

Enige opmerkingen over de voortplantingswijze van *Hieracium pilosella* L. en enkele verwante taxa

door

TH. W. J. GADELLA (Vakgroep Populatie- en Evolutiebiologie, Utrecht)

Het omvangrijke genus *Hieracium* valt volgens Zahn uiteen in vier subgenera, waarvan er drie in Europa voorkomen. Naast *Hieracium* wordt *Pilosella* wel als apart genus opgevat. Er bestaan inderdaad duidelijke en belangrijke verschillen, zoals de aan- of afwezigheid van uitlopers (stolonen), de aanwezigheid van één of van twee rijen haren bij het pappus en ten slotte belangrijke verschillen in embryologie en voortplanting. Deze verschillen zijn zodanig, dat onderscheid op genus-niveau niet onjuist lijkt, zeker wanneer men deze verschillen vergelijkt met die tussen diverse geaccepteerde genera bij de *Compositae*. Ik billijk echter de opvatting van SELL & WEST (1976) in *Flora Europaea IV* dat het doel van deze flora het meest gediend is met continuïteit t.o.v. het werk van Zahn en de meerderheid van de meer locale en regionale flora's in Europa, zodat ook hier *Pilosella* als subgenus zal worden opgevat.

Evenals andere genera met (gedeeltelijk) apomictische voortplanting, kenmerkt ook *Hieracium* zich door een groot aantal taxa. Ik wil in dit artikel op de voortplantingswijze

van een paar soorten (*Hieracium pilosella* L., *H. hoppeanum* Schult. en *H. peleterianum* Mérat) nader ingaan, omdat de variatiepatronen en de voortplantingswijze(n) zo nauw blijken samen te hangen. Genoemde soorten behoren alle tot het subgenus *Pilosella*. Voor zover binnen *Hieracium* de voortplanting apomictisch is, is die altijd autonoom apomictisch, d.w.z. er is in het geheel geen stuifmeel nodig. Bij andere genera, zoals *Rubus*, *Sorbus* en *Potentilla* is nog wel stuifmeel nodig, echter niet voor de bevruchting van de eicel (want deze ontwikkelt zich spontaan tot een embryo), maar voor de ontwikkeling van het z.g. secundaire endosperm, het reserve-voedsel bevattende weefsel dat dient voor de voeding van het zich ontwikkelende embryo. Bij het subgenus *Pilosella* is de apomixis van het z.g. apospoor-parthenogenetische type, bij *Hieracium* van het diplospoor-parthenogenetische type. Dit behoeft enige toelichting.

Bij iedere vorm van apomictische voortplanting waarbij zaad ontstaat, blijven twee belangrijke onderdelen van de normale levenskringloop van planten afwezig, i.c. de reductiedeling en de bevruchting. De embryo's die in de zaden ontstaan zijn derhalve in genetische zin identiek aan de „moeder“-plant. Dit in tegenstelling tot de zaden die ontstaan na geslachtelijke voortplanting. Zowel bij de vertegenwoordigers van *Hieracium* als van *Pilosella* wordt een diploide, d.w.z. ongereduceerde eicel gevormd, maar het verschil zit in de wijze waarop de 8-kernige embryozak ontstaat. Normaal ontstaat bij een seksuele plant deze embryozak door reductiedeling uit een embryozakmoedercel. Van de vier gevormde embryozakken gaan er drie te gronde en de enig overblijvende levert uiteindelijk een achttal kernen, waarvan de eicel voor de voortplanting de belangrijkste is.

Bij *Pilosella*, waarbij aposporie voorkomt, gaan alle vier de gevormde embryozakken te gronde en wordt elders in de zaadknop (dus niet op de plaats van het z.g. archesporium) een nieuwe ongereduceerde embryozak gevormd. Dit kan zijn vlak bij de integumenten, bij de chalaza (= vaatmerk) of elders in de nucellus. De eicel uit deze embryozak levert vervolgens zonder bevruchting (= parthenogenetisch) een embryo. Bij *Hieracium*, waarbij diplosporie voorkomt, wordt op de normale plaats in de zaadknop (dus in het archesporium) een embryozakmoedercel gevormd. Deze lijkt een reductiedeling te gaan plegen, doch houdt daar na enige tijd mee op en uiteindelijk wordt al het genetische materiaal opgenomen in één nieuwe kern, de z.g. restitutiekeren. Daarna volgt nog een deling en ontstaan twee (i.p.v. vier) embryozakken en wel van het ongereduceerde type, waarvan er één tot een 8-kernige uitgroeit. De eicel hiervan groeit, evenals dat bij *Pilosella* het geval is, parthenogenetisch uit tot een embryo.

Ook bij de stuifmeelvorming zien we verschil tussen *Hieracium* en *Pilosella*. Bij het eerste subgenus verloopt de reductiedeling vaak zeer gebrekkig en dit resulteert hetzij in een zeer hoog percentage abnormaal pollen, hetzij in het volledig ontbreken van functioneel pollen. Bij *Pilosella* zien we dat de pollenvorming doorgaans goed is, zowel uiteraard bij de geslachtelijke maar ook bij de apomictische vormen. In dit opzicht lijkt de groep van de *Vulgaria* uit het genus *Taraxacum* op het subgenus *Hieracium*, ook hier komt diplosporie en dikwijls gebrekkig pollen voor. Ook bij *Pilosella* treedt reductiedeling bij de vorming van het pollen op.

Bij de soorten *H. pilosella*, *H. hoppeanum* en *H. peleterianum* komen drie voortplantingswijzen in principe in aanmerking:

- a. uitlopervorming;
- b. geslachtelijke voortplanting via zaad;
- c. apomictische voortplanting via zaad.

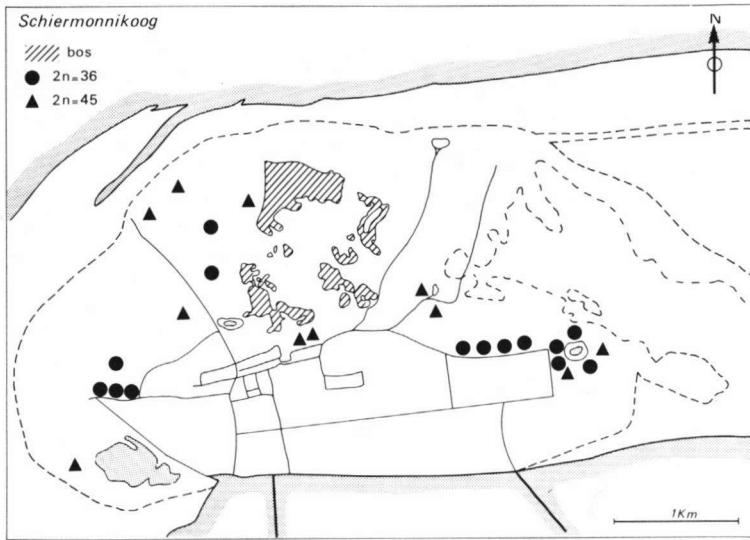


Fig. 1. De verspreiding van de tetra- en pentaploïde rassen van *Hieracium pilosella* L. op het westelijke deel van het eiland Schiermonnikoog.

In het hiervolgende zal slechts over de sub b en c vermelde voortplantingswijzen worden gesproken, hoewel de voortplanting via uitlopers ook invloed kan hebben op het sub b vermelde voortplantingsgedrag. Immers, de planten van het genus *Hieracium* zijn, indien zij geslachtelijk zijn, zelfincompatibel, d.w.z. zij zijn niet in staat na zelfbestuiving zelfbevruchting te effectueren. Indien nu een vruchtje van een geslachtelijke plant zeer ver van de moederplant terecht komt, zal dit vruchtje (= achenium) na kieming een grote kloon kunnen opbouwen met vele bloemhoofdjes. Deze hoofdjes zullen geen rijpe achenia kunnen vormen, ook al zouden voldoende insecten voorhanden zijn om het stuifmeel te verspreiden, omdat het hier in wezen gaat om zelfbestuiving. De gevormde kloon zal geen zaad kunnen zetten en steriel lijken, maar dit is in feite niet het geval. Overbrenging naar een proeftuin in de nabijheid van andere planten van dezelfde soort bewijst dit.

Voor de bestudering van de voortplantingswijze van de drie soorten werd materiaal in diverse delen van Europa verzameld: *H. pilosella* in vrijwel geheel Europa (zie GADELLA, 1972), later aangevuld met vnl. Z.- en C.-Europees materiaal (GADELLA, ongepubliceerd); *H. peleterianum* uit Nederland (Terschelling), de Franse en Italiaanse Alpen, Denemarken en Noorwegen; *H. hoppeanum* uit Zwitserland en Joegoslavië. Bij geen van de drie soorten werd getracht het bestudeerde materiaal tot op infraspecifiek niveau te determineren; volstaan werd met de „Hauptarten” volgens Zahn.

Cytologisch onderzoek wees uit dat *Hieracium pilosella* in Europa is gekenmerkt door de volgende chromosoomaantallen: $2n = 18, 36, 45, 54, 63$, *H. hoppeanum* en *H. peleterianum* door $2n = 18$. Het diploïde ($2n = 18$) ras van *H. pilosella* is zeldzaam en werd uitsluitend aangetroffen bij Aosta. Prof. van Soest determineerde dit materiaal en rekende het tot de subsp. *subvirescenticeps* Zahn. Dit zeldzame materiaal is helaas doodgegaan en zal in het hier volgende niet verder worden besproken. Het tetraploïde ($2n = 36$) materiaal van *H. pilosella* is zeer algemeen in W.-Europa, met name in Nederland, België, N.-

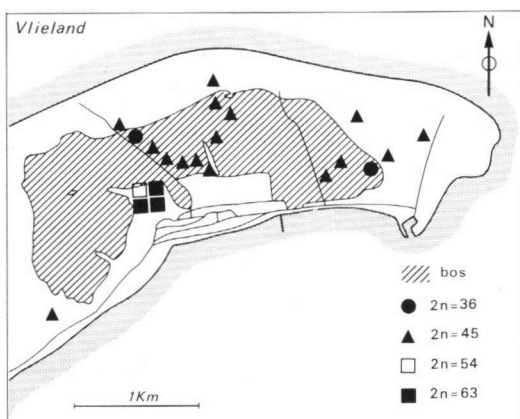


Fig. 2. De verspreiding van de tetra-, penta-, hexa- en heptaploïde rassen van *Hieracium pilosella* L. op het oostelijke deel van het eiland Vlieland.

Frankrijk, Engeland en Duitsland. Het pentaploïde type ($2n=45$) komt veel voor in Scandinavië, op de Nederlandse Waddeneilanden Schiermonnikoog en Vlieland (zie fig. 1 en 2) en ook in Schotland. De hexaploïden ($2n=54$) werden aangetroffen bij de Slufterbollen op Texel en op één plaats op het eiland Vlieland (zie fig. 2). Buiten Nederland komen zij vooral voor in de Alpen, Oostenrijk en Joegoslavië. In de westelijke Alpen behoren de hexaploïden dikwijls tot de groep *incanum* (DC.) Zahn. Heptaploïde planten ($2n=63$) zijn zeer zeldzaam in Europa en zijn in ons land uitsluitend aangetroffen op het Vuurboetsduin bij het dorp Oost-Vlieland (zie fig. 2). Buiten deze cytotypen (= chromosoomrassen) werden op het eiland Terschelling triploïde planten ($2n=27$) aangetroffen in het bos bij Formerum. In de directe nabijheid stond een grote groep planten van de soort *H. peleterianum* ($2n=18$) en van *H. pilosella* ($2n=36$), zodat het waarschijnlijk is dat de intermediaire planten als bastaarden moeten worden beschouwd.

Bij planten van al deze cytotypen werden bloemhoofdjes omhuld in het knopstadium. Na enkele dagen gingen de hoofdjes open en dan werd, na verwijdering van de omhullende zak, met behulp van een strookje papier over het bloemhoofdje gestreken, zodat het eigen stuifmeel op de stempel terecht kwam. Daarna werd de bloeiwijze weer omhuld en na het verstrijken van de bloei werd het omhulsel er afgehaald. Na 10–14 dagen konden de achenia worden geoogst en getoetst op kieming. De resultaten waren als volgt:

- a. 26 biotypen van *H. peleterianum* ($2n=18$) en 10 van *H. hoppeanum* ($2n=18$) leverden nimmer een rijp achenium. Hieruit blijkt dat de diploïde planten zich geslachtelijk voortplanten.
- b. 181 biotypen van *H. pilosella* ($2n=36$) werden eveneens getoetst en bij 175 werden nimmer rijpe en kiemkrachtige achenia gevormd, bij 6 biotypen wel. Deze laatste zullen volgend jaar aan een nader onderzoek worden onderworpen.
- c. de hogere polyploïden van *H. pilosella* ($2n=45, 54, 63$) leverden meestal wel zaad na omhulling, dat tot kieming in staat bleek. Hieruit blijkt dat de hogere polyploïden vermoedelijk apomictisch zijn. Dit geldt in ieder geval voor de oneven polyploïden ($2n=45$ en $2n=63$), doch ten dele ook voor de even polyploïden ($2n=54$).

Na deze omhullingsproeven werd volgens de methode van TURESSON & TURESSON (1960) een reeks castratie-experimenten ingezet. Bij diverse planten van de verschillende cytotypen werden met behulp van een scheermes de ongeopende bloemhoofdjes gehalveerd, n.l. door een doorsnede te maken loodrecht op de as van de bloemhoofdjes, juist boven de vruchtbeginsels. Op deze wijze wordt het gehele androecium (= alle meeldraden bij elkaar) verwijderd. Daarna werd zo'n bloemhoofdje omhuld met een pergamijszak om te voorkomen dat toch nog pollenkorrels op de hoofdjes terecht zouden kunnen komen. Deze methode is nogal rigoureuus en mislukt nogal eens, maar door de proef bij dezelfde planten een aantal keren te herhalen, is toch een voldoende serie resultaten te verkrijgen. Het bleek dat gecastreerde planten van *H. peleterianum* en *H. hoppeanum* (beiden $2n = 18$) en van *H. pilosella* ($2n = 36$) geen rijpe en kiemkrachtige achenia konden vormen, doch dit was dikwijls wel het geval bij de hogere polyploïden van *H. pilosella* ($2n = 45, 54, 63$). Dit is een doorslaggevend bewijs van autonome apomixis van deze cytotypen. De achenia werden vervolgens gezaaid en bleken dan altijd planten op te leveren met hetzelfde chromosoom-aantal als de moederplant, terwijl ook hun morfologische eigenschappen volledig hetzelfde waren.

Uit de castratie- en omhullingsproeven bleek dus dat een deel van de cytotypen zich geslachtelijk voortplant en een deel apomictisch. Voor de zekerheid werden nog enkele diploïde en tetraploïde planten aan een nader onderzoek onderworpen. Wanneer twee planten van diverse herkomst, doch van hetzelfde cytotype, vlak bij elkaar worden geplaatst en hun ongeopende bloemhoofdjes in één pergamijszak worden gestoken, ontstaan altijd bij beide planten volop kiemkrachtige achenia wanneer tijdens de bloei de hoofdjes tegen elkaar worden gewreven. Dit is een bewijs voor het feit dat de geslachtelijke planten zelfincompatibel zijn. De triploïde planten uit Terschelling leverden nimmer rijpe achenia, noch na omhulling, noch na castratie, noch na bestuiving met enig ander cytotype. Daaruit moet worden geconcludeerd dat deze planten volledig steriel zijn.

Bij de omhullingsproeven werden aantekeningen gemaakt betreffende de kleur van de achenia. Deze zijn bruin of zwart. De zwarte kiemen meestal, minstens voor een groot percentage in de meeste gevallen, de bruine nooit. Het is opvallend dat de pentaploïden ($2n = 45$) meestal zeer veel zwarte kiemkrachtige achenia vormen na omhulling, doch dat de heptaploïden ($2n = 63$) zeer veel bruine achenia vormen en dat ook hun zwarte achenia slechts voor een gering percentage kiemen.

Vervolgens werden planten van verschillende cytotypen met elkaar gekruist. Hierover zal elders meer worden meegedeeld; ik wil in dit artikel volstaan met enkele algemene opmerkingen:

- a. Kruisingen tussen *H. peleterianum* en *H. hoppeanum* mislukten altijd. Nimmer werden nakomelingen gevormd wanneer twee gesloten hoofdjes in één omhullingszak werden gebracht en vervolgens, enkele dagen later, stuifmeel van het ene geopende hoofdje op het andere werd gebracht.
- b. Kruisingen tussen *H. hoppeanum* en *H. peleterianum* enerzijds en het tetraploïde ($2n = 36$) type van *H. pilosella* anderzijds gelukten in een aantal gevallen, leidend tot volledig steriele bastaarden met $2n = 27$. Deze kunnen echter krachtige vegetatieve reproductie vertonen via uitlopervorming, zoals bleek in de proeftuin en in de natuur, in het bos van Formerum op Terschelling.
- c. Stuifmeel van apomictische pentaploïde ($2n = 45$) planten van *H. pilosella* werd overgebracht op seksuele planten van dezelfde soort met het chromosoomaantal $2n = 36$. Hieruit ontstonden vele nakomelingen met hetzij $2n = 36$ (sexueel), hetzij

$2n = 45$ (apomictisch). Daaruit blijkt dat apomictische planten functioneel stuifmeel hebben en dat uit een sexuele plant apomictische nakomelingen kunnen ontstaan. Pentaploïden kunnen dus wel bevruchten, maar zij kunnen zelf niet bevrucht worden, want uit de reciproke kruising (d.w.z. $2n = 45\text{♀} \times 2n = 36\text{♂}$) ontstonden altijd apomictische pentaploïde nakomelingen.

- d. Stuifmeel van hexaploïde ($2n = 54$) planten werd overgebracht op tetraploïde planten met sexuele voortplanting. Hieruit ontstonden altijd apomictische pentaploïde nakomelingen. Daaruit blijkt dat ook in dit geval een sexuele plant apomictische nakomelingen kan leveren en nu zelfs, in tegenstelling tot de sub c vermelde kruising, *exclusief* apomictische nakomelingen. De reciproke kruising (d.w.z. $2n = 54\text{♀} \times 2n = 36\text{♂}$) leverde tot dusverre alleen hexaploïde apomictische nakomelingen, die volledig identiek waren aan de moederplant (z.g. maternellen).
- e. Stuifmeel van een heptaploïde plant ($2n = 63$) werd overgebracht naar een tetraploïde sexuele plant. Hieruit ontstonden zowel enige sexuele tetraploïde nakomelingen als een aantal pentaploïde apomictische nakomelingen. Ook hieruit blijkt dat de heptaploïden functioneel stuifmeel moeten hebben. De vorming van de tetraploïde sexuele nakomelingen is vooralsnog onverklaarbaar. Ook in dit geval ontstonden uit een sexuele moederplant ten dele apomictische nakomelingen. De reciproke kruising ($2n = 63\text{♀} \times 2n = 36\text{♂}$) levert altijd heptaploïde apomictische nakomelingen.
- f. Planten van *H. pilosella* met het chromosoomaantal $2n = 54$, afkomstig van het Vuurboetsduin op Vlieland, werden bestoven met stuifmeel van hexaploïde ($2n = 54$) planten uit de W.-Alpen. Hieruit ontstond, naast een aantal apomictische maternellen ($2n = 54$), één enkele plant met het chromosoomaantal $2n = 81$, een aantal dat tot dusverre nog nooit in de natuur is aangetroffen. De oorsprong van deze plant kan niet anders worden verklaard dan door aan te nemen dat een ongereduceerde eicel ($2n = 54$) bevrucht is door gereduceerd stuifmeel ($n = 27$) van de plant uit de Alpen. Dergelijke bastaarden met verhoogd chromosoomaantal worden additie-bastaarden genoemd, ook wel B-III bastaarden. Daaruit blijkt dat apomictische planten, bij wijze van uitzondering, ook kunnen worden bevrucht. Dit moet gepaard gaan met verhoging van het chromosoomaantal. De plant met $2n = 81$ was apomictisch.
- g. Planten van het Vuurboetsduin van Vlieland ($2n = 63$) werden bestoven met stuifmeel van hexaploïde ($2n = 54$) planten uit diverse populaties. Hieruit ontstonden vele apomictische planten met $2n = 63$ (alle maternellen en apomictisch), doch één plant met het chromosoomaantal $2n = 90$, eveneens nimmer in de natuur aangetroffen. Ook hier moet een ongereduceerde eicel bevrucht zijn door een gereduceerde mannelijke kern (d.w.z. $2n = 63\text{♀} \times n = 27\text{♂} \rightarrow F_1: 2n = 90$). De decaploïde ($2n = 90$) plant was apomictisch. Ook in dit geval is sprake van een additiebastaard. Deze additiebastaarden lijken het meest op de ouder die het hoogste aantal chromosomen leverde.

Uit deze experimenten blijkt dat de soort *H. pilosella* zich kenmerkt door de volgende voortplantingsmogelijkheden:

1. uitlopervorming;
2. geslachtelijke voortplanting, gepaard met zelfincompatibiliteit ($2n = 36$);
3. apomictische voortplanting, de cytotypen: $2n = 45, 54, 63$;
4. incidentele bevruchting van ongereduceerde eicellen, leidend tot additie-bastaarden, in dit geval $2n = 81$ en $2n = 90$;

5. het leveren van apomictische en geslachtelijke nakomelingen na bestuiving van een sexuele moederplant ($2n = 36$) met pollenkorrels van apomictische planten ($2n = 45$ en $2n = 63$);
6. het leveren van apomictische nakomelingen na bestuiving van een sexuele plant ($2n = 36$) met pollen van een hexaploïde apomict ($2n = 54$).

De geslachtelijke voortplanting van de tetraploïde planten ($2n = 36$) wijkt af van de situatie bij *H. aurantiacum*, waar tetraploïde planten ook apomictisch zijn (SKALIŃSKA, 1971, 1973). De functionaliteit van het pollen van apomicten kon duidelijk worden aangetoond. Dat variabiliteit en voortplantingswijze zeer nauw samenhangen blijkt wel uit de taxonomische behandeling van de drie bestudeerde soorten: Zahn onderscheidde talloze subspecies bij *H. pilosella*, doch veel minder bij de soorten *H. hoppeanum* en *H. peleterianum*. De soort *H. pilosella* kan via recombinatie bij geslachtelijke voortplanting genetisch divers nakomelingschap opleveren, doch sterk heterozygote planten vrijwaren van uitsplitsing door apomictische voortplanting. Het onderzoek zal nog verder moeten worden voortgezet. De ontstaanswijze van planten met het chromosoomaantal $2n = 63$ is nog altijd een probleem. Ook de eventueel aanwezige verschillen in oecologische preferentie van de sexuele en apomictische planten vormen een nog nader uit te werken aspect. Een blik op de kaartjes van Schiermonnikoog en Vlieland laat zien dat hier interessante onderzoeksmogelijkheden liggen.

Het taxonomisch onderzoek aan vele apomictische taxa en hun vaak talloze intraspecifieke varianten is gedurende vele jaren op uitnemende wijze door Van Soest verricht. Als experimenteel systematicus primair geïnteresseerd zijnde in de mechanismen die achter deze enorme variabiliteit schuil gaan, meende ik er goed aan te doen door in deze feestbundel op deze gecompliceerde achtergrond te wijzen. Dat de problemen hier niet eenvoudiger liggen dan op het vlak van de classificatie staat wel vast.

Literatuur

- GADELLA, T. W. J., 1972. Biosystematic studies in *Hieracium pilosella* L. and some related species of the subgenus *Pilosella*. Bot. Not. 125, p. 361–369.
- SELL, P. D. & C. WEST, 1976. *Hieracium* L., in Flora Europaea IV, p. 358–410.
- SKALIŃSKA, M., 1971. Experimental and embryological studies in *Hieracium aurantiacum* L. Acta Biol. Cracov. 14, p. 139–152.
- , 1973. Further studies in facultative apomixis of *Hieracium aurantiacum* L. Acta Biol. Cracov. 16, p. 121–133.
- TURESSON, G. & B., 1960. Experimental studies in *Hieracium pilosella* L. I. Reproduction, chromosome number and distribution. Hereditas 46, p. 717–736.

Summary

In three species (Hauptarten sensu Zahn) of the subgenus *Pilosella* the following chromosome numbers were found: *H. peleterianum* ($2n = 18$), *H. hoppeanum* ($2n = 18$), and *H. pilosella* ($2n = 18, 36, 45, 54, 63$). Hybrids between *H. hoppeanum* and *H. peleterianum* on the one hand and *H. pilosella* ($2n = 36$) on the other, were triploid and completely sterile. The diploids and tetraploids proved to be amphimictic and selfincompatible. The higher polyloids turned out to be apomictic. In one case the pollination of a hexaploid plant with pollen of another hexaploid led, in addition to purely maternal sisterplants, to a single apomictic enneaploid ($2n = 81$). In another case the summation of the chromosomes of an unreduced egg cell of a heptaploid ($2n = 63$) plant and those of a reduced pollengrain ($n = 27$) of a hexaploid plant led to a single apomictic decaploid ($2n = 90$) plant. These high polyloids were not found in natural populations. Pollination of a sexual tetraploid plant with pollen of an apomictic hexaploid led to the formation of apomictic pentaploids.