergetreiden im Gefolge einer Kältebehandlung ein Vernalisationseffekt eintritt. Es lag daher nahe, der Frage nachzugehen, ob der Vernalisationsprozeß nicht durch Atmungsgifte blockiert werden könne. Über solche Untersuchungen, in die man meist auch noch andere Wirkstoffe einbezogen hatte, ist in neuerer Zeit verschiedentlich berichtet worden.

Die erste Mitteilung dieser Art verdanken wir offenbar CHOUARD und POIGNANT (1951), die bei dem Winterweizen 'Vilmorin 27' keinen oder einen nur geringen Vernalisationseffekt beobachten konnten, wenn die Caryopsen vor der Vernalisation in bestimmten Lösungen angequollen, während der Kälteexposition (3–5 Wochen bei +3 °C) alle 10 Tage mit neuer Lösung befeuchtet und nach dieser Behandlung abgespült worden waren. Im Hinblick auf eine solche, zum Teil „elektive Hemmung der Vernalisation“ (CHOUARD und POIGNANT) hatten sich unter anderem als wirksam erwiesen: die Atmungsgifte KCN, NaF, NaHSO₃, Na₂HAsO₄ (Konzentration 10⁻⁴), Na₃AsO₃ (10⁻⁴), ferner Monojodessigsäure, Maleinsäurehydrazid, Cumarin, β -Indolylessigsäure (IES), α -Naphthylelessigsäure (NES), 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D), 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (TCPES) und 2,3,5-Trijodbenzoesäure (TJBS). Als Kriterium für die Wirkung dieser Substanzen galt die Verzögerung des Ährenschiebens oder der Ährenanlegung.

Ähnliche Versuche führte GÜNTHER (1960, 1961) mit dem Winterweizen 'Derenburger Silber' durch. Er applizierte den Caryopsen die zu prüfenden Lösungen nur einmal, nämlich vor der Vernalisation, die bei beschränktem Wassergehalt der Weizenkörner durchgeführt wurde. Dieses Mal erwiesen sich KCN, NaF, K₃AsO₃ und 2,4-D als besonders geeignet, einen stärkeren Vernalisationseffekt zu unterbinden. Auch GÜNTHER las die Wirkung dieser Substanzen an dem Prozentsatz der aufgegangenen Pflanzen, die zum Ährenschieben kamen, und an der Zeitspanne vom Auslegen der Caryopsen auf dem Felde bis zum Beginn des Ährenschiebens ab. Im übrigen beobachtete er, daß der Einfluß dieser Stoffe auf den Vernalisationseffekt enger mit bestimmten „vegetativen Begleiterscheinungen“ (Einfluß auf die Keimung, den Ausgang und das Wachstum der Keimlinge) als mit der — durch diese Substanzen ebenfalls beeinflussten — Atmungsintensität der vernalisierten Caryopsen korreliert ist.

Weiterhin stellte KREKULE (1961) solche Experimente mit einem Winterweizen ('Hodonínská holicé') an. Die Caryopsen wurden nur einmal mit den Wirkstofflösungen versetzt und nach der Vernalisation (35 Tage bei +2 °C) abgespült. Wiederum wurde die Wirkung dieser Substanzen am Prozentsatz der zum Ährenschieben gelangten Pflanzen und an der Zeitspanne von der Aussaat bis zum Ährenschieben gemessen. Auf Grund seiner Versuchs-

ergebnisse betrachtet KREKULE KCN, α , α' -Dipyridyl, 2,4-D, IES und Cumarin als spezifische Inhibitoren der Vernalisation. Bei Kontrollversuchen mit dem Sommerweizen 'Niva' erwiesen sich die genannten Substanzen als unwirksam.

In entsprechenden Versuchen von PURVIS (1961) mit Petkuser Winterroggen waren Na₂HAsO₄, NaF und Natriummonojodacetat vollkommen wirkungslos.

Endlich berichteten ŠVEDSKAJA und KRŽILIN (1961) über ähnliche Untersuchungen an Steckrüben und Frühkohl. Die Steckrüben waren auf dem Samenstadium vernalisiert und während eines Teiles der Kältebehandlung in 5 · 10⁻⁴ mol. Lösungen verschiedener Atmungsgifte gehalten worden. Als Kriterium für deren Hemmwirkung galt auch hier eine Senkung des Prozentsatzes schossender Pflanzen. Für die Frühkohl-Versuche wurden 5–6blättrige Pflanzen verwendet; diese wurden während eines Teiles der 70tägigen Vernalisation täglich mit gleichartigen Hemmstofflösungen infiltriert. Nach der Kältebehandlung kamen diese Pflanzen für eine Woche ins Gewächshaus und wurden dann unter einem Binokular auf Blütenanlagen hin untersucht. Bei beiderlei Versuchen, deren Darstellung freilich vor allem einige methodische Fragen offen läßt, wurde der Prozentsatz schossender bzw. blütenanlegender Pflanzen am stärksten durch Natriumazid herabgesetzt.

Wie diese kurze Übersicht andeutet, glauben verschiedene Forscher, in Atmungsgiften und anderen Wirkstoffen spezifische Hemmstoffe gefunden zu haben, die den Vernalisationsprozeß zum Teil selektiv blockieren. Soweit ich sehe, haben alle diese Forscher Kriterien außer acht gelassen, die man bei Vernalisationsversuchen stets berücksichtigen sollte. Es dürfte daher lohnen, über eine Reihe weiterer Versuche zu berichten, die ein gut Teil der bisher referierten Befunde in einem anderen Licht erscheinen lassen.

Diese Versuche wurden teils an Getreiden, teils an *Arabidopsis thaliana* durchgeführt. Da die Experimente mit den verschiedenen Objekten schon der Anlage nach nicht in allen Punkten übereinstimmen, beschränken wir uns in der vorliegenden Mitteilung auf die Versuche mit Roggen und Weizen. Von entsprechenden Untersuchungen an *Arabidopsis* wird in einer späteren Veröffentlichung die Rede sein.

II. Untersuchungen über den Einfluß von Maleinsäurehydrazid auf Vernalisation und Atmung bei Roggen und Weizen

Meine ersten Versuche wurden 1952 mit Maleinsäurehydrazid (MH) durchgeführt, dessen atmungshemmende Wirkung in saurem Medium von NAYLOR und DAVIS (1951) an Wurzelspitzen von Erbsen, Sonnenblumen, Tomaten, Mais, Gerste, Hafer und Weizen sowie von ISENBERG, ODLAND, POPP und JENSEN (1951) an Zwiebelblättern erkannt worden war. Den letztgenannten Autoren zufolge handelt

es sich dabei um die Verminderung der Aktivität einer oder mehrerer Dehydrogenasen.

Da sich MH seit 1949 eines größeren praktischen und theoretischen Interesses erfreute, liegen auch schon einige allerdings einander zum Teil widersprechende Mitteilungen über die Wirkung dieser Substanz auf die Blütenbildung vor. Auf eine ins einzelne gehende Besprechung dieser Beobachtungen können wir unter Hinweis auf die Übersichten von ZUKEL (1952) und LANG (1961, S. 943/944) verzichten. Hier seien nur die Befunde von CHOUARD und POIGNANT (s. o.) in Erinnerung gebracht.

1. Vernalisationsversuche mit Roggen

a) Material und Methode

Unsere Versuchsobjekte waren Petkuser Normalstroh-Winterroggen, Hochzucht, und Petkuser Sommerroggen, Hochzucht, der Fa. F. von Lochow-Petkus GmbH., Bergen, Kreis Celle, Ernte 1951. Die Methodik glich weitgehend der von CHOUARD und POIGNANT angewandten: Je 1,8 g Caryopsen (etwa 50 Stück) wurden in Petri-Schalen von 10 cm Durchmesser 1 Stunde lang in 2-prozentiger Perhydridlösung oberflächlich desinfiziert, gründlich mit sterilem Wasser abgespült und anschließend $2\frac{3}{4}$ –3 Stunden lang in 0,3-, 0,2-, 0,1-, 0,05-, 0,02-, 0,005-, 0,001-, 0,0002- oder 0,00002-prozentigen MH-Lösungen bzw. in Aqua dest. quellen lassen. Die überschüssige Quellungsflüssigkeit wurde dann abgegossen, ein Blatt Filtrierpapier wurde in jeder Schale unter die Caryopsen gelegt, und 3 cm³ sterilen dest. Wassers wurden zugefügt. Da diese Prozeduren sowohl am 3. 4. als auch am 21. 4. 1952 vorgenommen und jedesmal von jeder der beiden Roggensorten in Verbindung mit jeder der 10 MH-Konzentrationen (einschließlich Kontrolle) zwei Parallelen angesetzt wurden, ergaben sich insgesamt 80 Versuchsglieder, von denen jeweils die beiden parallelen im folgenden Abschnitt zusammen ausgewertet werden.

Vom 3. 4. bzw. 21. 4. bis zum 15./16. 5. 1952 (also 42–43 bzw. 24–25 Tage lang) wurden die vorbehandelten Caryopsen bei $+2,5 \pm 0,5$ °C und Dunkelheit vernalisiert und dann – nach Ablauf der meteorologischen „Eisheiligen“ – ins Freiland ausgepflanzt. Die in den drei höchstkonzentrierten MH-Lösungen vorgequollenen Caryopsen bzw. die in ihnen enthaltenen Embryonen starben sämtlich frühzeitig, großenteils wohl schon während der Vernalisation; auch in den übrigen Gruppen kam es zu Ausfällen, die teils – vor allem bei den höheren Konzentrationen – auf der MH-Wirkung, teils auf trotz Desinfektion eingetretener Schimmelbildung, teils auf Vogelfraß nach dem Auspflanzen beruhten. Protokolliert wurden für jede einzelne Pflanze: der Tag der Anthese¹ sowie Länge, Blattzahl und Entwicklungsstand aller geschoßten Sprosse zur Zeit der Anthese der ersten entfalteten Ähre. Die letzte überlebende Sommerroggen-Pflanze blühte am 2. 8. (78 Tage nach dem Auspflanzen), die letzte 6 Wochen lang vernalisierte Winterroggen-Pflanze am 29. 8. (106 Tage nach dem Auspflanzen). Nur von den $3\frac{1}{2}$ Wochen lang vernalisierten Winterroggen-Pflanzen war eine größere Anzahl noch vegetativ, als der Versuch am 24. 9. 1952 abgeschlossen wurde.

b) Ergebnisse

Das Blühalter derjenigen Pflanzen, die bis zum Versuchsschluß zur Blüte kamen, geht aus Tab. 1

¹ Das Blühalter wurde vom Ende der Vernalisation bis zur Anthese gerechnet.

hervor. Beim Sommerroggen sind überhaupt keine nennenswerten Unterschiede zwischen den in verschiedenen MH-Lösungen gequollenen und verschieden lange vernalisierten Gruppen festzustellen: Nach $3\frac{1}{2}$ wöchiger Kältebehandlung variierte das mittlere Blühalter zwischen 51,0 und 56,1 Tagen, nach 6 wöchiger zwischen 52,8 und 56,9 Tagen. Dennoch ergibt sich im ersteren Falle für die Differenz zwischen den beiden extremen Mittelwerten $P < 0,0002$, und für die Blühalter-Differenz zwischen den in 0,02-prozentiger MH-Lösung und in reinem Wasser eingequollenen, $3\frac{1}{2}$ Wochen lang vernalisierten Sommerroggen-Gruppen (Blühalter 56,1 bzw. 52,8 Tage) wurde $0,005 < P < 0,006$ ermittelt. Auch nach 6 wöchiger Vernalisation war das Blühalter bei Verwendung der 0,02-prozentigen MH-Lösung am höchsten.

Sehr geringe Unterschiede herrschen auch beim 6 Wochen lang vernalisierten Winterroggen. Bei der Gruppe der in Wasser gequollenen Caryopsen ist das Blühalter relativ hoch (64,9 Tage), am niedersten hingegen bei einer MH-Konzentration von 0,005% (58,3 Tage); für diese Differenz gilt $P = 0,0045$. Das höchste Blühalter liegt hier bei 0,0002% MH (66,0 Tage). Alle 6 Wochen lang vernalisierten Winterroggen-Gruppen blühten merklich später als die entsprechenden Sommerroggen-Gruppen.

Ein noch höheres Blühalter war durchweg bei den nur $3\frac{1}{2}$ Wochen lang vernalisierten Winterroggen-Gruppen festzustellen, die auch untereinander stärker differierten. Wie beim Sommerroggen blühten hier die mit 0,02-prozentiger MH-Lösung behandelten Pflanzen etwas später als die Wasser-Kontrollen; das höchste Blühalter (90,2 Tage) lag aber bei der niedersten MH-Konzentration (0,00002%), das geringste Blühalter (75,7 Tage) bei 0,001% MH. Ebenso wenig ist eine Korrelation zwischen der MH-Konzentration und dem Prozentsatz derjenigen unter den pikierten Pflanzen zu erkennen, die bis zum Versuchsschluß zur Anthese gelangten (Tab. 2). Demnach ergibt sich auch beim unvollständig vernalisierten Winterroggen, bei dem eine deutlich sichtbare Wirkung des MH auf den Vernalisationseffekt am ehesten zu erwarten gewesen wäre, keine klare Beziehung zwischen MH-Konzentration und Blühalter.

Bei $3\frac{1}{2}$ Wochen lang vernalisiertem Winterroggen wurden deshalb noch einige andere Daten statistisch ausgewertet, und zwar vor allem die Zahl der geschoßten Seitensprosse und der an diesen gebildeten Blätter.¹ Freilich sind auch diese Daten für unsere

¹ Hierbei ist darauf hinzuweisen, daß bei den meisten in Frage kommenden Pflanzen die Hauptachse nicht oder wenigstens nicht als erste zum Blühen gelangt war. Die Blühdaten bezogen sich daher großenteils auf die Anthese von Seitensprossen.

Tabelle 1. Mittleres Blühalter in Tagen (BA) von Petkuser Sommer-(S) und Winterroggen (W) nach $3\frac{1}{2}$ - bzw. 6wöchiger Vernalisation bei Quellung in MH-Lösungen von verschiedener Konzentration. n = Zahl der jeweils zur Anthese gelangten Pflanzen.

Sorte	Vern.-Dauer (Wochen)	MH-Konzentration (%)													
		0,05		0,02		0,005		0,001		0,0002		0,00002		0	
		BA	n	BA	n	BA	n	BA	n	BA	n	BA	n	BA	n
S	6	—	—	56,9	11	54,2	11	53,4	11	52,8	65	54,5	52	55,9	36
S	3 ½	54,0	2	56,1	36	51,9	68	51,0	73	52,1	58	52,5	78	52,8	64
W	6	—	—	62,8	6*	58,3	48	62,6	33	66,0	45	61,4	28	64,9	19*
W	3 ½	—	—	85,9	10	78,7	11	75,7	11	83,2	15	90,2	18	80,5	16

* Je eine Parallelgruppe während der Kältebehandlung ausgetrocknet und daher nicht mitausgewertet.

Tabelle 2. Pflanzen des Petkuser Winterroggens, die nach 3½wöchiger Vernalisation in verschiedenen MH-Lösungen (21. 4. – 15./16. 5. 1952) bis zum Versuchsschluß (24. 9. 1952) zur Anthese gelangt waren.

	MH-Konzentration (%)					
	0,02	0,005	0,001	0,0002	0,00002	0
absolut in Prozent der pikierten Pflanzen	10 von 37	11 von 86	11 von 74	15 von 82	18 von 85	16 von 82
	27,0	12,8	14,9	18,3	21,2	19,5

Fragestellung nicht sehr ergiebig. Eine Beziehung zwischen Bestockung und MH-Konzentration, die man hätte vermuten können, ist z. B. nicht zu erkennen. Nur diejenigen Werte, die sich auf die Zahl der vor der Ähre gebildeten Blätter und auf die Blattbildungsgeschwindigkeit beziehen, geben gewisse Andeutungen bezüglich einer konzentrationsabhängigen MH-Wirkung: Im Vergleich zur Kontrolle wurden bei den zwei höchsten tolerierten MH-Konzentrationen weniger Blätter pro Sproß vor der Ähre angelegt, bei den drei übrigen Konzentrationen dagegen mehr als bei der Wasser-Kontrolle. Ebenso entstanden bei den zwei höchsten Konzentrationen die Blätter in langsamerer, bei den drei anderen in rascherer Folge als bei der Kontrolle. Die Differenzen gegenüber der Kontrolle sind allerdings in keinem Falle statistisch gesichert, wohl aber z. T. die Unterschiede zwischen den Extremwerten (aber auch diese nur schwach); für die Differenz zwischen den Blattzahlen geschoßter Seitensprosse der mit 0,005- bzw. 0,0002prozentiger MH-Lösung vorbehandelten Gruppen wurde z. B. $P = 0,008$ ermittelt.

2. Atmungsmessungen an Roggen und Weizen

Nachdem MH in dem vorstehend geschilderten Versuch bei Winterroggen keinen eindeutigen Einfluß auf die Vernalisation gehabt hatte, war der Einfluß der höchsten, gerade noch vereinzelt tolerierten MH-Konzentration (0,05%, Tab. 1) auf die Atmung zu prüfen.

a) Untersuchungen an Roggen-Caryopsen

Die diesbezüglichen Messungen wurden zunächst an Caryopsen des Petkuser Sommer- und Winterroggens vorgenommen, und zwar – soweit im folgenden nicht anders angegeben – in derselben Weise wie früher bei Weizen (vgl. NAPP-ZINN 1957a), nur mit dem Unterschied, daß die Caryopsen nach oberflächlicher Desinfektion mit Alkohol und dreimaligem Spülen mit sterilem Aqua dest. rasch mit Filterpapier abgetrocknet wurden, ehe zur Vorquellung MH-Lösung zugesetzt wurde. Nach 22¾stündiger Quellung bei etwa 20 °C wurden die Caryopsen auch mit MH-Lösung gespült, und in die Reaktionsgefäße des Warburg-Apparates wurde bei den betreffenden Versuchen gleichfalls MH-Lösung an Stelle von Wasser gegeben. Die Kontrollmessungen wurden an Roggen-Saatgut durchgeführt, dessen Behandlung sich durch nichts von derjenigen der Weizen-Caryopsen in den erwähnten früheren Versuchen unterschied.

Wir übergehen einige 1955 mit Saatgut der Ernte 1954 durchgeführte Vorversuche und wenden uns gleich den Ergebnissen von Untersuchungen zu, die in den Jahren 1958–60 an Caryopsen der Ernte 1957 vorgenommen wurden (vgl. Tab. 3). Wie bei früheren Messungen (NAPP-ZINN 1954) liegt die Atmungsintensität (AI) des Sommerroggens ein wenig höher als die des Winterroggens; bei beiden Sorten beträgt der respiratorische Quotient (RQ) nahezu 1. Sowohl bei Sommer- als auch bei Winterroggen wird durch die subletale MH-Konzentration die AI im Durchschnitt um nur etwa 5–10% herabgesetzt und der RQ geringfügig erhöht.

Tabelle 3. O₂-Verbrauch und CO₂-Produktion (gemessen in mm³/Stunde pro 20 Caryopsen) sowie respiratorischer Quotient (RQ) von Caryopsen des Petkuser Sommer- (S) und Winterroggens (W) während 5 Stunden bei 22 °C nach 22¾stündiger Vorquellung bei etwa 20 °C in 0,05prozentiger MH-Lösung oder Wasser. Jede der Messungen, deren Anzahl unter n angegeben ist, beruht im Falle des O₂-Verbrauches und der CO₂-Produktion auf Ableseungen an je 3 Manometern.

Sorte	Medium	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Produktion	RQ	n
S	Wasser	51,9	52,1	1,007	20
S	0,05% MH	49,0	50,7	1,036	9
W	Wasser	50,2	50,0	0,997	20
W	0,05% MH	45,7	46,4	1,024	11

Geht man von der Annahme aus, daß die Vernalisation überhaupt etwas mit der manometrisch erfaßbaren Atmung zu tun habe, so überrascht es nach dem Ausgang des zuvor besprochenen Vernalisationsversuches nicht, daß auch die Atmung von Caryopsen durch MH nur in unbedeutendem Maß beeinflußt wird. Nun bestehen aber Roggen-Caryopsen zu über 95% aus Endosperm, das bei dem Vernalisationsprozeß durchaus entbehrlich ist, wogegen sich die entscheidenden Vorgänge im Embryo abspielen, dessen Atmung natürlich nur einen Teil der Gesamtatmung des Roggenkornes ausmacht. Es wurden deshalb auch Untersuchungen über den Einfluß von 0,05prozentiger MH-Lösung auf die Atmung isolierter Embryonen durchgeführt.

b) Atmungsmessungen an Roggen- und Weizen-Embryonen

Die Technik dieser Messungen entsprach weitgehend der schon früher (NAPP-ZINN 1954) benutzten und wurde im Laufe der Zeit noch in einigen Punkten verbessert. Die freipräparierten Embryonen (ohne Scutellum) wurden bis zum Versuchsbeginn bei +2 °C trocken aufbewahrt. Meist je 20, gelegentlich auch je 8 Embryonen wurden unter Zusatz von 2 cm³ Aqua dest. oder 0,05proz. MH-Lösung (ungepuffert) in ein Warburg-Reaktionsgefäß gegeben. Das frei werdende CO₂ wurde in 0,3 cm³ 2N KOH absorbiert. Bei der Feststellung des RQ dienten 2 der 11 Manometer des Warburg-Apparates zur Kontrolle; die 9 übrigen wurden mit je 20 Embryonen beschickt. Bei 3 davon, die zur Messung des O₂-Verbrauches dienten, wurden (wie üblich) 0,3 cm³ 2N KOH in den Trog am Boden des Reaktionsgefäßes gefüllt; bei den 6 übrigen kamen 0,3 cm³ n HCl in den Anhang des Gefäßes. Bei 3 der zuletzt erwähnten 6 Gefäße wurde die Salzsäure am Ende des Versuches eingekippt, bei den 3 übrigen dagegen zu Beginn der Atmungsmessungen. 2 Stunden, nachdem die Salzsäure eingekippt worden war, erfolgte die Schlußablesung an den letztgenannten Manometern. – In Abständen von maximal 18 Stunden wurden die Reaktionsgefäße mittels Druckluft durchlüftet. Die Versuchstemperatur betrug wieder 22 °C, die Schüttelfrequenz 80–90 Doppelschläge pro Minute. Die Meßwerte wurden anfangs auf das Gewicht, später – der geringeren Streuung halber – nur noch auf die Anzahl der Embryonen bezogen. Vielfach wurde auch die Länge der Embryonen bei Versuchsschluß ermittelt. Die Experimente erstreckten sich immer über 2 oder mehr Tage.

Hinsichtlich der Ergebnisse einer Anzahl ähnlicher Versuche mit Embryonen von Petkuser Sommer-

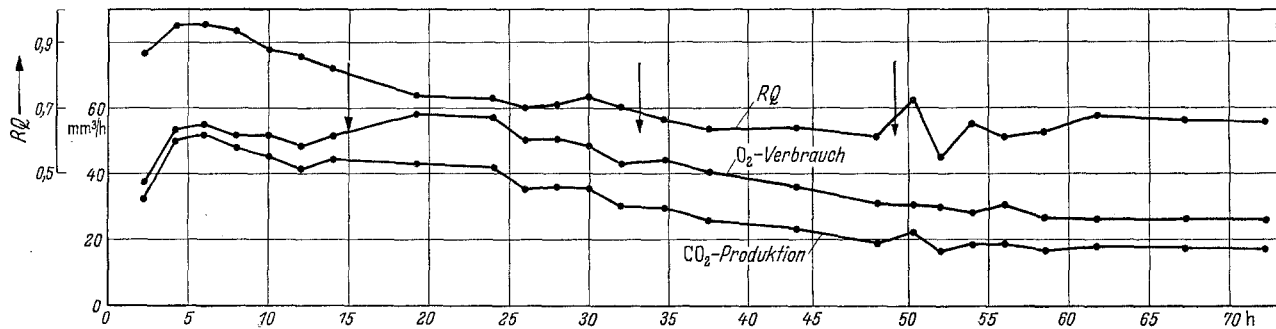


Abb. 1. Petkuser Sommerroggen. CO_2 -Produktion, O_2 -Verbrauch und RQ isolierter Embryonen in dest. Wasser bei 22 °C (25.–28. 8. 1958). In den Abb. 1–5 beziehen sich die für CO_2 -Produktion und O_2 -Verbrauch angegebenen Werte auf je 20 Embryonen; jeder Pfeil kennzeichnet den Zeitpunkt einer Durchlüftung.

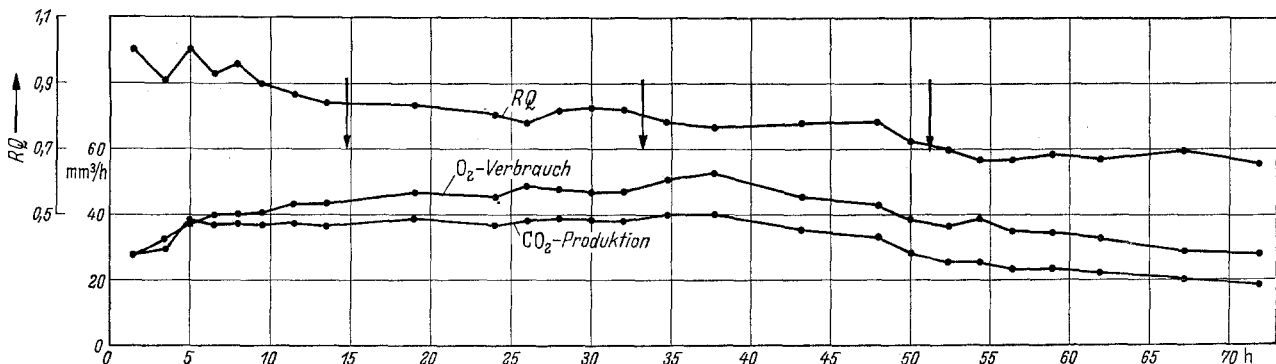


Abb. 2. Petkuser Sommerroggen. CO_2 -Produktion, O_2 -Verbrauch und RQ isolierter Embryonen in 0,05proz. Maleinsäurehydrazid-Lösung (1.–4. 9. 1958).

und Winterroggen läßt sich unter Hinweis auf Abb. 1 und 2 folgendes sagen: Im Vergleich mit den in MH-Lösung befindlichen Embryonen atmeten die in Wasser befindlichen in den ersten Stunden stärker, ihre AI nahm auch anfangs rascher zu und erreichte ihr Maximum früher¹. Die Maxima lagen in beiden Fällen im gleichen Größenbereich; ihnen folgte ein \pm flacher Abfall der AI, mit welchem stets eine Angleichung der für beiderlei Embryonen ermittelten Werte einherging. Der RQ stieg regelmäßig (bei „MH-“ wie bei „Wasser-Embryonen“) innerhalb der ersten 10 Stunden auf Werte von nahezu 1 an, um dann allmählich wieder in den Bereich zwischen 0,6 und 0,8 abzusinken. Soweit der p_{H} -Wert ermittelt wurde, blieb er während der ganzen Versuchsdauer unverändert. Stets unterschieden sich die Embryonen insofern hinsichtlich ihrer Länge, als die in MH-Lösung befindlichen sehr viel kürzer blieben als die in Wasser befindlichen. Erstere erreichten z. B. in einem Versuch von 56stündiger Dauer mit je 20 Winterroggen-Embryonen pro Reaktionsgefäß eine Länge von 3,7 mm, letztere eine solche von 5,6 mm ($P \ll 0,0002$). Im Verhalten der Sommer- und der Winterroggen-Embryonen zeigten sich keine grundsätzlichen Unterschiede.

Für die allmähliche Steigerung der AI auch bei den „MH-Embryonen“ und für die spätere Angleichung der AI dieser Embryonen an diejenige der „Wasser-Embryonen“ bieten sich u. a. zwei Erklärungsmöglichkeiten an: Einerseits ist es denkbar, daß ein oder mehrere durch MH blockierte Fermente funktionell durch andere ersetzt werden. Andererseits ist es nicht ausgeschlossen, daß das MH im Laufe

des Versuches abgebaut oder auf andere Weise in eine weniger wirksame Form überführt wird.

Um diesen Möglichkeiten weiterhin nachzugehen, entnahmen wir bei verschiedenen Experimenten der zuletzt geschilderten Art — etwa 50 oder 70 Stunden nach ihrem Beginn — die Embryonen den Medien und ersetzten sie durch neue Embryonen. Diese atmeten von Anfang an erheblich stärker als solche Embryonen, die mit frischen Medien versetzt worden waren, und durchliefen dementsprechend viel früher (nämlich stets schon innerhalb der ersten 10 Stunden) das Maximum der AI, das auch durchweg wesentlich höher lag als in den zuvor besprochenen Versuchen¹. Der RQ erreichte seine Höchstwerte (nahezu 1) etwa zur gleichen Zeit wie die AI die ihren. Wiederum gab es zwischen Sommer- und Winterroggen-Embryonen keine nennenswerten Differenzen.

Bemerkenswert ist nun, daß sich bei diesen neuen Versuchen („neue Embryonen im alten Medium“) die Embryonen in dem ursprünglich MH-haltigen Medium hinsichtlich der Atmung nicht merklich von jenen unterschieden, deren Medium von Anfang an kein MH enthalten hatte (vgl. Abb. 3 und 4). Ebenso wenig zeigte sich ein signifikanter Unterschied bezüglich der Länge der Embryonen bei Versuchsschluß (z. B. in einem Versuch mit Winterroggen-Embryonen 48 Stunden nach Beginn der Quellung: 5,3 mm in Wasser, 5,1 mm in dem anfangs MH-haltigen Medium, $P > 0,3$). Dies spricht dafür, daß die oben an

¹ In den Versuchen mit MH-Lösung trat die maximale AI bei 20 Embryonen pro Reaktionsgefäß früher ein als bei 8 Embryonen pro Gefäß; weiter unten mitgeteilte Befunde machen diese Beobachtung verständlich.

¹ Die Höhe der AI (in Abb. 3 und 4) bei „neuen“ Embryonen in Medien mit und ohne MH zu Beginn des ursprünglichen Versuches und die Lage des Atmungsmaximums in den ersten Versuchsstunden könnten darauf hinweisen, daß aus den „alten“ Embryonen (d. h. aus denen des ersten Versuchsabschnittes) Atmungsfermente ins Medium diffundiert waren, was nach Befunden von MASSART, DE KETELAERE und PEETERS (1955) an isolierten Gersten-Embryonen auch plausibel erscheinen würde.

zweiter Stelle genannte Alternative zutrifft, daß also die „alten“ Embryonen das ursprünglich im Medium enthaltene MH auf irgendeine Weise in seiner Eigenschaft als Atmungsgift unwirksam gemacht hatten¹.

Diese Annahme ist auch noch von einer anderen Seite her einer Prüfung zugänglich, und zwar indem man nach einer gewissen Zeit nicht (wie in den bisherigen Versuchen) die Embryonen, sondern das Medium austauscht. Wird dann durch die Zugabe von neuem MH die Atmung von Embryonen herabgesetzt, die sich von Beginn des Versuches an in MH-Lösung befunden hatten, so ist damit zu rechnen, daß die eben genannte Vermutung zutrifft. Bleibt aber die AI solcher Embryonen, deren Medium MH enthalten hatte, durch die Zufügung von neuem MH unbeeinflusst, so ist eher daran zu denken, daß in den Embryonen ein MH-unempfindliches Enzymsystem die Funktion eines MH-empfindlichen übernommen habe.

Die unter diesem Gesichtspunkt angestellten Atmungsmessungen wurden im wesentlichen ähnlich durchgeführt wie die vorherigen. Alle Reaktionsgefäße wurden zu Beginn mit 2 cm³ einer 0,05prozentigen MH-Lösung versehen; ihr Trog wurde mit KOH beschickt. 52 Stunden, nachdem die Embryonen ins Medium gelangt waren, wurde aus der Hälfte der Reaktionsgefäße je 1 cm³ des Mediums entnommen und in ein Reaktionskölbchen der anderen Hälfte gegeben. In die ersteren wurden dann von neuem 2 cm³ einer 0,05prozentigen MH-Lösung gefüllt, so daß nunmehr alle Reaktionsgefäße (außer KOH) 3 cm³ Flüssigkeit enthielten.

Die Meßwerte eines besonders eindrucksvollen Versuches dieser Art (mit Sommerroggen-Embryonen) ver-

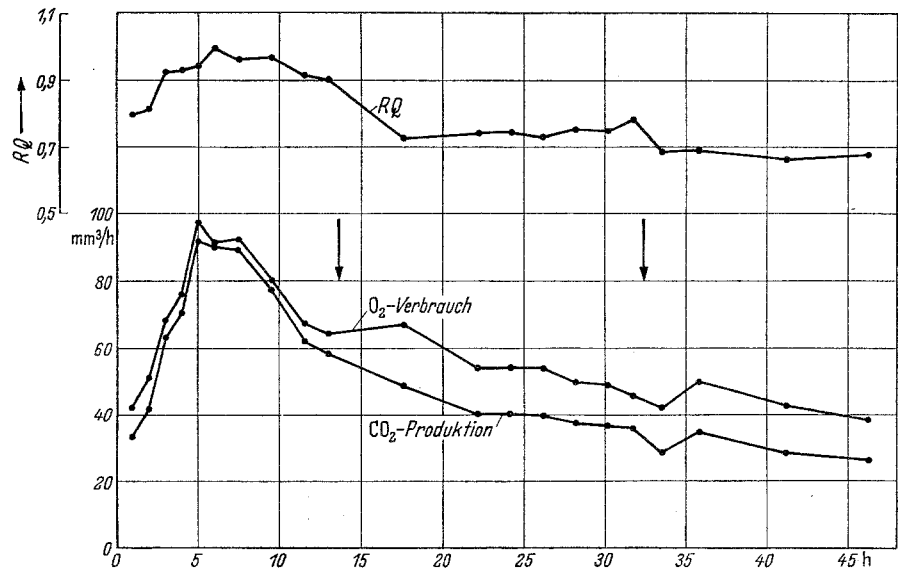


Abb. 3. Petkuser Sommerroggen. Fortsetzung des in Abb. 1 dargestellten Versuches: „Neue Embryonen im alten Medium“ (28.–30. 8. 1958).

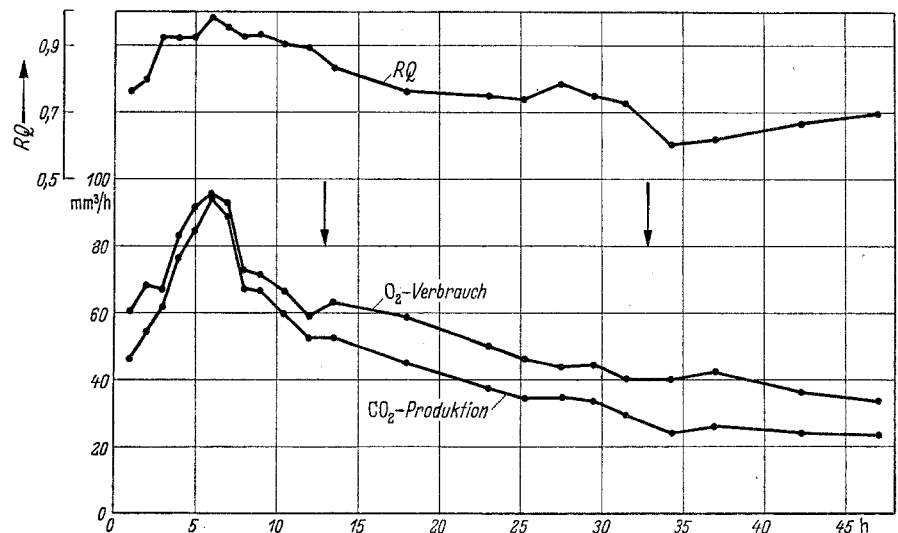


Abb. 4. Petkuser Sommerroggen. Fortsetzung des in Abb. 2 dargestellten Versuches: „Neue Embryonen im alten Medium“ (4.–6. 9. 1958).

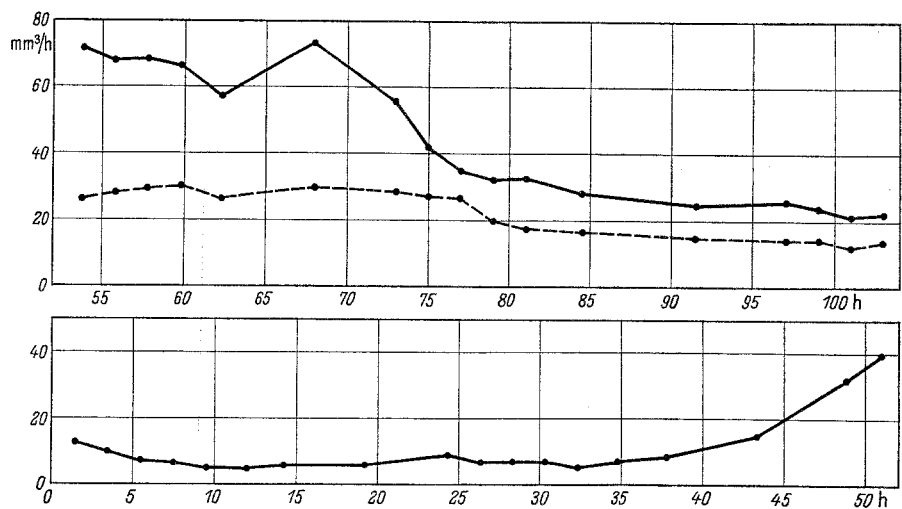


Abb. 5. Petkuser Sommerroggen. O₂-Verbrauch isolierter Embryonen in 0,05proz. Maleinsäurehydrazid-Lösung. Untere Teilfigur: erster Versuchsabschnitt (1.–3. 6. 1959). Obere Teilfigur: zweiter Versuchsabschnitt (3.–5. 6. 1959; die gestrichelte Kurve stellt den O₂-Verbrauch derjenigen Embryonen dar, denen zu Beginn des zweiten Versuchsabschnittes frische Maleinsäurehydrazid-Lösung zugesetzt worden war).

¹ Nach Befunden von BAKER (1961) könnte dies z. B. durch Bindung des MH an Zellkern-Proteine geschehen, was wiederum zu einer Mitosehemmung führen könnte; damit würde auch die Wachstums- und Letalität von MH bei Vernalisationsexperimenten erklärlich.

anschaulicht Abb. 5. Aus Gründen, die hier nicht näher erörtert werden sollen, lag die AI anfänglich besonders niedrig und stieg noch relativ steil an, als die Medien ausgetauscht wurden. Die Zugabe von neuem MH hatte hier zur Folge, daß die AI der betreffenden Embryonen auf weniger als die Hälfte der AI der anderen herabgesetzt wurde und bis zum Versuchsschluß wesentlich tiefer lag.

Auch der Ausgang dieser letzten Versuche spricht für die Annahme, daß die Embryonen während des ersten Versuchsabschnittes ein gut Teil des im Medium enthaltenen MH unwirksam gemacht haben¹. Da schon die zuvor geschilderten Experimente, bei denen die Embryonen ausgetauscht worden waren, in die gleiche Richtung gewiesen hatten, dürfte dieser Folgerung ein hohes Maß von Wahrscheinlichkeit zukommen. Sie stützt sich zwar auf Atmungsmessungen, die bei einer nicht vernalisierenden Temperatur vorgenommen worden waren, macht aber bis zu einem gewissen Grade verständlich, daß die MH-Behandlung von Roggen-Caryopsen den Vernalisationsprozeß nicht nennenswert beeinflußt hatte.

Da nun mit einer Inaktivierung von MH durch Roggen-Embryonen binnen weniger Tage zu rechnen war, erhob sich die Frage, wie Embryonen der Winterweizen-Sorte 'Vilmorin 27' auf MH reagieren würden, hatten doch CHOUARD und POIGNANT über eine erfolgreiche Minderung des Vernalisationseffektes u. a. durch MH berichtet.

Versuche, wie sie auf den vorausgehenden Seiten dargestellt sind, wurden daher in gleicher Weise mit Embryonen dieser Winterweizen-Sorte durchgeführt; nur auf die Ermittlung der CO₂-Produktion und des RQ wurde verzichtet. Zusammenfassend kann man sagen, daß die Ergebnisse durchweg mit jenen übereinstimmen, die bei Roggen festzustellen waren: In MH-Lösung erreichten die Embryonen unter sonst gleichen Bedingungen die größte AI später als in Wasser (z. B. nach 30 statt nach 19 Stunden); auch hier beeinflusste das Medium die Länge der Embryonen — zwar in geringerem Maße als bei Roggen, aber doch signifikant (bei einem solchen Versuch betrug sie z. B. 50 Stunden nach Quellungsbeginn 3,4 mm in Wasser und 3,0 mm in MH-Lösung; $P < 0,0002$). Bei Versuchen mit „neuen Embryonen im alten Medium“ ergab sich wiederum kein signifikanter Längenunterschied mehr; das

Maximum der AI lag dann wieder wesentlich höher als im ersten Versuchsabschnitt und fiel in die ersten 6 Stunden nach dem Auswechseln der Embryonen — unabhängig davon, ob das Medium anfangs MH enthalten hatte oder nicht. Schließlich hatte auch bei Winterweizen-Embryonen die erneute Zugabe von MH eine erneute Depression der AI zur Folge.

Nach diesen Befunden erschien es geboten, von neuem auch das Verhalten des Winterweizens 'Vilmorin 27' unter dem Einfluß von Atmungsgiften und anderen Wirkstoffen zu prüfen. Dies geschah im Rahmen weiterer Untersuchungen, von denen im nächsten Abschnitt die Rede ist.

III. Prüfung weiterer Wirkstoffe in Vernalisationsversuchen mit Roggen und Weizen

1. Untersuchungen an Winter- und Sommerroggen

Die Atmungsmessungen, über die zuletzt berichtet wurde, lassen den negativen (d. h. für die stoffwechselphysiologische Aufhellung des Vernalisationsprozesses unergiebig) Ausgang des Vernalisationsversuches mit Maleinsäurehydrazid (MH) verständlich erscheinen. Es lag daher nahe, die Wirkung einiger weiterer Substanzen zu untersuchen, denen großenteils ein spezifischer Einfluß auf die Vernalisation zugeschrieben wird. Auch MH wurde nochmals miteinbezogen, Objekte des ersten Versuches waren Petkuser Sommer- und Winterroggen, Ernte 1957.

a) Methode

Die Versuchsanordnung entsprach teilweise derjenigen des früheren Experiments mit MH (vgl. S. 202): Je 1,7 g Caryopsen (d. h. etwa 50 Stück) wurden ohne vorherige Desinfektion in Petri-Schalen von 10 cm Durchmesser, die mit Filtrierpapier ausgelegt waren, mit 5 cm³ der jeweiligen Versuchslösung versetzt (deren Überschuß dieses Mal nicht abgegossen wurde) und anschließend 41 oder 42 Tage lang (bis zum 16. 6. 1959) bei schwachem Dauerlicht einer Temperatur von +2–3 °C ausgesetzt. Die Dauer der Kältebehandlung war so bemessen, daß

Tabelle 4. Verzeichnis der bei den Vernalisationsversuchen verwendeten und wenigstens von einem Teil der Pflanzen tolerierten Substanzen.

Substanz	Abkürzung	Konzentrationen	Molekulargewicht
Kaliumcyanid	KCN	$1,5 \cdot 10^{-3} \text{ m} \approx 0,01\%$ $1,5 \cdot 10^{-5} \text{ m} \approx 0,0001\%$	65,1
2,4-Dinitrophenol	DNP	$10^{-3} \text{ m} \approx 0,02\%$ $5 \cdot 10^{-5} \text{ m} \approx 0,001\%$ $10^{-6} \text{ m} \approx 0,00002\%$	184,1
o-Phenanthrolin	PA	$10^{-3} \text{ m} \approx 0,02\%$ $5 \cdot 10^{-5} \text{ m} \approx 0,001\%$ $10^{-6} \text{ m} \approx 0,00002\%$	198,2
Monojodessigsäure	MJES	$10^{-3} \text{ m} \approx 0,02\%$ $5 \cdot 10^{-5} \text{ m} \approx 0,001\%$	186,0
Maleinsäurehydrazid	MH	$9 \cdot 10^{-6} \text{ m} \approx 0,0001\%$	112
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure	TCPES	$4 \cdot 10^{-4} \text{ m} \approx 0,01\%$ $4 \cdot 10^{-6} \text{ m} \approx 0,0001\%$	255,6
2,3,5-Trijodbenzoesäure	TJBS	$2 \cdot 10^{-4} \text{ m} \approx 0,01\%$ $2 \cdot 10^{-6} \text{ m} \approx 0,0001\%$	499,8
α -Naphthylessigsäure	NES	$5 \cdot 10^{-4} \text{ m} \approx 0,01\%$ $5 \cdot 10^{-6} \text{ m} \approx 0,0001\%$	186,2
β -Indolylessigsäure	IES	$6 \cdot 10^{-4} \text{ m} \approx 0,01\%$ $6 \cdot 10^{-6} \text{ m} \approx 0,0001\%$	175,2

¹ Eine gleichartige Vermutung in bezug auf 2,4-Dinitrophenol (das freilich ganz anders wirkt) äußert neuerdings RAU (1962) auf Grund von ähnlichen Versuchen mit Blattscheibchen von *Hyoscyamus*, *Nicotiana* und *Phaseolus*.

beim Winterroggen kein maximaler Vernalisationseffekt zu erwarten war, so daß sich der Einfluß der applizierten Wirkstoffe verhältnismäßig deutlich hätte bemerkbar machen können. Die verwendeten Wirkstoffe und ihre Konzentrationen, soweit sie wenigstens von einigen Pflanzen toleriert wurden, sind in Tab. 4 zusammengestellt, die einen Vergleich mit den Konzentrationen der von anderen Autoren benutzten Lösungen erleichtern soll. Meist lagen die Stoffe in ähnlichen Konzentrationen vor wie bei den Versuchen von CHOUARD und POIGNANT sowie von KREKULE, wogegen GÜNTHER wesentlich höhere Konzentrationen benutzt hat. Für jedes Versuchsglied (außer der Wasser-Kontrolle zur 41tägigen Kälteexposition) wurden zwei Parallelen angesetzt. An demselben Tage, an dem die Kältebehandlung ihr Ende fand, wurden aus jeder Petri-Schale gewöhnlich 39 Pflanzen, deren Entwicklungszustand zu diesem Zeitpunkt aus den Tab. 5 und 6 hervorgeht, zu je 13 in Töpfe von etwa 13 cm Durchmesser pikiert und fortan im Gewächshaus bei etwa 18–30 °C (im Herbst allmählich abnehmende Durchschnittstemperatur) anfangs bei natürlicher Tageslänge kultiviert; vom 4. 9. 1959 an wurde nächtliches Zusatzlicht geboten (installierte Leistung 100 W/m²). Bonitiert wurden für jede einzelne Pflanze die Zahl der Blätter an der Hauptachse sowie das Datum des Ährenschiebens, d. h. desjenigen Tages, von dem ab die obersten Grannen der Ähre der Hauptachse die Ligula des obersten Blattes überragten. Am 27. 10. 1959 wurde der Versuch abgeschlossen. Bei der statistischen Auswertung (Tab. 5 und 6) wurden nur solche Pflanzen berücksichtigt, deren Hauptachse zum Ährenschieben gekommen war.

b) Ergebnisse

Wenden wir uns zunächst den mit Winterroggen erzielten Ergebnissen zu! Wie aus Tab. 5 hervorgeht, wurde in keinem Falle die im Mittel später ährenschiebende oder reicher beblätterte „H₂O“-Kontrolle hinsichtlich eines der beiden eben genannten Kriterien signifikant übertroffen, obwohl ein Teil der getesteten Stoffe, wenigstens in der höheren oder höchsten Konzentration, den Prozentsatz der während der Vernalisation gekeimten Pflanzen erheblich gesenkt und (bzw. oder) ihr Wachstum während der Kälteexposition — z. T. auch später! — stark gehemmt hatte; in einzelnen Fällen (PA 10⁻³ m, MH 9 · 10⁻⁴ m) hatte die Vorquellung der Caryopsen in Atmungsgiftlösungen sogar den Tod aller Keimlinge zur Folge. Unsere Resultate entsprechen somit denjenigen, die PURVIS (1961, S. 101, s. o.) unter Verwendung einiger anderer Wirkstoffe (Atmungsgifte) beim gleichen Objekt erzielt hatte.

Was den Sommerroggen (Tab. 6) anlangt, so trat das Ährenschieben im allgemeinen etwa 45–50 Tage nach dem Ende der Kälteexposition, d. h. zur gleichen Zeit wie bei nicht behandelten Kontrollpflanzen, ein, und zwar unabhängig davon, ob die Caryopsen vorher

Tabelle 5. Einfluß der Quellung von Caryopsen des Petkuser Winterroggens in verschiedenen Wirkstofflösungen auf das Datum des Ährenschiebens (\bar{x} , in Tagen vom Ende einer 41- bzw. 42tägigen Kältebehandlung an gerechnet) und auf die Zahl der Blätter am Hauptsproß (\bar{a}). Bei den angegebenen Mittelwerten des Ährenschiebens sind nur solche Pflanzen berücksichtigt, deren Haupttrieb die Ähre über die Ligula des obersten Laubblattes erhoben hatte (= n). I = Pflanzen, die nach dem Pikieren verkümmerten; II = Pflanzen, deren Haupttrieb vor dem Ährenschieben abstarb, deren Bestockungstriebe aber Ähren schoben; III = Pflanzen, deren Haupttrieb vorzeitig abstarb und die keine Bestockungstriebe entwickelten; IV = Pflanzen, deren Haupttrieb-Ähre in den obersten Blattscheiden steckenblieb; V = Pflanzen, deren Haupttrieb abgestorben war und deren Bestockungstrieb-Ähren in den obersten Blattscheiden steckenblieben. Bezüglich der Abkürzungen der Substanzen vgl. Tab. 4.

Substanz	Konzentration	während der Vernalisation gekeimt (%)	ungefähre mittlere Länge der		I	II	III	IV	V	n	Ährenschieben		Blätter an der Hauptachse	
			Hauptwurzel	Coleoptile							\bar{x}	$\Sigma(\bar{x}-x)^2$	\bar{a}	$\Sigma(\bar{a}-a)^2$
KCN	1,5 · 10 ⁻³ m	96	2,7	2,7	30	1	33	—	—	14	72,7	1156	9,0	21
KCN	1,5 · 10 ⁻⁵ m	93	2,3	3,2	40	1	23	—	—	14	71,3	5854	9,0	21
DNP	10 ⁻³ m	34	0,8	2,2	65	—	10	—	—	3	62,7	461	9,3	1
DNP	5 · 10 ⁻⁵ m	93	2,7	4,3	52	1	7	—	—	5	65,6	1281	10,0	46
DNP	10 ⁻⁶ m	97	3,0	3,3	40	—	23	—	—	15	72,7	4610	8,9	15
PA	5 · 10 ⁻⁵ m	96	3,0	4,2	38	—	23	2	—	15	65,3	3616	9,1	17
PA	10 ⁻⁶ m	95	4,8	3,7	27	—	29	—	—	22	72,0	11284	9,5 ⁺	35
MJES	10 ⁻³ m	73	0,5	1,0	73	—	4	—	—	1	69	—	9	—
MJES	5 · 10 ⁻⁵ m	90	4,3	3,3	53	—	17	—	—	8	77,5	3872	9,8	8
MH	9 · 10 ⁻⁶ m	92	4,0	4,3	42	—	23	—	—	13	71,7	5379	10,3	29
TCPEs	4 · 10 ⁻⁴ m	86	0,0	1,9	48	—	2	—	—	2	81,5	545	9,0	2
TCPEs	4 · 10 ⁻⁶ m	95	3,3	3,3	42	—	24	—	—	12	72,8	2519	9,5	11
TJBS*	2 · 10 ⁻⁴ m	95	1,1	4,0	63	—	11	—	—	4	74,8	519	8,8	1
TJBS*	2 · 10 ⁻⁶ m	99	5,7	4,0	46	—	21	1	—	10	59,1	2604	9,5	5
NES	5 · 10 ⁻⁴ m	94	0,7	2,8	56	—	18	—	—	4	76,5	349	9,3	3
NES	5 · 10 ⁻⁶ m	96	2,7	3,5	42	—	22	—	—	14	63,7	3108	9,3§	11
IES	6 · 10 ⁻⁴ m	92	0,3	3,7	47	2	19	—	—	10	77,5	3635	9,4	7
IES	6 · 10 ⁻⁶ m	94	3,0	3,2	39	2	15	—	—	22	67,6	3818	9,1	27
H ₂ O		94	2,5	4,3	35	—	28	—	—	15	62,5	2734	9,5	54
H ₂ O*		100	4,5	4,0	18	2	9	—	—	10	71,0	2306	8,3	7

* Nur 41 Tage (statt 42) vernalisiert. — + Nur 18 Pflanzen berücksichtigt. — § Nur 12 Pflanzen berücksichtigt.

Tabelle 6. Wie Tabelle 5, jedoch für Petkuser Sommerroggen.

Substanz	Konzentration	während der Kältebehandlung gekeimt (%)	ungefähre mittlere Länge der		I	II	III	IV	V	n	Ährenschieben		Blätter an der Hauptachse	
			Hauptwurzel	Coleoptile							\bar{x}	$\Sigma(\bar{x} - x)^2$	\bar{a}	$\Sigma(\bar{a} - a)^2$
KCN	$1,5 \cdot 10^{-3}$ m	97	3,8	3,3	12	4	11	—	—	51	49,1	2583	7,0	13
KCN	$1,5 \cdot 10^{-5}$ m	99	4,5	4,3	7	11	10	—	2	48	44,4	4304	7,3	19
DNP	10^{-3} m	32	1,7	1,6	39	1	4	—	—	34	44,4	1791	7,1	9
DNP	$5 \cdot 10^{-5}$ m	96	1,8	4,0	13	3	12	1	—	49	48,2	5154	7,4	23
DNP	10^{-6} m	98	4,3	3,8	24	1	4	2	—	47	48,9	1686	7,3	24
PA	10^{-3} m	74	0,1	0,2	76	—	—	—	—	2	66,0	72	7,0	0
PA	$5 \cdot 10^{-5}$ m	98	2,7	4,0	42	1	5	—	—	30	48,4	3988	7,0	7
PA	10^{-6} m	100	2,8	3,5	21	6	8	—	—	43	46,6	4179	7,2	22
MJES	10^{-3} m	96	4,3	3,3	23	2	6	—	—	47	44,8	6431	7,3	24
MJES	$5 \cdot 10^{-5}$ m	97	2,8	4,5	16	4	11	1	—	46	47,1	3791	7,3	19
MH	$9 \cdot 10^{-6}$ m	100	5,0	4,0	23	1	16	—	1	37	48,4	2085	7,3	15
TCPES	$4 \cdot 10^{-4}$ m	83	0,0	2,7	33	—	3	—	—	3	81,0	1158	7,7	3
TCPES	$4 \cdot 10^{-6}$ m	95	3,5	3,5	28	6	13	—	—	31	49,2	1552	7,5	10
TJBS*	$2 \cdot 10^{-4}$ m	96	1,1	4,3	24	5	3	—	—	20	47,2	4023	7,1	8
TJBS*	$2 \cdot 10^{-6}$ m	100	3,8	5,0	12	4	9	—	—	53	43,3	3643	7,0	17
NES	$5 \cdot 10^{-4}$ m	95	0,7	2,3	34	6	10	—	—	28	49,9	3818	7,2	4
NES	$5 \cdot 10^{-6}$ m	100	4,3	4,0	24	1	6	—	—	47	43,1	3268	7,3	28
IES	$6 \cdot 10^{-4}$ m	96	2,8	4,5	7	3	16	—	—	52	48,5	2637	7,2	10
IES	$6 \cdot 10^{-6}$ m	96	1,5	4,8	35	1	6	—	—	36	52,5	2701	7,5	21
H ₂ O		100	4,0	3,0	18	3	9	1	—	47	46,3	3596	6,9	31
H ₂ O*		100	3,5	4,5	11	2	8	—	—	18	51,7	1537	7,4	8
nicht kältebehandelte Kontrolle					6	3	5	—	—	25	50,4	1558	7,4	16

* Nur 41 Tage (statt 42) kältebehandelt

in Wasser oder in einer der Wirkstofflösungen eingequollen worden waren. Eine signifikante Ausnahme machten allein die 3 überlebenden Pflanzen, die aus Caryopsen hervorgingen, welche in $4 \cdot 10^{-4}$ m TCPES gequollen waren und im Ährenschieben den 2 überlebenden gleich behandelten Winterroggen-Pflanzen glichen; für die Differenz gegenüber der später ährenschiebenden der beiden „H₂O“-Kontrollen gilt $P = 0,0008$. Dagegen stimmen diese 3 TCPES-Pflanzen im Hinblick auf ihre Blattzahlen mit denen der übrigen Versuchsglieder überein, die im Mittel etwa 7,0–7,5 Blätter an der Hauptachse entwickelten. Da Petkuser Sommerroggen unter unseren Versuchsbedingungen keinen Vernalisationseffekt erkennen läßt, ist diese durch TCPES bedingte Verzögerung des Ährenschiebens als eine *unspezifische* Entwicklungshemmung zu betrachten; hierfür spricht auch, daß dabei die Zahl der Blätter nicht signifikant erhöht worden ist.

2. Untersuchungen an Winterweizen

Die oben (S. 206) geschilderten Atmungsversuche hatten eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den beiden Roggensorten und dem Winterweizen 'Vilmorin 27' gezeigt. Um so mehr mußte überraschen, daß hinsichtlich der Möglichkeit, die Vernalisation durch Atmungsgifte, Wuchsstoffe und Wuchsstoffantagonisten zu beeinflussen, bedeutende Unter-

schiede bestehen sollten: Hatten CHOUARD und POIGNANT (1951) über eine spezifische Hemmung der Vernalisation bei dem genannten Winterweizen berichtet, so konnte bei Petkuser Winterroggen, wie wir soeben gesehen haben, davon keine Rede sein.

Nun kann das Vernalisationsbedürfnis recht verschiedenartige genetische Grundlagen haben (bezüglich Einzelheiten vgl. NAPP-ZINN 1961), die im Falle des Weizens 'Vilmorin 27' offenbar noch unbekannt waren, als wir unsere Versuche durchführten¹, und

¹ Zur Orientierung wurden 'Vilmorin 27'-Pflanzen mit Pflanzen von 'Lichtis frühem Höhengsommerweizen' (L. fr. HSW.) sowie mit Pflanzen der Sommerweizensorte 'Lichtis II' gekreuzt. Der Fruchtansatz war leider schlecht — infolge Gewächshauskultur auch bei den F₁-Pflanzen; der Versuch nahm daher zu geringen Umfang an, als daß er vollständige Klarheit über die genetischen Grundlagen des Vernalisationsbedürfnisses von 'Vilmorin 27' hätte geben können. Nur soviel läßt sich mit Sicherheit sagen: F₁-Pflanzen 'L. fr. HSW' × 'Vilmorin 27' verhielten sich hinsichtlich des Ährenschiebens und der Anthese ausgesprochen intermediär (Anthese bei 19 'L. fr. HSW'-Pflanzen 24.–26. 4., bei 3 F₁-Pflanzen 30. 5.–12. 6., bei 10 'Vilmorin 27'-Pflanzen 26. 6.–3. 7. nach Aussaat im Gewächshaus am 5. 2. 1962 und Aufzucht bei natürlicher Tageslänge); durch Vernalisation (13. 11. 61–5. 2. 62 bei +2–3 °C und schwachem Dauerlicht; anschließende Aufzucht im Gewächshaus, wie vorher) konnte die Anthese bei den F₁-Pflanzen (und natürlich auch bei 'Vilmorin 27') vorverlegt werden, nicht aber bei 'L. fr. HSW.'. — Bei 'Lichtis II' × 'Vilmorin 27'

Tabelle 7. Wie Tabelle 5, jedoch für den Winterweizen 'Vilmorin 27'. Dauer der Vernalisation 44 Tage. I = vor dem Schossen eingegangene Pflanzen; II = zwischen dem Schossen und dem Ährenschieben eingegangene Pflanzen.

Substanz	Konzentration	während der Vernalisation gekeimt (%)	ungefähre mittlere Länge der		I	II	Ährenschieben			Blätter an der Hauptachse					
			Haupt- wurzel	Coleo- pille der gekeimten Pflanzen am Ende der Vernalisation (cm)						ohne II			mit II		
										n	\bar{x}	$\Sigma(\bar{x} - x)^2$	n	\bar{a}	$\Sigma(\bar{a} - a)^2$
KCN	$1,5 \cdot 10^{-3}$ m	100	4,5	1,3	1	—	51	84,5	1043	51	8,8	23			
KCN	$1,5 \cdot 10^{-5}$ m	100	6,7	1,7	4	1	47	83,5	1542	47	9,0	35	48	9,0	36
DNP	10^{-3} m	15	0,5	0,3	43	1	8	90,0	1038	8	9,9	21	9	10,4	46
DNP	$5 \cdot 10^{-5}$ m	100	1,0	2,9	5	1	46	84,3	1998	46	8,9	30	47	8,9	30
DNP	10^{-6} m	100	4,9	1,4	3	1	48	83,5	1100	48	9,0	22	49	9,0	23
PA	$5 \cdot 10^{-5}$ m	100	3,7	1,5	4	3	45	86,2	2261	45	8,8	27	48	8,8	30
PA	10^{-6} m	100	5,8	1,3	7	1	44	85,4	1241	44	9,1	23	45	9,1	24
MH	$9 \cdot 10^{-6}$ m	100	5,2	1,4	9	—	43	79,2	414	43	8,7	31			
TCPES	$4 \cdot 10^{-4}$ m	24	0,1	0,4	50	—	2	95,5	25	2	9,0	0			
TCPES	$4 \cdot 10^{-6}$ m	100	1,8	1,3	10	9	33	86,6	1856	33	9,3	17	42	9,3	21
TJBS	$2 \cdot 10^{-4}$ m	100	1,7	0,9	39	—	13	86,5	791	13	9,5	13			
TJBS	$2 \cdot 10^{-6}$ m	100	4,4	1,5	8	2	42	85,0	1250	42	9,0	20	44	9,0	25
NES	$5 \cdot 10^{-4}$ m	61	0,1	0,7	38	—	14	82,6	206	14	9,4	11			
NES	$5 \cdot 10^{-6}$ m	100	0,6	1,1	9	—	43	84,2	1217	43	9,0	18			
IES	$6 \cdot 10^{-4}$ m	76	0,1	0,6	23	—	29	89,9	1099	29	9,5	25			
IES	$6 \cdot 10^{-6}$ m	100	2,4	1,0	1	—	51	81,8	744	51	9,0	23			
H ₂ O		99	6,8	1,6	1	2	49	82,0	907	49	9,0	32	51	9,0	33

mit den verschiedenartigen genetischen Grundlagen dürften — unseren augenblicklichen Vorstellungen von der Wirkungsweise der Gene zufolge — unterschiedliche physiologisch-chemische Mechanismen verbunden sein. Es wäre daher — trotz dem im vorigen Absatz Gesagten — voreilig, von den Vernalisationsverhältnissen des Winterroggens auf die des Winterweizens zu schließen — und umgekehrt. Ein Versuch, bei 'Vilmorin 27' die Befunde von CHOUARD und POIGNANT zu reproduzieren, erschien daher geboten.

a) Methode

Das Ausgangssaatgut, das in der Württembergischen Landessaatgutanstalt Stuttgart-Hohenheim unter der Bezeichnung 'Vilmorin 27' geerntet worden war, wurde im Jahre 1960 vermehrt. Für unseren Versuch wurden Caryopsen verwendet, die Mitte Juni 1960 gereift waren. Pro Versuchsglied wurden zwei Petri-Schalen mit je 35–38 Caryopsen angesetzt, die ebenso behandelt wurden wie im vorausgehenden die Roggen-Caryopsen (vgl. S. 206/207), nur mit dem Unterschied, daß die Versuchslösungen in Anlehnung an das Verfahren von CHOUARD und POIGNANT während der Vernalisation, die dieses Mal vom 21. 2. — 6. 4. 61 erfolgte, mehrmals (und zwar am 2., 11., 20. und 29. 3. 61) durch frisch bereitete Lösungen ersetzt wurden. Nach Beendigung der Vernalisation wurden am 6. 4. 1961 aus jeder Petri-Schale 2×13 (mög-

hatte nur die F₂-Generation nennenswerten Umfang. 11 von 88 F₂-Pflanzen blieben nach Aussaat am 4. 7. 1962 bei Gewächshauskultur unter natürlicher Tageslänge wie die gleichzeitig kultivierten 'Vilmorin 27'-Pflanzen bis zum Versuchsschluß (18. 1. 1963) vollkommen vegetativ; 23 andere schoßten, ohne Ähren zu schieben; bei 3 weiteren F₂-Pflanzen blieb die Ähre in der Scheide des obersten Laubblattes stecken, und von den restlichen schoben 42 in der Zeit vom 1. — 28. 9. 62 und 12 in der Zeit vom 29. 9. — 26. 10. 62 Ähren. — Das Kältebedürfnis des Petkuser Winterroggens wird durch ein rezessives Gen bedingt (PURVIS 1939).

lichst gekeimte) Caryopsen — d. h. 52 pro Versuchsglied — in große Tonschalen pikiert und fortan im Gewächshaus bei natürlicher Tageslänge und einer Temperatur von 16–30 °C (Mittelwert allmählich ansteigend) kultiviert. Infolge der Gunst der Jahreszeit waren die durch Pilzinfektionen bedingten Ausfälle erheblich geringer als bei dem zuvor besprochenen Versuch mit Roggen. Wie beim Winterroggen hatte aber auch dieses Mal die jeweils höchste PA- und MH-Konzentration zu 100% tödliche Wirkung. Am 3. 8. 1961 wurde der Versuch beendet. Nur 26 unvernalisirte Kontrollpflanzen wurden bis zum 22. 8. stehen gelassen, ohne daß sie bis dahin Ähren geschoben hätten. Sie waren aus Caryopsen hervorgegangen, die am 14. 7. 1960 geerntet und am 6. 4. 1961 ausgelegt worden waren, als die Vernalisation der übrigen Caryopsen beendet wurde.

b) Ergebnisse

Wie beim Sommerroggen bewirkte die höhere, subletale TCPES-Konzentration eine signifikante Verzögerung des Ährenschiebens bei den 2 überlebenden Pflanzen ($P = 0,00035$), die aber hier wie dort nicht mit einer Steigerung der Blattzahl einherging und deshalb als unspezifisch betrachtet werden kann (Tab. 7). Dieses Mal induzierten auch $1,5 \cdot 10^{-3}$ m KCN, $5 \cdot 10^{-5}$ m PA, $6 \cdot 10^{-4}$ m IES und $2 \cdot 10^{-4}$ m TJBS eine merkliche Verspätung des Ährenschiebens ($P = 0,006$, $0,001$, $\ll 0,0002$ bzw. $0,01$); aber auch in diesen Fällen war die Blattzahl praktisch unverändert ($P = 0,018$ bzw. $0,07$ bei den zwei zuletzt genannten Lösungen). Nur bei 10^{-3} m DNP war mit einer signifikanten Verzögerung des Ährenschiebens ($P = 0,001$) eine Steigerung der Blattzahl verbunden, die als gesichert anzusehen ist, wenn man die zwischen dem Schossen und dem Ährenschieben eingegangenen Pflanzen mit berücksichtigt ($P = 0,0015$, anderenfalls $P = 0,017$). Die übrigen getesteten Substanzen hatten keinerlei nennenswerten

Einfluß auf die Manifestation des Vernalisations-effektes, selbst dann, wenn sie wie $5 \cdot 10^{-4}$ m NES in \pm hohem Maße zum vorzeitigen Tode der Versuchspflanzen führten.

IV. Besprechung der Resultate

Vergleichen wir als erstes die zuletzt geschilderten Befunde mit denen von CHOUARD und POIGNANT! Sechs der von diesen Autoren geprüften Substanzen wurden auch in unserem Versuch, und zwar in ähnlichen, zum Teil denselben Konzentrationen, verwendet. Bei vier dieser Verbindungen (KCN, TCPES, TJBS und IES) konnten wir wie die Genannten eine geringfügige Verzögerung des Ährenschiebens beobachten, die aber nicht mit einer signifikanten Steigerung der Blattzahl gekoppelt war und deshalb als unspezifische Entwicklungshemmung gelten kann. Da CHOUARD und POIGNANT die Blätter ihrer Versuchspflanzen nicht gezählt zu haben scheinen, ist es nicht ausgeschlossen, daß es sich auch bei ihren Versuchen um unspezifische Effekte gehandelt hat. Bei zwei weiteren Wirkstoffen (MH und NES) konnten die Befunde von CHOUARD und POIGNANT trotz Anwendung der gleichen Konzentrationen nicht reproduziert werden. Noch 1961 spricht CHOUARD von der „action des inhibiteurs métaboliques et autres qui, durant l'action du froid, peuvent bloquer plus ou moins sélectivement son efficacité sur le déroulement de la vernalisation“. Soweit sich diese Behauptung auf die Versuche von CHOUARD und POIGNANT stützt, läßt sie sich unseres Erachtens nicht aufrechterhalten. Nur bei 10^{-3} m DNP, das die eben genannten Autoren nicht geprüft haben, waren Blühalter und Blattzahl zugleich gesteigert, so daß an einen spezifischen Einfluß zu denken ist.

Die Ergebnisse der anderen eingangs (S. 201) erwähnten Forscher können nur mit Vorbehalt mit den unsrigen verglichen werden, da jene mit anderen Weizensorten gearbeitet haben. Von den drei Substanzen, die GÜNTHER (1961) als besonders wirksam betrachtet, haben wir bei unseren Experimenten nur KCN verwendet, aber in geringeren Konzentrationen als GÜNTHER. Gleichwohl schließen auch GÜNTHERS bisherige Mitteilungen eine unspezifische Hemmung keineswegs aus, da sie keine Angaben über die Zahl der Blätter bei den verspätet ährenschiebenden Versuchspflanzen enthalten. Der Hinweis darauf, daß die von GÜNTHER geprüften Stoffwechselgifte bei dem Sommerweizen 'Koga' die Ährenbildung nicht beeinflussten, bedeutet noch keinen Beweis für die Spezifität ihrer Wirkung bei dem Winterweizen 'Derenburger Silber'; denn

erstens weiß man nicht, ob sich die beiden von GÜNTHER benutzten Sorten nur im Hinblick auf „Vernalisations-Gene“ unterscheiden oder auch hinsichtlich solcher Erbfaktoren, die die Reaktion auf solche Inhibitoren unabhängig vom Vernalisationsprozeß betreffen¹, und

zweitens kann man durch Applikation geeigneter (subletaler) Wirkstofflösungen auch bei Sommer-

formen, die sich wahrscheinlich *nur in einem „Vernalisations-Gen“* von der entsprechenden Winterform unterscheiden, eine Verzögerung des Ährenschiebens induzieren, wie wir oben für Petkuser Sommerroggen gezeigt haben (S. 208).

Wie die von GÜNTHER publizierten Ergebnisse sind auch die von KREKULE mitgeteilten Befunde mit Skepsis zu beurteilen. Die beiden von KREKULE verwendeten Sorten gehören den Weizen-Varietäten *millurum* und *erythrospermum* an, so daß auch abgesehen von den „Vernalisations-Genen“ erbmäßige Unterschiede zu erwarten sind. — Unter den drei Substanzen, die nach KREKULES Ansicht die Vernalisation vollständig blockierten, befinden sich zwei, die auch wir geprüft haben, nämlich KCN, dessen geringfügigen Einfluß auf das Ährenschieben von 'Vilmorin 27' wir für unspezifisch halten können, und DNP, bei dem wir die Möglichkeit eines spezifischen Einflusses nicht ganz ausschließen konnten. Beide Stoffe hatten jedenfalls in unserem Versuch, obwohl in gleicher oder höherer Konzentration als von KREKULE angewandt, trotz mehrmaliger Erneuerung der Lösungen während der Kältebehandlung einen wesentlich geringeren Einfluß auf das Ährenschieben als in den Versuchen von KREKULE mit dem Winterweizen 'Hodonínská holice'. Da aber KREKULE über die Zahl der Blätter seiner Pflanzen keine Angaben macht, kann man auch in diesem Falle über die Spezifität der beobachteten Hemmungserscheinungen geteilter Meinung sein.

Endlich lassen verschiedene Beobachtungen über die Inaktivierung von Atmungsgiften in der Pflanze (vgl. z. B. die oben dargestellten Atmungsmessungen sowie die Mitteilungen von ELIASSON 1959 und RAU 1962) eigentlich auch gar keinen spezifischen Einfluß dieser Substanzen auf den Vernalisationsvorgang — wenigstens in ihrer Eigenschaft als Atmungsgifte — erwarten.

Wenn wir nun von der zweifelhaften DNP-Wirkung absehen, können wir sagen, daß unsere Versuche *keinen* Hinweis auf eine *spezifische* Einwirkung von Atmungsgiften auf den Vernalisationsprozeß gegeben haben. Dasselbe gilt auch für die hier verwendeten Wuchsstoffe und Wuchsstoffantagonisten, von denen oben schon bei der Erörterung der Befunde von CHOUARD und POIGNANT kurz die Rede war, wenngleich z. B. TCPES, wie wir gesehen haben, das Ährenschieben erheblich verzögern kann. Wir möchten deshalb darauf verzichten, die Diskussion über den Einfluß von Wuchsstoffen auf die Blütenbildung von neuem zu beleben, zumal erst kürzlich A. LANG (1961, besonders S. 912 ff.) in einem umfangreichen Bericht alles Wesentliche zu diesem Thema referiert hat. Vielmehr möchten wir nur darauf hinweisen, daß offenbar auch bei allen bisherigen Versuchen, in denen Wuchsstoffe, Wuchsstoffantagonisten und dergleichen vor oder während einer Kältebehandlung auf vernalisierbare Samen oder Caryopsen eingewirkt hatten, der Blüheffekt entweder nur an der Länge der Zeitspanne zwischen dem Ende der Kälteexposition und einem Stadium der Blütenanlegung bzw. -entfaltung oder nur an der Zahl der Blüten oder nur an der Ordnungszahl des ersten blütentragenden Knotens abgelesen worden ist. Wie aber schon bei früherer Gelegenheit (NAPP-ZINN 1957b) dargelegt wurde, kommt ein spezifischer Einfluß auf die Verna-

¹ Ob die unterschiedliche Überlebensrate der von GÜNTHER und mir benutzten Winterweizensorten in Wirkstofflösungen gleicher Konzentration, z. B. in 10^{-3} m PA oder höheren MH-Konzentrationen, durch die verschiedenartigen Versuchsmethoden oder aber genetisch bedingt ist, muß hier offen bleiben.

lisation nur dort in Betracht, wo das Blühalter und die Zahl der Blätter, die der ersten Blüte oder der Endfloreszenz vorausgehen, gleichsinnig verändert worden sind. Hierauf scheint aber — unverständlicherweise! — bei solchen Versuchen bislang noch nicht geachtet worden zu sein. Wir können deshalb auch die früheren Mitteilungen über den Einfluß von Wuchsstoffen auf die Vernalisation, über „chemische Vernalisation“ und dergleichen nicht als beweiskräftig ansehen. Dies gilt um so mehr, als auch keine klaren Beziehungen zwischen dem Vernalisationseffekt einer Kältebehandlung und den Schwankungen des „natürlichen“ Wuchsstoffgehaltes von Pflanzenorganen während einer vernalisierenden Kälteexposition bestehen (Näheres bei LANG 1961).

Mit alledem soll natürlich nicht gesagt sein, daß es nicht doch noch gelingen könnte, den Vernalisationsprozeß durch irgendwelche Substanzen spezifisch zu beeinflussen¹. Nur haben die bis jetzt veröffentlichten Versuche mit Atmungsgiften und Wuchsstoffen, würdigt man sie kritisch, bisher noch nicht zu einem eindeutigen Erfolg in dieser Richtung geführt.

In Dankbarkeit gedenke ich meines 1958 verstorbenen Freundes Dr. FRANK EBERHARDT, der mir vor allem manche nützliche Anregung zu den Atmungsmessungen gegeben hatte. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Förderung dieser Untersuchungen durch Sachbeihilfen, der F. v. Lochow-Petkus GmbH., Bergen, Kreis Celle, und Herrn Dr. K. SCHRIMPF, Stuttgart-Hohenheim, für die mehrmalige Überlassung von Saatgut. Besonderer Dank gilt Fräulein KARLA RAMM; sie hatte an der Durchführung vieler hier geschilderter Versuche entscheidenden Anteil.

Zusammenfassung²

Caryopsen von Petkuser Sommer- und Winterroggen sowie Caryopsen des Winterweizens 'Vilmorin 27' wurden in Lösungen verschiedener Atmungsgifte, Wuchsstoffe und Wuchsstoffantagonisten bzw. in destilliertem Wasser eingequollen und anschließend einer mehrwöchigen Kältebehandlung (bei $+2-3^{\circ}\text{C}$) unterworfen. Verglichen mit „Wasserkontrollen“ war das Ährenschieben der aus den vorbehandelten Caryopsen hervorgegangenen Pflanzen bei 'Vilmorin 27' in manchen Fällen (zum Teil signifikant) verzögert, und zwar nach TCPES-, KCN-, PA-, DNP, IES- und TJBS-Behandlung. Befunde von CHOUARD und POIGNANT, die bei dieser Weizensorte auch nach Quellung in MH- und NES-Lösungen verspätetes Ährenschieben beobachtet hatten, konnten nicht reproduziert werden.

Zum ersten Mal wurden nun bei derartigen Versuchen nicht nur die Daten des Ährenschiebens bonitiert, sondern auch die (vor der Ähre) an der Hauptachse gebildeten Blätter gezählt. Deren Anzahl war — vielleicht mit Ausnahme der DNP-behandelten Winterweizen-Pflanzen — auch bei stark verzögertem Ährenschieben nicht signifikant erhöht. Im Gegensatz zu den Ansichten anderer Autoren, die ähnliche Versuche angestellt hatten, möchten wir

¹ Es liegt nahe, dabei etwa an solche Substanzen zu denken, die beim Nucleinsäurenstoffwechsel eine Rolle spielen (vgl. z. B. HESS 1959). Hierauf werden wir, wie angekündigt, in einer späteren Mitteilung zu sprechen kommen, die den Untersuchungen an *Arabidopsis thaliana* gewidmet ist.

² Die Abkürzungen der hier erwähnten Substanzen sind in Tab. 4 entschlüsselt.

deshalb die verspätete Blütenbildung in diesen Fällen für eine *unspezifische* Entwicklungshemmung halten, die mit der Vernalisation nichts zu tun hat.

Wohl erstmals wurde in solchen Versuchen auch eine signifikante Verzögerung des Ährenschiebens bei einem Sommergetreide festgestellt, und zwar bei Petkuser Sommerroggen nach TCPES-Behandlung. Auch hier war die Zahl der Blätter unverändert, und da Petkuser Sommerroggen sowieso auf eine Kältebehandlung nicht mit beschleunigtem Ährenschieben reagiert, dürfen wir auch diesen Effekt — im Hinblick auf die Vernalisation — für unspezifisch halten.

In Übereinstimmung mit Befunden von PURVIS (1961) wurde bei unvollständig vernalisiertem Petkuser Winterroggen niemals ein Einfluß der Wirkstoff-Vorbehandlung auf Ährenschieben und Blattbildung beobachtet.

Insbesondere überraschte die Wirkungslosigkeit verschiedener Atmungsgifte, da ja Atmung offenbar eine Voraussetzung dafür ist, daß überhaupt ein Vernalisationseffekt eintritt. Deshalb wurde der Einfluß eines Atmungsgiftes, MH, auf die Respiration von Embryonen der drei Getreidesorten untersucht. MH-Lösung bewirkte zwar im Vergleich mit Wasser eine anfängliche Atmungshemmung. Verschiedenes spricht aber dafür, daß Embryonen aller drei Sorten imstande sind, MH innerhalb einer Reihe von Stunden (hinsichtlich der Atmung) unwirksam zu machen. Wenngleich die Atmungsmessungen bei 22°C , also bei einer nicht vernalisierenden Temperatur, vorgenommen wurden, lassen sie doch die Unwirksamkeit dieses Atmungsgiftes im Vernalisationsversuch verständlich erscheinen.

Die im Titel dieses Aufsatzes gestellte Frage ist jedenfalls dahingehend zu beantworten, daß die bisherigen Versuche mit Weizen und Roggen bei kritischer Betrachtung noch keine eindeutige Möglichkeit erkennen lassen, den Vernalisationsprozeß selektiv zu blockieren.

Literatur

1. BAKER, J. E.: A study of the action of maleic hydrazide on processes of tobacco and other plants. *Physiol. plantarum* **14**, 76–88 (1961).
2. CHOUARD, P.: Vernalization. Rapport introductif. *Recent Advances in Botany* **2**, 1199–1201. Toronto: University of Toronto Press 1961.
3. CHOUARD, P., et P. POIGNANT: Recherches préliminaires sur la vernalisation en présence d'inhibiteurs de germination et de respiration. *C. r. Acad. Sci. (Paris)* **232**, 103–105 (1951) und *Phytoma* **22**, 11–13 (1951).
4. ELIASSON, L.: The effect of glucose and dinitrophenol on the cyanide inhibition of oxygen uptake in wheat root tissue. *Physiol. plantarum* **12**, 681–690 (1959).
5. GREGORY, F. G., and O. N. PURVIS: Studies in vernalisation of cereals. II. The vernalisation of excised mature embryos, and of developing ears. *Ann. of Bot., N. S.*, **2**, 237–251 (1938a).
6. GREGORY, F. G., and O. N. PURVIS: Studies in vernalisation of cereals. III. The use of anaerobic conditions in the analysis of the vernalising effect of low temperature during germination. *Ann. of Bot., N. S.*, **2**, 753–764 (1938b).
7. GÜNTHER, G.: Die Beziehungen zwischen Atmung, Endoxydasenaktivität und Jarowisation bei den Karyopsen und Embryonen von Sommer- und Winterweizen. *Wiss. Z. Univ. Greifswald, math.-naturwiss. Reihe*, **9**, 117–125 (1960).
8. GÜNTHER, G.: Der Einfluß von Inhibitoren auf die Wirksamkeit einer Jarowisationsbehandlung von Winterweizen. *Naturwiss.* **48**, 385–386 (1961).
9. HESS, D.: Die selektive Blockierung eines an der Blühinduktion beteiligten Ribosenucleinsäure-

Eiweißsystems durch 2-Thiouracil (Untersuchungen an *Streptocarpus Wendlandii*). *Planta* (Berl.) 54, 74–94 (1959). — 10. ISENBERG, F. M. R., M. L. ODLAND, H. W. POPP and C. O. JENSEN: The effect of maleic hydrazide on certain dehydrogenases in tissues of onion plants. *Science* (Lancaster, Pa.) 113, 58–60 (1951). — 11. KREKULE, J.: Application of some inhibitors in studying the physiology of vernalization. *Biol. plantarum* (Praha) 3, 107–114 (1961). — 12. LANG, A.: Auxins in flowering. In: *Handbuch der Pflanzenphysiologie* 14, 909–950. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961. — 13. MASSART, L., F. DE KETELAERE et H. PEETERS: Le comportement des embryons isolés d'orge. *Arch. internat. Physiol.* 63, 264–265 (1955). — 14. NAPP-ZINN, K.: Vergleichende Atmungsmessungen an Sommer- und Winterannuellen. Untersuchungen an Caryopsen und Embryonen von *Secale cereale* und an Samen von *Arabidopsis thaliana*. *Z. Naturforsch.* 9b, 218–229 (1954). — 15. NAPP-ZINN, K.: Weitere Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Atmungsintensität und Blühalter. *Planta* (Berl.) 48, 683–695 (1957a). — 16. NAPP-ZINN, K.: Physiologische

Analyse des Vernalisationsvorganges (Besprechung). *Z. Botanik* 45, 320–333 (1957 b). — 17. NAPP-ZINN, K.: Über die Bedeutung genetischer Untersuchungen an kaltebedürftigen Pflanzen für die Aufklärung von Vernalisationserscheinungen. *Züchter* 31, 128–135 (1961). — 18. NAYLOR, A. W., and E. A. DAVIS: Respiration response of root tips to maleic hydrazide. *Bull. Torrey bot. Club* 78, 73–79 (1951). — 19. PURVIS, O. N.: Studies in vernalisation of cereals. V. The inheritance of the spring and winter habit in hybrids of Petkus rye. *Ann. of Bot.*, N. S., 3, 719–729 (1939). — 20. PURVIS, O. N.: The physiological analysis of vernalisation. In: *Handbuch der Pflanzenphysiologie* 16, 76–122. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961. — 21. RAU, W.: Über die Wirkung von einmaligen 2,4-Dinitrophenol-Gaben auf die Atmung von Blattgeweben. *Planta* (Berl.) 58, 136–143 (1962). — 22. ŠVEDSKAJA, Z. M., i A. S. KRUIZILIN: Influence of inhibitors on vernalization of plants (russisch). *Fiziol. Rastenij* 8; 613–618 (1961). — 23. ZUKEL, J. W.: Literature summary on maleic hydrazide. New York: United States Rubber Company 1952.

Agronomy Department, University of California, Davis

An Additional Gametophyte Factor in the Lima Bean¹

By R. W. ALLARD

Introduction

Assays have been conducted periodically during the past 15 years to determine the frequencies of homozygotes and heterozygotes at a number of loci governing conspicuous color and morphological differences in several mass-propagated lima bean populations. In these assays the segregation ratios observed in the progenies of heterozygous individuals have usually conformed to expected Mendelian ratios for each of 8 loci which have been studied extensively, but significant deviations from Mendelian expectations were observed in a small proportion of families in each generation. Presumably most of these deviant ratios were due to random sampling errors. However, certain aberrancies occurred so persistently as to suggest that they were not to be dismissed as mere chance events, but represented real deviations from expectations. The present report is concerned with the analysis of one of these persistent aberrancies, namely, cases of disturbed ratios in families heterozygous for *P/p*, a gene which governs purple (*P/P* or *P/p*) vs. red (*p/p*) seed-coat color (ALLARD, 1953).

Experimental Materials

The experimental materials used in the study of aberrant purple:red ratios were selfed progenies derived from 5 *F*₁ plants obtained by crossing a single individual of a highly inbred accession line, designated L20 (*p/p*), with a single individual of another highly inbred accession line, designated L76 (*P/P*). These two accessions had also been the parents of one of the mass-propagated populations in which purple aberrant ratios had been observed. When disturbances of similar magnitude were observed in 2 among the 5 *F*₂ progenies of the above cross, it was assumed that the aberrancies observed in the population and in these two progenies resulted from the same cause.

The *F*₂ Generation

The segregation ratios observed in the *F*₂ progenies obtained by selfing the 5 original *F*₁ plants are given in Table 1. Chi-square tests indicate that: (1) relative to the expected 3:1 ratio there is significant deficiency of purple plants for the pooled data of the 5 families; (2) significant heterogeneity exists between families; (3) families No. 1, No. 2, and No. 4 are homogeneous in supporting a 3:1 ratio and families No. 3 and No. 5 are homogeneous in deficiency of purple individuals. It is therefore clear that either the L20 or L76 parental individual was heterozygous for a gene (or genes) which affects the functioning or viability of gametes or zygotes.

Table 1. Segregation in *F*₂ families derived from hybridization between single individuals of accessions L20 × L76.

Family	Purple	Red	Ratio (purple:red)	χ^2 (3:1)
1	65	27	2.41:1	0.928
2	67	21	3.19:1	0.013
3	76	52	1.46:1	16.667*
4	104	36	2.89:1	0.104
5	96	69	1.39:1	24.890*

* Probability less than 0.001.

Several easily tested one- and two-gene hypotheses which might explain the *F*₂ results (e.g. heterozygosity of one of the parental individuals for isoalleles producing indistinguishable seed-coat color, but with differential effect on penetrance, or viability; segregation of complementary genes) were eliminated on the basis of the *F*₂ data alone, or on the basis of simple progeny tests. Among various remaining possibilities the *F*₂ results seemed to be best explained on the basis that *F*₁ plants No. 3 and No. 5 were of genotype *P ga/p Ga*, and plants No. 1, No. 2, and No. 4 were of genotype *P ga/p ga* or *P Ga/P Ga*, where *Ga/ga* is a lethal or semilethal gene affecting only the male gametophyte. The previous description and analysis of "gametophyte factors" in maize (e.g., EMERSON,

¹ This work was supported in part by a grant from the National Science Foundation G-14991.