

Über die genetischen Ursachen der Samenbildung*¹

KURT SKIEBE

Institut für Pflanzenzüchtung Quedlinburg der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

On the genetic causes of seed formation

Summary. New crossings were made between different diploid and polyploid forms of *Primula malacoides* Franchet. 2x, 3x, 4x and 5x plants appeared. Both reduced and unreduced gametes participated in the formation of these types. Based on the results conclusions are drawn about the genetic causes of seed development. It is suggested that the endosperm constitution has prime importance for the development of viable seeds.

1. Einleitung

Damit bei endospermführenden Angiospermen nach einer Befruchtung lebensfähige Samen gebildet werden können, müssen bestimmte genetische Voraussetzungen erfüllt sein. Sie sind bei autogamen und allogamen Befruchtungen zwischen gleichen Valenztypen innerhalb einer Art fast immer gegeben. Demgegenüber liegen sie in der Regel bei Valenzkreuzungen innerhalb einer Art sowie bei Kreuzungen zwischen verschiedenen Arten oder Gattungen nicht vor. Es kommt dann trotz Bestäubung, Pollenkeimung, Pollenschlauchwachstum und Befruchtung zu keiner normalen Samenbildung, da bestimmte genetische Voraussetzungen nicht erfüllt sind. Dieses Phänomen wird von VALENTINE (1953) mit „seed incompatibility“ bezeichnet. Es läßt sich deutlich von der üblichen Inkompatibilität (LEWIS 1954) abgrenzen, welche auf Sterilitätsallelen beruht und bei der in der Regel keine Befruchtung möglich ist.

Da es für viele Aufgaben in der Genetik und Pflanzenzüchtung notwendig wäre, zwischen verschiedenen Valenzstufen innerhalb einer Art und auch zwischen verschiedenen Arten Bastarde herzustellen, ist die sogenannte seed incompatibility ein großes Hindernis.

Über die genetischen Ursachen der Samenbildung gibt es noch keine einhellige Meinung. MÜNTZING (1930/31) hat als erster das heute mit „seed incompatibility“ bezeichnete Degenerieren der Zygote bzw. des jungen Embryos beschrieben. Er machte sich ferner schon Gedanken über die möglichen genetischen Ursachen des Nichtgelingens von Valenzkreuzungen sowie von Artkreuzungen. MÜNTZING stellte die Hypothese auf, daß für eine Samenbildung die Anzahl der Genome im mütterlichen Gewebe, Embryo und Endosperm verantwortlich sei. Nur wenn zwischen den drei genannten Geweben eine Valenzrelation von 1:1:1,5 vorliegt, kommt es demnach zu einer Samenbildung. In der Folgezeit ist diese Hypothese mehrfach abgeändert worden. Wesentlich sind dabei die Vorstellungen von WATKINS (1932) sowie von HÄKANSSON und ELLERSTRÖM (1950), welche die Meinung vertreten, daß für die Samenbildung nur die Valenzrelation von zwei Geweben wichtig ist. Während aber WATKINS die Beziehungen zwischen Em-

bryo und Endosperm als entscheidend ansieht, stellen HÄKANSSON und ELLERSTRÖM die Valenzrelation zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm als wichtige Ursache heraus. In beiden Fällen wird zwischen den beteiligten Geweben eine Valenzrelation von 1:1,5 verlangt. Beide Hypothesen billigen also dem Endosperm einen entscheidenden Einfluß zu und verlangen für dieses eine bestimmte Genomzahl. Dieselbe richtet sich jedoch bei WATKINS nach der Anzahl der Genome im mütterlichen Gewebe und bei HÄKANSSON und ELLERSTRÖM nach der Anzahl der Genome im Embryo.

Neuerdings wird sogar angenommen, daß lediglich in einem Gewebe die hauptsächlichen Ursachen der seed incompatibility zu suchen sind. So konnten v. WANGENHEIM (1961, 1962) sowie trotz mancher Einschränkungen auch NISHIYAMA und INOMATA (1966) zeigen, daß in endospermführenden Arten vor allem die Konstitution des Nährgewebes über die Entstehung von lebensfähigen Samen entscheidet. Das Endosperm müßte demnach bei normaler Embryosackentwicklung, um funktionsfähig zu sein, die Valenz 3x, 6x, 9x oder 12x usw. haben.

Die von den erwähnten Hypothesen jeweils geforderten Valenzen im Nährgewebe können sich selbstverständlich nur auf die jeweilige Grundkonstitution beziehen, welche nach der Befruchtung des sekundären Embryosackkernes durch den zweiten generativen Kern erzeugt wird. Es ist nicht auszuschließen, daß im Laufe der Endospermentwicklung auf endomitotischem Wege in den Zellen des Nährgewebes auch noch höhere Valenzen als die der Grundkonstitution vorkommen.

Unabhängig von den genannten Hypothesen haben verschiedene Autoren darauf aufmerksam gemacht, daß die Zahlen der Genome nicht allein betrachtet werden dürfen. Insbesondere bei Art- und Gattungskreuzungen sollte man neben der Anzahl der Genome auch deren qualitative Zusammensetzung berücksichtigen. Diese Vorstellungen gehen zurück auf STEPHENS (1942) und sind besonders nachdrücklich von VALENTINE (1953, 1954, 1956), VALENTINE und WOODELL (1963) sowie von v. WANGENHEIM (1961, 1962) vertreten worden. Es sei aber betont, daß diese Konzeption unabhängig davon ist, welchen Geweben man bei der Samenbildung eine vorrangige Bedeutung zubilligt.

Bei dem heutigen Stand der Kenntnisse kann die Hypothese nicht mehr aufrechterhalten werden, daß die Genomrelation aller drei Gewebe die entscheidende Voraussetzung für eine Samenbildung darstellt. Es läßt sich aber relativ schwierig entscheiden, ob zwei oder sogar nur ein Gewebe für die Samenbildung verantwortlich ist. Dies gilt ganz besonders für die Versuche, in denen sich lediglich reduzierte Gameten manifestieren. Es lassen sich dann auch nur die Ergebnisse auf der Grundlage der manifestierten reduzierten Gameten interpretieren. Treten aber auch unreduzierte Gameten auf, dann ist es einfacher

* Herrn Prof. Dr. HANS STUBBE zum 65. Geburtstag gewidmet.

¹ Quedlinburger Beiträge zur Züchtungsforschung Nr. 78.

zu entscheiden, welches Gewebe für die Samenbildung ausschlaggebend ist.

2. Material und Methode

Bei *Primula malacoides* Franchet treten häufig unreduzierte Gameten auf (SKIEBE 1958). Hinzu kommt, daß diese Art nach unseren Feststellungen eine normale Embryosackentwicklung hat. Wahrscheinlich handelt es sich also um den *Polygonum*-Typ. Es kann zumindest vorausgesetzt werden, daß im Laufe der weiblichen Gametogenese ein 8kerniger Embryosack entsteht.

Die Versuche wurden mit zwei 2x-Sorten und zwei 4x-Sorten von *Primula malacoides* durchgeführt. Bei den 2x-Eltern handelt es sich um die rosa blühende Sorte 'Rosa Korb' und um die weiß blühende Sorte 'Schneewittchen'. Als 4x-Sorten verwendeten wir die weiß blühende Sorte 'Alba' und die rosa blühende Sorte 'Harzfeuer' (syn. 'Primavera'). Dieses Material wurde zunächst nur kastriert, um festzustellen, ob eine autonome Apomixis vorkommt. Zum anderen haben wir die genannten Varietäten kastriert und bestäubt. Es sollte dabei ermittelt werden, welche Gameten sich in den jeweiligen Kombinationen manifestieren.

Primula malacoides ist eine Kurztagpflanze. Die normale Blütezeit fällt in die Monate Januar und Februar. In dieser Zeit wurden in den Jahren 1959 bis 1961 die notwendigen Kastrationen und Kreuzungen durchgeführt. Für die Versuche sind die Blüten zunächst im Knospenstadium kastriert sowie isoliert worden. Diejenigen Blüten, welche für eine Bastardierung vorgesehen waren, haben wir nach vier Tagen bestäubt, weil dann erst die Narben reif waren. Als Bestäubungspartner wurden immer Formen mit einer anderen Valenz gewählt. Dabei kombinierten wir 'Rosa Korb' 2x und 'Schneewittchen' 2x sowohl mit 'Alba' 4x als auch mit 'Harzfeuer' 4x. Bei der reziproken Kreuzung wurden 'Alba' 4x und 'Harzfeuer' 4x nur mit 'Rosa Korb' 2x bestäubt (vgl. Tab. 1). Für jede Kombination nahmen wir 180 Kreuzungen vor. Da sich die Versuche auf drei Jahre erstreckten, standen 540 Kreuzungen für die Auswertung zur Verfügung. Die nach den Kreuzungen gebildeten Samen wurden unter optimalen Bedingungen ausgesät (SKIEBE 1958). Von den aufgewachsenen Pflanzen ermittelten wir die Chromosomenzahl mit Hilfe der KES-Quetschmethode an Wurzelspitzen.

3. Ergebnisse

In unseren Versuchen sollte zunächst festgestellt werden, ob sich bei *Primula malacoides* von sich aus auf apomiktischem Wege Samen bilden können. Zu diesem Zwecke wurde nur kastriert und nicht be-

stäubt. Es zeigte sich, daß bei unserem Material keine autonome Apomixis vorkommt. Bei den durchgeführten Valenzkreuzungen zwischen 2x- und 4x-Pflanzen dagegen traten 2x-, 3x-, 4x- und 5x-Samen auf (Tab. 1).

a) 2x · 4x-Kreuzungen

Die Entstehungsart der hervorgegangenen Valenztypen nach 2x · 4x-Kreuzungen läßt sich ziemlich eindeutig ableiten. Sicher ist, daß die 2x-Pflanzen auf apomiktischem Wege entstanden sind. Ferner kann angenommen werden, daß sie aus 2x-Embryosäcken hervorgingen. Allerdings läßt es sich nicht sagen, ob die 2x-Embryosäcke unmittelbar aus den Embryosackmutterzellen entstanden sind. Es ist auch möglich, daß sich die 2x-Embryosäcke aus Zellen gebildet haben, die im Verlaufe der 1. oder 2. meiotischen Teilung entstanden. Wahrscheinlich ist aber, daß man die 2x-Embryonen aus 2x-Eizellen ableiten kann. Demnach wären die 2x-Pflanzen, die nach 2x · 4x-Kreuzungen aufgetreten sind, auf unreduzierte Gameten, d. h. auf solche mit der somatischen Valenz, zurückzuführen.

Die 3x-Pflanzen gehen sicher auf eine Befruchtung von zwei reduzierten Gameten der Eltern zurück. Bei den 4x-Pflanzen hat sich sehr wahrscheinlich eine unreduzierte Gamete der diploiden Mutter mit einer reduzierten Geschlechtszelle des polyploiden Vaters vereinigt. Für die 5x-Pflanze kann man schließlich annehmen, daß sie aus einer Befruchtung einer reduzierten 1x-Gamete der Mutter und einer unreduzierten 4x-Gamete des Vaters hervorgegangen ist.

Unter Beteiligung eines mütterlichen Gewebes mit der Valenz 2x entstanden also 2x-, 3x-, 4x- und 5x-Embryonen. Wir kennen damit die Valenzen der mütterlichen Gewebe und der Embryonen. Für unsere Betrachtungen über die Ursachen der Samenbildung fehlen uns aber noch die Valenzen der Endosperme. Da diese nicht direkt bestimmt werden konnten, mußten wir auf die Valenzen der Nährgewebe schließen.

Für die 3x-Pflanzen läßt sich annehmen, daß sie aus Samen hervorgegangen sind, deren Endosperm sich aus einem 2x-sekundären Embryosackkern und einem 2x-generativen Kern gebildet hat. Das Nährgewebe besaß demnach die Valenz 4x. Die entstandenen 2x-, 4x- und 5x-Pflanzen, die sicher alle aus einer Beteiligung von unreduzierten Gameten hervorgegangen sind, verfügten dagegen bei ihrer Entstehung über ein Endosperm, das wahrscheinlich immer die Valenz 6x hatte.

Die 2x-Pflanzen gehen, wie wir angenommen haben, auf einen unreduzierten Embryosack zurück. In diesem entstand neben der 2x-Eizelle aus der Vereinigung von zwei 2x-Polkernen ein sekundärer

Tabelle 1. Ergebnisse nach reziproken Kreuzungen zwischen 2x- und 4x-Varietäten bei *Primula malacoides* Franchet.

Kreuzungspartner	Anzahl der Kreuzungen	lebensfähige Pflanzen insgesamt	davon mit der Valenz			
			2x	3x	4x	5x
Rosa Korb 2x · Alba 4x	540	2	0	1	1	0
Rosa Korb 2x · Harzfeuer 4x	540	101	8	18	75	0
Schneewittchen 2x · Alba 4x	540	3	0	1	2	0
Schneewittchen 2x · Harzfeuer 4x	540	68	5	13	49	1
Alba 4x · Rosa Korb 2x	540	133	2	92	38	1
Harzfeuer 4x · Rosa Korb 2x	540	9	0	3	6	0

Embryosackkern mit der Valenz $4x$. Es ist anzunehmen, daß dieser von einem der beiden generativen $2x$ -Kerne befruchtet wurde, so daß ein normal funktionierendes $6x$ -Endosperm entstand. Der zweite generative Kern ist dagegen nicht mit der unreduzierten Eizelle verschmolzen. Es kam demnach zu keiner doppelten, sondern nur zu einer einfachen Befruchtung. Derartige Fälle sind schon von RUTISHAUSER (1954) und SMITH (1956) beschrieben worden.

Die $4x$ -Pflanzen bildeten sich aus Samen, die auf einen $2x$ -Embryosack und einen $2x$ -Pollen zurückzuführen sind. Es entstand deshalb wahrscheinlich ein $4x$ -sekundärer Embryosackkern, der von einem $2x$ -generativen Kern befruchtet wurde, so daß sich ein $6x$ -Endosperm entwickelte. Dabei ist ohne Belang, ob der generative Kern zunächst einen Polkern befruchtet hat und dieses Produkt mit dem zweiten Polkern fusionierte (GERLACH 1965) oder ob sich erst die beiden Polkerne vereinigten und dann die Befruchtung stattfand.

Bei der $5x$ -Pflanze darf man annehmen, daß sich zu ihrer Entstehung ein Nährgewebe aus einem reduzierten sekundären Embryosackkern der Mutter und einem unreduzierten generativen Kern des Vaters bildete. Wird von einer derartigen Annahme ausgegangen, dann hatte der sekundäre Embryosackkern die Valenz $2x$ und der generative Kern die Valenz $4x$. Es wäre demnach wieder ein $6x$ -Endosperm entstanden.

Nachdem wir mit einiger Sicherheit auf die Valenzen des Nährgewebes geschlossen haben, lassen sich einige Aussagen über die möglichen genetischen Ursachen der Samenbildung machen.

Würde man nur die Anzahl der Genome, nicht aber ihre qualitative Zusammensetzung berücksichtigen, hätten die $3x$ -Pflanzen überhaupt nicht entstehen dürfen. Bei der Bildung von $3x$ -Samen liegt zwischen mütterlichem Gewebe, Embryo und Endosperm eine $1:1,5:2$ -Relation vor. $3x$ -Pflanzen können nach den Hypothesen von WATKINS (1932), HÅKANSSON und ELLERSTRÖM (1950) sowie von v. WANGENHEIM (1961) nur dann entstehen, wenn die beteiligten Gameten eine unterschiedliche genetische Wirksamkeit hatten. Wir müßten also für das Auftreten von lebensfähigen $3x$ -Pflanzen nach $2x \cdot 4x$ -Kreuzungen den sogenannten „genetischen Wert“ (VALENTINE 1953) verantwortlich machen (vgl. S. 75). In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß *Primula malacoides* ein Fremdbefruchter ist und deshalb die verwendeten Kreuzungspartner heterozygot sind. Daß bei unseren Versuchen verhältnismäßig viel $3x$ -Pflanzen entstanden sind, ist also wahrscheinlich auf das große Angebot von genetisch verschiedenen reduzierten $1x$ - bzw. $2x$ -Gameten der Eltern zurückzuführen. Je größer die Anzahl der Gameten ist und je verschiedener die Geschlechtszellen konstituiert sind, um so eher wird es selbst bei ungünstiger Valenz der beteiligten Gewebe zu einer Samenbildung kommen.

Bei der Entstehung von $2x$ -Samen liegt zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm eine Valenzrelation von $1:3$ vor. Das Auftreten von $2x$ -Pflanzen spricht also gegen die Hypothese von HÅKANSSON und ELLERSTRÖM (1950). Zwischen Embryo und Endosperm haben wir ebenfalls eine Relation von $1:3$. Es dürften daher auch nach der Hypothese von WATKINS (1932) keine $2x$ -Samen entstehen. Demgegenüber stützen

die aufgetretenen $2x$ -Pflanzen die Konzeption von v. WANGENHEIM (1961), da sie aus Samen hervorgegangen sind, die wahrscheinlich ein $6x$ -Endosperm hatten, welches der Valenz nach funktionsfähig ist.

Bei diesem Ergebnis sollte nach unserer Meinung nicht von der Annahme ausgegangen werden, daß sich die $2x$ -Pflanzen trotz der ungünstigen $1:3$ -Relation bilden konnten, weil die qualitative Zusammensetzung der Gameten, also der sogenannte genetische Wert, dies ermöglicht hat. Für ein Auftreten von $2x$ -Pflanzen nach $2x \cdot 4x$ -Kreuzungen kommen nur einige Gameten in Frage, da die dafür notwendigen unreduzierten Gameten im diploiden Elter wenig gebildet werden. Außerdem muß man noch berücksichtigen, daß eine apomiktische Samenentwicklung selten ist.

Die Entstehung von $4x$ -Samen nach $2x \cdot 4x$ -Kreuzungen spricht gegen die Hypothese von HÅKANSSON und ELLERSTRÖM, da zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm eine $1:3$ -Relation vorliegt. Wir vermögen aber bei den $4x$ -Pflanzen nicht zu entscheiden, ob sie auf Grund der richtigen Konstitution des Endosperms oder wegen der passenden Valenzrelation zwischen Embryo und Endosperm entstanden sind. Das Endosperm hatte die günstige Valenz $6x$. Zwischen Embryo und Endosperm liegt aber auch die vorteilhafte $1:1,5$ -Relation vor.

Die Entstehung von einer $5x$ -Pflanze nach $2x$ mal $4x$ -Kreuzungen macht es wahrscheinlich, daß die Konstitution des Nährgewebes allein über die Entwicklung eines lebensfähigen Samens entscheidet. Dies gilt um so mehr, als auch schon nach anderen $2x \cdot 4x$ -Bastardierungen bei diesem Objekt gelegentlich $5x$ -Pflanzen aufgetreten sind. Bei einer Samenbildung mit der Valenz $5x$ beträgt die Genomrelation entsprechend der angenommenen Entstehungsweise zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm $1:3$ und zwischen Embryo und Endosperm $1:1,2$. Demgegenüber besitzt das Nährgewebe die günstige Valenz $6x$. Wie bei den $2x$ -Pflanzen möchten wir auch für das Auftreten der $5x$ -Pflanze in erster Linie die Anzahl der Genome und weniger deren qualitative Zusammensetzung verantwortlich machen. Die $5x$ -Pflanze ist, wie wir angenommen haben, unter Beteiligung einer unreduzierten Gamete des $4x$ -Vaters entstanden. Solche unreduzierten Geschlechtszellen treten aber in den $4x$ -Pflanzen nach unseren Feststellungen nur ganz selten auf. Zumindest ist bei unserem Objekt die Manifestierungstendenz an unreduzierten Gameten in $4x$ -Pflanzen wesentlich geringer als in $2x$ -Pflanzen.

b) $4x \cdot 2x$ -Kreuzungen

Bei den $4x \cdot 2x$ -Kreuzungen sind ebenfalls $2x$ -, $3x$ -, $4x$ - und $5x$ -Pflanzen aufgetreten (Tab. 1). Auch deren Entstehungsmodus kann man mit einiger Sicherheit ableiten. So gingen die $3x$ -Pflanzen wahrscheinlich aus einer Befruchtung von zwei reduzierten Geschlechtszellen hervor. Die $2x$ -Formen sind auf eine apomiktische Entwicklung von reduzierten Gameten zurückzuführen. Die $4x$ -Pflanzen müssen dagegen amphimiktischen Ursprungs sein, da sie deutlichen Bastardcharakter tragen. Bei ihnen wird also eine reduzierte $2x$ -Gamete der Mutter mit einer unreduzierten $2x$ -Gamete des Vaters verschmolzen sein. Die $5x$ -Form ist auch ein Kreuzungsprodukt.

Sie beruht wahrscheinlich auf einer Befruchtung einer unreduzierten 4x-Gamete des mütterlichen Elters mit einer reduzierten 1x-Gamete des väterlichen Partners.

Geht man von den genannten Entstehungswegen aus, so ist es wieder verhältnismäßig einfach, auf die Anzahl der Genome zu schließen, welche im Nährgewebe der Samen vorgelegen haben. Die 3x-Pflanzen verfügten in den Samen, aus denen sie hervorgegangen sind, wahrscheinlich über ein 5x-Endosperm. Dabei hat sich ein 4x-sekundärer Embryosackkern mit einem 1x-generativen Kern vereinigt. Daß ein solches 5x-Endosperm gelegentlich auch lebensfähig war, kann auf die genetische Konstitution der beteiligten Genome zurückgeführt werden. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen kamen auch v. WANGENHEIM, PELOQUIN und HOUGAS (1960).

Die 2x-Pflanzen sind aus Samen hervorgegangen, die wahrscheinlich ein 6x-Endosperm besaßen. Für dessen Entstehung gibt es zwei Möglichkeiten. Einmal kann der sekundäre Embryosackkern von einem 2x-unreduzierten generativen Kern befruchtet worden sein, während die Eizelle unbefruchtet blieb (SMITH 1956). Es ist aber auch vorstellbar, daß die beiden generativen 1x-Kerne eines reduzierten Pollenschlauches mit dem 4x-sekundären Embryosackkern verschmolzen sind (RUTISHAUSER 1954, 1956; v. WANGENHEIM, PELOQUIN und HOUGAS 1960). Für unsere Betrachtungsweise ist es wichtig, daß beide Entstehungsmöglichkeiten zu einem 6x-Endosperm führen.

Die beobachteten 4x-Pflanzen gehen wahrscheinlich bei ihrer Entstehung auf ein 6x-Nährgewebe zurück. Dieses hat sich entsprechend dem angenommenen Entstehungsmodus aus einem sekundären 4x-Embryosackkern und einem 2x-generativen Kern gebildet.

Der Samen, aus dem die 5x-Pflanze hervorging, verfügte im Endosperm über eine andere Valenz. Dieses Nährgewebe ist wahrscheinlich auf eine Befruchtung eines 8x-sekundären Embryosackkernes mit einem 1x-generativen Kern zurückzuführen. Aus der doppelten Befruchtung resultiert also neben einem 5x-Embryo ein 9x-Endosperm.

Mit Hilfe der Valenz aller drei Gewebe lassen sich auch bei den 4x · 2x-Kreuzungen einige Hinweise auf die möglichen genetischen Ursachen der Samenbildung geben. So stützen die 3x-Pflanzen, wie bei den 2x · 4x-Kreuzungen, keine der bekannten Hypothesen. Bei der Entwicklung von 3x-Samen lag zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm eine ungünstige 1:1,25-Relation vor. Ähnlich schlecht sind die Valenzbeziehungen zwischen Embryo und Endosperm. Sie betragen 1:1,66. Auch das Endosperm für sich allein betrachtet gilt mit seiner Valenz 5x als ungeeignet. Geht man von den drei Hypothesen aus, so dürften also 3x-Pflanzen höchstens dann auftreten, wenn man den sogenannten genetischen Wert der beteiligten Genome mit berücksichtigt.

Anders ist es bei den nach 4x · 2x-Kreuzungen entstandenen 2x-Pflanzen. Hierbei hatte das mütterliche Gewebe die Valenz 4x, der Embryo die Valenz 2x und das Endosperm wahrscheinlich die Valenz 6x. Nach der Hypothese von WATKINS konnte sich also kein Samen bilden, da die Valenzrelation 1:3 beträgt.

Folgt man dagegen der Konzeption von HÅKANSSON und ELLERSTRÖM, so war eine Samenentstehung möglich, da sich die Valenzen zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm wie 1:1,5 verhalten. Lebensfähiger Samen konnte aber auch entstehen, wenn man das Endosperm allein betrachtet. Es hatte die für eine Samenbildung günstige Valenz 6x.

Schwierig ist es, die 4x-Pflanzen für eine Klärung der Ursachen einer Samenbildung heranzuziehen, weil sie für alle drei Hypothesen sprechen. Bei der Entwicklung von 4x-Samen lag zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm die optimale 1:1,5-Relation vor. Das gleiche gilt aber auch für die Embryo- und Endospermrelation, die ebenfalls 1:1,5 beträgt. Schließlich ist außerdem die Valenz 6x eine für das Endosperm wirkungsvolle Genomzahl.

Anders ist es wieder bei der 5x-Pflanze. Sie ist aus einem Samen hervorgegangen, bei dem entsprechend unserer Annahme zwischen Embryo und Endosperm eine 1:1,8-Relation vorlag, die als ungünstig gilt. Das gleiche trifft auch für die Beziehungen zwischen mütterlichem Gewebe und Endosperm zu. Dabei haben wir eine 1:2,25-Relation, die ebenfalls zu keiner Samenbildung führen dürfte. Das Nährgewebe für sich allein betrachtet, bringt aber die Voraussetzungen für eine normale Samenbildung mit sich, da es die Valenz 9x besitzt. Die 5x-Pflanze dürfte also für die „Endosperm-Hypothese“ sprechen, und dies um so mehr, weil auch in anderen Experimenten bei *Primula malacoides* nach 4x · 2x-Kreuzungen gelegentlich 5x-Pflanzen aufgetreten sind.

Obwohl in dem jetzigen 4x · 2x-Versuch nur eine 5x-Pflanze entstanden ist, möchten wir für diese, wie auch bei der 5x-Pflanze nach den 2x · 4x-Kreuzungen (vgl. S. 77), nicht den genetischen Wert der Genome verantwortlich machen, da sich bei den 4x-Pflanzen unreduzierte Embryosäcke außerordentlich selten manifestieren.

Aus den bisher geschilderten Entstehungsweisen der 2x-, 3x-, 4x- und 5x-Pflanzen nach den reziproken Valenzkreuzungen kann man nicht immer entscheiden, welcher der drei Hypothesen der Vorrang zu geben ist. Geht man aber von diesen drei Hypothesen aus, dann sprechen die meisten Argumente für die „Endosperm-Hypothese“. Wir haben demnach mit unseren Ergebnissen eine Stütze dafür erhalten, daß die jeweilige Konstitution des Nährgewebes eine entscheidende genetische Voraussetzung für die Samenentwicklung bei endospermführenden Angiospermen ist.

4. Diskussion

In unseren Versuchen haben sich ohne Bestäubung keine lebensfähigen Samen gebildet. Wurde bestäubt, dann traten nach reziproken Valenzkreuzungen zwischen 2x- und 4x-Pflanzen keimfähige Samen mit den Valenzen 2x, 3x, 4x und 5x auf. Dieses Ergebnis läßt sich relativ einfach deuten, wenn man als Voraussetzung für die Samenbildung ein funktionierendes Endosperm annimmt. Es hatte wahrscheinlich unter Berücksichtigung der normalen Embryosackbildung in der Regel die Valenzen 6x oder 9x. Geht man davon aus, dann kann sich also ein Endosperm erst nach der Befruchtung des sekundären Embryosackkernes entwickeln (RUTISHAUSER 1954, 1956).

Welche allgemeinen Schlußfolgerungen lassen sich aus diesen Ergebnissen ziehen? Zunächst würde sich aus den Darlegungen ergeben, daß nach Kreuzungen zwischen orthoploiden Varietäten innerhalb einer Art ohne Schwierigkeiten 2x-, 4x-, 5x- und 8x-Pflanzen entstehen können. Es ist lediglich notwendig, daß die dafür erforderlichen Gameten vorhanden sind (Tab. 2).

Das Auftreten von 3x- und 6x-Pflanzen ist im allgemeinen bei endospermführenden Arten nicht möglich. Die sogenannte seed incompatibility wird sich hierbei vielleicht überwinden lassen, wenn bei den Kreuzungen Idiotypen verwendet werden, deren Gameten aus solchen Genomen zusammengesetzt sind, daß sich trotz ungünstiger Valenzstufen doch noch ein funktionierendes Endosperm bildet. Dies wird um so eher der Fall sein, je mehr genetisch verschiedene Gameten zur Verfügung stehen. Um zu derartigen Geschlechtszellen zu kommen, ist also zunächst einmal eine große Anzahl von Kreuzungspartnern notwendig, die sich genetisch unterscheiden. Aus den Ergebnissen der Tab. 1 ist ersichtlich, welcher großen Einfluß der Idiotyp auf die Entstehung von 3x-Pflanzen hat. Während diese in den 2x · 4x-Kombinationen mit der 4x-Sorte 'Alba' nur ganz selten entstehen, sind sie mit der 4x-Sorte 'Harzfeuer' als Vater verhältnismäßig häufig. Ein derartiger Einfluß des Idiotyps ist bei den 4x · 2x-Kreuzungen ebenfalls festzustellen. Hierbei treten in der Kombination 'Harzfeuer' 4x · 'Rosa Korb' 2x viel weniger 3x-Pflanzen auf, als wenn die 4x-Sorte 'Alba' mit der 2x-Sorte 'Rosa Korb' gekreuzt wird.

Damit sich eine seed incompatibility überwinden läßt und 3x- oder 6x-Pflanzen entstehen können, braucht man aber nicht nur genetisch verschiedene Partner. Es ist auch notwendig, daß von den Kreuzungseltern genügend funktionsfähige Gameten mit der erforderlichen Valenzstufe gebildet werden. Ferner sollte man auch noch versuchen, die befruchtungsbiologischen Vorgänge unter variierten Umweltbedingungen ablaufen zu lassen. Wir haben aus unseren Versuchen Hinweise dafür erhalten, daß durch die Umwelt eine vorliegende seed incompatibility modifiziert wird und sich dadurch teilweise überwinden läßt. Vielleicht können auch auf diesem Wege Nährgewebe in ihrer Funktion verändert werden.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte dürfte es im allgemeinen gelingen, trotz Vorliegen einer seed incompatibility zu 3x-Pflanzen zu kommen. Allerdings wird man mit diesem Valenztyp nach 2x · 2x-Kreuzungen in der Regel kaum rechnen dürfen (SKIEBE 1958). Es müßte dazu wenigstens in einem Elternteil zu einem genetisch bedingten hohen Auftreten an unreduzierten Gameten kommen, was

Tabelle 2. Schematische Darstellung der verschiedenen Möglichkeiten einer amphimiktischen Samenbildung nach Kreuzungen zwischen orthoploiden Varietäten innerhalb einer endospermführenden Art mit normaler Embryosackentwicklung bei vorrangiger Bedeutung des Endosperms.

Kreuzungs-partner	♀ Gamete	♂ Gamete	Embryo	Endosperm	Ergebnis
2x · 2x	1x red.	1x red.	1x + 1x = 2x	2x + 1x = 3x	2x Samen
	2x unred.	1x red.	2x + 1x = 3x	4x + 1x = 5x	↑
	1x red.	2x unred.	1x + 2x = 3x	2x + 2x = 4x	↑
	2x unred.	2x unred.	2x + 2x = 4x	4x + 2x = 6x	4x Samen
2x · 4x	1x red.	2x red.	1x + 2x = 3x	2x + 2x = 4x	↑
	2x unred.	2x red.	2x + 2x = 4x	4x + 2x = 6x	4x Samen
	1x red.	4x unred.	1x + 4x = 5x	2x + 4x = 6x	5x Samen
	2x unred.	4x unred.	2x + 4x = 6x	4x + 4x = 8x	↑
4x · 2x	2x red.	1x red.	2x + 1x = 3x	4x + 1x = 5x	↑
	4x unred.	1x red.	4x + 1x = 5x	8x + 1x = 9x	5x Samen
	2x red.	2x unred.	2x + 2x = 4x	4x + 2x = 6x	4x Samen
	4x unred.	2x unred.	4x + 2x = 6x	8x + 2x = 10x	↑
4x · 4x	2x red.	2x red.	2x + 2x = 4x	4x + 2x = 6x	4x Samen
	4x unred.	2x red.	4x + 2x = 6x	8x + 2x = 10x	↑
	2x red.	4x unred.	2x + 4x = 6x	4x + 4x = 8x	↑
	4x unred.	4x unred.	4x + 4x = 8x	8x + 4x = 12x	8x Samen

nach unseren Feststellungen nur selten der Fall ist (SKIEBE 1966). Eine relativ hohe Bildungsfrequenz an unreduzierten Gameten läßt sich schon eher durch extreme Umweltbedingungen erzielen (JAHR, SKIEBE, STEIN 1965).

Trotzdem ist es einfacher, zu zahlreichen 1x- und 2x-Gameten zu kommen, wenn man 2x- und 4x-Partner als Ausgangsmaterial wählt. In diesem Fall bilden sich vor allem reduzierte Gameten mit der Valenz 1x und 2x. Sie werden deshalb auch in erster Linie aufeinandertreffen, so daß von dieser Seite her die Voraussetzung für eine Überwindung der seed incompatibility gegeben ist. Es müssen dann selbstverständlich auch noch die anderen Gesichtspunkte berücksichtigt werden, also eine genetische Differenz der Partner und unterschiedliche Umweltbedingungen.

Zu 6x-Pflanzen innerhalb einer Art auf befruchtungsbiologischem Wege trotz seed incompatibility zu kommen, dürfte schwieriger sein. Es gibt allerdings mehrere Wege, die wenigstens theoretisch zum Erfolg führen könnten. So besteht die Möglichkeit, daß nach Valenzkreuzungen zwischen 2x- und 4x-Formen aus der Befruchtung von zwei unreduzierten Gameten beider Eltern 6x-Pflanzen hervorgehen. Dabei würde also, sofern die 2x-Form die Mutter ist, ein 8x-Nährgewebe entstehen. Wäre dagegen die 4x-Form der mütterliche Elter, bildete sich ein 10x-Endosperm. Beide Nährgewebe sind nun der Genomzahl nach nicht funktionsfähig. Damit trotzdem noch die Chance besteht, daß einige 6x-Pflanzen auftreten, müßten von beiden Eltern sehr viel unreduzierte Gameten gebildet werden. Man benötigt zu diesem Zweck also auch unreduzierte Gameten bei dem 4x-Elter. Solche Geschlechtszellen treten aber in diesem Typ noch seltener auf als in den diploiden Formen. Nach 2x · 4x- bzw. 4x · 2x-Kreuzungen ist daher selbst unter Verwendung eines genetisch verschiedenen Ausgangsmaterials und unter variablen Umweltbedingungen kaum mit 6x-Pflanzen zu rechnen. Sie lassen sich vielleicht nach Kreuzungen zwischen verschiedenen 3x-Pflanzen entwickeln. Man müßte also in diesem Fall die seed incompatibility bei den Elternpflanzen umgehen und zunächst ver-

suchen, eventuell aus $4x \cdot 2x$ -Kreuzungen, $3x$ -Pflanzen zu erzielen. Sofern das gelingt und in den $3x$ -Pflanzen lebensfähige unreduzierte Gameten auftreten, was mitunter der Fall ist, entsteht ein sekundärer Embryosackkern mit der Valenz $6x$. Dieser wird von einem $3x$ -generativen Kern befruchtet, so daß sich ein funktionsfähiges $9x$ -Endosperm bildet. Das Nährgewebe kann dann den $6x$ -Embryo ernähren. Allerdings treten nach unseren Beobachtungen bei $3x$ -Pflanzen, sofern sie aus artgleichen Genomen zusammengesetzt sind, funktionsfähige unreduzierte $3x$ -Gameten sehr selten auf. Es ist uns deshalb auch bei *Primula malacoides* nicht gelungen, trotz zahlreicher $3x \cdot 3x$ -Kreuzungen $6x$ -Formen zu entwickeln.

Es gibt dann theoretisch noch einen dritten Weg, um über eine Befruchtung zu $6x$ -Pflanzen zu kommen. Man könnte daran denken, Kreuzungen zwischen $4x$ - und $8x$ -Formen durchzuführen. Bei einer derartigen Kreuzung benötigt man nur reduzierte Gameten. An der Anzahl genetisch verschiedener Geschlechtszellen dürfte dieses Unternehmen daher nicht scheitern. Die Schwierigkeit ist hierbei wieder die Konstitution des Endosperms. Es bildet sich bei der Befruchtung von reduzierten Gameten unter Verwendung der $4x$ -Form als Mutter ein $8x$ - und unter Benutzung der $8x$ -Form als Mutter ein $10x$ -Endosperm. Beide Nährgewebe sind der Genomzahl nach nicht funktionsfähig. Dabei muß außerdem

berücksichtigt werden, daß $8x$ -Pflanzen innerhalb einer Art nur selten zur Verfügung stehen. Die seed incompatibility wirkt sich also bei der Herstellung von $6x$ -Pflanzen stärker aus als bei der Entwicklung von $3x$ -Pflanzen.

Die genetischen Ursachen für eine Samenbildung haben aber nicht nur eine Bedeutung für die Überwindung einer seed incompatibility. Sie gelten bei endospermführenden Arten auch für die Entwicklung von Samen auf apomiktischem Wege. Hier ist vor allem an eine Parthenogenese zu denken, bei der also ein normaler Embryosack gebildet wird und der Embryo aus der Eizelle entsteht. Man darf mit einiger Sicherheit annehmen, daß auch für die Weiterentwicklung einer unbefruchteten Eizelle ein funktionierendes Endosperm die Voraussetzung ist. Dieses würde demzufolge in der Regel auch erst nach einer Befruchtung des sekundären Embryosackkernes entstehen. Dadurch wird vielleicht die Endosperm-entwicklung induziert, vor allem aber die notwendige genetische Konstitution hergestellt. Wir sind der Meinung, daß diese Gesichtspunkte häufig vernachlässigt wurden. So fehlen sie z. B. auch in den neueren zusammenfassenden Darstellungen über die Apomixis (KIMBER und RILEY 1963; MAGOON und KHANNA 1963). Dies ist um so merkwürdiger, als aus den darin aufgeführten Arbeiten hervorgeht, daß sich ohne Bestäubung praktisch keine Apomixis induzieren läßt. Auch aus neueren Veröffentlichungen kann man die gleiche

Tabelle 3. Schematische Darstellung der verschiedenen Möglichkeiten einer apomiktischen Samenbildung nach Kreuzungen zwischen orthoploiden Varietäten innerhalb einer endospermführenden Art mit normaler Embryosackentwicklung bei vorrangiger Bedeutung des Endosperms.

Kreuzungs-partner	♀ Gamete	Embryo	♂ Gamete	Endosperm a) bei Befruchtung mit einem generativen Kern b) bei Befruchtung mit beiden generativen Kernen	Ergebnis
$2x \cdot 2x$	1x red.	1x	1x red.	a) $2x + 1x = 3x$	1x Samen
	2x unred.	2x	1x red.	b) $2x + 1x + 1x = 4x$	↑
	1x red.	1x	2x unred.	a) $4x + 1x = 5x$	↑
	2x unred.	2x	2x unred.	b) $4x + 1x + 1x = 6x$	2x Samen
	1x red.	1x	2x unred.	a) $2x + 2x = 4x$	↑
	2x unred.	2x	2x unred.	b) $2x + 2x + 2x = 6x$	1x Samen
	1x red.	1x	2x unred.	a) $4x + 2x = 6x$	2x Samen
	2x unred.	2x	2x unred.	b) $4x + 2x + 2x = 8x$	↑
$2x \cdot 4x$	1x red.	1x	2x red.	a) $2x + 2x = 4x$	↑
	2x unred.	2x	2x red.	b) $2x + 2x + 2x = 6x$	1x Samen
	1x red.	1x	4x unred.	a) $4x + 2x = 6x$	2x Samen
	2x unred.	2x	4x unred.	b) $4x + 2x + 2x = 8x$	↑
	1x red.	1x	4x unred.	a) $2x + 4x = 6x$	↑
	2x unred.	2x	4x unred.	b) $2x + 4x + 4x = 10x$	1x Samen
	1x red.	1x	4x unred.	a) $4x + 4x = 8x$	↑
	2x unred.	2x	4x unred.	b) $4x + 4x + 4x = 12x$	2x Samen
$4x \cdot 2x$	2x red.	2x	1x red.	a) $4x + 1x = 5x$	↑
	4x unred.	4x	1x red.	b) $4x + 1x + 1x = 6x$	2x Samen
	2x red.	2x	2x unred.	a) $8x + 1x = 9x$	↑
	4x unred.	4x	2x unred.	b) $8x + 1x + 1x = 10x$	4x Samen
	2x red.	2x	2x unred.	a) $4x + 2x = 6x$	↑
	4x unred.	4x	2x unred.	b) $4x + 2x + 2x = 8x$	2x Samen
	2x red.	2x	2x unred.	a) $8x + 2x = 10x$	↑
	4x unred.	4x	2x unred.	b) $8x + 2x + 2x = 12x$	4x Samen
$4x \cdot 4x$	2x red.	2x	2x red.	a) $4x + 2x = 6x$	2x Samen
	4x unred.	4x	2x red.	b) $4x + 2x + 2x = 8x$	↑
	2x red.	2x	4x unred.	a) $8x + 2x = 10x$	↑
	4x unred.	4x	4x unred.	b) $8x + 2x + 2x = 12x$	4x Samen
	2x red.	2x	4x unred.	a) $4x + 4x = 8x$	↑
	4x unred.	4x	4x unred.	b) $4x + 4x + 4x = 12x$	2x Samen
	2x red.	2x	4x unred.	a) $8x + 4x = 12x$	4x Samen
	4x unred.	4x	4x unred.	b) $8x + 4x + 4x = 16x$	↑

Feststellung entnehmen (BENDER 1963; COE und SARKAR 1964; AALDERS 1964; HOUGAS, PELOQUIN und GABERT 1964; LINNERT 1964; RÖBBELN 1966).

Es ist nun sehr wichtig, daß einige Autoren schon auf einen Zusammenhang zwischen einem funktionierenden Endosperm, welches aus einer Befruchtung hervorgegangen ist, und einer apomiktischen Entwicklung der Eizelle hingewiesen haben (v. WANGENHEIM, PELOQUIN und HOUGAS 1960; BENDER 1963; SCHMIDT 1964). Sie folgen damit den Vorstellungen von BRINK und COOPER (1947), die darauf hingewiesen haben, daß sich ein lebensfähiger Embryo im allgemeinen nur bei einem funktionierenden Endosperm bildet. Wahrscheinlich ist also auch für eine apomiktische Entwicklung der Eizelle ein funktionierendes Endosperm die Voraussetzung. Daraus würde sich ergeben, daß für eine Apomixis, sofern es sich nicht um eine Adventivembryonie handelt, in

der Regel der sekundäre Embryosackkern befruchtet werden muß, damit ein funktionsfähiges Endosperm entsteht. Dabei ist einzukalkulieren, daß entweder nur ein generativer Kern oder beide generativen Kerne an dieser Befruchtung beteiligt sein können. Ferner spielen unreduzierte Gameten eine große Rolle (Tab. 3).

In den bisherigen befruchtungsbiologischen Betrachtungen haben wir uns auf eine amphi- und apomiktische Samenentwicklung innerhalb einer Art beschränkt. Wir dürfen mit Recht annehmen, daß nach Kreuzungen zwischen verschiedenen Arten und Gattungen, sofern sie ein Endosperm besitzen, sinngemäß die gleichen Verhältnisse vorliegen. Wenn also nach interspezifischen Kreuzungen überhaupt lebensfähige Samen auftreten, muß, abgesehen von allen anderen Schwierigkeiten, auch ein funktionsfähiges Endosperm vorliegen. Dieses wird sich bei derartigen Kreuzungen ebenfalls in der Regel erst nach einer Befruchtung des sekundären Embryosackkernes bilden. Die Genomzahl wird dann allerdings nicht mehr eine so entscheidende Rolle spielen wie bei Kreuzungen innerhalb einer Art. Die qualitativen Genomunterschiede haben zweifellos bei interspezifischen Kreuzungen auch eine sehr große Bedeutung.

Aus unseren Erörterungen ergeben sich einige Probleme, die noch bearbeitet werden müssen. Geht man von der Endosperm-Hypothese aus, so stellt sich z. B. die Frage, warum bei endospermführenden Arten mit normaler Embryosackentwicklung das Nährgewebe nur bei dem Vorliegen einer bestimmten genomatischen Konstitution funktioniert. NISHIYAMA und INOMATA (1966) haben sich mit diesem Problem beschäftigt und dabei die sogenannte „Pollenstimulanzhypothese“ wieder aufgegriffen, welche von KIHARA und NISHIYAMA (1932) aufgestellt worden ist. Danach kommt es zu einer normalen Endospermentwicklung, wenn sich im Endosperm die Genomzahl der Mutter zu der des Vaters wie 2:1 verhält.

Bei unseren Versuchen ließ sich diese Hypothese nicht eindeutig bestätigen, da sonst beispielsweise nach den $4x \cdot 2x$ -Kreuzungen keine $5x$ -Pflanzen auftreten durften. v. WANGENHEIM (1961, 1962), der sich ebenfalls mit der Frage befaßt hat, wann das Endosperm funktionsfähig ist, konnte die Pollenstimulanz-Hypothese auch nicht bestätigen. Er kommt bei seinen Untersuchungen zu einem etwas anderen Ergebnis. v. WANGENHEIM (1964) nimmt an, daß das Endosperm besonders dann funktionsfähig ist, wenn nach der Befruchtung des sekundären Embryosackkernes zwischen der Anzahl der Genome im Kern und der Menge an Cytoplasma ein bestimmtes Verhältnis eingehalten wird. Bei einem ungünstigen Verhältnis ist die Entwicklung des Endosperms gestört und der Embryo kann nicht normal ernährt werden. Wahrscheinlich wird man auf diesem Wege einer endgültigen Klärung der genetischen Ursachen einer Samenbildung näher kommen. Dabei ist selbstverständlich zunächst nur an die endospermführenden Arten gedacht. Es gilt dann außerdem noch, die genetischen Voraussetzungen einer Samenbildung bei nicht-endospermführenden Arten, also z. B. bei Chenopodiaceen, zu klären. Hierbei werden sich die

Untersuchungen vor allem auf das Perisperm konzentrieren müssen.

5. Zusammenfassung

Innerhalb von *Primula malacoides* Franchet wurden zwischen verschiedenen Formen Valenzkreuzungen durchgeführt. Es traten $2x$ -, $3x$ -, $4x$ - und $5x$ -Pflanzen auf. An der Entstehung dieser Valenztypen sind sowohl reduzierte als auch unreduzierte Gameten beteiligt. Auf Grund der erzielten Kreuzungsergebnisse wird versucht, Rückschlüsse auf die genetischen Ursachen der Samenbildung zu ziehen.

Es wird angenommen, daß der jeweiligen Konstitution des Endosperms eine vorrangige Bedeutung für die Entstehung von lebensfähigen Samen zukommt.

Literatur

1. AALDERS, L. E.: Production of maternal-type plants through crosses to apomictic species. *Nature* **204**, 101–102 (1964). — 2. BENDER, K.: Über die Erzeugung und Entstehung dihaploider Pflanzen bei *Solanum tuberosum*. *Z. Pflanzenzüchtg.* **50**, 141–166 (1963). — 3. BRINK, R. A., and D. C. COOPER: The endosperm in seed development. *Bot. Rev.* **13**, 423–541 (1947). — 4. COE, E. H., and K. R. SARKAR: The detection of haploids in maize. *J. Hered.* **55**, 231–233 (1964). — 5. GERLACH, D.: Befruchtung und Autogamie bei *Rubus caesius*. *Biol. Zbl.* **84**, 611–633 (1965). — 6. HÅKANSSON, A., and S. ELLERSTRÖM: Seed development after reciprocal crosses between diploid and tetraploid rye. *Hereditas* **36**, 256–296 (1950). — 7. HOUHAS, R. W., S. J. PELOQUIN, and A. O. GABERT: Effect of seed-parent and pollinator on frequency of haploids in *Solanum tuberosum*. *Crop Sci.* **4**, 593–595 (1964). — 8. JAHR, W., K. SKIEBE, and M. STEIN: Die Herstellung von neuen Allopolyploiden für die Züchtung. *Züchter* **35**, 7–14 (1965). — 9. KIHARA, H., and I. NISHIYAMA: III. Different compatibility in reciprocal crosses of *Avena*, with special reference to tetraploid hybrids between hexaploid and diploid species. *Jap. J. Bot.* **6**, 245–305 (1932). — 10. KIMBER, G., and R. RILEY: Haploid angiosperms. *Bot. Rev.* **29**, 480–531 (1963). — 11. LEWIS, D.: Comparative incompatibility in angiosperms and fungi. *Adv. Genetics* **6**, 235–285 (1954). — 12. LINNERT, G.: Die Auslösung der Parthenogenese bei einer autotetraploiden *Oenothera hookeri* durch Röntgenbestrahlung. *Züchter* **34**, 297–301 (1964). — 13. MAGOON, M. L., and K. R. KHANNA: Haploids. *Caryologia* **16**, 191–235 (1963). — 14. MÜNTZING, A.: Über Chromosomenvermehrung in *Galeopsis*-Kreuzungen und ihre phylogenetische Bedeutung. *Hereditas* **14**, 153–172 (1930/31). — 15. NISHIYAMA, I., and N. INOMATA: Embryological studies on cross-incompatibility between $2x$ and $4x$ in *Brassica*. *Jap. J. Genet.* **41**, 27–42 (1966). — 16. RÖBBELEN, G.: Beobachtungen bei interspezifischen *Brassica*-Kreuzungen, insbesondere über die Entstehung matromorpher F_1 -Pflanzen. *Angew. Botanik* **39**, 205–221 (1966). — 17. RUTISHAUSER, A.: Die Entwicklungserregung des Endosperms bei pseudogamen *Ranunculus*-arten. *Mitt. Naturforsch. Ges. Schaffhausen* **25**, 1–45 (1954). — 18. RUTISHAUSER, A.: Cytogenetik des Endosperms. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* **66**, 318–336 (1956). — 19. SCHMIDT, H.: Beiträge zur Züchtung apomiktischer Apfelunterlagen. *Z. Pflanzenzüchtg.* **52**, 27–102 (1964). — 20. SKIEBE, K.: Die Bedeutung von unreduzierten Gameten für die Polyploidiezüchtung bei der Fliederprimel (*Primula malacoides* Franchet). *Züchter* **28**, 353–359 (1958). — 20a. SKIEBE, K.: Polyploidie und Fertilität. *Z. Pflanzenzüchtg.* **56**, 301–342 (1966). — 21. SMITH, B. W.: *Arachis hypogaea*. Normal megasporogenesis and syngamy with occasional single fertilization. *Amer. J. Bot.* **43**, 81–89 (1956). — 22. STEPHENS, S. G.: Colchicine-produced polyploids in *Gossypium*. I. An autotetraploid Asiatic cotton and certain of its hybrids with wild diploid species. *J. Genet.* **44**, 272–295 (1942). — 23. VALENTINE, D. H.: Evolutionary aspects of species differences in *Primula*. *Evolution* **7**, 146–158 (1953). — 24. VALENTINE, D. H.:

Seed-Incompatibility. Proc. 8th Intern. Bot. Congr. Sect. 9, 170–171 (1954). — 25. VALENTINE, D. H.: Studies in British Primulas. V. The inheritance of seed compatibility. New Phytologist 55, 305–318 (1956). — 26. VALENTINE, D. H., and S. R. J. WOODILL: Studies in British Primulas. X. Seed incompatibility in intraspecific and interspecific crosses at diploid and tetraploid levels. New Phytologist 62, 125–143 (1963). — 27. v. WANGENHEIM, K. H.: Zur Ursache der Abortion von Samenanlagen in Diploid-Polyploid-Kreuzungen. I. Die Chromosomenzahlen von mütterlichem Gewebe, Endosperm und Embryo. Z. Pflanzenzüchtg. 46, 13–19 (1961). — 28. v. WAN-

GENHEIM, K. H.: Zur Ursache der Abortion von Samenanlagen in Diploid-Polyploid-Kreuzungen. II. Unterschiedliche Differenzierung von Endospermen mit gleichem Genom. Z. Vererbungslehre 93, 319–334 (1962). — 29. v. WANGENHEIM, K. H.: Alterung und Tod — zellgenetisch betrachtet. Naturw. und Medizin 1, 3–21 (1964). — 30. v. WANGENHEIM, K. H., S. J. PELOQUIN, and R. W. HOUGAS: Embryological investigations on the formation of haploids in the potato (*Solanum tuberosum*). Z. Vererbungslehre 91, 391–399 (1960). — 31. WATKINS, A. E.: Hybrid sterility and incompatibility. J. Genet. 25, 125–162 (1932). —

The Incidence of Double-Yolked Eggs in Relation to Improvement in Egg Production *

DOROTHY C. LOWRY

Department of Poultry Husbandry, University of California, Berkeley, California

Summary. The production of double-yolked eggs and its relation to other egg production traits has been summarized over a period of thirty years for a closed flock selected for gains in total egg production.

The number of double-yolked eggs per pullet as well as the percentage of pullets laying at least one double-yolked egg have increased rather steadily, although it is evident that the trait possesses no selective advantage. Pullets which laid double-yolked eggs showed earlier sexual maturity and superiority in egg production but it is clear that the corresponding genetic correlations are low or negligible.

The heritability of the trait increased with its level of incidence and is sufficiently high that selection should increase the incidence to a level permitting further study of multiple ovulation.

Introduction

One of the phenomena observed in flocks of chickens under selection for higher egg production has been the appearance of occasional eggs containing more than one yolk. By and large, up to 1940 the literature was descriptive; little attention had been paid to the frequency of occurrence of double-yolked eggs in the improvement of flocks. CURTIS (1914) reported that 18% of 189 pullets laid one or two double-yolked eggs but only 1.5% laid more than two. However the length of the period of lay is not clear, nor is the number of single-yolked eggs in the period given. LACASSAGNE and JACQUET (1963 and 1965) presented data from which one can infer that the proportion of double-yolked eggs observed under normal conditions was roughly .125 and .035 respectively in two experiments for the first three months of lay. (These figures are based on samples of 232 and 40, respectively, Rhode Island × Wyandotte pullets, but the higher is surprising to the writer.) In the University of California White Leghorn flock at Berkeley, which has been selected for increased egg production continuously since 1932 (LERNER, 1958; ABPLANALP et al., 1964), the proportion of eggs with two (and occasionally more) yolks appears now to be of the order of .03 during the first four months of lay. An investigation as to whether the tendency to lay double-yolked eggs has increased concurrently

with egg production was undertaken. The summaries presented here for a sample of years pertain to the change in incidence of double-yolked eggs and to its relation to the behavior of some other traits. Some analyses were made in an attempt to identify possible genetic mechanisms underlying this trait.

Material and Methods

A long-term selection program for greater egg production has been carried on in a flock of Single-Comb White Leghorns since 1932. Concomitant selection against low egg weight has been practiced in order to maintain a spring egg weight of about 56 grams and hen-housed average production, rather than production of survivors, has been used in an attempt to maintain or increase viability. Until 1949, records for a full year's production (to October 1) comprised the basis of combined family and individual selection for females; since 1954, hen-housed egg production to January 1 only has been the primary selection criterion.

Chicks were hatched over a four-week period beginning early in March; thus they have been (since 1954) about fifty weeks of age at the time of selection of parents of the next generation. From 1932 to 1955 all eggs were candled and eggs with double-yolks were recorded; thereafter double-yolks were diagnosed merely from the abnormally large size and elongated shape usually associated with them. The error resulting from this change is believed to be primarily an underestimate in the number of pullets laying only one double-yolked egg, since the appearance of at least one double-yolked egg on the daily production record of a pullet would have increased the likelihood that the person recording would check (by candling) any subsequent doubtful double-yolked eggs laid by the pullet. For the purpose of this study only double-yolked eggs laid before December 1 were counted since it was obvious that their number was exceedingly small after that date. For Tables 1 and 4 tabulations for one of the earliest years and for ten of the subsequent years were thought to be sufficient to show the trends. The interval between the years chosen is not constant because years with known disease outbreaks between time of hatch and Decem-

* Dedicated to Professor HANS STUBBE on the occasion of his 65th birthday.