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

Herausgeber: Geobotanisches Institut, Stiftung Rübel (Zürich)

Band: 114 (1993)

Artikel: Biosystematisch-ökologische Untersuchungen an den "Erigeron"-Arten ("Asteraceae") der Alpen = Biosystematic-ecological investigations on the "Erigeron" species ("Asteraceae") of the Alps

Autor: Huber, Walter

Kapitel: 3: Methoden

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-308978

Nutzungsbedingungen

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

Conditions d'utilisation

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

Terms of use

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

Download PDF: 09.12.2025

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

3. METHODEN

3.1. SOZIOLOGIE

An 56 über die ganze Alpenkette verteilten *Erigeron*-Standorten wurden pflanzensoziologische Aufnahmen der Blüten- und Farnpflanzen durchgeführt. Zur Schätzung der Artmächtigkeit wurde die 7teilige Skala von BRAUN-BLANQUET (1964) übernommen (r, +, 1, 2, 3, 4, 5). Die Nomenklatur der aufgeführten *Erigeron*-Begleitarten richtet sich nach der "Flora der Schweiz" (HESS et al. 1976-1980); bei ausnahmsweise darin nicht enthaltenen Taxa (insbesondere aus den Gattungen *Alchemilla* und *Festuca*) entsprechen die Namen jener der "Flora Europaea" (TUTIN et al. 1964-1980). Kritische Arten wurden zur Bestimmung gesammelt und sind im Herbarium von Zürich (Z-ZT) hinterlegt. Bei jeder Aufnahme wurde das pH im Wurzelraum der *Erigeron*-Pflanzen mit dem "Hellige"-pH-Meter gemessen.
Die Aufnahmen wurden nach den vorkommenden *Erigeron*-Taxa zusammengefasst und tabellarisch dargestellt. In den Detailtabellen sind jeweils die Aufnahmen mit den zur gleichen morphologischen Artengruppe gehörenden *Erigeron*-Taxa enthalten (vgl. Kap. 4.1, HUBER und ZHANG 1991); nur die Aufnahmen mit *E. uniflorus* sind aus Gründen der Übersichtlichkeit in einer separaten Tabelle aufgeführt. Aufnahmen, welche gleich zwei oder drei *Erigeron*-Arten enthalten, wurden in jeder entsprechenden Detailtabelle berücksichtigt.
In den Tabellen sind die untersuchten *Erigeron*-Arten zuoberst aufgeführt. Darunter folgen Trennarten, mit deren Hilfe die Aufnahmen verschiedener *Erigeron*-Taxa voneinander unterschieden werden können. Die restlichen Begleitarten sind nach abnehmender Stetigkeit geordnet. Im Anschluss an die Detailtabellen werden die Arten aufgeführt, welche nur in einer Aufnahme (Tab. 6, 8, 10) oder in ein bis zwei Aufnahmen (Tab. 3) vorkamen. Zusätzlich zu den Detailtabellen wurde eine Gesamttabelle mit den stetesten und typischsten Arten erstellt: Arten die mindestens in 20% sämtlicher Aufnahmen oder in 80% der Aufnahmen eines bestimmten *Erigeron*-Taxons vorkamen.
Die Vegetationsaufnahmen wurden mit einer umfangreichen pflanzensoziologischen Literatur verglichen. An Standorten von *E. acer* und *E. angulosus*, die sich durch eine grosse Heterogenität auszeichnen, wurden keine eigenen Aufnahmen durchgeführt. Die Angaben über die soziologische Zugehörigkeit dieser Arten wurden der Literatur entnommen.

3.2. ÖKOLOGIE

Zur quantitativen Erfassung der *Erigeron*-Standorte wurden von sämtlichen Vegetationsaufnahmen die mittleren ökologischen Zeigerwerte nach LANDOLT (1977) berechnet. Diese empirischen Werte mit 5teiliger Skala sind wie folgt definiert:

F: Feuchtezahl (1: Trockenheitszeiger, 5: Nässezeiger)
R: Reaktionszahl (1: Säurezeiger, 5: Basenzeiger)
N: Nährstoffzahl (1 Magerkeitszeiger, 5: Überdüngungszeiger)
H: Humuszahl (1: Rohbodenzeiger, 5: Rohhumus- oder Torfzeiger)
D: Dispersitätszahl und Durchlüftungsmangelzahl (1: Felspflanzen, 5: Sauerstoffarmutszeiger)
L: Lichtzahl (1: Schattenzeiger, 5: Lichtzeiger)
T: Temperaturzahl (1: Kältezeiger, Hochgebirgspflanzen, 5: Wärmezeiger)
K: Kontinentalitätszahl (1: in ozeanischem Klima, 5: in kontinentalem Klima)

Obwohl diese Zeigerwerte auf den Verhältnissen in der Schweiz beruhen, sind fast alle im Ausland aufgenommenen Alpenpflanzen darin enthalten und weisen auf ähnliche ökologische Verhältnisse hin. Bei der Berechnung wurden sämtliche Arten mit Deckungswert r und + 1mal, solche mit 1 2mal, mit 2 3mal, mit 3 4mal, mit 4 5mal und mit 5 6mal gewichtet. Nur einzelne Begleitarten, welche in der schweizerischen Zeigerwertliste von LANDOLT (1977) nicht enthalten sind, fehlen in der Berechnung.
Mittels Hauptkomponentenanalyse der mittleren Zeigerwerte aus den pflanzensoziologischen Aufnahmen wurde eine Ordination der *Erigeron*-Standorte vorgenommen. Standorte mit mehreren *Erigeron*-Arten wurden dabei in der Graphik aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht eingetragen, bei der rechnerischen Analyse jedoch mitberücksichtigt. Als Rechenprogramm diente Stat View II von Abacus Concepts.
Die Kurzbeschreibung der Standorte basiert auf den Ergebnissen der mittleren Zeigerwerte, auf Feldbeobachtungen und auf Angaben aus der Literatur.

3.3. ZYTOLOGIE

Für die Chromosomenuntersuchungen wurden Wurzelspitzen kultivierter Pflanzen verwendet. Diese wurden 2 h bei Zimmertemperatur in 0.05%ige Colchicinlösung gegeben und anschliessend in Ethanol/Eisessig (3:1) während mindestens 1 Tag bei 3°C fixiert. Zur Anfärbung der Chromosomen wur-

den die Wurzelspitzen für 1 bis mehrere Tage bei 3°C in Orcein-Lactopropionsäure (DYER 1963) gegeben. Anschliessend wurden sie bis zum Aufkochen erhitzt und in einem Tropfen Orcein-Lactopropionsäure gequetscht.
Die Chromosomenzahlen wurden an 3-7 (meist 5) Individuen einer Population bestimmt. Pro Pflanze wurden 5-10 Metaphasen ausgewertet. Für die photographischen Aufnahmen wurden ein Zeiss Axioskop mit aufgesetzter Kamera M 35 W, ein Immersionsobjektiv Plan-Neofluar (100x / 1.30 Öl) und ein Tmax-Film (100 ASA) von Kodak verwendet.
Ab und zu wurden in Wurzelspitzen verschiedener Taxa neben Zellen mit der charakteristischen somatischen Chromosomenzahl zugleich Zellen mit doppelter Anzahl Chromosomen festgestellt. Diese durch einen Endomitoseschritt bewirkte Unregelmässigkeit könnte methodisch bedingt sein und wurde schon in andern Pflanzengruppen wie in der Gattung *Ranunculus* (HUBER 1988) mehrfach beobachtet.
Zur Ermittlung der Karyotypen wurden für jedes Taxon 2 verschiedene, möglichst weit auseinanderliegende Populationen untersucht (beim nur lokal vorkommenden *Erigeron glabratus* subsp. *candidus* wurde eine einzige Herkunft berücksichtigt). Pro Population wurden 3 Metaphasen von mindestens 2 verschiedenen Individuen ausgemessen. Als Messvorlagen dienten Mikrophotographien mit 5'000facher Vergrösserung.
Die absoluten Messwerte (Länge der langen und der kurzen Chromosomenarme) wurden in relative Längen (% der Gesamtlänge aller Chromosomen, ohne Satelliten) umgerechnet, damit verschiedene Metaphasen und Populationen miteinander verglichen werden konnten. Jedes Chromosom wird definiert durch seine Gesamtlänge (LA + KA: Summe aus langem und kurzem Arm, Centromer nicht mitgemessen) und das Längenverhältnis von langem zu kurzem Arm (LA/KA). Die Bezeichnung der Chromosomen richtet sich nach LEVAN et al. (1964), die 4 verschiedene Chromosomengruppen unterscheiden. Diese sind durch folgende Armlängenverhältnisse definiert:

- metazentrisch (m) LA/KA = 1.0 - 1.7
- submetazentrisch (sm) LA/KA = 1.7 - 3.0
- subtelozentrisch (st) LA/KA = 3.0 - 7.0
- akrozentrisch (t) LA/KA = > 7.0

Chromosomen mit ähnlichem Armverhältnis können aufgrund methodischer Fehler (wie präparative Unregelmässigkeiten, Messfehler) nur unterschieden werden, wenn mindestens 10% Längenunterschied oder aber Marker wie Satelliten vorhanden sind (vgl. PATAU 1960, 1965).

3.4. BESTÄUBUNGSEXPERIMENTE

Selbstbestäubungen
Die Pflanzen wurden im Gewächshaus vor dem Öffnen der Blütenköpfe durch Kunststoffnetze (Maschenweite 0.5 mm) vor Insektenbesuch geschützt. Anschliessend wurden die Blütenköpfe entweder sich selbst überlassen oder nach einigen Tagen, wenn die Narben der äusseren (weiblichen) Zungen- und Fadenblüten herausragten und die Antheren der (zwittrigen) Röhrenblüten zumindest teilweise geplatzt waren, aktiv selbstbestäubt. Dabei wurde entweder der Pollen auf dem Blütenkopf verteilt oder zwei Köpfe derselben Pflanze wurden zur Pollenübertragung aneinander gerieben. Danach blieben die bestäubten Köpfe nochmals bis zur Ernte der Früchte (nach meist etwa 3 Wochen) durch die Netze geschützt. Wegen der ausgeprägten zeitlichen Abfolge der Blütenreife vom Rand des Blütenkopfes zum Zentrum wurden durch die einmalig durchgeführte Bestäubung nicht alle Blüten eines Kopfes bestäubt.

Fremdbestäubungen
Bei einigen Arten wurden Pflanzen innerhalb derselben Population sowie zwischen verschiedenen artgleichen Populationen fremdbestäubt. Es wurde gleich verfahren wie bei den aktiven Selbstbestäubungen: Aneinanderreiben der Blütenköpfe, Schutz mit Kunststoffnetzchen.

Kreuzungen
Die als Eltern vorgesehenen Pflanzen wurden wie bei den Selbstbestäubungen vor Öffnung der Blütenköpfe mit den Kunststoffnetzen geschützt. Nach einigen Tagen wurden die geeignet entwickelten Blütenköpfe durch Aneinanderreiben mit artfremden Köpfen bestäubt. Da auch bei der als Mutter verwendeten Pflanze jeweils Antheren geplatzt waren, konnte bei der Manipulation Selbstbestäubung nicht verhindert werden. Um die durch Selbstbestäubung hervorgegangenen Pflanzen von F_1-Bastarden zu unterscheiden, wurden alle blühenden Nachkommen mittels verschiedener Methoden untersucht (Kap. 9.3).

3.5. KEIMUNG

Zur Ermittlung von Keimungsraten und zu einer allfälligen Optimierung von Keimungsbedingungen wurden Samen der untersuchten *Erigeron*-Taxa an natürlichen Standorten gesammelt und während höchstens 1 Jahr trocken bei

Zimmertemperatur gelagert. Vor der Aussaat in Gartenerde wurden äusserlich gut entwickelte Früchte auf verschiedene Weise vorbehandelt:

1. Kälte-Vorbehandlung in Petrischalen auf feucht gehaltenem Filterpapier bei 3°C und Dunkelheit
   a) während 2 Wochen
   b) während 4 Wochen
   c) während 6 Wochen
2. Kälte-Vorbehandlung in Papiertüten (trocken) bei 3°C und Dunkelheit während 6 Wochen
3. ohne Vorbehandlung

Pro Vorbehandlungsweise und Taxon wurden von 1-4 Populationen je 25-150 Samen getestet. Die Beobachtungszeit betrug mindestens 2 Monate.

3.6. POLLENFERTILITÄT

Unter dem Begriff Pollenfertilität wird das Verhältnis gut ausgebildeter und homogen anfärbbarer Pollenkörner zur Gesamtzahl der Körner (fertile plus sterile) verstanden.
Zur Untersuchung wurden aus den Blütenköpfen von *Erigeron*-Pflanzen einige Blüten mit reifen, geschlossenen oder sich öffnenden Antheren entnommen. Die Antheren wurden in einem Tropfen Karminessigsäure zerdrückt, so dass sich der Pollen möglichst gleichmässig im Präparat verteilte. Die gut ausgebildeten, mit Zytoplasma ausgefüllten Körner waren nach 15-30 min homogen rot angefärbt; die oft kleineren oder deformierten, sterilen Körner hingegen blieben farblos. Zweifelhafte Fälle waren selten.
Pro Pflanze wurden mindestens 100 Körner geprüft. Für sämtliche Arten wurden mehrere Populationen mit je 5 Individuen untersucht. Die Blütenköpfe der meisten Populationen stammten aus der Natur; bei einzelnen Populationen wurden die im Gewächshaus gebildeten Köpfe verwendet. Die Fertilität verschiedener experimenteller Bastardkombinationen konnte mit jener der Elternarten verglichen werden.

3.7. ENZYM-ELEKTROPHORESE

Zubereitung der Proben

Frische Blätter (50-80 mm^2 pro Pflanze) wurden auf Keramiklochplatten in 0.2 ml Tris-HCl-Extraktionspuffer gemörsert. Die Lochplatten wurden bei 3°C vorgekühlt und während des Mörserns auf Eis gelegt. Der Extraktions-

puffer wurde gemäss SOLTIS et al. (1983) hergestellt: 0.025 ml 2-Mercaptoethanol, 0.01 g EDTA (4 Na), 0.019 g Kaliumchlorid, 0.05 g Magnesiumchlorid-Hexahydrat, 2.5 g Polyvinylpyrrolidon (PVP) 40'000 und 25 ml 0.1 M Tris-HCl-Puffer mit pH 7.5. Die Extrakte wurden höchstens 2 h bei 3°C aufbewahrt, bevor sie mit Filterpapierstreifen (1x2x13 mm) aufgesaugt wurden.

Elektrophorese

Horizontale Stärkegel-Elektrophorese wurde nach den Angaben von SOLTIS et al. (1983) durchgeführt. Die Gele wurden mit 12.8%iger hydrolisierter Stärke (Sigma) zubereitet und in Plexiglaswannen gegossen, welche einen direkten Kontakt des Gels mit dem Elektrodenpuffer gewährleisteten. Ein Gel wurde mit 32 Proben-enthaltenden Filterpapierstreifen und 2 seitlichen Frontmarkern (Bromphenolblau 0.04%) beladen. Folgendes Puffersystem wurde ausgewählt: Elektrodenpuffer: 0.223 M Tris, 0.069 M Zitronensäure (wasserfrei), pH 7.2; Gelpuffer: 0.008 M Tris, 0.002 M Zitronensäure, pH 7.2. Die Auftrennung erfolgte bei 3°C mittels einer konstanten Stromstärke von 35 mA während 12 min. Anschliessend wurden die Filterpapierstreifen entfernt und die Gele 50 mA ausgesetzt, bis die Front 9 cm gewandert war.

Die Gele wurden in 1.5 mm dicke Scheiben (maximal 6) geschnitten. Diese wurden nach den Rezepten von WENDEL und WEEDEN (1989; Methode 1) für Diaphorase und von SOLTIS et al. (1983) für die übrigen Enzyme angefärbt. Die verwendeten Enzyme mit EC-Nummern (Enzyme Commission, International Union of Biochemists, Nomenclature Committee 1984) und Abkürzung sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Funktionell ähnliche aber molekular verschiedene Formen eines Enzyms werden als Isoenzyme bezeichnet, wenn diese (oder ihre Polypeptid-Untereinheiten) von verschiedenen Genloci codiert werden; man nennt sie Allo-

Tab. 1. Liste der untersuchten Enzyme mit EC (Enzyme Commission) - Nummer und Abkürzung.
List of enzymes investigated with EC (Enzyme Commission) number and abbreviation.

Enzym	EC-Nummer	Abkürzung
Saure Phosphatase	3.1.3.2	ACP
Diaphorase	1.6.4.3	DIA
Isocitrat-Dehydrogenase	1.1.1.42	IDH
Leucin-Aminopeptidase	3.4.11.1	LAP
Malat-Dehydrogenase	1.1.1.37	MDH
Malat-Enzym	1.1.1.40	ME

enzyme, wenn sie durch verschiedene Allele desselben Locus codiert werden (vgl. GOTTLIEB 1977, CRAWFORD 1989). Als verschiedene Isoenzyme interpretierte Banden eines Enzyms wurden fortlaufend von der Anoden-nächsten Bande (Nr. 1) zu mehr Kathoden-wärts liegenden Banden numeriert (vgl. HUBER und LEUCHTMANN 1992). Die Anoden-nächste Alloenzymbande wurde mit a bezeichnet (relative Laufdistanz 100) und weiteren Alloenzymen desselben Isoenzymes wurden Kleinbuchstaben in der Reihenfolge ihrer Laufdistanz (gemessen in der Bandenmitte) zugeordnet. Banden, die ausschliesslich bei Bastarden vorhanden waren, wurden mit x bezeichnet (siehe Tab. 36). Für die Aufnahmen der Gele über einem Leuchttisch wurde ein Technical Pan Film 2415 (100 ASA) von Kodak verwendet.