

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang,  
Abteilung für Plasmavererbung

GENETISCHE, ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE  
UND CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN  
ZUR PLASMAVERERBUNG

II. Mitteilung

ÜBER EINE PLASTIDENMUTATION  
MIT INTRACELLULARER WECHSELWIRKUNG DER PLASTIDEN,  
ZUGLEICH EIN BEITRAG ZUR METHODIK DER PLASMONANALYSE  
UND ZUR ENTWICKLUNGSGESCHICHTE VON *EPILOBIUM* \*

Von

P. MICHAELIS

Mit 18 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Mai 1957)

I. Einleitung und Problemstellung

Wird eine größere Zahl von weiß-grünen Schecken untersucht (CORRENS-WETTSTEIN 1937, WEIER-STOCKING 1952, MICHAELIS 1957 a), so lassen sich nach den mikroskopischen Befunden 2 Grundtypen unterscheiden. Bei dem einen Typus kommen zum mindesten während des Höhepunktes der Scheckung zahlreiche „Mischzellen“ vor. Diese Mischzellen sind dadurch gekennzeichnet, daß in ihnen 2 scharf geschiedene Plastidenklassen, z. B.  $\pm$  farblose und grüne Plastiden, in charakteristischen Zahlenverhältnissen auftreten. Alle bisher vom Verfasser untersuchten Schecken mit Mischzellen zeigen einen nicht mendelnden, mütterlichen Erbgang. Auf diesen Typus der Scheckung trifft die allgemein angenommene Theorie einer echten Plastidenvererbung (RENNER 1934) zu: die Unterschiede der Form und des Verhaltens der einzelnen Plastiden werden *endogen* durch die in jedem dieser Plastiden lokalisierten Erbträger (Plastogene<sup>1</sup>) bestimmt. Die Scheckung kommt nach BAUR (1909) durch eine Entmischung der verschiedenen erblich fixierten Plastiden während der Zellteilungen zustande. Es läßt sich nach-

\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.  
Herrn Professor FITTING zu seinem 80. Geburtstage gewidmet.

<sup>1</sup> Zur Nomenklatur: Plasmon = Summe aller extranucleären Erbträger, Plastom = Summe der in den Plastiden lokalisierten Erbträger (Plastogene IMATS). Homoplastomatische, resp. heteroplastomatische Zellen enthalten gleichartige, resp. verschiedenartige Plastogene. Plastidom (DANGEARD 1919) = Summe aller Plastiden einer Zelle. Homoplastidische, resp. heteroplastidische Zellen enthalten gleich, resp. verschieden aussehende Plastiden. Mischzellen = heteroplastomatische Zellen. Pseudomischzellen = heteroplastidische, jedoch homoplastomatische Zellen.

weisen, daß das Mischungsverhältnis der normalen und abnormen Plastiden in den Zellen und daß das Vorkommen der Mischzellen und die Anordnung von weißen und grünen Geweben zu Scheckungsmustern wirklich den Verhältnissen entspricht, die sich bei einer Plastidentmischung im Modellversuch und durch Rechnung ableiten lassen (MICHAELIS 1955 a, 1955 b, 1957 b).

Bei einem zweiten Grundtyp der Schecken fehlen Mischzellen prinzipiell. Dieser Scheckungstyp läßt sich durch die Annahme erklären, daß Aussehen und Verhalten der Plastiden *exogen* durch Wirkstoffe bestimmt werden, die durch die ganze Zelle diffundierend — bei einzelnen Schecken sogar über die Zellgrenzen hinweg diffundierend — sämtliche Plastiden des Plastidoms in gleicher Weise beeinflussen. Über die Herkunft dieser Wirkstoffe läßt sich auf Grund cytologischer Untersuchungen nicht ohne weiteres eine Aussage machen. Bei einem mendelnden Erbgang muß die Scheckung durch chromosomale Gene, z. B. labile Gene, bedingt sein. Bei nicht mendelnder, mütterlicher Vererbung ist eine extrachromosomale Vererbung anzunehmen.

Eine weitere Lokalisation der die Scheckung verursachenden Erbunterschiede in den einzelnen Konstituenten des Zellplasmas ist auf Grund reziproker Kreuzungen (= Unterschiede im Erbbestand der Gameten) oder auf Grund einer nicht mendelnden Vererbung (= extrachromosomale Vererbung) nicht möglich. Es gibt Hinweise, daß sie bei bestimmten Schecken in Plasmakonstituenten lokalisiert sein können, die in sehr großen Zahlen je Zelle vorkommen, wie z. B. Chondriosomen oder Sphaerosomen (MICHAELIS 1955). Andere Scheckungen treten im Verlaufe ausgesprochener Cytoplasma-Entmischungen auf (*irregulare-diversivirescens* MICHAELIS 1954).

In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß zwischen den beiden Grundtypen: der Scheckung mit und ohne Mischzellen Übergänge gefunden wurden. Bei der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten *albomaculatum*-Schecken mit Mischzellen wurden alle bei einer Plastidentmischung theoretisch zu fordernden Mischungsverhältnisse gefunden. Bei einigen wenigen Schecken traten kennzeichnende Abweichungen auf: bei Untersuchung junger Blätter mit beginnender Plastidendegeneration waren noch die typischen Mischungsverhältnisse aufzufinden, an alten Blättern aber fehlten Mischzellen, die 1—2 normale Plastiden inmitten degenerierender Plastiden enthielten. Es degenerierten die erblich normalen Plastiden ebenfalls — wenn auch verspätet — wenn sie unter dem Einfluß eines überwiegend „weißen“ Plastidoms standen. Es wurden heteroplastomatische Zellen homoplastidisch. Solche Beobachtungen zeigen, daß nicht nur Wechselwirkungen des Plastidoms mit dem Genom, mit dem Cytoplasmon und Wechselbeziehungen der Plastiden mit Erbträgern der extraplastidalen

Plasmakonstituenten in Betracht zu ziehen sind, sondern daß auch Wechselwirkungen zwischen den Einzelplastiden eines Plastidoms vorkommen können. Unter diesen Bedingungen ist es zwar möglich, aus dem Vorkommen von Mischzellen auf eine Plastidenvererbung zu schließen; es ist aber nicht möglich, bei einem Fehlen von Mischzellen eine Plastidenvererbung auszuschließen. In den Fällen einer mütterlich vererbten Scheckung ohne Mischzellen können die Erbunterschiede in den verschiedensten Plasmabestandteilen liegen, und zur genaueren Lokalisation sind weitere Kriterien heranzuziehen.

Eine Lokalisation von Erbunterschieden ist dann möglich, wenn die die Gene enthaltenden Zellbestandteile sich während ihrer Vermehrung und Verteilung von Zelle zu Zelle und von Generation zu Generation verschieden verhalten. Leider ist das Plasmaverhalten während Zellteilung und Befruchtung in seinen Einzelheiten und bei den verschiedenen Objekten zu wenig untersucht, als daß sich zur Zeit brauchbare Anknüpfungspunkte für die Plasmonanalyse ergeben würden. Dagegen ist bekannt, daß die einzelnen Plasmakonstituenten wie Plastiden, Chondriosomen, Sphaerosomen, Cytoplasma-Makromoleküle usw. in sehr verschiedenen Zahlen je Zelle vorkommen und daß — ebenso wie die Zahlen der Mendelspaltung vom Polyploidiegrad abhängig sind — die Entmischungsgeschwindigkeit der plasmatischen Erbträger von ihrer Zahl je Zelle bestimmt wird. Es müssen sich also aus der Entmischungsgeschwindigkeit Rückschlüsse darüber ziehen lassen, ob ein Erbunterschied in den Plastiden, Chondriosomen, Sphaerosomen oder im lichtoptisch homogen erscheinenden Cytoplasma zu lokalisieren ist (MICHAELIS 1955 a, 1955 b).

Die Entmischungsgeschwindigkeit plasmatischer Erbträger braucht nicht im Kreuzungsversuch bestimmt zu werden, sondern kann schon intraindividuell durch Analyse der Entmischungsmuster festgestellt werden. Es sind dazu folgende Voraussetzungen nötig:

1. Rückschlüsse von der Entmischungsgeschwindigkeit auf die Zahl der sich entmischenden Erbträger können nur dann gezogen werden, wenn die Erbträger zufallsgemäß bei den Zellteilungen verteilt werden. Cytologische Beobachtungen über die Verteilung der Erbträger lassen sich höchstens an den Plastiden durchführen, fehlen aber auch hier noch. Es ist jedoch möglich, aus der Anordnung der Scheckungsmuster das Verhalten der Erbträger indirekt zu erschließen (MICHAELIS 1957 b). Abweichungen von der zufallsgemäßen Verteilung lassen sich rechnerisch berücksichtigen, sofern das Ausmaß der Abweichungen bekannt ist.

2. Es muß die Zahl der in Betracht zu ziehenden Plasmakonstituenten während der maßgeblichen Zellteilungen wenigstens der Größenordnung nach bekannt sein. Dann können von bestimmten Zahlen ausgehend durch mathematische Berechnungen (MICHAELIS 1955 b) oder im Modellversuch (MICHAELIS 1955 a) die Gesetzmäßigkeiten der zufalls-

gemäß Entmischung abgeleitet und mit den Befunden der Musteranalyse verglichen werden. Brauchbare Bestimmungen über die Zahlen der Plastiden je Zelle liegen bisher in der Literatur nicht vor, bei *Epilobium* wurden nur vorläufige Zählungen durchgeführt. Über die Zahl von Chondriosomen und Sphaerosomen existieren nur grobe Schätzungen. Diese Zahlen genügen jedoch vorerst, um den Gang der Untersuchungsmethode zu zeigen und um Bestimmungen wenigstens der Größenordnung nach durchzuführen.

3. Es muß das Mischungsverhältnis normaler und abgeänderter Zellkonstituenten, bei exogen bedingter Scheckung das Verhältnis normaler und abgeänderter Zellen in einer möglichst großen Zellpopulation vor und nach einer bestimmten Anzahl von Zellteilungsfolgen bestimmt werden. Für diese Bestimmung ist bei Kormophyten und Metazoen eine genaue Kenntnis der Entwicklungsgeschichte nötig. Man muß wissen, wie ein bestimmtes Entmischungsmuster entstanden ist, wieviel Zellteilungsfolgen zu seiner Entstehung führten und in welcher Weise die einzelnen Zelldeszendenzlinien angeordnet und miteinander verknüpft sind. Leider genügt die bisherige Kenntnis der Entwicklungsgeschichte zur Durchführung der Bestimmungen in keiner Weise, um so weniger, als sich die einzelnen Geno- und Plasmotypen sehr verschieden verhalten können. Bei der Aufklärung der Entwicklungsgeschichte vermag aber die Analyse der Entmischungsmuster selbst wieder wertvolle Hilfe zu leisten.

4. Schließlich ist es noch notwendig, die Wechselbeziehungen der Erbfaktoren untereinander zu berücksichtigen. Ebenso wie die nach der Mendelspaltung beobachtbaren Zahlenverhältnisse von den Dominanzverhältnissen der Kerngene abhängig sind, so wird durch die Wechselwirkung der Plasmagene das Auftreten homoplastidischer Zellen beeinflußt. Die Art dieser Wechselbeziehungen kann ebenfalls durch Analyse der Entmischungsmuster erschlossen werden.

Die Klärung dieser verschiedenen Voraussetzungen ist bei *Epilobium* begonnen worden, doch wird es noch langer Untersuchungen bedürfen, um ein wirklich allseits tragfähiges Fundament zur Durchführung einer exakten Plasmonanalyse zu erhalten. Der Verfasser ist sich über einzelne zur Zeit noch bestehende Unzulänglichkeiten durchaus klar. Trotzdem erscheint es bei der großen Wichtigkeit einer Plasmonanalyse wünschenswert, schon jetzt an einem besonders günstig gelagerten Fall die neue Methode zu erproben und eine Bestimmung wenigstens der Größenordnung nach durchzuführen, um den Untersuchungsgang und seine Erfordernisse kennenzulernen und zur Diskussion zu stellen. Es ist damit zu rechnen, daß bei anderen Objekten, die einfachere entwicklungsgeschichtliche Verhältnisse zeigen, die Methode schneller und sicherer zum Ziele führt.

## II. Die Stammpflanze 1956.1323.82

Unter der Aussaat 1956.1323, die zur Feststellung des Erbganges einer *albomaculatum*-Pflanze dienen sollte, trat die Shecke 1956.1323.82

auf. Ihre Scheckung unterschied sich deutlich vom Scheckungstyp der Mutter, so daß sie als spontane Neumutation angesehen werden muß, wie sie in allen *Epilobium*-Aussaaten in geringer Häufigkeit vorkommt. An dieser Pflanze 1956.1323.82 trat eine hier näher interessierende zweite Scheckung infolge nochmaliger Mutation auf. Um diese zweite Mutation identifizieren zu können, ist eine Beschreibung der ersten Scheckung notwendig.



Abb. 1. Gescheckte Blätter der Pflanze 1956.1323.82. Von links nach rechts: Blatt des 6. Wirtels mit beginnender Entmischung, Blätter des 7. und 8. Wirtels mit starken Entmischungen

An der Pflanze 1956.1323.82 wurde bald nach der Keimung eine elfenbeinweiße Fleckung beobachtet. Sie zeigte in den einzelnen Blattarealen eine sehr verschiedene Fleckendichte und Fleckengröße. Es entstand ein stark ineinander verschachteltes Blattmuster, wie es für eine plasmonisch bedingte Scheckung charakteristisch ist (MICHAELIS 1957a). Die ersten, relativ kleinen und getrennt liegenden Flecken wurden im 4. Blattwirtel über den Keimblättern gefunden. Die Fleckendichte nahm an den folgenden Blättern rasch zu. Vom 7. Blattwirtel an zeigte die eine Hälfte der Pflanze eine dichte Scheckung, die mit dem 9. Wirtel auf die ganze Pflanze übergriff. Die Flecken waren zufallsgemäß über die Blattfläche verteilt, so daß eine zufallsgemäße Verteilung der Plastiden während der Zellteilungen angenommen werden

muß. Am 8. Blattwirtel trat die erste völlig entmischte, rein weiße Blatthälfte auf. Vom 15. Blattwirtel an war 1 Quadrant der Pflanze periklinal gescheckt, wobei eine rein weiße hypodermale Schicht über einem grünen Korpus lag. In anderen Sektoren blieb die fein verschachtelte Fleckung bis in die Blütenregion erhalten. Von den Seiten-



Abb. 2. Periklinal geschecktes Blatt und Seitensproß der Pflanze 1956.1323.82. Links: Zur Hälfte periklinal geschecktes Blatt des 17. Blattwirtels. Die Parenchyme dieser Laminahälfte werden zum größten Teil aus den rein weißen Zellabkömmlingen der hypodermalen Schicht aufgebaut. Nur an einigen Stellen ragen Zellen des grünen Korpus von der Blattrippe in die Fläche der Lamina hinein und schimmern hellgrün durch das überlagernde weiße Gewebe hindurch. Rechts: Im oberen Teil periklinal gescheckter Seitensproß des 14. Blattwirtels. Die periklinale Gewebearrangung ist daran zu erkennen, daß vielfach der Mittelrippe ein schmaler, blaßgrüner Gewebestreifen anliegt. An den obersten knospentragenden Sproßteilen beteiligt sich der grüne Korpus nicht mehr am Aufbau der Blattlamina. Die Blätter erscheinen rein weiß

sprossen hatten mehrere, darunter der hier noch weiter interessierende hintere Seitensproß des 13. Blattwirtels rein weiße Quadranten. Andere wurden zu Periklinalchimären, bei denen ebenfalls rein weiß über grün lag (Abb. 1—2).

Eine Untersuchung der Entmischungsmuster bei schwächeren Vergrößerungen ergab folgendes Bild: An allen Grenzen, an denen, entwicklungsgeschichtlich bedingt, grüne Zelldeszendenzen neben weißen zu liegen kommen, sind die Grenzen völlig scharf. Es findet also keine Wechselwirkung zwischen weißen und grünen Zellen statt. Innerhalb

der Entmischungszonen liegen inmitten grüner Areale isolierte, weiße Zellgruppen (Abb. 3), ebenso aber auch umgekehrt kleine grüne Zellgruppen inmitten weißer Flächen. Es ist das ein Zeichen, daß es  $\pm$  grün, resp.  $\pm$  weiß erscheinende Zellen gab, die noch heteroplasmonisch waren und im Verlauf weiterer Zellteilungen Zellen der entgegengesetzten Färbung abgaben. Heteroplastidische Zellen findet man an den Orten mit Entmischungen, die bis in die letzten Zellteilungsfolgen

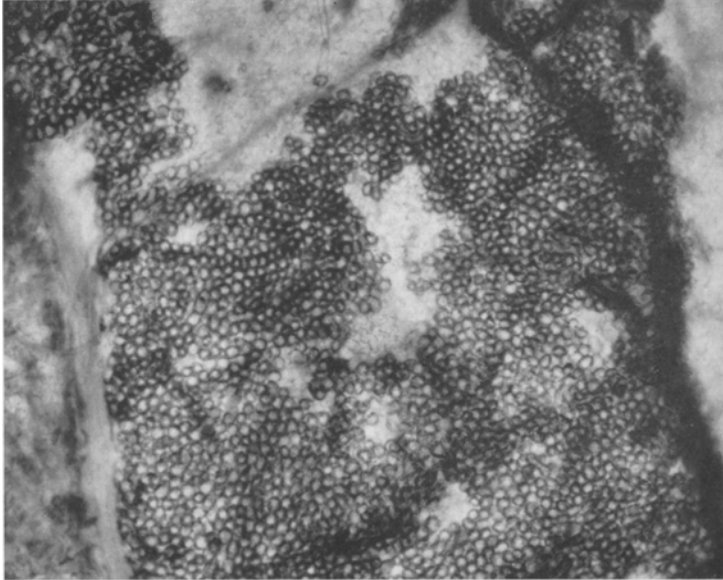


Abb. 3. Entmischungsmuster im Palisadenparenchym der Schecke 1956.1323.82 mit grünen und farblosen Zellgruppen. An den Grenzen vielfach blaßgrüne Mischzellen. Flächenansicht eines mit Zuckerlösung infiltrierten unbeschädigten Blattstückes

reichen, besonders in der Nachbarschaft kleinster isoliert liegender Flecken. Dort können Übergangszellen mit verschiedener Intensität der Grünfärbung beobachtet werden. Solche Übergangszellen erwiesen sich bei Betrachtung mit starken Vergrößerungen als „Mischzellen“. Sie enthielten neben völlig normalen Plastiden kleine, farblose, schaumig verquellende Plastiden, wie sie für das rein weiße Gewebe kennzeichnend sind (Abb. 4 links). Eine Prüfung der Mischungsverhältnisse zeigte, daß sehr verschiedene Mischungszahlen vorkamen. In der Nachbarschaft grüner Zellen überwogen durchschnittlich die grünen Plastiden, in der Nähe der weißen Zellen wurden meistens die grünen Plastiden seltener. Doch können in benachbarten Zellen sehr verschiedene Verhältniszahlen beobachtet werden. Zellen, die aber aus Teilung einer Mutterzelle hervorgingen, besaßen ähnliche Mischungs-

verhältnisse. Im großen und ganzen stimmen die Mischungsverhältnisse mit den Entmischungszahlen überein, die in Modellversuchen bei einer zufallsgemäßen Entmischung von 2 Konstituentenklassen erhalten wurden.

Unter diesen Umständen ist die Scheckung der Pflanze 1956.1323.82 folgendermaßen zu deuten: die vielfach verschachtelte Musterung belegt

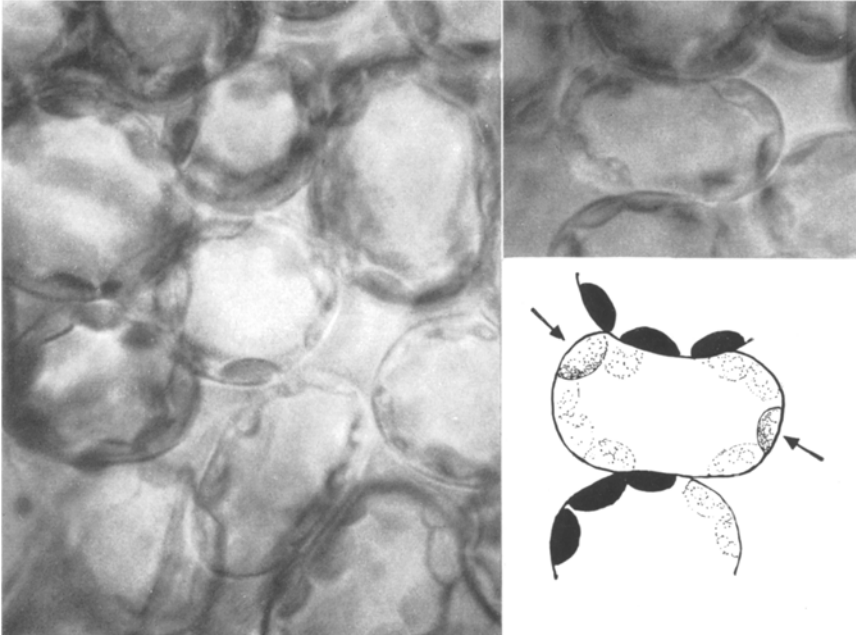


Abb. 4. Links: Mischzellen der Pflanze 1956.1323.82, die neben den großen normalen Plastiden kleinere farblose, schließlich schaumig verquellende Plastiden enthalten. Rechts: Mischzelle, die neben einer Mehrzahl degenerierender Plastiden zwei genetisch normale Plastiden enthält, die aber unter dem Einfluß der vielen mutierten Plastiden ebenfalls degenerieren (←). Unten Zeichnung nach dem lebenden Präparat, oben Photographie, in der nur das rechte „normale“ Plastid in der optischen Ebene liegt. Es besitzt eine dunklere, schwach grün gefärbte Kappe. Photographien der noch von der Epidermis überlagerten Palisadenparenchymzellen

einen aus vielen Teilschritten zusammengesetzten Abänderungsvorgang (MICHAELIS 1957 a), der von einem bestimmten Zeitpunkt der Ontogenese beginnend sich zu einem Höhepunkt steigert, um dann wieder abzuklingen. Solch ein intraindividuell ablaufender Abänderungsvorgang ist für eine extrachromosomale Vererbung charakteristisch, bei der sich im Verlauf der Zellteilungen die plasmatischen Erbkonstituenten durch zufallsgemäße Umkombination entmischen. Die Untersuchung der Scheckungsmuster und die Auffindung heteroplastidischer Zellen in kennzeichnenden Zahlenverhältnissen sprechen für eine echte endogen wirkende Plastidenvererbung.



Nun zeigte aber ein genauer Vergleich der in den heteroplastidischen Zellen aufzufindenden Zahlenverhältnisse eine Differenz zu den bei einer Plastidenvererbung theoretisch zu fordernden Zahlenverhältnissen. Es gelang anfangs nicht, heteroplastidische Zellen aufzufinden, die 1 oder 2 normalgrüne Plastiden in einer „weißen“ Umgebung enthielten. Solche Zellen sind aber theoretisch unbedingt zu fordern und müßten in der Nähe weißer Zellinseln aufzufinden sein, um so mehr, als sie mikroskopisch verhältnismäßig leicht zu erkennen wären. Die Untersuchung verschieden alter Blätter deckte, wie in einigen anderen Fällen, die Ursachen dieser Differenz auf. In sehr jungen Blättern sind „weiße“ und „grüne“ Plastiden noch nicht zu unterscheiden. Beide Plastidenklassen sind in diesem Entwicklungsstadium noch grün. Erst im Laufe der Blattalterung verlieren die mutierten Plastiden ihr Chlorophyll und degenerieren. Bei beginnender Degeneration ließen sich noch alle theoretisch zu fordernden Mischungsverhältnisse feststellen. In heteroplastidischen Zellen mit nur 1—3 normalen Plastiden waren diese etwas verkleinert, während in Mischzellen mit einer größeren Anzahl normaler Plastiden alle grünen Plastiden die gleiche Größe besitzen wie die normalen Plastiden homoplastidisch grüner Zellen. In älteren Blättern fehlen Mischzellen mit 1—3 normalen Plastiden. Es wurden aber gelegentlich Zellen gefunden, die rein weiß erschienen, in denen aber 1 oder 2 Plastiden zwar eindeutige Zeichen einer schaumigen Degeneration zeigten, die aber doch, meistens einseitig gelagert, noch etwas Chlorophyll enthielten (Abb. 4 rechts). Es ist wohl die Annahme berechtigt, daß es sich bei diesen Plastiden um genetisch normale Plastiden handelt, die unter dem Einfluß der zahlreichen übrigen weißen Plastiden der Zelle ebenfalls degenerieren.

### III. Die neu aufgetretene Mutation

An der Pflanze 1956.1323.82 trat in dem rein weißen Sektor des hinteren Achselsprosses des 13. Blattwirtels eine neuartige Scheckung (Abb. 5) auf, die auf Grund der Musteranalyse und des mikroskopischen Untersuchungsbefundes als Neumutation angesprochen werden muß.

#### 1. Zur Entwicklungsgeschichte des *Epilobium*-Sprosses

Zur Beurteilung der Musterung ist es nötig, kurz die Entwicklungsgeschichte des *Epilobium*-Sprosses zu schildern. Während der Embryonalentwicklung (BARTELS 1956) werden durch die 2. und 3. Teilung der Eizelle 4 Quadranten gebildet, von denen mit der 6. Teilungsfolge die 4 Initialzellen des Sproßvegetationspunktes abgeschnitten werden. Durch die Tätigkeit dieser 4 Initialen entstehen 4 Sproßsektoren, die sich bis in die Blütenregion verfolgen lassen, wenn eine der Initialen und ihre

Zellabkömmlinge durch Genmutation oder Plasmonabänderung markiert werden. Auch in den Seitensprossen lassen sich 4 solcher Quadranten feststellen, deren jeder eine selbständige, von den Nachbarquadranten unabhängige Zelldeszendenz enthält. Die gegenständig stehenden *Epilobium*-Blätter der einzelnen Blattwirtel sind so inseriert, daß die Blatt-

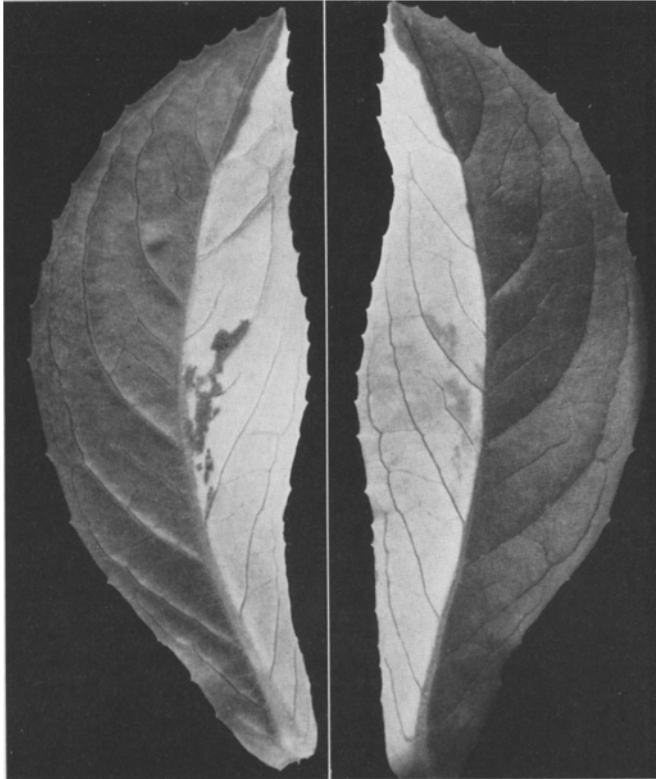


Abb. 5. Neuartige Scheckung auf einem Blatt des 5. Blattwirtels des Seitensprosses 13 hinten der Pflanze 1956.1323.82. Links Blattunterseite, rechts Blattoberseite

hälften eines Blattes aus 2 benachbarten Sproßquadranten entstehen, jedes Blatt also aus Zellabkömmlingen von 2 von einander weitgehend unabhängigen Zelldeszendenzlinien zusammengesetzt ist (Abb. 6).

## 2. Die neue Scheckung

Vom Achselsproß 13 hinten der Pflanze 1956.1323.82 interessiert hier der linke<sup>1</sup> adaxiale Sproßquadrant. Im 1. Blattwirtel wurde noch ein geschecktes Blatt gebildet. Die weiteren, diesem Quadranten

<sup>1</sup> Vom Sproß her gesehen.

angehörigen Blatthälften waren aber vom 2. Blattwirtel an rein weiß. Die die Blatthälften abgebende Sproßinitialzelle muß also zwischen dem 1. und 2. Blattwirtel homoplastidisch „weiß“ geworden sein, denn es ist nach den Berechnungen und Modellversuchen theoretisch nicht vorstellbar, daß eine Heteroplastomie über die zahlreichen, zum Aufbau mehrerer Sproßwirtel und ihrer Blätter notwendigen Zellteilungsfolgen erhalten blieb, ohne daß durch eine Entmischung grüne Zellen entstehen.

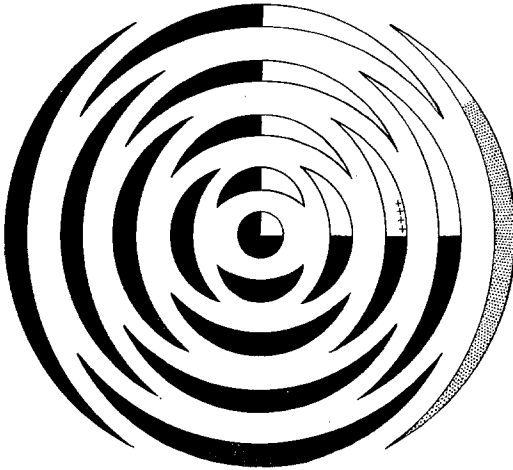


Abb. 6. Diagrammatische Zeichnung des Achselsprosses 13 hinten der Pflanze 1956. 1323. 82. Die Hauptachse würde am oberen, das Tragblatt des Achselsprosses am unteren Bildrande liegen. Weißes Gewebe ist weiß, grünes Gewebe schwarz, gescheckte Blatteile sind punktiert gezeichnet. Der Ort der neu aufgetretenen Scheckung ist durch Kreuze angegeben

Erst in der Blatthälfte des 5. Wirtels entstand auf einem eng umgrenzten Areal der Blattunterseite eine neue grüne Scheckung.

Schon die Art des Auftretens der neuen Scheckung in einem rein weißen Quadranten ließ auf eine Neumutation von „weiß“ zu „grün“ schließen. Die mikroskopische Untersuchung bestätigte diesen Schluß, denn sie zeigte an der grünen Scheckung einen Scheckungstyp, der sich von dem der Stammpflanze 1956. 1323. 82 deutlich unterschied. In-

mitten des weißen Gewebes entstanden mehrere voneinander isolierte grüne Flecken. Innerhalb der grünen Areale einer  $\pm$  einheitlichen Zelldeszendenz fehlten aber — im Gegensatz zur Stammpflanze — isolierte weiße Zellen und Zellgruppen. Bei der Besprechung der Wirkungsweise der mutierten Erbräger wird auf diese Feststellung nochmals zurückzukommen sein. Weiße Zellinseln in einer  $\pm$  grünen Umgebung wurden nur selten dort gefunden, wo 2 in verschiedener Geschwindigkeit entmischende Zelldeszendenzlinien aneinander grenzten und weiß zufällig neben grün zu liegen kam.

Die grünen Areale kommen ausschließlich auf einer eng umschriebenen Fläche der Blattunterseite vor (Abb. 5). Wie Querschnitte durch die verschiedenen grünen Flächen zeigen, liegen die grünen Zellen alle in einer einzigen Zellschicht, der hypodermalen Schicht. Die mutierten Zellen haben nicht die Form typischer Schwammparenchymzellen, sondern gleichen großen langgestreckten Palisadenzellen (Abb. 7). Es wird an anderer Stelle zu schildern sein, daß die Unterschiede zwischen der Form der Schwamm- und Palisadenzellen wesentlich durch den

Teilungsrhythmus der Zellen und durch die dadurch bedingten Spannungsverhältnisse im Blatt bestimmt werden. Isoliert im weißen *albomaculatum*-Gewebe der Blattunterseite liegende grüne Schwammparenchymzellen nehmen bei be-

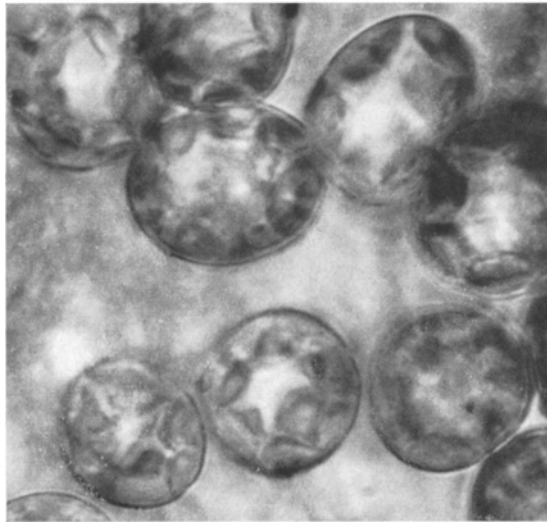
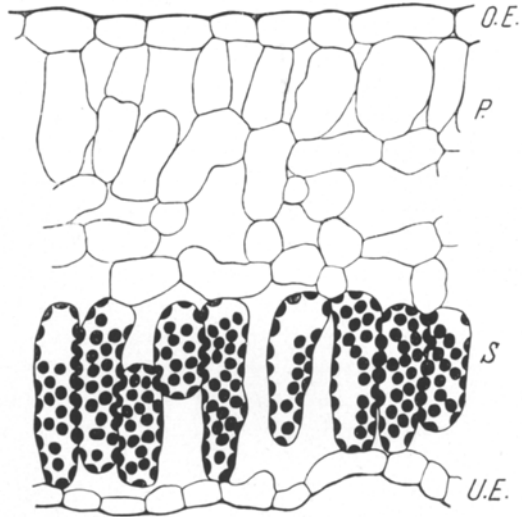


Abb. 7. Oben: Querschnitt durch das gescheckte Blatt. Die farblose Palisadenschicht der Blattoberseite ist wenig ausgeprägt und besonders reich an Intercellularen. Die zu grün abgeänderten Zellen der Blattunterseite nehmen die Form von besonders großen Palisadenzellen an. Unten: Palisadenähnliche Zellen der Blattunterseite im optischen Querschnitt, durch die untere Epidermis hindurchgesehen

stimmten *albomaculatum*-Typen regelmäßig die Form von Palisadenzellen an, während umgekehrt weiße Einzelzellen inmitten von grünen Palisadenzellen zu sternartiger oder schlauchartiger Form ausgezogen werden können.

Die Grenzen zwischen grünem und weißem Gewebe waren an allen Stellen völlig scharf. Übergangszonen fehlten auch am Rande kleinster Flecken, also dort, wo es noch im Verlauf der letzten Zellteilungsfolgen zu Entmischungen gekommen war. Die mikroskopische Untersuchung der Einzelzellen zeigte, daß Mischzellen, wie sie an der Stammpflanze häufig sind, bei der neuen Scheckung prinzipiell fehlen. Die Zellen enthalten nur normalgrüne oder nur farblose, degenerierende Plastiden. Die Entscheidung, ob die Plastiden ergrünen oder nicht, kann an der neuen Scheckung demnach nicht mehr durch die in jedem der Plastiden selbst lokalisierten Erbträger gefällt werden. Es ist an anderen Stellen (MICHAELIS 1955—1957) näher ausgeführt worden, daß bei einer zufallsgemäßen Entmischung erblich verschiedener Plastiden stets Mischzellen vorkommen müssen, solange es überhaupt noch zu neuen Entmischungen kommt. Das Vorkommen von Entmischungen bis in die letzten Zellteilungsfolgen ist aber durch wenigzellige grüne Areale mit nur 12 bis 16 Zellen belegt. Demnach kann für die neu aufgetretene Scheckung eine endogen bestimmte Plastidenvererbung mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Mischzellen können ebenfalls fehlen, wenn die Ergrünungsfähigkeit von chromosomalen Genen abhängig ist. Eine Mutation chromosomaler Gene läßt sich hier zwar nicht mit absoluter Sicherheit ausschließen, ist aber sehr wenig wahrscheinlich. Eine Prüfung im Erbversuch ließ sich nicht durchführen, da die Scheckung auf somatisches Gewebe beschränkt blieb und nicht auf den Achselsproß des Blattes übergriff. So waren nur Rückschlüsse aus der Art der Musterbildung möglich, die darunter leiden, daß das Muster nicht sehr umfangreich ist. Da die Scheckung aus vielen Flecken getrennter Entstehung besteht, so scheidet zu Deutung eine einfache Genmutation aus. Bei einer einfachen Genmutation müßte vom Zeitpunkt der Mutation an eine einheitlich grüne Zelldeszendenz, in einem Blatt also ein einziges grünes Areal entstehen. Das vorliegende Muster ließe sich höchstens durch die Entstehung eines labilen Alleles erklären, das relativ häufig von weiß zu grün mutiert. Jeder der grünen Flecke müßte auf eine Mutation des labilen Alleles zurückgeführt werden. Es wird später (VI, S. 86ff.) noch zu schildern sein, daß sich aus der Zellzahl der grünen Flecken der Zeitpunkt der einzelnen Abänderungsschritte berechnen läßt. Auf solche Weise erhält man eine Kurve der Abänderungshäufigkeit, die, wie Abb. 18 zeigt, keine einigermaßen konstante Werte gibt, sondern einen raschen Anstieg der Abänderungshäufigkeit zu einem Maximum und dann wieder eine Abnahme zeigt. Ein solches Verhalten ist bei Plasmonentmischungen zu erwarten, bei der Annahme eines labilen Genes aber wenig wahrscheinlich. Leider läßt sich wegen der geringen Ausdehnung des Musters die für eine plasmatische Entmischung charakteristische Verschachtelung des Musters nicht mit Sicherheit feststellen.

Unter diesen Umständen mag der Versuch gerechtfertigt erscheinen, von der Annahme einer Plasmon-Entmischung ausgehend, das Muster weiter zu analysieren, um zu untersuchen, welche Zellkonstituenten von der Entmischung betroffen sein könnten. Es ist dies möglich, wenn es gelingt, die Entmischungsgeschwindigkeit zu bestimmen. Es ist notwendig, den Ort der Mutation festzulegen und die Zahl der Zellteilungsfolgen festzustellen, die zwischen Mutation und dem Auftreten der verschiedenen grünen Zellen und grünen Areale abgelaufen sind.

#### IV. Über den Zeitpunkt der neu aufgetretenen Mutation

Zeitpunkt und Ort einer Mutation lassen sich mit relativ großer Genauigkeit aus dem Entmischungsmuster erschließen. Man muß hierbei jedoch berücksichtigen, daß der Ort einer Plasmon-Mutation, der Ort der ersten Plasmon-Entmischungen und der Ort, an dem die Entmischungen sichtbar werden, nicht immer zusammenfallen.

##### 1. Über die Beziehungen zwischen dem Ort der Mutation und dem Ort der ersten Entmischung

Um diese Beziehungen näher ableiten zu können, seien die Verhältnisse an Hand der hier besonders interessierenden Plastidentmischung besprochen. Soll ein Plasmakonstituent als Erbträger fungieren können, so muß zwischen Zellvermehrung und Vermehrung des Erbträgers in dem Sinne eine Koordinierung bestehen, daß zwischen den Zellteilungen auch regelmäßig Teilungen des Erbträgers erfolgen. Für die Plastiden der *Epilobium*-Blätter läßt sich diese Koordinierung sowohl indirekt aus den Plastidenzahlen je Zelle, teils direkt durch Beobachtung der Plastidenteilung belegen. Über diese Beobachtungen sei ausführlich an anderer Stelle (MICHAELIS 1957b) berichtet. Hier sollen die Verhältnisse nur so weit geschildert werden, daß die Berechtigung der Ableitungen erkennbar wird.

Zählt man im ausdifferenzierten *Epilobium*-Blatt in den einzelnen Geweben die Plastiden je Zelle, so erhält man für jeden Gewebetypus einen kennzeichnenden, eng umschriebenen Zahlenbereich. Eine solche Zahlenkonstanz ist nur zu verstehen, wenn a) zwischen 2 Zellteilungen auch wieder eine Plastidenteilung eingeschoben wird, in der sich alle oder doch die Mehrzahl der Plastiden teilen, und dadurch die ursprüngliche Plastidenzahl wieder hergestellt wird. In den jungen Blättern findet man in Zellen, die aus einer Mutterzelle durch Teilung hervorgegangen sind, die Mehrzahl der Plastiden in ähnlichen Teilungsstadien. Die Plastidenteilung erfolgt, wenn auch nicht völlig, so doch nahezu synchron. b) Weiterhin müssen die Plastiden während jeder Zellteilung ungefähr gleichmäßig auf die Tochterzellen verteilt werden.

Um nun die Gesetzmäßigkeiten der Plastidenentmischung ableiten zu können, wurde folgendes, etwas vereinfachendes Modell verwendet: die kennzeichnende Zahl der Plastiden je Zelle sei kurz nach der Zellteilung  $n$ , nach der Plastidenteilung  $2n$ . Diese Zahl wird mit der nächsten Zellteilung wieder auf  $n$  reduziert, indem jede Tochterzelle  $n$  Plastiden erhält. Auf dieser Basis läßt sich die Wahrscheinlichkeit der Entmischungsgeschwindigkeit z. B. nach Mutation berechnen. Auf Komplikationen dieses Modelles wird später noch einzugehen sein.

Tritt eine Plastidenmutation nach der Teilung der Erbträger und vor der folgenden Zellteilung ein, so liegt unter  $2n$  Erbträgern ein mutierter Erbträger, der während der nächsten Zellteilung in eine der Tochterzellen gelangt und dort mit der Teilung der Erbträger verdoppelt wird. Erst in der nächsten Zellteilung kann dann eine Entmischung beginnen. In diesem Falle besteht also zwischen Mutation und Entmischung auf alle Fälle eine Diskordanz von 1 Zellteilungsfolge. Erfolgt die Mutation des Erbträgers vor der Teilung der Erbträger, so liegen nach deren Teilung und vor der Zellteilung unter  $2n$  Erbträgern zwei mutierte Erbträger, die nun entweder zusammen in eine der beiden Tochterzellen gelangen oder auf beide Tochterzellen verteilt werden. Die Wahrscheinlichkeit, daß in dieser Zellteilung der erste Entmischungsschritt erfolgt, ist bei einer zufallsgemäßen Verteilung ungefähr 50%, die Wahrscheinlichkeit, daß eine Tochterzelle alle beiden mutierten Plastiden erhält, ist für jede der Tochterzellen rund 25%. Mit jeder folgenden Zellteilung werden die mutierten Erbträger auf 4, weiterhin auf 8 usw. verdoppelt. Die Wahrscheinlichkeit, daß auch in diesen Zellteilungen alle 4, 8 usw. mutierten Erbträger wieder in 1 Zelle gelangen, sinkt bei zufallsgemäßer Verteilung rasch. In Tabelle 1 ist die theoretisch zu erwartende Häufigkeit, die mit der Zahl der Erbträger je Zelle etwas variiert, angegeben.

Tabelle 1. *Wahrscheinlichkeit in %, daß nach Mutation bei zufälliger Verteilung der Erbträger keine Entmischung erfolgt, sondern alle mutierten Erbträger gemeinsam in eine Zelle gelangen*

Zahl der Zellteilungsfolgen	Zahl der mutierten Erbträger	$n = 5$ %	$n = 10$ %	$n = 25$ %
1	2	22,22	23,68	24,49
2	4	0,53	1,03	1,34
3	8	0,24	0,0004	0,0027
4	16	0,90	0,0001	0,000 000 001

Nach diesen Zahlen kann der auf Grund des Entmischungsmusters bestimmte Ort der ersten Entmischung um einige wenige Zellteilungsfolgen später liegen als der eigentliche Ort der Mutation. Doch wird die Differenz kaum mehr als 3 Zellteilungsfolgen betragen können.

2. Der Ort der ersten Entmischung

Der Ort der ersten Entmischung muß an der Vereinigungsstelle aller Zelldeszendenzlinien liegen, in denen im Laufe der Zellvermehrung abgeänderte Zellen auftreten. Um diesen Ort angeben zu können, muß jedoch die Gewähr gegeben sein, daß alle heteroplasmatischen Zelldeszendenzen sich so lange vermehren können, bis es zu einer sichtbaren Entmischung kommt. Der Zeitpunkt, zu dem eine Entmischung sichtbar wird, hängt von der Wirkungsweise der mutierten Erbtträger und von ihrer Menge je Zelle ab. Genügt schon 1 Erbtträger je Zelle für eine Manifestation, so wird die Mutation sofort sichtbar. Das gegensätzliche Extrem dazu ist, wenn sich die Mutation nur homoplasmatisch manifestiert. In diesem Falle wird der Entmischungsvorgang erst relativ spät sichtbar. Mit Hilfe der durchgeführten Berechnungen läßt sich ziemlich genau feststellen, wieviel Zellteilungsfolgen bis zum Auftreten homoplasmatisch mutierter Zellen nötig sind. Diese Zahl der Zellteilungsfolgen ist in hohem Maße von der Zahl der Erbtträger je Zelle abhängig. In Tabelle 2 ist die Entmischungswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der hier in Betracht zu ziehenden Zahl der Erbtträger je Zelle und von der Zahl der Zellteilungsfolgen nach Mutation angegeben.

Tabelle 2. Prozentuale Wahrscheinlichkeit für das Auftreten homoplasmatisch mutierter Zellen nach Mutation bei zufallsgemäßer Verteilung der Erbtträger während der Zellteilungen

Zahl der Zellteilungsfolgen	Zahl der Erbtträger je Zelle		
	n = 5	n = 10	n = 25
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0,244	0	0
4	0,903	0,0001	0
5	1,915	0,002	≅ 0
6	3,151	0,012	≅ 0
7	4,495	0,039	≅ 0
8	5,861	0,088	1,4 × 10 <sup>-8</sup>
9	7,192	0,170	2,5 × 10 <sup>-7</sup>
10	8,455	0,286	2,0 × 10 <sup>-6</sup>
11	9,631	0,435	0,00001
12	10,711	0,618	0,00002
13	11,695	0,829	0,0001
14	12,586	1,066	0,0002
15	13,389	1,323	0,0005
16	14,108	1,596	0,001
17	14,754	1,880	0,002
18	15,330	2,172	0,003
19	15,846	2,470	0,005
20	16,304	2,778	0,007
21	16,712	3,066	0,011
22	17,076	3,360	0,016
23	17,400	3,650	0,021
24	17,688	3,934	0,029
25	17,945	4,210	0,037
26	18,173	4,479	0,047
27	18,375	4,739	0,059
28	18,556	4,989	0,072
29	18,716	5,232	0,088
30	18,858	5,464	0,104
31	18,985	5,688	0,123
32	19,100	5,902	0,144
33	19,200	6,107	0,166
34	19,287	6,303	0,191
35	19,365	6,489	0,216
∞	20,000	10,000	4,000

Diese Entmischungswerte sind bei höheren Konstituentenzahlen relativ klein, doch sind diese Werte auf die Zahl der gebildeten Zellen zu beziehen, die mit der Zahl der Zellteilungsfolgen sehr rasch zunimmt (Tabelle 3).



Tabelle 3. Zahl der Zellen in Abhängigkeit von der Zellteilungsfolge

Zahl der Zellteilungsfolgen	0 %	10 %	25 %	50 %
	der Zellen bleiben in einer Zellteilungswelle ungeteilt liegen			
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
1	2	1,9	1,8	1,5
2	4	3,6	3,1	2,3
3	8	6,9	5,4	3,4
4	16	13,0	9,4	5,1
5	32	24,8	16,4	7,6
6	64	47,0	28,7	11,4
7	128	89,4	50,3	17,1
8	256	169,8	88,0	25,6
9	512	322,7	153,9	38,4
10	1024	613,1	269,4	57,7
11	2048	1164	471	86
12	4096	2213	825	130
13	8192	4205	1443	195
14	16384	7990	2527	292
15	32768	15181	4422	438
16	65536	28844	7738	657
17	131072	54804	13541	985
18	262144	104127	23697	1478
19	524288	197842	41469	2217
20	1048576	375900	72570	3325
21	2097152	714209	126997	4988
22	4194304	1356998	222246	7482
23	8338608	2578296	388930	11223
24	16777216	4898762	680628	16834
25	33554432	9307649	1191099	25251
26	67108864	17684533	2084424	37876
27	134217728	33600613	3647742	56815
28	268435456	63841165	6383548	85222
29	536870912	121298213	11171209	127834
30	1073741824	230466605	19549616	191751

Bei den sehr einfach gestalteten *Epilobium*-Blättern liegen keinerlei Hinweise vor, daß einzelne hier in Frage kommende Zelldeszendenzlinien ungeteilt liegenbleiben. Im *Epilobium*-Blatt laufen mindestens 20 Zellteilungsfolgen ab, und die bei der Mutation der Pflanze 1956. 1323.82 in Betracht zu ziehenden Zellareale enthalten nach den später noch zu erwähnenden Zellzählungen mindestens 50000 Zellen. Wenn eine Entmischung in frühen Stadien der Blattentwicklung beginnt, so darf man annehmen, daß alle primären heteroplasmonischen Zelldeszendenzlinien Gelegenheit zu einzelnen, sichtbaren Entmischungen hätten finden müssen. Man kann also den Vereinigungspunkt aller Zelldeszendenzlinien, in denen grüne Zellen beobachtet wurden, als den Punkt ansehen, an dem die erste heteroplasmonische Zelle des Blattes entstand. Der Ort der eigentlichen Mutation kann mit diesem Punkt

zusammenfallen, kann aber auch, wie oben besprochen, einige wenige Zellteilungsfolgen davor gesucht werden. Selbstverständlich gelten die hier dargestellten Überlegungen nur, wenn die Erbträger während der Zellteilungen zufallsgemäß verteilt werden. Eine solche zufallsgemäße Verteilung läßt sich aber durch eine zufallsgemäße Anordnung der Einzelflecken im Muster belegen.

### 3. Zur Entwicklungsgeschichte des *Epilobium*-Blattes

Bevor nun versucht werden soll, den Ort der an Pflanze 1956.1323.82 erfolgten Mutation zu bestimmen, sollen an Hand der Scheckungsmuster der Pflanze die hier interessierenden Abschnitte der Blattentwicklung rekonstruiert werden. Durch diese Mutation, resp. durch eine irreversible Entmischung wird eine Zelldeszendenz eindeutig markiert, und es muß möglich sein, mit Hilfe solcher Markierungen die Entwicklungsgeschichte zu bestimmen, so nur eine genügend große Anzahl solcher Markierungen vorliegt. Die Zahl der gescheckten Blätter der Pflanze 1956.1323.82 genügt dazu nicht in allen Fällen, doch reicht sie aus, um festzustellen, daß die Blattentwicklung der Pflanze 1956.1323.82 sich nicht wesentlich von der Blattentwicklung einer größeren Gruppe von Schecken unterscheidet, die nun so viel gescheckte Blätter liefert, daß eine Untersuchung der Blattentwicklung an Hand der Scheckungsmuster möglich ist. Drei Prinzipien sind dabei von Wichtigkeit, wobei hier nur die Markierung durch zufallsgemäße Plasmonentmischung (zufallsgemäße Fleckenanordnung!) berücksichtigt sei. 1. Wiederholt sich ein Muster in zwei Organen (z. B. in übereinander stehenden Blättern) oder in zwei benachbart liegenden Gewebeschichten in einer Häufigkeit, die das zufällige Zusammentreffen mehrfacher Entmischungen überschreitet, so gehören beide Organe, resp. Gewebe einer einheitlichen Zelldeszendenz an. Die im Einzelfall beobachtete Abänderung muß vor der Trennung der einander entsprechenden Teildeszendenzen erfolgt sein. In den Einzelfällen, in denen dasselbe Muster sich aber in den benachbarten Organen nicht gleicht, muß die Abänderung während oder nach der Trennung der Teildeszendenzen entstanden sein. 2. Die Ausdehnung des Musters ist von dem Zeitpunkt seiner Anlage abhängig. Größere Flecken werden in einem gleichmäßig wachsenden Organ früher angelegt als kleinere Flecken. 3. Durch die Analyse der Blattmuster können nur Aussagen über die Entwicklung der die Muster tragenden Blattlamina gemacht werden. Die Entwicklung z. B. der Blattrippe bleibt unbekannt. Bei Anwendung dieser Prinzipien ergibt sich in großen Zügen folgende Entwicklungsgeschichte der *Epilobium*-Lamina.

Die größten abgeänderten Zellflächen sind ganze Blätter und Blatthälften. In einer das zufällige Zusammentreffen weit überschreitenden

Häufigkeit der Fälle wiederholen sich z. B. weiße Blatthälften in übereinanderstehenden Blattwirteln (vgl. Abb. 6). Sie gehören also einer einheitlichen Zelldeszendenz an und sind aus abgeänderten Sektoren des Sproßvegetationspunktes entstanden. Dasselbe gilt für die Blattohrchen der stengelumfassenden *Epilobium*-Blätter. Man kann Blatthälften und Blattohrchen daher als Grundsektoren des Blattes bezeichnen. Jedes *Epilobium*-Blatt ist also aus zwei, bei stengelumfassenden Blättern aus vier nebeneinanderliegenden (Abb. 10) Grundsektoren zusammengesetzt, die auf verschiedene, voneinander unabhängige Zelldeszendenzlinien des Sprosses zurückgehen.

Alle übrigen, kleineren Zellflecken wiederholen sich nie in übereinanderstehenden Blättern. Sie sind also nach der Trennung der übereinanderstehenden Blattwirtel entstanden. Mit der Anlage dieser kleineren Flecken beginnt die eigentliche Blattentwicklung. Nach der Fleckengröße lassen sich, leicht schematisierend, bei der Entwicklung der *Epilobium*-Lamina mehrere Zellteilungsperioden unterscheiden, die sich leicht überschneiden können. Hier interessieren nur die drei ersten Perioden.

In der ersten Teilungsperiode werden die Grundinitialen der Laminahälften durch mehrere Wände geteilt, die alle  $\pm$  parallel zu den späteren Seitenerven erster Ordnung verlaufen und die die Blatthälften in eine Reihe von 5—10 fiederförmig angeordneten „Primärsektoren“ aufteilen (Abb. 8). Aus der Häufigkeit, mit der nebeneinander liegende Primärsektoren in gleicher Weise abgeändert sind, läßt sich die Reihenfolge der eingezogenen Wände bestimmen (Abb. 10). Für diese Zellteilungsperiode sind mindestens 3, höchstens 4—9 Zellteilungsfolgen einzusetzen, je nachdem, ob sich alle Zellen gleichmäßig weiter teilen oder ob einzelne Zellen ungeteilt bleiben.

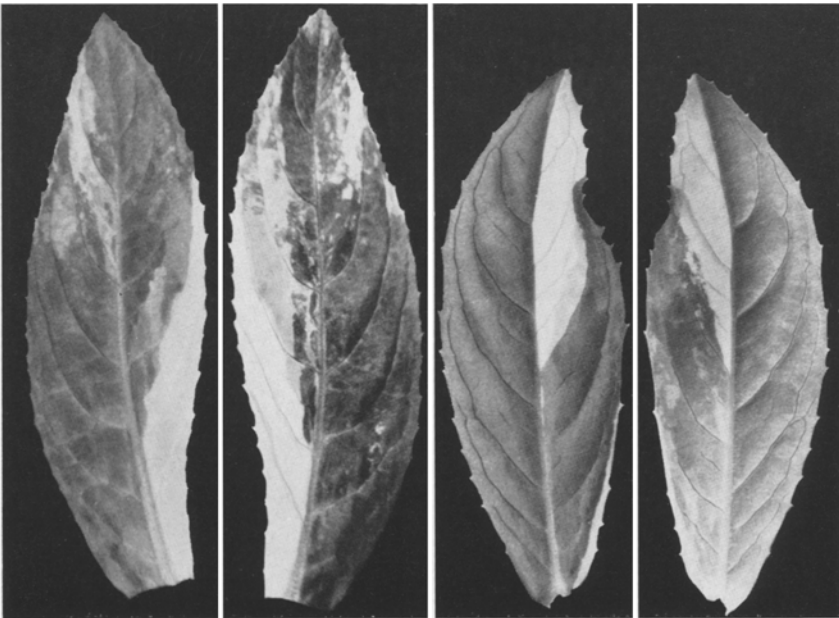
Erfolgt während dieser Teilungen eine Abänderung, so reicht sie in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle von der Epidermis der Blattoberseite bis zur Epidermis der Blattunterseite durch die ganze Blattlamina hindurch. Das Parenchym der *Epilobium*-Blattlamina geht also in der Regel aus einer Zelllage der hypodermalen Schicht hervor. Von 66 an der Pflanze 1956.1323.82 aufgetretenen weißen Primärsektoren hatten 62% auf Blattober- und -unterseite eine gleichartige Fleckenbegrenzung (Abb. 8). Sie entstanden, bevor die hypodermale Schicht parallel zur Blattfläche geteilt wurde. Bei 38% der Primärsektoren waren Blattober- und -unterseite verschieden gefleckt. Sie entstanden z. T. nach der Ausbildung der Mehrschichtigkeit der Parenchyme. Alle kleineren Flecken, in die die Primärsektoren weiter aufgeteilt werden, greifen nicht mehr durch die ganze Blattlamina hindurch und sind auf Blattober- und -unterseite verschieden. Inzwischen ist also die Blattlamina in einer zweiten Teilungsperiode in mindestens zwei Zell-Lagen aufgeteilt worden. Zur Herausbildung der Mehrschichtigkeit der Blatt-

lamina sind 2—3 Zellteilungsfolgen einzusetzen. Dieser zweiten Teilungsperiode folgt das eigentliche Flächenwachstum der Blattlamina.

Abb. 8 a—c. Drei gescheckte Blätter mit abgeänderten „Primärsektoren“. Von jedem Blatt sind die Ober- und Unterseite wiedergegeben, um zu zeigen, daß die „Primärsektoren“ durch die ganze Blattdicke hindurchreichen. a In der stark gescheckten Blatthälfte liegt zu unterst ein weißes Blättöhrchen (Grundsektor!). Es folgen 1—2 grüne, resp. schwach gescheckte Primärsektoren und 1—2 rein weiße Primärsektoren. Der oberste Primärsektor ist stark gescheckt, der korrespondierende Spitzensektor der anderen Blattseite ist rein weiß und reicht wieder durch die ganze Blattlamina hindurch. b An der Basis ein rein weißes Blättöhrchen und ein zufällig anschließender weißer Primärsektor. Es folgen 1—2 Primärsektoren, in denen die Flecken, die teils in der dritten, teils in den folgenden Teilungsperioden entstanden, nicht mehr durch das Blatt hindurchreichen. Der Spitzensektor ist beiderseits grün. Der Spitzensektor (Grundsektor!) rein weiß. Die Sektoren der unteren Blatthälfte sind nur auf der Unterseite gescheckt, die Spitzensektoren sind rein weiß.



a



b

c

In der dritten Teilungsperiode werden nun die Primärsektoren durch Wände aufgeteilt, die wieder senkrecht zur Blattoberfläche stehen und

meistens  $\pm$  parallel der Mittelrippe eingezogen werden (Abb. 9, 10). Auf eine Laminahälfte fallen Reihen von 3—8 solcher „Tertiärsektoren“, für die mindestens 2, höchstens 7 Zellteilungsfolgen benötigt werden. Über die weiteren Zellteilungen lassen sich wegen der unregelmäßigen Anordnung der Zellwände schwer allgemeinere Gesetzmäßigkeiten ableiten. Über Schätzungen der Zahl der Zellteilungsfolgen, die in den Tertiärsektoren ablaufen, wird später zu berichten sein.



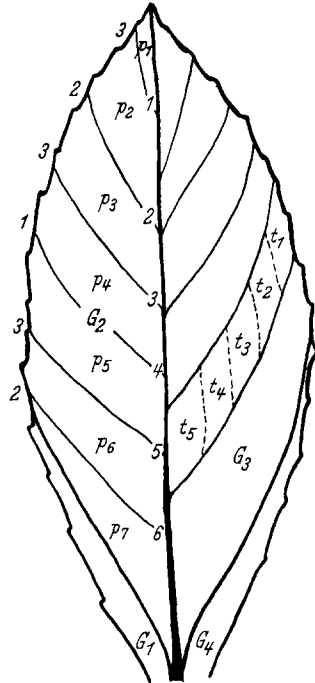
Abb. 9. Zwei Blätter, in denen die Entmischungen zu einem großen Teile während der dritten Teilungsperiode stattfanden. Das rechte Blatt ist von Ober- und Unterseite wiedergegeben. Die Fleckung ist auf beiden Seiten verschieden

#### 4. Der Ort der Neumutation bei Pflanze 1956.1323.82

Mit diesen entwicklungsgeschichtlichen Vorgängen ist nun das Muster der Neumutation der Pflanze 1956.1323.82 zu vergleichen. Rückmutierte, grüne Zellen kommen ausschließlich auf einer Fläche vor, wie sie üblicherweise einem einzelnen Primärsektor zukommen würde. Auf der übrigen weißen Blattlamina sowie in den weißen Blatthälften der darüber und darunter stehenden Blätter fehlen grüne Zellen vollständig. Weiterhin verteilen sich die grünen Zellflecken nicht über das ganze Areal des Primärsektors, sondern sind auf die der Mittelrippe zunächst liegenden 1 bis höchstens 3 Tertiärsektoren der Blattunterseite be-

schränkt. Schließlich kommen die grünen Zellen nur in der einen Schicht der Blattunterseite vor, in der dann die weiteren Teilungen parallel der Blattfläche ausgefallen sind. Unter diesen Bedingungen wird die erste Aufteilung der mutierten Erbträger auf verschiedene Zellen während der ersten Teilungen der dritten Teilungsperiode stattgefunden haben. Die eigentliche Mutation könnte zum selben Zeitpunkt erfolgt sein, könnte aber auch frühestens in den letzten Teilungen der ersten Teilungsperiode erfolgt sein. Am wahrscheinlichsten erscheint eine Mutation nach der ersten Aufteilung der hypodermalen Schicht in Blattober- und Blattunterseite. Damit wäre der Ort der Neumutation verhältnismäßig genau bestimmt. Der Fall liegt besonders günstig, denn einerseits er-

Abb. 10. Vorläufiges Schema der Entwicklung des *Epilobium*-Blattes.  $G_1$ — $G_4$  Grundsektoren (Anteile der im Sproßvegetationspunkt verlaufenden Zelldeszendenzen),  $p_1$ — $p_n$  Primärsektoren,  $t_1$ — $t_n$  Tertiärsektoren. Bei der Einziehung der Wände sind prinzipiell zwei verschiedene Teilungsmodi, resp. eine Kombination beider möglich. Eine Mindestzahl von Zellteilungsfolgen wird benötigt, wenn sich alle Zellen gleichmäßig teilen (Randzahlen der Reihenfolge der Zellteilungen der Primärsektoren). Eine Höchstzahl von Zellteilungsfolgen wird benötigt, wenn stets eine der beiden Tochterzellen ungeteilt bleibt (Zahlen der Reihenfolge der eingezogenen Wände neben der Mittelrippe für das Beispiel einer basalen Wachstumszone). Im ersteren Falle sind besonders häufig z. B. die Primärsektoren  $p_1$ — $p_4$  und  $p_5$ — $p_7$  gleichartig gemustert. Im zweiten Falle ist besonders häufig z. B.  $p_1$ — $p_7$ ,  $p_2$ — $p_7$ ,  $p_3$ — $p_7$ ,  $p_4$ — $p_7$  usw. gleichartig gemustert, während eine gleichartige Musterung von z. B.  $p_1$ — $p_4$  höchstens durch zufälliges Zusammentreffen mehrerer Entmischungen entstehen kann und dementsprechend selten sein muß



folgt die erste Entmischung im Blatt so spät, daß vor ihr zum mindesten 4—5 Zellteilungsfolgen im Blatt abliefen. Die Mutation muß auf alle Fälle im Blatt selbst stattgefunden haben. Andererseits erfolgte die Mutation so frühzeitig, daß die von der mutierten Zelle ausgehenden Zelldeszendenzenlinien genügend Zellteilungsfolgen durchliefen, um sicher zu einer Entmischung kommen und eine genügend große Zahl von Entmischungsflecken bilden zu können. Schließlich erleichtert die Einschichtigkeit der grünen Gewebe sowohl eine Bestimmung der Zellzahl als auch eine genaue Untersuchung aller Einzelzellen in erheblichem Maße.

### V. Über die Wirkungsweise der mutierten Erbträger

Wenn aus der Entmischungsgeschwindigkeit Schlüsse über die Lokalisation der mutierten Erbträger gezogen werden sollen, so muß die

Wirkungsweise der mutierten Erbträger bekannt sein. Bei *albomaculatum*-Pflanzen ohne Mischzellen wird die Abänderung des Gesamtplastidoms von den Wirkstoffen der auf das Plastidom Einfluß nehmenden Erbträger bestimmt. Dabei sind vier Möglichkeiten gegeben. a) Es kommt schon der ganze Effekt zustande, wenn einer von vielen Erbträgern mutiert ist (mit „Dominanz“ eines mutierten „Allels“ vergleichbar). In diesem Falle wird schon das Plastidom der Zelle abgeändert werden, die durch Mutation eines von zahlreichen Erbträgern heteroplasmonisch geworden ist. Heteroplasmonische und homoplasmonische mutierte Zellen unterscheiden sich nicht. Die Abänderung des Plastidoms tritt mit der Mutation auf, und die anschließenden Entmischungsvorgänge sind nur dann kenntlich, wenn aus der heteroplasmonischen Zellabstammung der mutierten Zelle wieder homoplasmonische normale Zellen entstehen. b) Im absoluten Gegensatz hierzu steht der Fall, daß ein normaler Erbträger genügt, um die Abänderung des Plastidoms zu verhindern („Dominanz“ des normalen „Allels“). Ein abgeändertes Plastidom entsteht ausschließlich in Zellen, die homoplasmonisch für die mutierten Erbträger sind. In diesem Falle entstehen abgeänderte Zellen in einem zeitlichen Abstand nach der Mutation nach Ablauf einer  $\pm$  langen Entmischungsperiode. c) Es ist weiterhin möglich, daß nicht ein einzelner Erbträger von vielen die Entscheidung über die Manifestation einer Mutation herbeiführt, sondern daß der Abänderungsgrad des Plastidoms von der Zahl der mutierten Erbträger je Zelle abhängig ist („additive Vererbung“). In diesem Falle entstehen nicht nur ein neuer abgeänderter Zelltyp neben normalen Zellen, sondern zahlreiche Abänderungsstufen und Übergänge zwischen mutiert und normal. Diese Möglichkeit scheidet zur Deutung der hier untersuchten Mutation aus, da hier nur normale und einheitlich abgeänderte Zellen auftreten. d) Zwei Zelltypen mit normalen und mutierten Plastiden können bei einer sich quantitativ addierenden Wirkung der Erbträger nur im Zusammenhang mit einer scharf ausgeprägten Reaktionsschwelle entstehen. In diesem Falle entstehen abgeänderte Zellen dann, wenn ein bestimmtes Mengenverhältnis von mutierten zu normalen Erbträgern überschritten wird. In allen geschilderten Fällen treten selbst bei ein und derselben Entmischungsgeschwindigkeit abgeänderte Zellen zu einem ganz verschiedenen Zeitpunkt auf. Eine Bestimmung der Entmischungsgeschwindigkeit ist also nur bei Kenntnis der Wirkungsweise der Erbträger möglich.

Über diese Wirkungsweise der Erbträger vermag die Analyse des Scheckungsmusters Aufschluß zu geben. Nehmen wir in dem Beispiel der Pflanze 1956.1323.82 an, daß schon die Mutation eines von zahlreichen Erbträgern zur Ergrünung der Zellen führte, so sind alle heteroplasmonischen Zellen grün. In den heteroplasmonisch grünen Zell-

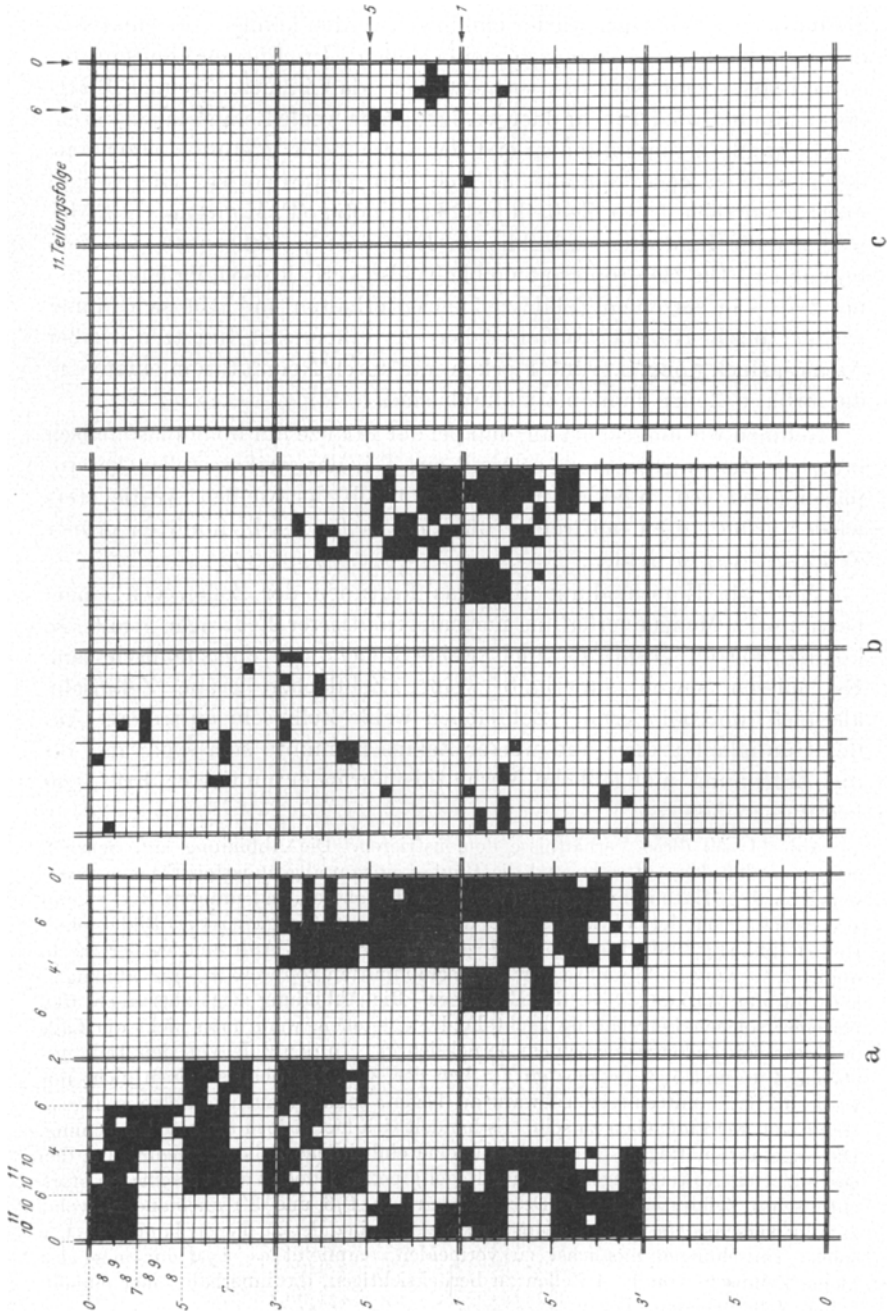
Deszendenzen erfolgen aber weitere Entmischungen, in deren Verlauf die mutierten Erbträger wieder eliminiert werden können. Es entstehen dann wieder homoplasmonisch weiße Zellen. Im Entmischungsmuster eines Blattes muß sich das so auswirken, daß inmitten grüner Blattflecken immer wieder mehr oder weniger große weiße Zellinseln auftreten. Solche weiße Zellinseln fehlen erst dann, wenn die gesamte Deszendenz der mutierten Zelle homoplasmonisch grün geworden ist. Hierzu sind durchschnittlich  $n \cdot 10$  Zellteilungsfolgen nötig (P. MICHAELIS 1955 b), wobei  $n$  die Zahl der maßgeblichen Erbträger je Zelle nach der Zellteilung ist. Die Heteroplasmonie bleibt also verhältnismäßig lange, zum mindesten in einzelnen Zelldeszendenzen erhalten und gibt sich immer wieder durch Abgabe weißer Zellen zu erkennen. Inmitten weißer Areale jedoch können grüne Flecken nur durch Neumutation entstehen, da farblose Zellen homoplasmonisch sind.

Nehmen wir umgekehrt an, daß bei der Pflanze nur homoplasmonisch mutierte Zellen grün sind, so muß ein Teil der weißen Zellen heteroplasmonisch sein, und es müssen innerhalb der weißen Areale stets wieder grüne Inseln auftreten, während weiße Inseln inmitten grüner Zelldeszendenzen fehlen.

Wird die Entscheidung über das Ergrünen der Zellen von einem bestimmten Mengenverhältnis normaler:mutierter Erbträger gefällt, so können sowohl grüne als auch weiße Zellen heteroplasmonisch sein. Es müssen sowohl innerhalb weißer Zellflächen grüne Zellinseln, als auch innerhalb grüner Zellflächen weiße Zellinseln auftreten. Aus der Häufigkeit grüner und weißer Zellinseln müßte sich sogar das für die Ergrünung maßgebliche Verhältnis normaler:mutierter Erbträger bestimmen lassen.

Abb. 11 soll diese Verhältnisse demonstrieren. Die Abbildung läßt deutlich erkennen, daß das Auftreten und die Häufigkeit von abgeänderten Flächen einerseits von dem Entmischungsgrad (Vergleich der oberen und unteren Bilder) und andererseits von der Wirkungsweise der Erbträger (Vergleich der Bilder einer Reihe) abhängig sind. Die Abbildung zeigt weiterhin das Auftreten weißer Inseln inmitten schwarz (a, b) und schwarzer Inseln inmitten von weiß (b, c) in Abhängigkeit von der Wirkungsweise der Erbträger. Die Abbildung zeigt aber auch, daß bei einer solchen Betrachtung leicht Fehler entstehen, wenn man nicht die Lage der einzelnen Zelldeszendenzlinien berücksichtigt. In den z. B. von den Teilungsebenen  $4'/0'$  und  $5'/3'$  begrenzten Flächen der Abb. 11 a oben scheinen nicht nur weiße Inseln inmitten von schwarz zu liegen, sondern auch einzelne schwarze Inseln von weiß umgeben zu sein. Es handelt sich hier jedoch um eine Täuschung. Die angeführten Regeln gelten nur für eine einheitliche Zelldeszendenz. Bei den geschilderten Abweichungen von der Regel grenzen jedoch zwei verschieden stark entmischte Zelldeszendenzen (Deszendenzgrenze  $4'/6$  und  $3'$ ) aneinander, wobei zufällig verschiedene Entmischungstypen nebeneinander zu liegen kommen. Um solche Täuschungen möglichst zu vermeiden, empfiehlt es sich, nur möglichst kleine Zellinseln von 1—4 Zellen zu berücksichtigen, die innerhalb einer einheitlichen Zelldeszendenz liegen.





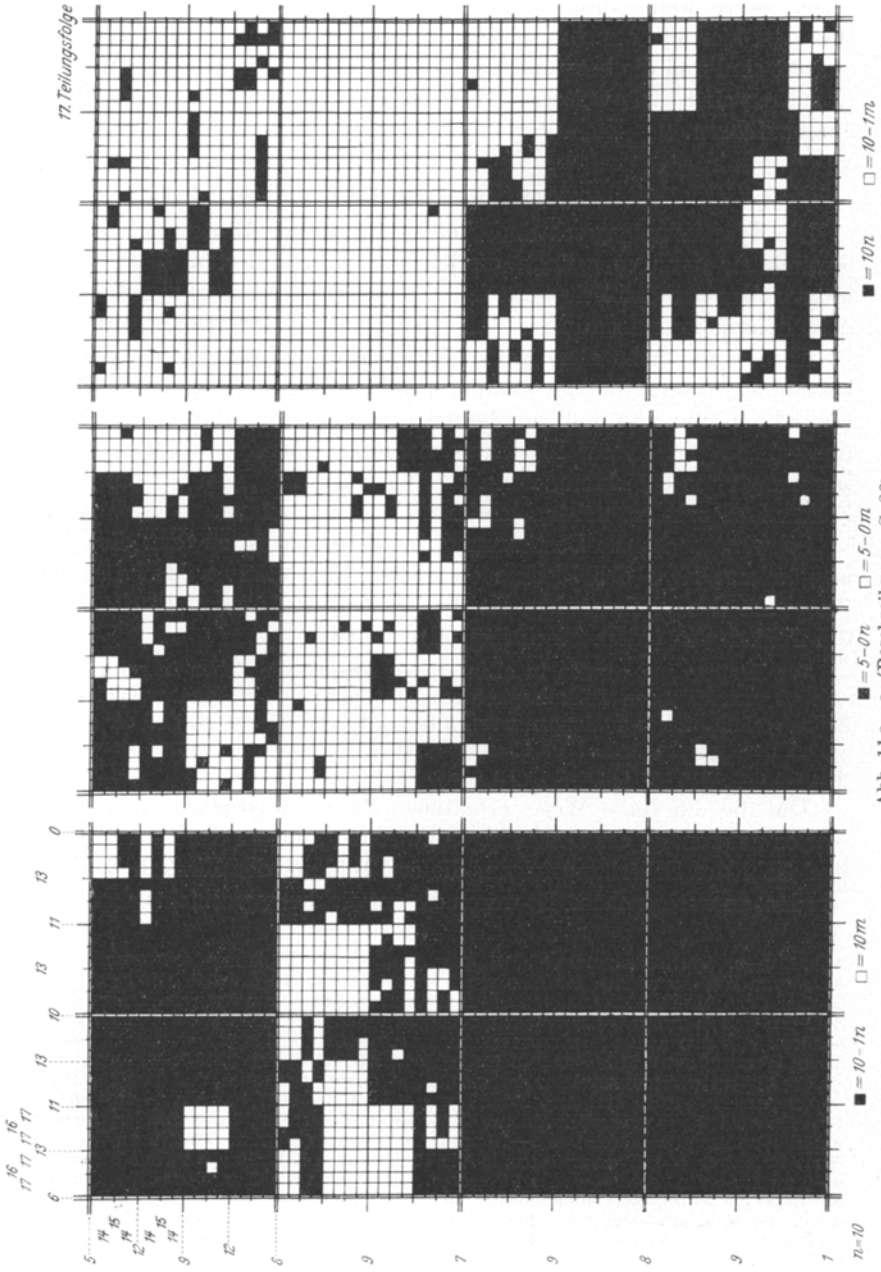


Abb. 11 a—c. (Beschreibung s. S. 86)

Untersucht man das Entmischungsmuster der Pflanze 1956. 1323. 82, so läßt sich eindeutig feststellen, daß inmitten von „weiß“ grüne Inseln liegen, echte weiße Inseln inmitten grüner Deszendenzen aber fehlen. Man darf hier also annehmen, daß alle grünen Zellen homoplasmonisch mutiert sind und die heteroplasmonischen Zellen in den weißen Arealen zu suchen sind. Die weiteren Überlegungen sind auf dieser Grundlage durchzuführen.

### VI. Die Entmischungsgeschwindigkeit der mutierten Erbträger

Die Entmischungsgeschwindigkeit der mutierten Erbträger läßt sich bestimmen, wenn es gelingt, die Zahl der abgeänderten Blattflecken festzustellen und den Zeitpunkt festzulegen, wann die erste abgeänderte, d. h. homoplasmonisch grüne Zelle jedes Fleckes entstanden war.

Es bereitet nicht allzu große Schwierigkeiten, die Fleckenzahl zu bestimmen, wenn die entwicklungsgeschichtlichen Abläufe im Blatt übersehbar sind. Es muß nur berücksichtigt werden, daß ein größerer, unregelmäßig geformter Fleck aus mehreren Entmischungsflecken zusammengesetzt sein kann, wenn zufällig Entmischungen verschiedener Zelldeszendenzenlinien nebeneinander zu liegen kommen.

Schwieriger ist die Bestimmung des Zeitpunktes, zu dem die erste abgeänderte Zelle des Fleckes entstand. Ein relatives Maß für den Zeitpunkt der Fleckenanlage ist die Größe der einzelnen Flecken und die Zahl der in jedem Fleck liegenden Zellen.

Zur Bestimmung wurden in allen grünen Arealen die Zellen in zahlreichen, sich überschneidenden Bildern photographiert und an den Photographien die Zellen gezählt. Diese Zählungen wurden dadurch sehr erleichtert, daß die grünen Zellen der Schecke 1956.1323.82 sehr groß und einheitlich geformt waren und daß sie alle in einer Schicht lagen (Abb. 7).

Um die auf diese Weise erhaltenen Zahlen auswerten zu können, war es notwendig, die Beziehungen zwischen Zellzahl der Einzelflecken und Zahl der Zellteilungsfolgen, die zur Bildung der Flecken benötigt wurden, zu untersuchen. Es waren die entwicklungsgeschichtlichen Vor-

Abb. 11 a—c. Darstellung eines Modellversuches, der die Entstehung der Muster bei verschiedenen Wirkungsweisen der Plasmagene erläutern soll. In dem Modellversuch lagen in einer Urne 10 weiße Kugeln, von denen 1 Kugel zu „grün“ mutiert war. Es wurde die Zahl der weißen und grünen Kugeln verdoppelt, die Kugeln gemischt und zufallsgemäß halbiert. Mit den neuen Mischungsverhältnissen wurde der Versuch wiederholt und in dieser Weise über 11 Teilungsfolgen fortgeführt. Die erhaltenen 2048 Werte wurden in ein der Blattentwicklung ungefähr nachgebildetes Muster eingetragen, und dasselbe Muster wurde unter folgenden drei Annahmen ausgezeichnet. Abb. 11 oben: a 1—10 mutierte Erbträger je Zelle = grünes Plastidom (Zelle schwarz ausgefüllt), 0 mutierte Erbträger = weißes Plastidom (Zelle weiß). b 5—10 mutierte Erbträger = grünes Plastidom, 0—4 mutierte Erbträger = weißes Plastidom. c Alle 10 mutierten Erbträger = grünes Plastidom, 0—9 mutierte Erbträger = weißes Plastidom. Die Zahlen am Rande des Musters geben die Lage der einzelnen Teilungsebenen an. — In Abb. 11 unten ist die Entmischung des in der oberen Zeichnung von Zellteilungsfolge 0, 6, 5 und 1 begrenzten Entmischungsabschnittes (vgl. c) bis zur 17. Teilungsfolge fortgeführt und unter denselben Bedingungen ausgezeichnet worden

gänge genauer zu analysieren, die, in den einzelnen Tertiärsektoren ablaufend, das Flächenwachstum des Blattes bedingen.

### 1. Über die Zellteilungsrythmen während des Flächenwachstums der *Epilobium*-Blattlamina

Teilen sich alle Zellen der jungen *Epilobium*-Blätter gleich oft, so wird mit jeder Zellteilung die Zahl der Zellen verdoppelt. Es müßten sich in diesem Falle die Zellzahlen der abgeänderten Flecken der Reihe  $2^n$  (d. h. 1—2—4—8—16—32 usw., Tabelle 3, Spalte 2) einordnen lassen. Wenn ein bestimmter Anteil der Zellen im Verlauf der einzelnen Zellteilungsfolgen ungeteilt bleibt, so treten charakteristische Abweichungen von der Reihe  $2^n$  auf. Besteht keine Ordnung während der Zellteilungsabläufe, so müssen beliebige Zahlen anzutreffen sein.

Zur Untersuchung dieser Verhältnisse wurden zuerst die Zellflecken ausgewachsener Blätter von verschiedenen *albomaculatum*-Pflanzen herangezogen. Bei ihnen kann keine Verwechslung verschiedener Zelldensendenzen stattfinden. Zur Untersuchung wurden Schecken verwendet, bei denen die Abänderung des Plastidoms erst nach Abschluß der Teilungen manifest wurde und bei denen durch die Abänderung der Plastiden der Teilungsrythmus der Zellen nicht gestört wurde.

Für einen solchen normalen Teilungsablauf gibt es mehrere Indizien: Teilungsstörungen im Gewebe früh ausbleichender Schecken führen zu Blattverkrümmungen, die Zellzahl ist bei Scheckung in verschieden schnell wachsendem Gewebe je Flächeneinheit verschieden, ebenso die Größe der Zellen und der Intercellularen. Kleine Zellgruppen und Einzelzellen, die sich weniger oft teilen, werden durch das Wachstum der umliegenden normalen Zellen in deren Wachstumsrichtung in sehr kennzeichnender Weise verzogen.

Das größte Zahlenmaterial fiel bei einigen Schecken an, in denen die grünen Zellen heteroplasmonisch waren und bei denen im Laufe der Entmischungen inmitten grünen Gewebes immer wieder weiße Zellinseln entstanden. Bei solchen kleineren Zellinseln lassen sich die Zahl und Anordnung der Zellteilungsfolgen meistens ohne Schwierigkeiten aus der Lage der Zellen, aus der Anordnung der mit Tüpfeln versehenen Berührungsflächen und aus der Form der Intercellularen rekonstruieren (Abb. 12).

Die Untersuchung dieser im Blatt zuletzt abgelaufenen Zellteilungsfolgen ergab, daß sich in der Mehrzahl der Fälle die Zellen gleich oft geteilt hatten. Zellgruppen mit 1, 2, 4, 8 und 16 Zellen waren besonders häufig (Abb. 12a). Es bestehen also im Blatt bestimmte Gesetzmäßigkeiten, die offenbar so zu verstehen sind, daß sich die Mehrzahl der Zellen während der Blattentwicklung, wenn auch nicht gleichzeitig, so doch gleich oft teilt. Andererseits kamen aber doch Abweichungen von der Zahlenreihe  $2^n$  vor, die zeigen, daß gelegentlich einzelne Zellen sich nicht dem allgemeinen Teilungsschema eingefügt hatten und ungeteilt liegengeblieben waren (Abb. 12b). Durch ein solches gelegentliches Liegenbleiben einzelner Zellen entstehen während der letzten

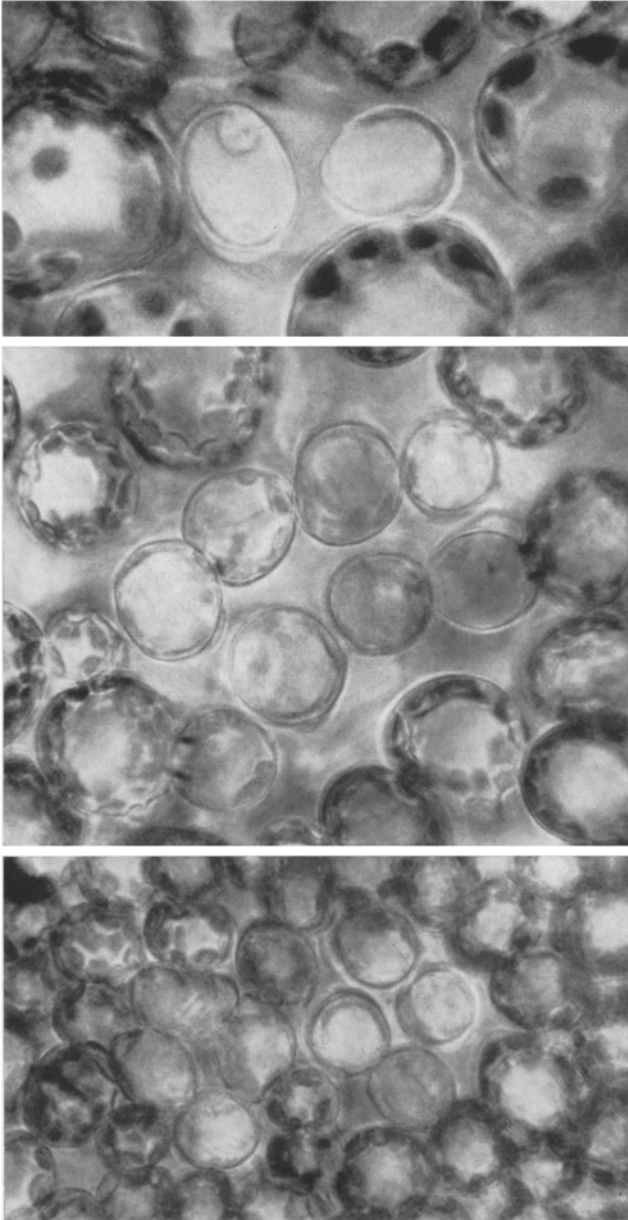


Abb. 12a Abgeänderte Zellgruppen bei gleicher Teilungshäufigkeit der Zellen. Oben: Mit der zweitletzten Teilung der Palisadenzellen entstand eine abgeänderte Zelle, die sich in der letzten Zellteilung verdoppelte. Mitte: Achtzellige Gruppe mit ausbleichendem Plastidom. Die erste abgeänderte Zelle entstand mit der viertletzten Teilungsfolge der Palisadenschicht. Die Teilungsebene der drittletzten Teilung verlief im Bild von links nach rechts, die Ebenen der beiden letzten Teilungen senkrecht dazu. Unten: Zwei benachbart liegende Zellgruppen mit je vier abgeänderten Zellen

Teilungsfolge zwischen Zweiergruppen Einzelzellen, durch Liegenbleiben einzelner Zellen in der vorletzten Teilung können statt vierzelliger Gruppen dreizellige, durch Liegenbleiben in den beiden letzten Teilungen ein- bis dreizellige Gruppen entstehen. In der drittletzten Zellteilung

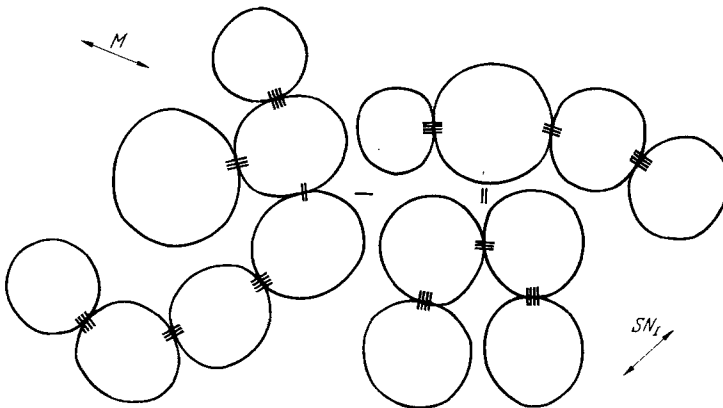
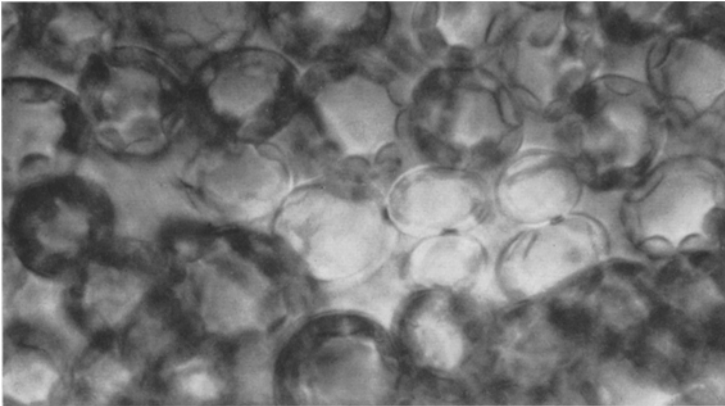
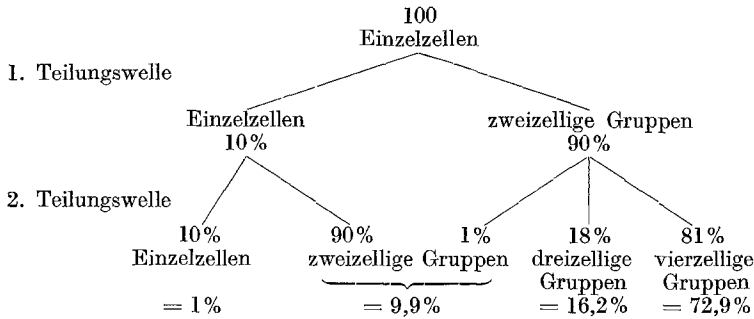


Abb. 12 b. Abgeänderte Zellgruppen mit ungleicher Teilungsfolge. Oben: Gruppe aus vier Zellen, von denen sich die beiden rechten Zellen in der letzten Teilungsfolge des Blattes allein nochmals teilten und damit eine sechszellige Gruppe bildeten. Unten: Zeichnung einer 15zelligen Gruppe mit ausbleichendem Plastidom, die inmitten normaler Palisadenzellen lag. Alle Zellen teilten sich gleich oft bis auf die große Zelle links oben, bei der die letzte Zellteilung ausfiel. Die Zahl der verbindenden Querstriche gibt die vermutliche Reihenfolge der Zellteilungen wieder

können an Stelle von achtzelligen Gruppen ein- bis siebenzellige entstehen. Um nun die Größe der Abweichungen kennenzulernen und in ihrer Bedeutung abschätzen zu können, war es notwendig, zu berechnen, in welcher Häufigkeit die einzelnen Zellgruppen zu erwarten sind, wenn ein bestimmter Prozentsatz von Zellen bei den einzelnen Teilungen ungeteilt liegenbleibt. Mit diesen errechneten Häufigkeiten sind dann die beobachteten Häufigkeiten zu vergleichen.

Im folgenden sei als Beispiel angenommen, daß von 100 Zellen sich bei jeder Zellteilungsfolge 90 Zellen teilen und 10 ungeteilt bleiben. Es wird noch zu zeigen sein, daß solche Verhältnisse für den Teilungsablauf im Blatt der untersuchten *Epilobium*-Sippen ungefähr zutreffen. Es entstehen unter diesen Bedingungen folgende Häufigkeiten:



In Abb. 13 sind diese Berechnungen bis zur vierten Teilungsfolge fortgeführt und graphisch dargestellt worden. Abb. 14a und b zeigt die Häufigkeit der einzelnen Zellgruppen in Abhängigkeit von der Zahl der ungeteilt bleibenden Zellen für die zweite und dritte Zellteilungsfolge.

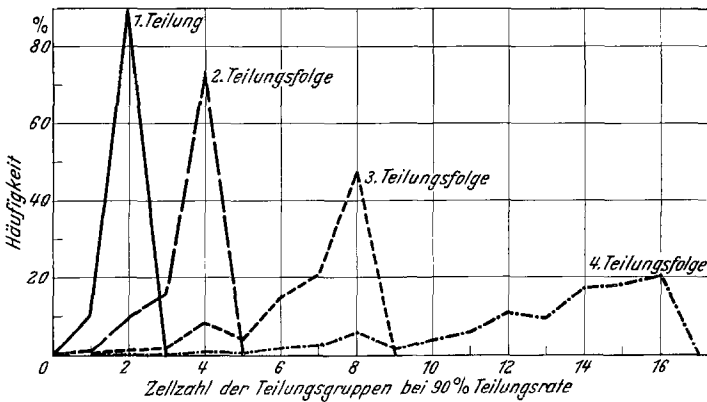


Abb. 13. Kurven der in der ersten bis vierten Zellteilungsfolge zu erwartenden Häufigkeiten verschiedenzzelliger abgeänderter Zellgruppen, wenn die Häufigkeit der sich nicht teilenden Zellen 10% beträgt

Aus den auf solche Weise errechneten Zahlen lassen sich folgende allgemeinere Gesetzmäßigkeiten ableiten: In den ersten Zellteilungsfolgen treten die einzelnen Zellgruppen in Zahlenverhältnissen auf, die sich in sehr kennzeichnender Weise unterscheiden, wenn verschiedene Prozentsätze der Zellen ungeteilt liegenbleiben. Wenn es nicht möglich ist, die Zellteilungsvorgänge im Blatt laufend zu untersuchen, so kann man sie also aus den Zellgruppierungen erschließen. Die Kurven dieser charakteristischen Zahlenunterschiede gleichen sich zwar mit zunehmenden

den Teilungsfolgen immer mehr aus. Es entstehen Zellgruppen mit allen möglichen Zellzahlen. Es bleiben aber doch gewisse Gesetzmäßigkeiten erhalten. Die für die erste Teilungsfolge kennzeichnenden einzelligen und zweizelligen Gruppen und die für die zweite Teilungsfolge kennzeichnenden drei- und vierzelligen Gruppen können auch noch nach Ablauf weiterer Teilungsfolgen auftreten, sie werden aber in demselben

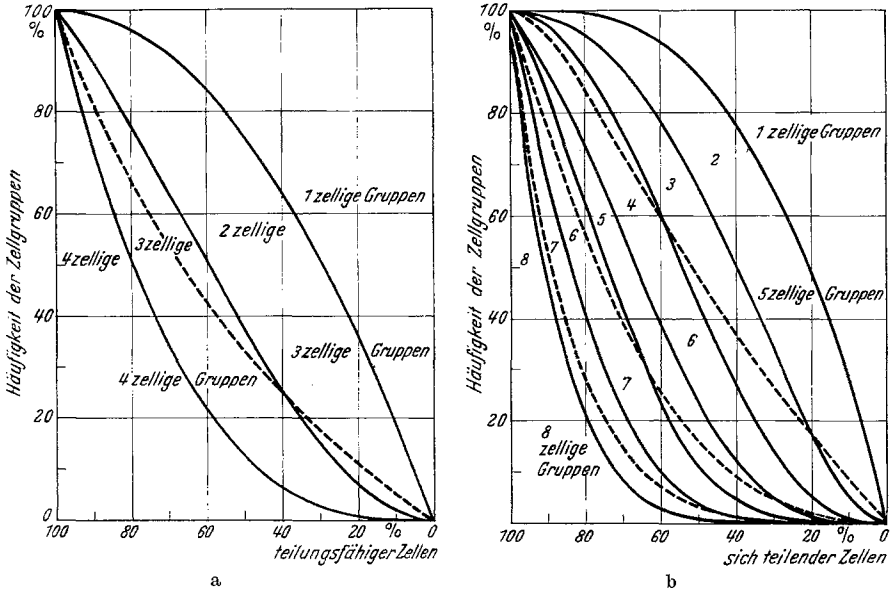


Abb. 14a u. b. a Häufigkeit der Zahl der ein- bis vierzelligen Zellgruppen in der zweiten Zellteilungsfolge in Abhängigkeit von der Rate der sich teilenden Zellen. Punktirt gezeichnet ist das Verhältnis der drei- und vierzelligen Gruppen ohne Berücksichtigung der ein- und zweizelligen Gruppen. — b Häufigkeit der Zahl der in der dritten Zellteilungsfolge entstandenen ein- bis achtzelligen Zellgruppen in Abhängigkeit von der Häufigkeit der sich teilenden Zellen. Die punktierten Linien geben die Verhältniszahlen der fünf- bis achtzelligen Gruppen wieder

Maße seltener, wie Zellen von der Teilung ausgeschlossen werden. Ist z. B. das Verhältnis von ungeteilt liegenbleibenden Zellen zu sich teilenden Zellen wie 1/10 zu 9/10, so sinkt die Häufigkeit der Einzelzellen mit der zweiten Teilungsfolge von 10% auf 1%, mit der dritten und vierten Teilungsfolge auf 0,1%, resp. 0,01%. Die Häufigkeit der Zweiergruppen, die nach der zweiten Teilung 9,9% war, sinkt mit der dritten und vierten Teilungsfolge auf 0,999%, resp. 0,0999% usw. Dabei verändert sich das in den ersten Teilungen zustande gekommene Verhältnis der einzelnen Gruppen untereinander nur unwesentlich. Das in der zweiten Teilung entstandene Verhältnis von drei- und vierzelligen Gruppen von 18:82 verschiebt sich in den folgenden Teilungen kaum, wenn der Anteil der sich nicht teilenden Zellen 10% bleibt. Es kann



also aus diesem relativen Verhältnis der Anteil der ungeteilt bleibenden Zellen abgeschätzt werden, ohne daß bekannt zu sein braucht, in welcher Zellteilung die einzelnen Zellgruppen entstanden sind. Nur bei einem wesentlich höheren Prozentsatz sich nicht teilender Zellen sind größere Korrekturen notwendig.

In Tabelle 4 ist eine solche Berechnung durchgeführt. Es wurden bei einer Schecke die Zahl der drei- und vierzelligen und der fünf- bis achtzelligen abgeänderten Zellgruppen bestimmt und mit den theoretisch ermittelten Zahlen verglichen. Aus dem Verhältnis der dreizelligen zu den vierzelligen Gruppen ist zu entnehmen, daß in der vorletzten Zellteilung des Blattes 8—10% der Zellen ungeteilt geblieben waren. Völlig entsprechende Werte errechnet man, wenn man die prozentualen Häufigkeiten der fünf- bis achtzelligen Gruppen, also die Werte der in der drittletzten Zellteilung neu entstandenen Zellgruppen mit den errechneten Zahlen vergleicht. Die Übereinstimmung der in verschiedenen Zellteilungsfolgen errechneten Werte in diesen und anderen Beispielen zeigt, daß die geschilderte Methode zur Bestimmung der Zellteilungshäufigkeiten geeignet ist.

Tabelle 4. Häufigkeit der abgeänderten Zellgruppen in Abhängigkeit vom Zellteilungs-rhythmus

	Zellzahl der Gruppen					
	3	4	5	6	7	8
	(vorletzte Teilung)		(drittletzte Teilung)			

Bei Schecken beobachtete Häufigkeiten:

Absolute Werte . . . . .	5	26	1	5	4	12
%-Werte . . . . .	16,13 %	83,87 %	4,54 %	22,73 %	18,18 %	54,54 %

Theoretisch ermittelte Häufigkeiten:

% der ungeteilt bleibenden Zellen	3	4	5	6	7	8
8 %	14,81 %	85,19 %	3,18 %	14,34 %	21,28 %	61,19 %
9 %	17,51 %	83,49 %	3,98 %	15,86 %	22,74 %	57,47 %
10 %	18,18 %	81,82 %	4,74 %	17,32 %	23,98 %	53,96 %

Bei den Schecken lassen sich nur die kleineren abgeänderten Flecken für solche Auszählungen verwenden. Es können damit nur die Teilungsverhältnisse während der letzten im Blatt ablaufenden Zellteilungen untersucht werden, und es besteht die Notwendigkeit, die Methode auch auf normale Blätter und ihre verschiedenen Entwicklungsstadien zu übertragen. Im grünen Palisadengewebe ausgewachsener Blätter sind die entwicklungsgeschichtlichen Zusammenhänge meistens nicht mehr erkennbar. Im jungen, noch in Teilung befindlichen Palisadengewebe lassen sich aber an der Form und der Anordnung der Zellen zum mindesten die Teilungen der für den Zeitpunkt der Untersuchung zuletzt abgelaufenen Teilungsfolge ablesen. An sehr jungen Blättern mit noch weitgehend undifferenzierten Zellen lassen sich sowohl in den zukünftigen Palisaden- als auch in den Schwammparenchymsschichten sogar die

Teilungsabläufe der letzten drei bis vier Zellteilungsfolgen mit Hilfe der Ausbildung und der Anordnung der Zellwände rekonstruieren (Abb. 15).

Mit Hilfe dieser Methode wurde 1. aus der relativen Häufigkeit der dreizelligen Gruppen die Teilungsrate der Zellen und 2. aus dem Winkel, den die eingezogenen Zellwände mit der Mittelrippe bilden, die zu den Teilungsebenen senkrecht stehende Wachstumsrichtung ermittelt (Abb. 16). Es kann hier nicht die Aufgabe sein, die Bedeutung solcher Untersuchungen für die Entwicklungsgeschichte des *Epilobium*-Blattes zu erörtern. Hier

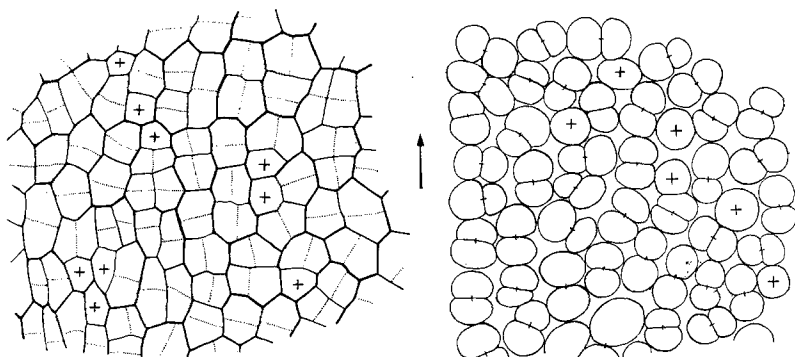


Abb. 15. Rechts: Ausschnitt aus dem Zellnetz des Palisadenparenchyms eines 3 mm langen *Epilobium*-Blattes (obere Blatthälfte). Die Striche verbinden die Tochterzellen der letzten Zellteilungsfolge. Ungeteilt gebliebene Zellen sind durch ein Kreuz bezeichnet. Links: Zellnetz aus der Blattbasis eines 9 mm langen Blattes. Zur besseren Kennzeichnung sind die Wände der letzten Zellteilungsfolge punktiert, die der dritt- und viertletzten Teilungsfolge dicker gezeichnet. Zellen, die in der letzten Teilungsfolge ungeteilt blieben, enthalten ein Kreuz. Zeichnungen mit dem Zeichenapparat ausgeführt. Der Pfeil gibt die Richtung der Mittelrippe an, so daß eine Bestimmung des Winkels möglich ist, in dem die einzelnen Zellwände eingezogen wurden

genügen folgende Ableitungen, die aber hier nicht weiter ausgebaut und untermauert werden können: Die charakteristische Form der *Epilobium*-Blätter kommt offenbar nicht dadurch zustande, daß an verschiedenen Orten und zu verschiedenen Zeiten unterschiedliche Prozentsätze von teilungsfähigen Zellen vorliegen. Die Blattform entsteht vor allem durch ein verschieden lang andauerndes Wachstum und durch die verschiedene Richtung der neu eingezogenen Zellwände. Die Zahl der dreizelligen Gruppen ist in verschiedenen Altersstadien und an verschiedenen Blattstellen sehr ähnlich und schwankt zwischen 5 und 12% (Mittel 8,4%). Die bisher durchgeführten Untersuchungen ließen in den verschiedenen Blatteilen keine gesetzmäßigen Unterschiede in der Zahl der liegengebliebenen Zellen erkennen; so überhaupt charakteristische Unterschiede vorhanden sind, können sie offenbar nicht sehr groß sein. Größere Störungen der Teilungsrate treten nur in kausaler Beziehung mit Verwundungen und Determinationsvorgängen auf, z. B. bei Anlage der Raphidenzellen und in unmittelbarer Nähe der Nerven und Spalt-

öffnungen. Obwohl sich die Zellen keineswegs gleichzeitig teilen, scheint insofern eine Gesetzmäßigkeit zu bestehen, als die Zellen sich in sehr ähnlichen Zeitabständen und daher während der Entwicklung ungefähr gleich oft teilen. Geringe Unterschiede im Zeitpunkt der Zellteilungen scheinen nur dadurch zu entstehen, daß bei jeder Zellteilungsfolge ein

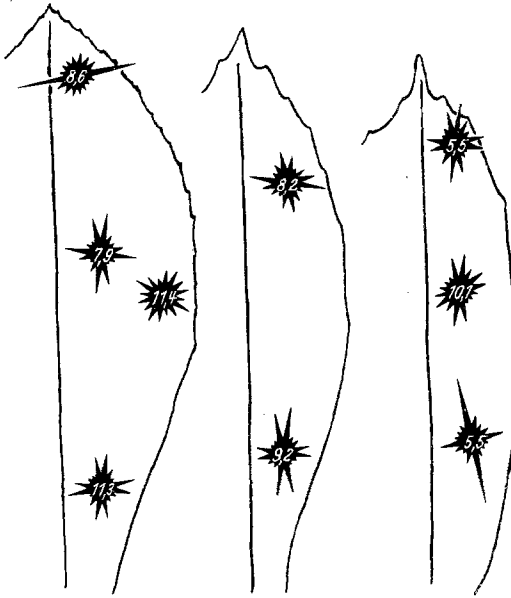


Abb. 16. Wachstumskoordinaten von drei verschiedenen alten Blättern. Links 14 mm langes Blatt der Sproßknospe, Mitte 9 mm langes Blatt, rechts 3,2 mm langes Blatt aus der Nähe des Vegetationspunktes. Die Lage des Koordinatensternes entspricht der Lage des untersuchten Blattgewebes. Die zentrale Zahl gibt den Anteil der während der zuletzt abgelaufenen Teilung liegengebliebenen Zellen an. Die Länge der Strahlen gibt den prozentualen Anteil der Zellwände an, die senkrecht zum Strahl eingezogen wurden. An der Spitze des 14 mm langen Blattes fand fast ausschließlich ein Breitenwachstum senkrecht zur Mittelrippe statt, an der Basis des 3,2 mm langen Blattes neben einem schwächeren Breitenwachstum hauptsächlich ein Längenwachstum

überall sehr ähnlicher Prozentsatz von Zellen den allgemeinen Teilungswellen nachhinkt. In der Lage dieser Zellen ließ sich bisher keine Gesetzmäßigkeit erkennen. Die große Wachstumsperiode scheint dadurch zu entstehen, daß in den einzelnen von den eigentlichen Initialen der Meristeme abgegebenen Zelldeszendenzlinien die Teilungsgeschwindigkeit ganz allgemein abnimmt.

Im Rahmen der hier durchzuführenden Untersuchungen sind diese allgemeinen Gesetzmäßigkeiten insofern von Bedeutung, als man infolge der gleichartigen Beteiligung der Zellen an den Zellteilungsvorgängen mit ausreichender Genauigkeit aus der Zellzahl eines abgeänderten

Areales den Zeitpunkt seiner Entstehung abschätzen kann. Ist der Prozentsatz der sich nicht teilenden Zellen 10%, so hat sich die Mehrzahl der Zellen eines Areales gleich oft geteilt. 10% der Zellen haben eine Teilungsfolge, 1% der Zellen haben zwei Teilungsfolgen, 0,1% der Zellen drei Zellteilungsfolgen übersprungen. In demselben Ausmaße können Fehler entstehen, wenn aus der Zahl der Zellen eines Areales dessen Alter bestimmt werden soll. In Tabelle 3 sind die Zellzahlen angegeben, die nach einer bestimmten Anzahl von Zellteilungsfolgen erwartet werden können, wenn keine Zellen, wenn 10%, 25% und 50%

der Zellen von jeder Zellteilung ausgeschlossen bleiben. Vergleicht man diese Zahlen, so findet man, daß der Unterschied der Zellzahlen bei verschiedener Teilungsrates im Verhältnis zu der Zunahme der Zellen mit jeder Zellteilung nicht groß ist.

Tabelle 5 zeigt den Einfluß verschiedener Zellteilungs-raten, wenn aus der Zellzahl eines Areales sein Alter in Zellgenerationen angegeben werden soll.

Die Fehler, die durch eine verschieden starke Teilungs-rate entstehen können, sind also nicht sehr groß. Zählt man diese Fehlermöglichkeit zu den Unsicherheitsfaktoren hinzu, die bei der Bestimmung des Mutationsortes entstehen können, so können die Schätzungsfehler, die bei der Bestimmung der Entmischungsgeschwindigkeit insgesamt berücksichtigt werden müssen, drei bis höchstens acht Generationenfolgen betragen.

Tabelle 5. *Beziehungen zwischen Arealgröße, Zellteilungsrate und Alter des Areales in Zellteilungsfolgen*

Arealgröße in Zellzahl	Zellteilungsrate		
	100 %	90 %	75 % (25 % der Zellen bleiben in jeder Teilungsfolge ungeteilt)

Zahl der Zellteilungsfolgen, die zur Ausbildung des Areales benötigt wurden

25	4—5	5—6	5—6
50	5—6	6—7	ca. 7
100	6—7	7—8	8—9
500	8—9	9—10	11—12
1000	9—10	10—11	12—13
2000	10—11	11—12	13—14
5000	12—13	13—14	15—16
10000	13—14	14—15	16—17
50000	15—16	16—17	19—20

2. *Die Entmischungsgeschwindigkeit der bei der Schecke 1956.1323.82 mutierten Erbräger*

Wie schon erwähnt, wurden an der Mutante der Pflanze 1956.1323.82 an Hand von Mikrophotographien die grünen Zellen ausgezählt. Es lagen insgesamt 21059 abgeänderte Zellen vor, die sich auf 39 selbständige Flecken verteilen. Der kleinste Fleck enthielt 12, der größte Fleck enthielt 5772 Zellen. Nach den Erörterungen des vorhergehenden Abschnittes müssen in dem kleinsten Fleck 4 Zellteilungsfolgen abgelaufen sein. Die erste homoplasmonisch mutierte Zelle des Fleckes muß zwischen der fünft- und viertletzten Zellteilungsfolge entstanden sein. Im größten Fleck dürften nach seiner Anlage noch ca. 14 Zellteilungsfolgen abgelaufen sein (vgl. Tabelle 3 und die oben besprochenen Fehlermöglichkeiten). In Abb. 18 sind auf analoge Weise die einzelnen Flecken auf die verschiedenen Zellteilungsfolgen verteilt worden.

Soll nun die Entmischungsgeschwindigkeit der mutierten Erbräger bestimmt werden, so sind die Zahlen der in den einzelnen Flecken stattgefundenen Zellteilungsfolgen mit der Gesamtzahl der Zellteilungsfolgen zu vergleichen, die in der von der primär mutierten Zelle abgehenden Zelldeszendenz abgelaufen sind. Es ist die Größe der grünen Flecken mit der Größe des Blattareales zu vergleichen, das aus der

mutierten Zelle entstand. Die Abgrenzung dieses Areales bereitet Schwierigkeiten, da sich die „weißen“ Zellen, die von der mutierten Zelle wieder abgegeben wurden, nicht von den „weißen“ Zellen der ursprünglichen Shecke unterscheiden lassen. Um diese Schwierigkeiten zu umgehen,

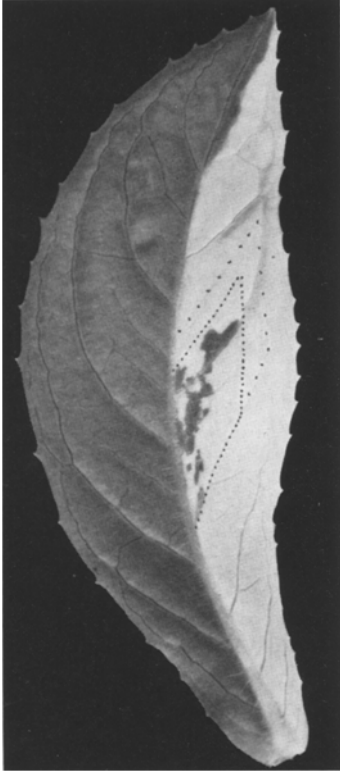


Abb. 17. Blattunterseite des abgeänderten Blattes der Pflanze 1956. 1323. 82 mit den abgeänderten grünen Zellflächen. Mit dichter Punktionierung ist das Minimalareal umrissen und mit weiter Punktionierung das Maximalareal angegeben, das wahrscheinlich aus der mutierten Zelle entstanden ist und den Berechnungen zugrunde gelegt wurde

wurde einerseits ein Areal angenommen, das gerade alle grünen Zellen umschloß und in seiner Form der Mindestzahl der Tertiärsektoren entsprach (Abb. 17). Andererseits wurde ein Maximalareal angenommen, das von den Grenzen eines möglichst großen Primärsektors und einer Maximalzahl von Tertiärsektoren umschlossen wurde.

Es war nicht möglich gewesen, die „weißen“ Zellen des Maximal-, resp. Minimalsektors auszuzählen. Zudem lagen die „weißen“ Zellen im Gegensatz zu den grünen Zellen in mehreren Schichten, was anzeigt, daß während der letzten Zellteilungsfolgen weiße und grüne Zellen sich in verschiedener Weise teilten und daher nicht vergleichbar waren. Es war zu überlegen, auf welche Weise am besten vergleichbare Zahlenwerte zu erhalten sind.

Da die grünen Flecken mit der größten und kleinsten Ausdehnung völlig gleiche anatomische Verhältnisse zeigen, so können die meristematischen „weißen“ Zellen, aus denen grüne Areale entstanden, sich während der vierzehnt- und viertletzten Teilung nicht wesentlich anders verhalten haben als die meristematischen, später grün werdenden Zellen. Wenn am fertig ausgebildeten Blatt zwischen grünem und weißem Gewebe Unterschiede festzustellen sind, so müssen diese nach der viertletzten Teilung der später grün werdenden Zellen entstanden sein. Erst nach diesem Zeitpunkt müssen im weißen Gewebe noch Teilungen parallel der Blattoberfläche stattgefunden haben, die in den grünen Zellen ausfielen. Diese letzte periklinale Teilungsphase läßt sich mit Hilfe der Analyse der

Scheckungsmuster ganz allgemein feststellen: Abgeänderte kleine Zellflecken aus wenig Zellen liegen stets nur in einer der Palisaden-, resp. Schwammparenchymsschichten. Größere Flecken aus mehr Zellen reichen durch mehrere Zellschichten hindurch und weisen in diesen verschiedenen Schichten eine ähnliche Begrenzung auf. Da nach dieser periklinalen Teilung keine Entmischungen mehr stattfanden, so brauchen die unterschiedlichen Verhältnisse während der letzten Zellteilungen nicht mehr berücksichtigt zu werden. Es sind nicht die Zahlen der verschieden dicht

liegenden und der verschiedenen großen grünen und weißen Zellen zu vergleichen, sondern nur die Arealgrößen. Der Vergleich erfolgte durch Ausplanimetrieren, resp. durch Wägungen der grünen und weißen Areale an stark vergrößerten Photographien. Die Flächenwerte wurden auf die Zahlen grün werdender Zellen umgerechnet. Auf solche Weise kommt man in der Minimalfläche auf 68 600 Zellen in der Maximalfläche auf 103 500 Zellen. Vergleicht man die Werte mit den Zahlen der Tabelle 3, so kommt man trotz der sehr großen Unterschiede der Arealgrößen und Zellzahlen in beiden Fällen auf etwa 18 Zellteilungsfolgen. Durch die mit

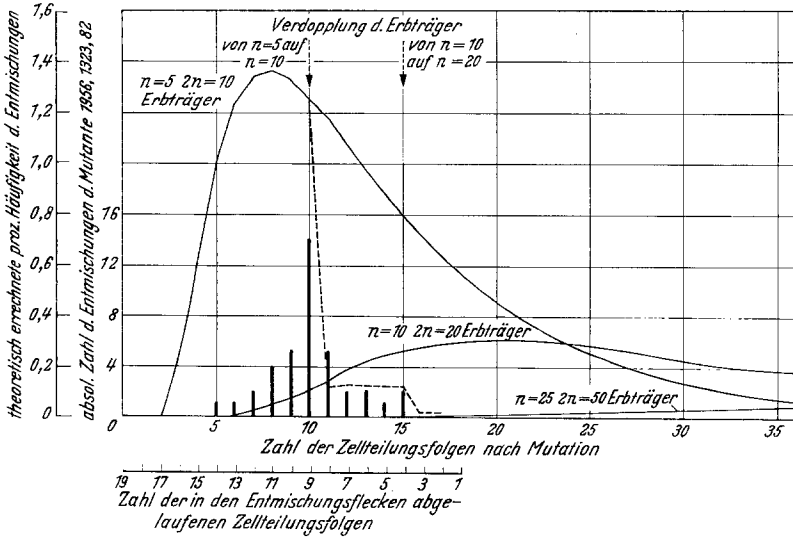


Abb. 18. Vergleich der theoretischen Entmischungskurven mit der Entmischungsgeschwindigkeit der Mutante auf Schecke 1956.1323.82. Die senkrecht stehenden Säulen geben die Häufigkeit der Entmischungen bei der Mutante der Pflanze 1956.1323.82 an, gemessen an der Zahl der in den verschiedenen Entmischungsflecken abgelaufenen Zellteilungsfolgen. Als Zahl der insgesamt in der mutierten Zelldeszendenz abgelaufenen Zellteilungsfolgen sind 19 Zellteilungsfolgen angenommen. Die Kurven geben die theoretisch zu erwartende Häufigkeit der in jeder Zellteilungsfolge neu auftretenden Entmischungen an, wenn die Zahl der sich zufallsgemäß entmischenden Erbräger je Zelle  $n = 5$ ,  $n = 10$  und  $n = 25$  ist. Die punktierte Kurve ist unter der Annahme errechnet, daß nach zehn Zellteilungsfolgen einer Entmischung bei  $n = 5$  die Zahl der Erbräger auf  $n = 10$  und nach weiteren fünf Zellteilungsfolgen nochmals auf  $n = 20$  verdoppelt wird

jeder Zellteilung stattfindende Verdoppelung der Zellen entstehen so große Unterschiede, daß ihnen gegenüber die bei der Abgrenzung der Areale auftretenden Fehlermöglichkeiten kaum ins Gewicht fallen. Es können ungünstigenfalls nur Fehlschätzungen von  $\pm$  einer Zellteilungsfolge entstehen.

Überblickt man nun die Zahlen, so kommt man auf Grund der Fleckenauszahlungen zu folgender Schätzung der Entmischungsgeschwindigkeiten (Abb. 18): Die erste homoplasmonisch mutierte Zelle muß verhältnismäßig bald (fünf bis zehn Zellteilungsfolgen) nach der Mutation des Erbrägers aufgetreten sein. Bis zum Höhepunkt der Entmischungen verliefen dann ungefähr fünf weitere Zellteilungsfolgen, nach denen die Häufigkeit der Entmischungen wieder abfiel. In den

letzten drei Zellteilungsfolgen fanden keine Entmischungen mehr statt, obwohl die Zahl der sich teilenden Zellen hier besonders groß ist und damit die Wahrscheinlichkeit steigt, auch sehr seltene Entmischungen zu finden. Für die Zelldeszendenz der Zelle mit dem ersten mutierten Erbträger sind ungefähr 18 Zellteilungsfolgen anzusetzen. Es ist selbstverständlich, daß diese Schätzungen nur der Größenordnung nach bewertbar sind. Sie lassen aber doch eindeutig erkennen, daß die Entmischungen ungewöhnlich rasch stattfanden. Der ganze Entmischungsvorgang scheint in den Entwicklungsablauf eines einzigen Blattes zu fallen, während in anderen Fällen die Entmischungen über zahlreiche Blattwirtel verteilt sind und vielfach die zahlreichen Zellteilungsfolgen einer ganzen Generation nicht zum Abschluß der Entmischungen genügten.

### VII. Über die Natur der mutierten Erbträger

Wenn versucht werden soll, die Natur der mutierten Erbträger zu bestimmen, so ist die an der Pflanze 1956.1323.82 festgestellte Entmischungsgeschwindigkeit mit den theoretischen Entmischungskurven zu vergleichen. In Abb. 18 sind neben den beobachteten Entmischungswerten die Kurven der Entmischungswahrscheinlichkeiten eingezeichnet, wie sie für verschiedene Zahlen von Erbkonstituenten je Zelle berechnet wurden. Der Vergleich zeigt auf den ersten Blick, daß zur Erklärung der beobachteten Entmischungsgeschwindigkeiten keine größeren Konstituentenzahlen in Frage kommen können. Bei einem genaueren Vergleich können die beobachteten Werte nicht ohne weiteres mit den theoretisch ermittelten Werten verglichen werden, sondern die errechneten Prozentwerte sind auf die Zellzahlen zu beziehen, die in den einzelnen Zellgenerationen zu erwarten sind. Die durch eine solche Umrechnung erhaltenen Werte sind in Tabelle 6 wiedergegeben. Nach dieser Tabelle wären die ersten homoplasmonisch mutierten Zellen bei  $n = 5$  sechs bis acht Zellteilungsfolgen nach der Mutation zu erwarten. Bei  $n = 10$  sind bis zum Auftreten solcher Zellen zehn bis zwölf, bei  $n = 25$  aber schon siebzehn bis zwanzig Zellteilungsfolgen notwendig. Bei dem untersuchten Objekt war diese Zeitspanne auf fünf bis zehn Generationen geschätzt worden.

Vom Zeitpunkt der ersten Entmischungen an sollte nach den Zahlen der Tabelle 6 die Zahl der neu entstehenden homoplasmonisch entmischten Zellen kontinuierlich zunehmen. Der in den Entmischungskurven der Abb. 18 nach dem Entmischungsmaximum deutlich festzustellende Abfall der Entmischungswahrscheinlichkeit ist in Tabelle 6 nicht mehr zu erkennen, da die Zellzahl mit jeder Zellteilungsfolge viel stärker zunimmt, als die Entmischungswahrscheinlichkeiten abnehmen. In einer Zellpopulation, in der sich wie im Blatt alle Zellen  $\pm$  gleich-

Tabelle 6. Wahrscheinlichkeit der bei jeder Zellteilung neu entstehenden homoplasmatisch mutierten Zellen

Zahl der Zellteilungsfolgen	$n = 5, 2n = 10$					$n = 10, 2n = 20$					$n = 25, 2n = 50$					
	Absoluter Wert in % aller Zellen	bei 100 % Teilung	bei 90 % Teilung	bei 75 % Teilung	Absoluter Wert in % aller Zellen	bei 100 % Teilung	bei 90 % Teilung	bei 75 % Teilung	Absoluter Wert in % aller Zellen	bei 100 % Teilung	bei 90 % Teilung	bei 75 % Teilung	Absoluter Wert in % aller Zellen	bei 100 % Teilung	bei 90 % Teilung	bei 75 % Teilung
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,24	0,020	0,017	0,013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,66	0,105	0,086	0,062	0,0001	0,00002	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001	0	0	0	0
5	1,01	0,324	0,251	0,166	0,0002	0,00006	0,00005	0,00003	1 · 10 <sup>-16</sup>	0,00003	0,00003	0,00003	0	0	0	0
6	1,24	0,79	0,58	0,35	0,01	0,006	0,005	0,003	3 · 10 <sup>-13</sup>	0,003	0,003	0,003	0	0	0	0
7	1,34	1,72	1,20	0,68	0,03	0,03	0,02	0,01	7 · 10 <sup>-10</sup>	0,02	0,02	0,01	0	0	0	0
8	1,37	3,50	2,32	1,20	0,05	0,13	0,08	0,04	1 · 10 <sup>-8</sup>	0,08	0,08	0,04	0	0	0	0
9	1,33	6,81	4,30	2,05	0,08	0,42	0,26	0,13	2 · 10 <sup>-7</sup>	0,42	0,26	0,13	0	0	0	0
10	1,26	24,92	7,74	3,40	0,12	1,19	0,71	0,31	2 · 10 <sup>-6</sup>	1,19	0,71	0,31	0	0	0	0
11	1,18	24,1	13,7	5,5	0,15	3,03	1,72	0,70	0,009008	3,03	1,72	0,70	0,00001	0,00001	0,00001	0,00004
12	1,08	44,2	23,9	8,9	0,18	7,50	4,05	1,51	0,00001	7,50	4,05	1,51	0,00005	0,00005	0,00005	0,00001
13	0,99	80,7	41,4	14,2	0,21	17,37	8,91	3,06	0,00008	17,37	8,91	3,06	0,0063	0,0032	0,0032	0,0011
14	0,89	146,0	71,2	22,5	0,24	38,83	18,94	5,99	0,0001	38,83	18,94	5,99	0,0238	0,0116	0,0116	0,0037
15	0,80	263,1	121,9	35,5	0,26	84,21	39,02	11,36	0,0003	84,21	39,02	11,36	0,0950	0,0440	0,0440	0,0128
16	0,72	471	207	56	0,27	179	78	21	0,0005	179	78	21	0,0005	0,33	0,15	0,04
17	0,65	846	354	87	0,28	372	156	38	0,0008	372	156	38	0,0008	1,09	0,45	0,11
18	0,58	1510	600	136	0,29	781	310	71	0,0013	781	310	71	0,0013	3,28	1,30	0,29
19	0,52	2705	1021	214	0,30	1562	590	124	0,0019	1562	590	124	0,0019	9,86	3,72	0,78
20	0,46	4802	1722	332	0,30	3125	1120	216	0,0026	3125	1120	216	0,0026	27,47	9,85	1,90
21	0,41	8557	2914	518	0,30	6250	2128	378	0,0035	6250	2128	378	0,0035	73,6	25,1	4,5
22	0,36	15267	4939	809	0,30	12331	3990	653	0,0046	12331	3990	653	0,0046	195,7	61,9	10,1
23	0,32	27017	8353	1260	0,29	24182	7477	1128	0,0058	24182	7477	1128	0,0058	480,3	148,5	22,4
24	0,29	45438	14108	1960	0,29	44807	13912	1933	0,0071	44807	13912	1933	0,0071	1192,9	348,3	48,4
25	0,26	86235	23921	3061	0,28	92946	25782	3299	0,0085	92946	25782	3299	0,0085	2852,1	791,2	101,2

7\*



mäßig teilen, müßte die Zahl der neu entstehenden homoplasmonischen Zellen dauernd zunehmen. Die Abnahme der Entmischungen wird nur dort festzustellen sein, wo das Wachstum zur Hauptsache einer eng begrenzten Zahl von Initialzellen zugeteilt ist und die abgegebenen Zellen in  $\pm$  kurzer Zeit ihre Teilungen einstellen, wie z. B. in einem einzelnen Sproßvegetationspunkt.

Mit diesen Forderungen stimmen nun die Beobachtungen an dem untersuchten *Epilobium*-Blatt keineswegs überein. Die Zahl der neu angelegten Entmischungsflecken nimmt in den letzten sechs bis acht Zellteilungsfolgen des Blattes eindeutig wieder ab. Wie kommt dieser Unterschied gegenüber den theoretischen Erwartungen zustande? Es sind mehrere Erklärungsmöglichkeiten gegeben: 1. Eine Abnahme kommt, wie erwähnt, dann zustande, wenn die Zahl der sich teilenden Zellen und damit auch die Zahl der neu entstehenden Zellen rasch abnimmt. Diese Erklärungsmöglichkeit kommt nicht in Frage, nachdem festgestellt wurde, daß das Verhältnis von drei- und vierzelligen Teilungs- und Entmischungsgruppen in allen Entwicklungsstadien des Blattes ungefähr gleich ist und der Anteil der sich teilenden Zellen bis in die letzten Zellteilungsfolgen nicht verändert wird. — 2. Die Zahl der neu entstehenden Entmischungsflecken kann abnehmen, wenn in den letzten Zellteilungsfolgen die Erbträger nicht mehr zufallsgemäß auf die Tochterzellen verteilt werden. Für ein solches Verhalten liegt keinerlei Hinweis vor. Die einzelnen Flecken sind zufallsgemäß angeordnet. — 3. Wenn normale und mutierte Erbträger nicht mehr im gleichen Rhythmus vermehrt werden. Wenn die die Ergrünung ermöglichenden Erbträger langsamer vermehrt werden, so ist ebenfalls eine Abnahme der grünen Flecken zu erwarten. Auch für ein solches Verhalten liegen keine Hinweise vor, und es ist nicht gerade wahrscheinlich, daß sich die Erbträger schneller vermehren, die das Ergrünen der Zellen verhindern. — 4. Schließlich kann die Entmischungswahrscheinlichkeit sehr rasch abnehmen, wenn die Zahl der sich entmischenden Erbträger je Zelle steigt. Diese Erklärungsmöglichkeit erscheint am wahrscheinlichsten, da eine Zunahme der Plastidenzahlen (FASSE 1955), der Mikrosomenzahlen usw. im Laufe der Entwicklung durchaus bekannt ist. Wird z. B. die Zahl der Erbträger von  $n=5$  dadurch auf  $n=10$  verdoppelt, daß sich die Erbträger nicht im selben Rhythmus teilen wie die Zellen, sondern eine zusätzliche Teilung durchmachen, so sinkt die Zahl der neu entstehenden Entmischungszellen annähernd auf die für  $n=10$  gültigen Werte ab. Es werden nicht ganz genau die für die entsprechende Zellgeneration errechneten Werte erreicht, da die Entmischung bei  $n=5$  schneller vor sich ging als bei  $n=10$  und der Entmischungsgrad von der Zahl der noch vorhandenen heteroplasmonischen Zellen abhängt. Die hierdurch entstehenden Unterschiede gegenüber der typischen Kurve für  $n=10$

fallen in diesem Zusammenhange aber nicht ins Gewicht und können vernachlässigt werden.

Welche Komponenten des extranucleären Protoplasmas kommen nun in Zahlen von ungefähr 10 je Zelle vor und werden während der letzten Wachstumsstadien des Blattes auf ein Mehrfaches dieser Zahl vermehrt? Allein solche Komponenten können die bei Pflanze 1956.1323.82 mutierten Erbträger enthalten.

Leider konnten im Verlaufe der bisher bei den verschiedensten Objekten durchgeführten cytologischen Untersuchungen die hier benötigten Zahlen nur in Ausnahmefällen bestimmt werden. Es kann nicht angegeben werden, in welchen Bereichen sie bei den einzelnen Objekten und in ihren verschiedenen Entwicklungsstadien schwanken. Auch die bei *Epilobium* eingeleiteten Untersuchungen (BARTELS) werden noch einiger Zeit bedürfen, um endgültige Aussagen über die Zahlenverhältnisse der Plasmakonstituenten zu erlauben. Zur Zeit sind nur einige vorläufige Zählungen, meistens von ausdifferenzierten Zellen, verfügbar, die aber doch zur Feststellung der Größenordnung ausreichend sein dürften.

Bei einigen mütterlich vererbten Schecken ohne Mischzellen wurde auf Grund der sehr langsamen Entmischungsgeschwindigkeiten eine Chondriosomen- oder Sphaerosomenvererbung vermutet (MICHAELIS 1955). Die Beobachtung der Sphaerosomen in lebenden ausgewachsenen Zellen zeigt sehr hohe Zahlen je Zelle, deren genauere Zählung aber wegen der Plasmaströmung und wegen der Tiefenerstreckung der Zellen erhebliche Schwierigkeiten bereitet. An fixierten Präparaten, in denen allerdings die Sphaerosomen nicht immer sicher gegen die Chondriosomen abzugrenzen waren, wurden kurz vor Abschluß der Zellteilungen im plasmatischen Wandbelag einer Zellhälfte über 500 Sphaerosomen gezählt, so daß für die gesamte Zelle weit über 1000 Sphaerosomen angenommen werden müssen. Wenn auch die Zahlen in den jüngsten Zellen noch unbekannt sind, so dürften die Sphaerosomen doch als Träger der bei Pflanze 1956.1323.82 mutierten Erbinheiten nicht in Frage kommen. Dasselbe gilt wohl auch für die Chondriosomen, deren Zahl zwar geringer ist, aber ebenfalls zur Erklärung der beobachteten Entmischungsgeschwindigkeiten zu hoch sein dürfte.

Anders liegen die Verhältnisse bei den Plastiden. Bei Zählungen in ausdifferenzierten Zellen wurden in verschiedenen Geweben sehr verschiedene Zahlen festgestellt. Wie an anderer Stelle (MICHAELIS 1957 b) näher zu belegen ist, wurden in der *Epilobium*-Blattepidermis Plastidenzahlen zwischen 7 und 15 mit einem ausgesprochenen Häufigkeitsmaximum bei 12 Plastiden je Zelle beobachtet. In den Palisadenzellen kommen Zahlen um 25, im Schwammparenchym Zahlen zwischen 45 und 65 und in den besonders großen Zellen, die die Nerven begleiten, Zahlen von weit über 100 vor. Bei Schecken, in denen die Plastidendegeneration schon sehr früh einsetzt, wurden in den Palisadenzellen Zahlen zwischen 7 und 20, im Schwammparenchym teils Zahlen um 25,

teils Zahlen um 10 beobachtet. In sehr jungen Zellen kommen in soeben geteilten Zellen Zahlen um 10, in Zellen vor der Teilung Zahlen um 20 vor. Auf Grund solcher Zählungen darf man wohl annehmen, daß im jungen, noch teilungsfähigen Gewebe Plastidenzahlen vorliegen, die durchaus in die Größenordnung fallen, die auf Grund der Entmischungsgeschwindigkeiten errechnet wurden. In verhältnismäßig späten Stadien der Blattentwicklung scheinen diese niedrigen Zahlen erhöht zu werden. In den Palisadenzellen scheint gegenüber dem im Meristem alternierenden Rhythmus von Zell- und Plastidenteilung eine zusätzliche Plastidenteilung zu erfolgen, wodurch die Plastidenzahl ungefähr verdoppelt wird. Im Schwammparenchym scheint sich dieser Vorgang ein zweites Mal, in anderen Zellen eventuell sogar ein drittes und viertes Mal zu wiederholen.

In den palisadenähnlichen grünen Zellen aus der Blattunterseite der Mutante an Pflanze 1956.1323.82 sind Plastidenzahlen um und über 50 zu zählen. Es dürfte damit berechtigt sein, hier ebenfalls eine zweimalige Verdoppelung der ursprünglichen Plastidenzahlen anzunehmen, wie sie auch im normalen Gewebe der Blattunterseite üblich ist. Plastidenzählungen in den weißen Schwammparenchymzellen der Mutante waren wegen der starken Degeneration der Plastiden nicht mehr durchzuführen. Ganz allgemein erfolgte bei der Scheckung der Pflanze 1956.1323.82 die Plastidendegeneration aber erst in einem relativ späten Blattalter, nachdem die Zellen ihren vollen Plastidenbestand erhalten hatten und die Plastiden schon ergrünt waren.

Da die Zahl der Plastiden durchaus in den Größenbereich fällt, der aus der Entmischungsgeschwindigkeit der mutierten Plasmonkonstituenten errechnet worden war und nachdem die Zunahme der Plastidenzahl im Laufe der Blattentwicklung sogar die Abweichung der Fleckenzahl von der typischen Entmischungskurve zu erklären vermag, so mag es trotz mancher Unvollkommenheiten der angewandten Methode berechtigt sein, die bei Pflanze 1956.1323.82 mutierten Erbträger in den Plastiden zu suchen. Auch wenn man alle Täuschungs- und Fehlermöglichkeiten in Betracht zieht, so ist im Gegensatz zu anderen Schecken ohne Mischzellen eine Lokalisierung der Scheckungsgene in anderen Komponenten des Zellplasmas nicht möglich.

### Schluß und Zusammenfassung

Dieses hier näher geschilderte Beispiel einer Plastidenabänderung ist in mehrfacher Weise von besonderem Interesse. Es wurde hier eine Scheckung gefunden, die durch Plastogene bedingt ist, der aber trotzdem die Plastidenmischzellen fehlen, die sonst für eine Plastidenvererbung kennzeichnend sind. Dieser Fall wäre sehr überraschend gewesen, wenn nicht unter den Schecken mit echten Mischzellen schon einzelne Beispiele gefunden worden wären, in denen in heteroplastomatischen Zellen durch Wechselwirkungen zwischen genetisch unterschiedlichen

Plastiden einzelnen Plastiden eine Entwicklung aufgezwungen worden wäre, die der genetischen Veranlagung dieser Plastiden nicht entsprach. Innerhalb der Zelle entsteht durch Wechselwirkung nicht nur der verschiedenen Protoplasmakomponenten wie Zellkern, Plastiden, Chondriosomen usw. und Cytoplasma, sondern auch durch enge Wechselbeziehungen zwischen den homologen Plasmakomponenten ein System, in dem ein Reaktionsablauf ohne die Berücksichtigung aller Systemglieder kaum richtig erkannt werden kann. In dem vorliegenden Fall scheinen von den zu „farblos“ mutierten Plastogenen Stoffe auszugehen, die direkt oder indirekt zu einer Degeneration genetisch normaler Plastiden führen. Dabei genügt offenbar die von einem einzigen Plastid produzierte Stoffmenge, um das gesamte übrige Plastidom zu verändern. Dieser Stoff bleibt aber auf die Einzelzelle beschränkt und vermag nicht in die Nachbarzellen zu wandern. Ganz ähnliche Reaktionsabläufe können aber auch von Genen ausgehen, die in den Chromosomen, in den Sphaerosomen oder im Cytoplasma lokalisiert sein können.

Das untersuchte Beispiel ist weiterhin für die Methodik der Plasmanalyse von Interesse. In einem System mit so komplizierten Wechselbeziehungen der Systemglieder zueinander, wie es die Zelle ist, wird es selten möglich sein, im Phänotypus des Objektes Erbreaktionen zu erfassen, die nur von einem einzigen Erbträger abhängig sind. Damit entfällt die Möglichkeit, aus dem Ort einer physiologischen Reaktion auf die Lokalisation der maßgeblichen Erbträger zu schließen. Es darf z. B. aus der mütterlichen Vererbung von Plastideneigenschaften nicht ohne weiteres auf eine Plastidenvererbung geschlossen werden. Zur Lokalisierung der Erbträger müssen genetische Methoden eingesetzt werden, die wirklich für das Verhalten der zu untersuchenden Plasmaanteile spezifisch sind. Es ist erstaunlich, wie wenig dieser fast selbstverständlichen logischen Forderung Folge geleistet wurde.

Bisher erschien es möglich, eine Plastidenvererbung von einer extraplastidalen Plasmavererbung an Hand des Vorkommens oder des Fehlens von Mischzellen zu trennen. Soweit wir jetzt übersehen, ist es zwar möglich, aus dem Vorkommen echter Mischzellen auf das Vorliegen einer echten Plastidenvererbung zu schließen. Beim Fehlen von Mischzellen ist es aber nicht möglich, eine Plastidenvererbung mit Sicherheit auszuschließen. Eine Entscheidung ist hier nur auf Grund einer weiteren Plasmanalyse möglich.

An Hand des geschilderten Beispieles lassen sich nun auch die wichtigsten Prinzipien einer Plasmanalyse demonstrieren. Ausgegangen wurde von einem Erbunterschied, der durch spontane Mutation entstanden war. Ebenso hätte man von einer experimentell induzierten Mutation oder von einer Plasmamischung (z. B. bei Befruchtung) aus-

gehen können. Die analytische Methode wurde aufgebaut auf den unterschiedlichen Zahlen, in denen die einzelnen Plasmakomponenten je Zelle vorkommen und die bei zufallsgemäßer Umkombination zu verschiedenen Entmischungsgeschwindigkeiten führen. Ebenso kann eine Plasmonanalyse aber auch auf anderen Unterschieden im Verhalten der Erbträger während ihrer Vermehrung und Verteilung ausgehen. Entscheidend ist die Erkenntnis, daß die Untersuchung dieser Vorgänge schon intraindividuell erfolgen kann, daß sogar bei gynogamen Organismen<sup>1</sup> nur eine intraindividuelle Plasmonanalyse sinnvoll ist. Die Analyse eines durch intraindividuelle Umkombination entstandenen Musters erfordert nun aber erheblich abgeänderte Untersuchungsmethoden gegenüber der Analyse von Populationen aus Individuen in den verschiedenen Folgegenerationen. Ebenso wie eine saubere Trennung der Deszendenzlinien und der einzelnen Generationenfolgen unter den generativen Nachkommen notwendig ist, ist eine Trennung der einzelnen Zelldeszendenzlinien und Zellteilungsfolgen bei der genetischen Analyse intraindividueller Muster nötig. Hier beginnen nun die großen Schwierigkeiten, da die bisherigen entwicklungsgeschichtlichen Kenntnisse als Grundlage für eine Plasmonanalyse nicht ausreichen. Es wurde versucht, diese Kenntnisse weiter auszubauen und die bisherigen Untersuchungsmethoden durch Methoden zu ergänzen, die für den genetischen Untersucher besondere Vorteile bieten. Im Verlauf dieser Untersuchungen ergab sich, daß während der Entwicklung von *Epilobium* größere Gesetzmäßigkeiten bestehen, als das bisher zu erkennen und zu erhoffen war. Es bleibt abzuwarten, ob sich andere Objekte ähnlich verhalten. Diese entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen können zur Zeit nur als erste Ansätze gewertet werden, und es wird noch vieler Arbeit von den verschiedensten Seiten bedürfen, bis alle Möglichkeiten ausschöpfbar sind und bei der Plasmonanalyse alle Fehlermöglichkeiten genau beurteilt werden können. Wenn in dem hier vorliegenden Falle trotz dieser Schwierigkeiten eine relativ sichere Lokalisierung der mutierten Erbinheiten in den Plastiden möglich war, so beruht das darauf, daß in dem zur Untersuchung ausgewählten Beispiel eine Anzahl besonders günstiger Voraussetzungen zusammentraf und daß die Unterschiede in der Zahl der in Betracht kommenden Plasmakomponenten und die dadurch entstehenden Entmischungsunterschiede wesentlich größer sind als die noch in der Methode liegenden Fehlermöglichkeiten.

Zur Abschätzung der Entmischungsgeschwindigkeit waren folgende drei Bestimmungen notwendig: 1. Es mußte der Ort der ersten Plastidenmutation bestimmt werden. Er ist in nächster Nähe des Punktes zu suchen, in dem alle sich entmischenden Zelldeszendenz-

<sup>1</sup> Gynogam = das Plasma der Zygote stammt ausschließlich von der Mutter.

linien zusammenlaufen, sofern nur jede Zelldeszendenz genügend Zeit zur Entmischung findet (Abschnitt IV). 2. Die Wirkungsweise der mutierten Erbträger wurde aus dem Muster bestimmt, das kürzeste heteroplasmonische Zelldeszendenzlinien bilden (Abschnitt V). 3. Schließlich war es notwendig, die Zahl der Zellteilungsfolgen zu bestimmen, die zwischen Mutation und Auftreten abgeänderter Zellen verstreichen, resp. die Zahl der Zellteilungsfolgen festzulegen, die die abgeänderten Zellen bis zur Fertigstellung des Blattes durchlaufen. Als Maß hierfür diente die Zahl der Zellen in den einzelnen abgeänderten Flecken (Abschnitt VI).

Die entwicklungsgeschichtlichen Verhältnisse wurden an Hand von Zelldeszendenzlinien geklärt, die durch eine genetische Abänderung markiert waren. Solche Zelldeszendenzen bildeten stets wiederkehrende, charakteristische Muster. Die Größenordnung dieser Muster ist in einem gleichmäßig wachsenden Gewebe mit der Reihenfolge der Zellteilungen korreliert, in denen diese Muster angelegt wurden. Aus der Wiederholung einer genetischen Abänderung in den Teilmustern benachbarter Organe und Gewebe läßt sich eine Zugehörigkeit der Teilmuster zur gleichen Zelldeszendenz erschließen, falls die Häufigkeit dieser Wiederholungen größer ist als das zufällige Zusammentreffen neu entstehender Abänderungen (Abschnitt III, 1 und besonders IV, 3). Mit Hilfe dieser Prinzipien lassen sich die Zellteilungsabläufe in den allerjüngsten Blattanlagen bestimmen. Während des Flächenwachstums des Blattes teilen sich die Zellen offenbar in relativ regelmäßigen Rhythmen. Die Blattform wird im wesentlichen durch die Dauer dieser Zellteilungstätigkeit und durch die Orientierung der Zellteilungsebenen bestimmt. Abweichungen von einem regelmäßigen Zellteilungsrythmus können durch das Vorkommen von Zellgruppen erkannt werden, die nicht der Reihe  $2^n$  (1—2—4—8—16 usw.) angehören (Abschnitt VI, 1).

### Literatur

BARTELS, F.: Zur Entwicklung der Keimpflanze von *Epilobium hirsutum*. I. Die im Proembryo ablaufenden Zellteilungen bis zum beginnenden „herzförmigen Embryo“. *Flora (Jena)* **144**, 105—120 (1956). — BAUR, E.: Das Wesen und die Erblichkeitsverhältnisse der „Varietates albomarginatae hort.“ von *Pelargonium zonale*. *Z. Vererbungslehre* **1**, 330—351 (1909). — CORRENS, C., u. F. v. WETTSTEIN: Nicht mendelnde Vererbung. In *Handbuch der Vererbungswissenschaft*. Berlin 1937. 159 S. — DANGEARD, P. A.: Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome. *C. r. Acad. Sci. Paris* **169**, 1005 (1919). — FASSE-FRANZISKET, U.: Die Teilung der Proplastiden und Chloroplasten bei *Agapanthus umbellatus* l'Herit. *Protoplasma (Wien)* **45**, 194—227 (1955). — IMAI, U.: The behaviour of the plastid as a hereditary unit: The theory of the plastogene. *Cytologia (Tokyo) Fujii-Festschr.* **1937**, 934—947. — MICHAELIS, P.: Wege und Möglichkeiten zur Analyse des plasmatischen Erbgutes. *Biol. Zbl.* **73**,

353—394 (1954). — Modellversuche zur Plastiden- und Plasmavererbung. *Züchter* **25**, 209—221 (1955a). — Über Gesetzmäßigkeiten der Plasmon-Umkombination und über eine Methode zur Trennung einer Plastiden-, Chondriosomen-, resp. Sphaerosomen- (Mikrosomen-) und einer Zytoplasmavererbung. *Cytologia* (Tokyo) **20**, 315—338 (1955b). — Über die Vererbung von Plastidenmerkmalen. *Protoplasma* (Wien) **48**, 403—418 (1957a). — Genetische, entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen zur Plasmavererbung. I. Die Plastidenvererbung und das Problem der heteroplastidischen „Misch“-Zellen. In Vorbereitung (1957b). — RENNER, O.: Die pflanzlichen Plastiden als selbständige Elemente der genetischen Konstitution. *Ber. sächs. Akad. Wiss. Leipzig, Math.-physische Kl.* **86**, 241—266 (1934). — WEIER, T. E., and C. R. STOCKING: The chloroplast: Structure, Inheritance and Enzymology. *Bot. Review* **18**, 14—75 (1952).

Dr. P. MICHAELIS, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung,  
Köln-Vogelsang