

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz

RESTITUTIONSERSCHEINUNGEN AN PFLANZLICHEN
MERISTEMEN NACH RÖNTGENBESTRAHLUNG

I. DIE GENESE STRAHLENINDUZIERTER SPROSSGABELUNGEN

Von

BARBARA HACCIVS und HANS REICHERT*

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Juni 1963)

Einleitung

Das Auftreten von Sproßgabelungen nach Röntgenbestrahlung ist schon seit längerem bei verschiedenen Pflanzenarten beobachtet und beschrieben worden. Kürzlich hat v. KREYBIG (1961) eine tabellarische Übersicht über die bisher vorliegenden Untersuchungen an strahleninduzierten Sproßgabelungen veröffentlicht. Eine eindeutige Bevorzugung bestimmter Verwandtschaftskreise ist nicht zu erkennen. Auch erweisen sich die Gabelungen in Anbetracht der Vielzahl der Arten, die auf morphologische Strahleneffekte hin überprüft worden sind, nicht gerade als besonders häufige Erscheinung. Eine ausgesprochene Neigung zu strahleninduzierten Gabelsprossen wird nur von wenigen Arten berichtet, so z. B. von *Helianthus*- und *Zinnia*-Arten (JOHNSON 1936a u. b), von *Nicotiana rustica* (SANKEWITSCH 1952) und von *Sinapis alba* (v. KREYBIG), wo optimale Röntgendosen bei 30 und mehr Prozent der überlebenden Versuchspflanzen in diesem Sinne wirksam waren.

Bekanntlich verzweigen sich die Spermatophyten normalerweise ausschließlich durch blattachselbürtige Seitentriebe. Auch wenn, wie im Falle der sympodialen Form der *seitlichen Verzweigung*, die Rolle des absterbenden Achsenendes durch neue Triebe übernommen wird, so entstammen diese doch stets den Achseln von Blattorganen und nicht dem Achsenende selbst. Eine von der Beblätterung unabhängige Zweiteilung der äußersten Sproßspitze ist das Merkmal der *dichotomen Verzweigung*, die als häufigste Verzweigungsform der mit Scheitelzellen wachsenden Thallo- und niederen Kormophyten bekannt ist, aber auch bei vielen Lycopsiden mit aus einer Initialengruppe bestehenden Vegetationspunkten vorkommt.

Das experimentell induzierte oder gelegentlich auch spontane Auftreten von Sproßgabelungen bei einzelnen Spermatophyten-Vertretern war wegen der Auffälligkeit dieser Anomalie schon früh Anlaß zu mehr

* D 77.

oder weniger spekulativen Vermutungen über deren Entstehungsweise. Nachdem es nun bei einigen Dikotylen-Arten möglich ist, durch richtig dosierte Anwendung von Röntgenstrahlen regelmäßig einen relativ hohen Prozentsatz an gabelig verzweigten Sprossen zu erzielen, steht einer eingehenden Untersuchung der Entwicklungsgeschichte des Phänomens und damit einer Überprüfung der bisher entwickelten Hypothesen nichts mehr im Wege.

Theoretisch gibt es zwei Möglichkeiten, wie es zu strahleninduzierten Sproßgabelungen kommen könnte. Sie sind beide in der einschlägigen Literatur diskutiert worden und sollen daher einleitend charakterisiert werden.

1. Durch die Strahlenwirkung werden die besonders empfindlichen zentralen Initialzellen des Vegetationskegels abgetötet oder zumindest irreversibel geschädigt, und seine mehr peripheren Bereiche bilden regenerativ ein oder mehrere neue Wachstumszentren, die zu neuen Trieben („Gabelästen“) auswachsen.

2. Durch die Strahlenwirkung wird der Vegetationspunkt zu einer exzessiven Zellvermehrung veranlaßt, die zu einer Verbreiterung (Fasziation) und schließlich Aufteilung des Achsenendes führt.

Die erste Möglichkeit ist von KRESS (1953) angedeutet und von GRÖBER (1959) und von MICKÉ (1957 u. 1961) näher diskutiert worden. Auch die zweite Möglichkeit erscheint nicht ganz unwahrscheinlich, denn bekanntlich zählt man die verschiedensten Verbänderungsanomalien zu den typischen morphologischen Strahlenschäden an höheren Pflanzen. Ein Zusammenhang zwischen Fasziation und teratologischer Sproßgabelung bei Spermatophyten ist besonders von früheren Autoren in Erwägung gezogen worden (JOHNSON 1926). Von MICKÉ (1961) wurde er allerdings als Erklärung für die röntgeninduzierten Dichotomien bei *Melilotus albus* entschieden abgelehnt.

Schließlich muß noch erwähnt werden, daß SANKEWITSCH (1952) eine von allen anderen Hypothesen abweichende Deutung vorschlägt. Nach ihm soll die Bifurkation der Achse kein unmittelbarer Strahleneffekt, sondern lediglich eine „Folge der chaotisierten Blattstellung“ sein.

Da eine exakte entwicklungsgeschichtliche und histologische Untersuchung des Gabelungsphänomens, ohne welche die hier angedeuteten Fragen nicht beantwortet werden können, noch aussteht, haben wir drei Dikotylen-Arten, von denen eine relativ starke Neigung zu röntgeninduzierten Sproßgabelungen aus der Literatur bekannt ist, ausgewählt und haben am Behandlungstag beginnend sämtliche Stadien der Gabelungsgenese präparativ und histologisch genau analysiert. Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen soll im folgenden berichtet werden.

Hauptteil

Material und Methoden. Eine Reihe von Vorversuchen diente der Ermittlung geeigneter Pflanzen und Strahlendosen für die Auslösung von Sproßgabelungen. Neben dem Bauertabak (*Nicotiana rustica* L.), der von SANKEWITSCH (1952) näher untersucht wurde, wählten wir die Cruciferen *Arabidopsis thaliana* (REINHOLZ 1947) und *Lepidium sativum* für unsere Experimente aus¹.

Bei *Nicotiana* sind die meisten Gabelsprosse nach Applikation einer Strahlendosis von 1000 r zu beobachten, während die beiden Cruciferen-Arten einer wesentlich höheren Strahleneinwirkung (6000 r) bedürfen, damit ein genügend großer Anteil der Versuchspflanzen Gabelungen aufweist.

Wie in den Vorversuchen, so wurden auch im Hauptversuch die für dreimal 24 Std in Leitungswasser vorgequollenen Samen bestrahlt. Bei *Nicotiana* kamen neben 1000 r noch Dosen von 750, 1500 und 2000 r zur Anwendung, bei *Arabidopsis* 4000 r und die optimale Dosis 6000 r.

Die ersten Bestrahlungen wurden von Frau Dr. E. REINHOLZ am Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. Dr. Dr. B. RAJEWSKY) durchgeführt. Betriebsdaten: 50 kV, 15 mA, Focus-Objekt-Abstand 12,7 cm, Dosisleistung 190 r/min. Für die späteren Versuche standen uns die Einrichtungen des Institutes für Biochemie der Universität Mainz (Direktor: Prof. Dr. H. ALBERS) zur Verfügung (Röntgengerät MG 301 der Fa. C. C. F. Müller). Bestrahlungsbedingungen: 100 kV, 15 mA, Abstand 25 cm, Dosisleistung 125 r/min. Allen Beteiligten, besonders auch Herrn P. CÜPPERS und Frau Dr. H. HELFER (Mainz) möchten wir an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank aussprechen.

Im Anschluß an die Bestrahlung erfolgte die Aussaat. Gleichzeitig wurden unbehandelte Samen, die lediglich 3 Tage vorgequollen waren, als Kontrollen ausgesät. Am Behandlungstag beginnend wurden jeden zweiten Tag pro Versuchsreihe 5—10 Keimlinge entnommen und in Formalin-Propionsäure-Alkohol fixiert. Nach den üblichen Methoden wurden Paraffinschnitte (10 μ) hergestellt und mit Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbt. Die Versuche wurden abgeschlossen, wenn die Keimlinge ein Alter von 8—10 Wochen erreicht hatten.

In den Abbildungen werden folgende Abkürzungen verwendet:

Co = Cotyledonen, V = Vegetationspunkt, f₁, f₂ (bzw. 1, 2, 3 usw.) = erste auf die Cotyledonen folgende Blattanlagen, Z = Zentralzellen, W = neugebildete Wachstumszentren, Sp = Spalt.

Morphologische Untersuchung der Gabelsprosse

a) *Nicotiana rustica.* Unsere Beobachtungen über Häufigkeit und Lokalisation der Sproßgabelungen bei *N. rustica* nach verschieden dosierter Röntgenbestrahlung lassen sich wie folgt verallgemeinern. Mit steigender Dosis nahm die Anzahl der überlebenden Versuchspflanzen insgesamt ab (von 83% bei 750 r bis 11% bei 2000 r). Der höchste Prozentsatz an morphologisch abnorm ausgebildeten Pflanzen (66%) wurde nach Anwendung einer Röntgendosis von 1000 r gefunden, und

¹ Die Vorversuche und deren makroskopische Auswertung (1959—1960) wurden zusammen mit Herrn Dr. D. MASSFELLER (Berlin) durchgeführt, welcher auch einen Teil der Photographien der gegabelten *Nicotiana*-Pflanzen (Abb. 1 I—III) angefertigt hat.

bei etwa der Hälfte dieser Mißbildungen handelte es sich um sproßgabelungen. Bei allen Versuchen überwogen die bereits im Bereich der basalen Internodien (zwischen dem 2. und 3. oder 4. Laubblatt)

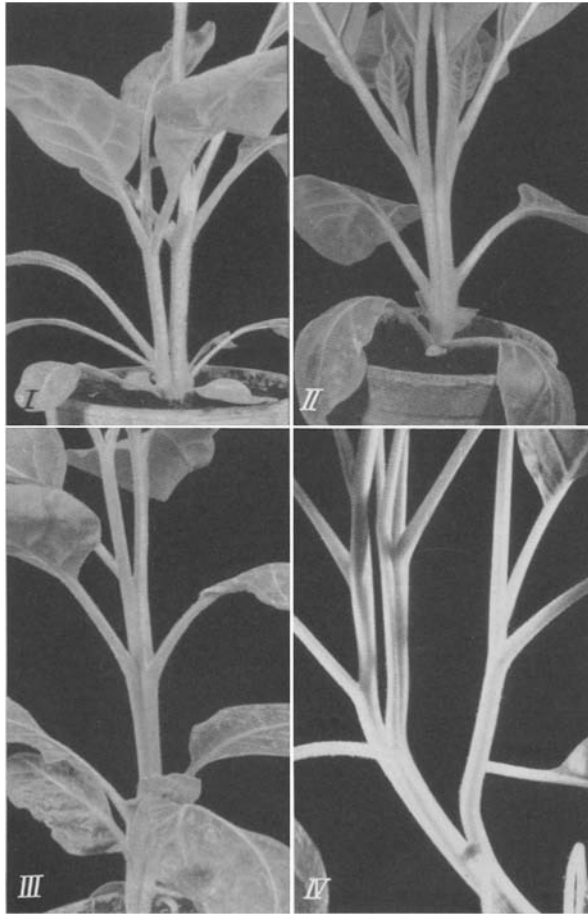


Abb. 1. *Nicotiana rustica*. I anisotome, II und III isotome, IV mehrfache sproßgabelungen nach Röntgenbestrahlung der angekeimten Samen

einsetzenden sproßteilungen (Abb. 1 I). Bifurkationen oberhalb des 4. Laubblattes kamen in größerer Anzahl (11%) nur bei der niedrigsten angewandten Dosis (750 r) vor und fehlten bei der höchsten ganz.

Die Gabelungen waren isotom (Abb. 1 II u. III) oder anisotom (Abb. 1 I) ausgebildet. Das letztere war besonders häufig bei den im Bereich der sproßbasis einsetzenden Bifurkationen der Fall. Auffallend

ist die spiegelbildliche Anordnung der beiden Gabeläste bei einem Teil der isotom gegabelten Pflanzen (Abb. 1 II). Gelegentlich wurden auch Pflanzen mit mehrfach aufeinanderfolgenden sproßteilungen gefunden (Abb. 1 IV).

Bei den weiter oben oder erst im Infloreszenzbereich auftretenden Gabelungen (Abb. 1 II u. III) kann man beiderseits der Gabelstelle eine mehr oder weniger weit herablaufende Rinne und (oder) eine

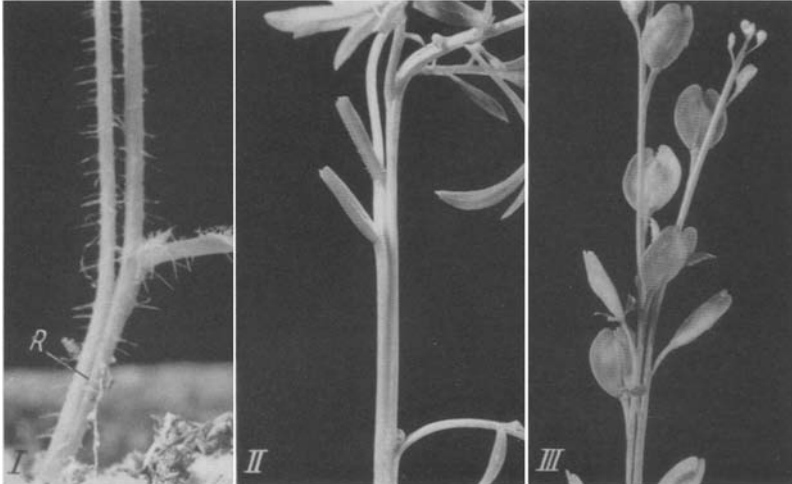


Abb. 2. *Arabidopsis thaliana* (I), *Lepidium sativum* (II und III). Sproßgabelungen nach Röntgenbestrahlung der angekeimten Samen

zumeist schon an der Sproßbasis beginnende Abflachung der Sproßachse erkennen.

Bei den anderen, nicht die Sproßachse betreffenden Anomalien handelte es sich vor allem um die in der Literatur wiederholt beschriebenen Unregelmäßigkeiten in Form und Stellung der Blätter und in der Chlorophyllausbildung. Typische Chlorophylldefekte zeigt z. B. die in Abb. 1 III wiedergegebene Pflanze.

b) *Arabidopsis thaliana* und *Lepidium sativum*. Bei *A. thaliana* und *L. sativum* findet man auch nach optimaler Strahlendosis (6000 r) einen wesentlich niedrigeren Prozentsatz an gegabelten Pflanzen (25% bzw. 12,5%) als bei *N. rustica*. Von *A. thaliana* wurden zwei Versuche mit je 100 Pflanzen und von *L. sativum* ein Versuch mit 40 Pflanzen ausgewertet.

Es fällt auf, daß im Gegensatz zu den Befunden mit *N. rustica* die Mehrzahl der Gabelungen oberhalb der basalen Blattrosette auftrat. An den Pflanzen der Abb. 2 I—III erkennt man deutlich die typische

Verbreiterung und Abflachung der Achse und die Ausbildung von ein- oder beidseitigen Rinnen unterhalb der Gabelungsstelle. Ebenso wie bei *N. rustica* stehen charakteristische Form- und vor allem Stellungsanomalien der Beblätterung mit dem Gabelungsvorgang in engstem Zusammenhang.

Entwicklungsgeschichtliche und histologische Untersuchung der Gabelsprosse

a) *Nicotiana rustica*. Der Entwicklungszustand der Sproßspitze eines *Nicotiana*-Sämlings 3—4 Tage nach Beginn der Samenquellung (= Behandlungsstadium) ist aus Abb. 3 I ersichtlich. Zwischen den Primordien der ersten beiden Laubblätter (f_1 und f_2) erkennt man den aus relativ wenigen Zellen bestehenden Sproßvegetationspunkt. Es sind zwei Tunica-Schichten vorhanden, und die Zentralzellen (Z) sind durch ihre großen, schwach chromaffinen Kerne deutlich hervorgehoben.

2—5 Tage nach der Strahlenbehandlung treten die ersten Symptome einer Schädigung auf. Während sich bei den Kontrollen die beiden Blattanlagen der Plumula normal fortentwickeln und eine weitere ausgegliedert wird, findet man bei der Mehrzahl der bestrahlten Pflanzen zunächst keine Anzeichen für weitere Zellteilungen mehr. Die zur Behandlungszeit noch vollmeristematischen Zellen zeigen mehr oder weniger ausgeprägte Degenerationserscheinungen, was sich vor allem in einer Vergrößerung des Zell-Lumens bei gleichzeitiger Auflockerung des plasmatischen Inhalts äußert. Einzelne Zellen wachsen zu typischen Gigas-Formen aus (\times in Abb. 3 III).

Die fortschreitende Differenzierung ergreift auch den Vegetationspunkt. Die Tunica-Schichten verlieren durch vereinzelte Periklinalteilungen (\downarrow in Abb. 3 II) ihre Individualität, was besonders im Bereich des Dermatogens sehr auffallend und bemerkenswert ist¹. Die Zentralzellkerne gleichen sich zunehmend in Größe und Färbbarkeit ihrer Umgebung an und einzelne dicht darunterliegende Zellelemente verwandeln sich in Tracheiden mit spiraligen Wandverdickungen (T in Abb. 3 II u. III)². Die normale Zonierung des Achsenendes geht auf diese Weise vollständig verloren.

Etwa 6—8 Tage nach der Behandlung hat sich das Bild weiter stark verändert. Der Vegetationspunktsbereich als histologisch abgrenzbares Gebilde ist fast oder ganz verschwunden. Nach etwa 2 Wochen ist an

¹ Periklinalteilungen im Dermatogen als Folge einer Behandlung mit ionisierenden Strahlen sind bereits von CROCKETT (1957) bei *Nicotiana tabacum* beobachtet und beschrieben worden.

² Strahleninduzierte Differenzierung einzelner Vegetationspunkts-Zellen zu Tracheiden ist bereits von PRATT (1959) für *Vitis* beschrieben worden.

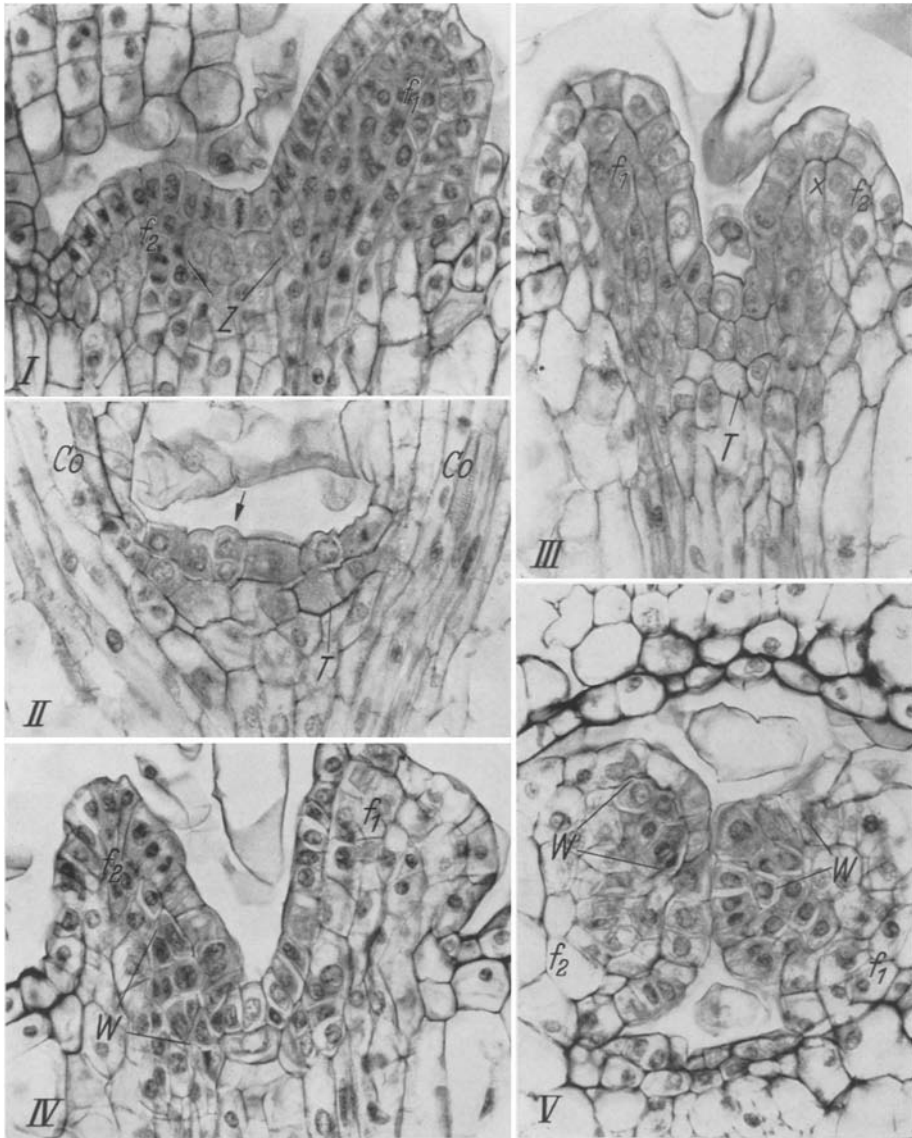


Abb. 3. *Nicotiana rustica*. Sproßspitzen-Längsschnitte eines unbehandelten (I) und bestrahlter Sämlinge (II—IV); V Querschnitt einer Keimpflanze 5 Tage nach der Bestrahlung

seiner Stelle nur noch ein enger Spalt zwischen den Primordien f_1 und f_2 erkennbar (Sp in Abb. 4 II u. III).

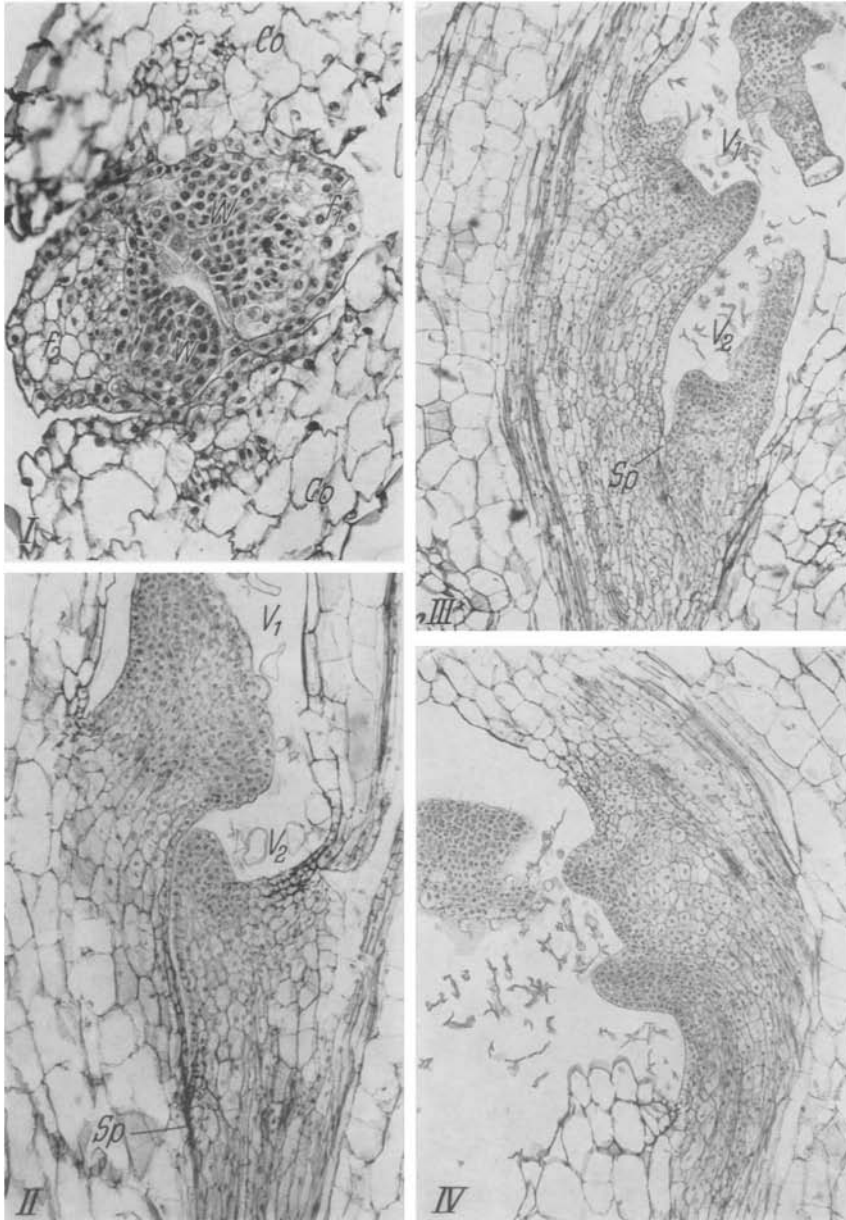


Abb. 4. *Nicotiana rustica*. I Querschnitt durch die beiden neue Wachstumszentren bildenden Plumula-Primordien; II–IV Längsschnitte durch das zerstörte Achsenende (*Sp*) und die jungen Sproßspitzen-Regenerate (= Gabelspresse)

Für das Verständnis der Entwicklung der Gabeltriebe sind die Veränderungen an den beiden ehemaligen Blattanlagen besonders aufschlußreich. Sie weisen nämlich *begrenzte Zonen frischer Teilungsaktivität* auf und zwar nicht in normaler Verteilung, sondern bevorzugt an den basalen Ventralseiten in den Bereichen, die sich normalerweise zu den Blatträndern weiterentwickelt hätten. Auf den Abb. 3 IV u. V und 4 I erkennt man die neugebildeten Wachstumszentren (W) vor allem an der stärkeren Färbbarkeit des Zellinhalts und an den frisch geteilten Zellen und gelegentlichen Mitose-Figuren. Auf diese Weise entstehen kleine Komplexe proliferierenden Gewebes, die die beiden sich durch Zellstreckung vergrößernden ehemaligen Laubblattprimordien auseinanderdrängen.

Zusammenfassend kann man die etwa 2 Wochen nach der Bestrahlung erkennbaren Veränderungen wie folgt charakterisieren: Irreversible Schädigung und Absterben der Zellen des ursprünglichen Sproßvegetationspunktes und Stimulation einzelner Bereiche an der Basis der Plumula-Primordien zu proliferierendem Wachstum.

Ein Vergleich der Entstehungsorte der meristemoiden Neubildungen an einer größeren Anzahl von Quer- und Längsschnitten durch 1—2 Wochen alte bestrahlte Keimpflanzen ergibt folgendes: Bevorzugt ist die basale Ventralseite von f_1 und f_2 , aber gelegentlich findet man auch kleinere Knoten teilungsaktiven Gewebes an der Dorsalseite, sie machen aber nicht den Eindruck, als wenn sie sich weiterentwickeln könnten. Bemerkenswert ist, wie bereits erwähnt, die an einem umfangreichen Material zu belegenden Feststellung, daß diese Neubildungen fast immer von den *Rändern* der Blattanlagen ausgehen und zwar zumeist einseitig (Abb. 3 V u. 4 I). Es handelt sich demnach nicht um eine korrelative Stimulierung des zukünftigen Achsenknospenbereiches, welchen man in der Mitte der Ventralseite des Primordiums in der Nähe des medianen Prokambialstranges zu suchen hätte.

Verfolgt man nun das weitere Schicksal der neuentstandenen Meristemkomplexe, dann kann man nach ungefähr 2—3 Wochen eine beginnende Organisation feststellen (Abb. 4 II). Es bilden sich Vegetationspunkte mit Blattanlagen aus (V_1 u. V_2), deren Prokambialstränge mit den inzwischen ausdifferenzierten Bündeln des Hypokotyls die Verbindung aufnehmen (Abb. 4 III u. IV).

Wächst nur *eine* derart entstandene Adventivknospe aus, dann kommt es zu einer äußerlich nicht mehr (aber histologisch noch gut) erkennbaren Restitution des ursprünglichen, durch die Bestrahlung total geschädigten Achsenendes. Gabelsprosse entstehen, wenn an *beiden* zur Behandlungszeit im Plumula-Zustand befindlichen Primordien Adventiv-

sprosse gebildet werden. Häufig ist dann der eine Gabelast gegenüber dem anderen schwächer entwickelt (Abb. 1 I u. 4 III).

In Abb. 5 ist die geschilderte und am häufigsten beobachtete Entstehungsweise der strahleninduzierten Sproßgabelungen bei *N. rustica* in schematisierten Querschnitten noch einmal übersichtlich zusammengestellt. Von einer echten Dichotomie im Sinne der üblichen Definitionen kann man hier nicht sprechen, weil nicht eigentlich eine Zweiteilung des äußersten Achsenendes vorliegt, sondern eine von den basalen

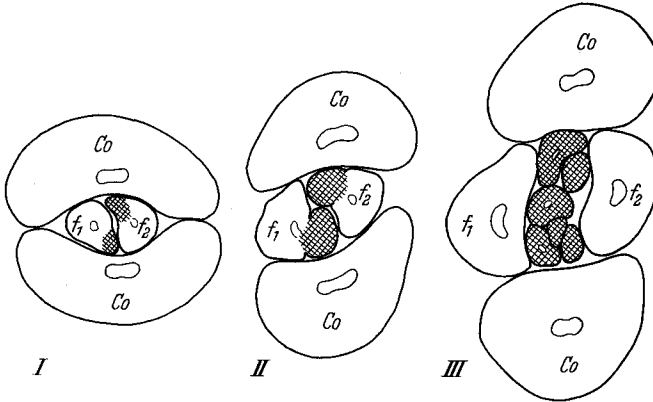


Abb. 5. *Nicotiana rustica*. I—III Schematisierte Querschnitte durch verschieden alte bestrahlte Keimpflanzen, Herkunft und Bildungsweise der Gabelsprosse (schraffiert) zeigend

Rändern der Plumula-Anlagen ausgehende ein- oder zweifache regenerative Wiederherstellung der total geschädigten Sproßspitze.

Durch Verwachsung (bzw. vereintes Hochwachsen) mehrerer Wucherungen und durch Konkauleszenz können die Verhältnisse in der mannigfaltigsten Weise in teratologischer Richtung abgewandelt sein. Entsprechend findet man auch an den Adventivtrieben häufig Blattmißbildungen und andere Anomalien.

Es leuchtet ein, daß die hier geschilderte Entstehungsweise der Gabelsprosse nur für den bei *N. rustica* am häufigsten gefundenen Typus der „basalen“ Gabelungen im Bereich des zur Behandlungszeit bereits ausgebildeten Achsenendes gelten kann, denn bei den selteneren ein- bis mehrfachen Gabelungen an höher gelegenen Internodien oder sogar im Infloreszenzbereich muß sich das ursprüngliche Achsenende auch nach der Bestrahlung noch eine Zeitlang weiterentwickelt haben. Die Bildungsweise dieses Gabelungstyps wird anhand des im folgenden zu schildernden Beispiels verständlich werden.

b) *Arabidopsis thaliana*. Der Vegetationspunkt von *A. thaliana* bringt in der ersten Woche nach der Keimung eine Blattrosette hervor. Während

dieser Zeit hat er eine abgeflachte Gestalt und besteht aus relativ wenigen sehr kleinen Zellen. Den Beginn der Infloreszenzbildung erkennt man an einer stärkeren Aufwölbung des Achsenendes, welches dann verlängerte Internodien ausbildet.

Das Behandlungsstadium unserer Versuche ist in Abb. 6 I in einem Längsschnitt wiedergegeben. Die ersten mikroskopischen Anzeichen einer Strahlenschädigung bemerkt man etwa 1 Woche nach der Bestrahlung. Bei einem Teil der Pflanzen stirbt der Vegetationspunkt ab, ohne daß es zu (mit denjenigen bei *N. rustica* vergleichbaren) Restitutionsprozessen gekommen wäre. In einigen Fällen beobachtet man aber anstelle des Absterbens eine zunehmende Verbreiterung und seitliche Abflachung des Vegetationskegels. Während sich die Zone der ehemaligen Zentralzellen mehr und mehr differenziert und gelegentlich auch bis zum Absterben einzelner Zellen gehende Schädigungsanzeichen aufweist, verlagert sich das Maximum der meristematischen Aktivität (stärkere Färbbarkeit) nach den beiden Seiten hin (Abb. 6 II). Auf diese Weise entstehen zwei neue vollmeristematische und sehr aktive Wachstumszentren (V_1 und V_2), die sich zu (Blattanlagen ausbildenden) Sproßvegetationspunkten weiterentwickeln (Abb. 6 III). Hier hat also im Gegensatz zu der bei *N. rustica* geschilderten Regeneration des Achsenendes eine echte Zweiteilung der äußersten Sproßspitze stattgefunden, so daß man von einer Dichotomie im Sinne der üblichen Definition sprechen kann.

Da sich der Vegetationskegel nur allmählich verbreitert und während dieses Dissoziationsprozesses weiter Blattanlagen auszugliedern vermag, tritt die endgültige Sproßteilung zumeist erst im Bereich der verlängerten Internodien oder innerhalb der Infloreszenz auf (Abb. 2 I—III).

Die Querschnitte Abb. 6 IV und 7 I—IV lassen die mit der Gabelung in engstem Zusammenhang stehende Anomalisierung der Blattstellung erkennen. Die normale Blattanordnung an einer jungen Rosette ist aus Abb. 7 I ersichtlich. Die beiden ersten Laubblätter (1 und 2) stehen annähernd dekussiert zu den beiden Kotyledonen. Dem älteren der beiden (1) genähert entwickeln sich Blatt 3 und 4. Blatt 5 entsteht in der größten Lücke zwischen 3 und 4 und zwar in größerer Nähe zu der älteren Anlage (3). Der Divergenzwinkel zwischen Blatt 4 und 5 beträgt etwa 137° , womit die für diese aus der Dekussation herzuleitende Form der dispergierten Blattstellung charakteristische Limitdivergenz nach HIRMER (1934) erreicht ist (HACCIUS 1950).

In Abb. 7 II und III sind zwei auf verschiedener Höhe geführte Querschnitte durch eine 15 Tage nach der Bestrahlung fixierte Rosette von *A. thaliana* wiedergegeben. Bei dem mehr basalen Schnitt erkennt

man, daß die Verbreiterung des Vegetationspunktes unmittelbar oberhalb der beiden zur Behandlungszeit bereits angelegten Primordien 1 und 2 eingesetzt haben muß, denn die Stellung aller folgenden Blatt-

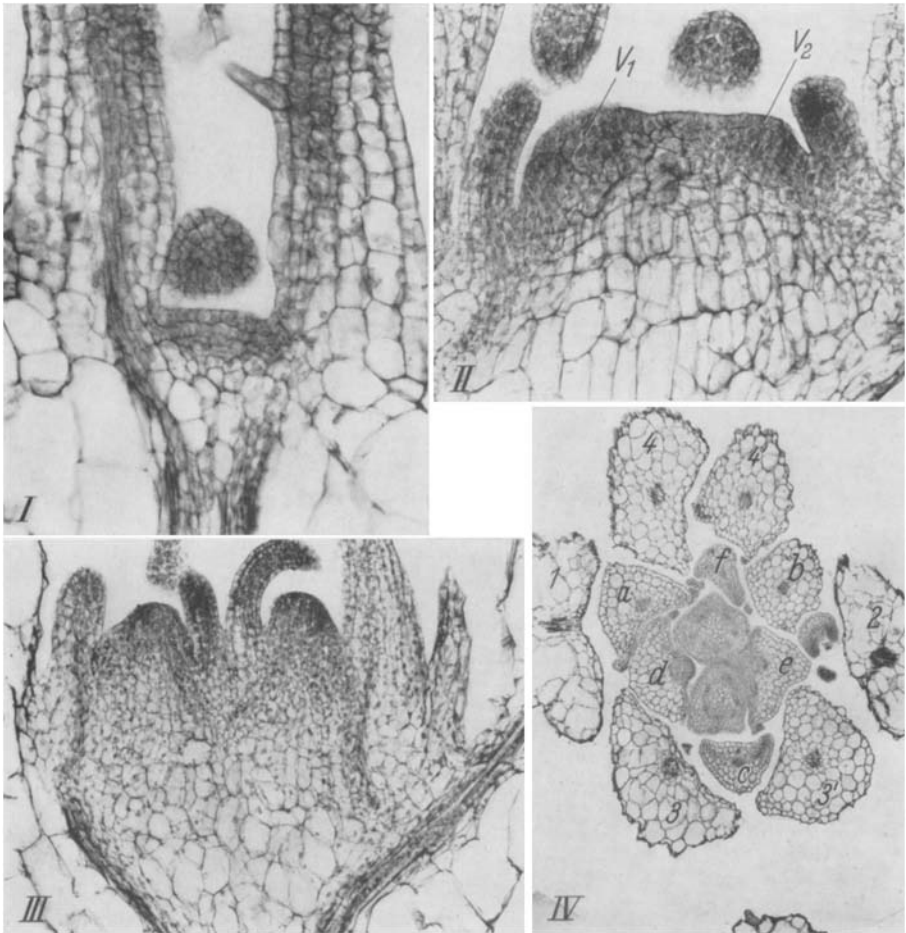


Abb. 6. *Arabidopsis thaliana*. I Sproßspitzen-Längsschnitt des unbehandelten Sämlings; II und III Längsschnitte von bestrahlten Pflanzen, die Verbreiterung (II) und Aufteilung (III) des Vegetationskegels zeigend; IV Querschnitt durch eine ausgewachsene gegabelte Pflanze

organe ist typisch verändert. Anstelle der Anlagen 3 und 4 findet man je zwei nicht wesentlich altersverschiedene Blättchen in den Lücken zwischen 1 und 2 an den beiden Schmalseiten des sich verbreiternden Vegetationskegels. Die beiden das Blatt 3 ersetzenden Anlagen (3 und 3')

haben einen größeren Abstand als das gegenüberliegende Paar (4 und 4') und entsprechend findet man die drei folgenden Blättchen (a, b und c) an den beiden Breitseiten der Sproßspitze und an der einen Schmalseite zwischen 3 und 3'.

Daß hier keine zufällsmäßige „Chaotisierung“ (SANKEWITSCH 1952) der Blattstellung vorliegt, geht daraus hervor, daß die Verhältnisse, wie die Abb. 6 IV und 7 II—IV beweisen, bei allen gegabelten Pflanzen

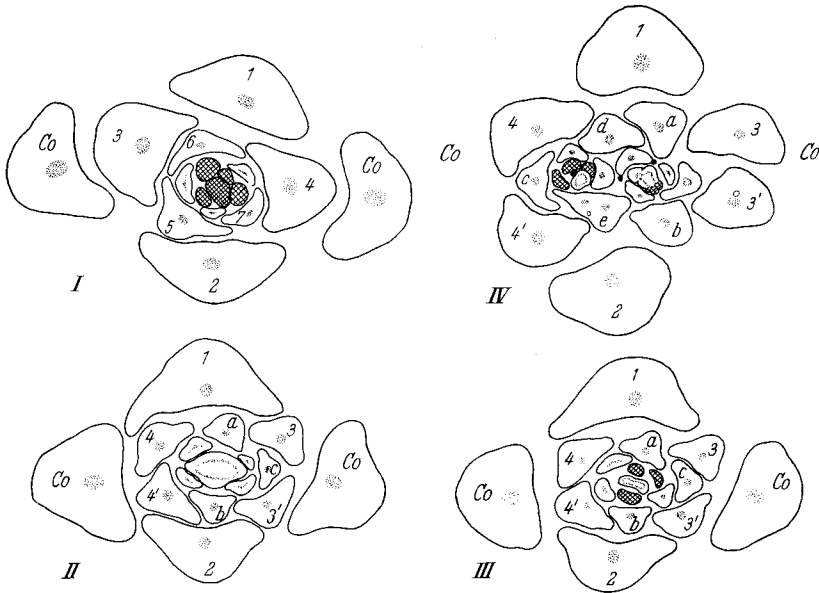


Abb. 7. *Arabidopsis thaliana*. Querschnitte durch eine normale (I) und durch gegabelte Pflanzen nach Röntgenbestrahlung (II—IV)

auffallend übereinstimmen. Dabei spielt die Höhe des endgültigen Auseinanderweichens der beiden Gabeläste nur eine untergeordnete Rolle. Während die Gabelung bei dem Beispiel in Abb. 7 IV bereits vor dem Schossen abgeschlossen war, beweist die im Querschnitt bandförmige Sproßspitze in Abb. 7 III, daß hier die verlängerte Achse zwar rinnig verbreitert ist, aber noch nicht zweigeteilt sein kann.

Die Genese der röntgeninduzierten Dichotomien bei *Lepidium sativum* haben wir nicht so eingehend untersucht wie bei *A. thaliana*. Stichproben ergaben jedoch auch hier bei den strahlengeschädigten Pflanzen entweder ein Absterben oder ein übermäßiges Wachstum der Sproßspitzen, das zu Verbänderung mit oder ohne nachfolgender Gabelung führt. In keinem Fall beobachteten wir, wie bei *N. rustica*, eine Restitution des Achsenendes mit Hilfe von Adventivsprossen.

Obwohl bei den untersuchten Cruciferen die eigentliche Achsenbifurkation zumeist erst im Infloreszenzbereich sichtbar wird, handelt es sich auch hier, ebenso wie bei *N. rustica*, um die Folge einer unmittelbaren Schädigung des Vegetationspunktes des Behandlungsstadiums. Von einer „Latenzzeit“ (MICKE 1957) oder „delayed expression“ des Strahlenschadens (BISHOP u. AALDERS 1955) kann man hier nur im weitesten Sinn des Wortes sprechen.

Wahrscheinlich werden bei *Arabidopsis* und *Lepidium* die Zellen des bestrahlten Achsenendes entweder total geschädigt, oder sie werden in ihrem Differenzierungsvermögen und damit in ihrer morphogenetischen Dominanz so geschwächt, daß die weniger betroffenen peripheren Bereiche allmählich das Übergewicht bekommen und neue Wachstumszentren bilden.

Obwohl wir, speziell nach Anwendung von 8000 r, zahlreiche *Arabidopsis*-Längsschnitte mit abgestorbenem Vegetationspunkt registriert haben, waren in keinem Fall Anzeichen für dessen Regeneration durch Adventivbildungen, wie bei *N. rustica*, zu beobachten. Aber es spricht vieles dafür, daß bei *Nicotiana* durch niedrigere Strahlendosen auch das für die untersuchten Cruciferen typische Verhalten induziert werden kann. Wahrscheinlich sind die mit fallender Dosis häufigeren Gabelungen im Bereich der verlängerten Achse oder in der Inflorescenz (vgl. Tabelle 1 und Abb. 1 III) auf diese Weise entstanden. Entsprechende Schnittpräparate, die eine Dichotomie des äußersten Achsenendes hätten beweisen können, wurden allerdings in unserem *Nicotiana*-Material nicht gefunden, so daß hierzu, sowie zu der Frage, ob es Übergänge zwischen den beiden typischen Reaktionsweisen gibt, zur Zeit noch keine Entscheidung getroffen werden kann.

Wir würden es für richtig halten, die beiden im vorangegangenen beschriebenen verschiedenen Restitutionsformen des strahlengeschädigten Achsenendes auch nomenklatorisch zu unterscheiden und schlagen vor, den am Beispiel von *N. rustica* geschilderten Typus als *regenerative* und das Cruciferen-Verhalten als *hyperplastische*¹ Form der strahleninduzierten sproßgabelungen zu bezeichnen.

Diskussion

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß es zwei Möglichkeiten der Genese strahleninduzierter sproßgabelungen gibt und daß die Aus-

¹ „Hyperplasie“ wird in SCHNEIDERS Handwörterbuch der Botanik (hrsg. von K. LINSBAUER, 2. Aufl., S. 329 Leipzig 1917,) wie folgt definiert: „Als Hyperplasie bezeichnet VIRCHOW (Zellulärpathologie, S. 58 1858,) alle abnormen Massenzunahmen der Gewebe und Organe, die durch Zellteilung zustande kommen.“ KÜSTER (Pathologische Pflanzenanatomie, S. 254 Jena, 1925,) verwendet den Ausdruck im gleichen Sinne.

bildung des einen oder anderen Gabelungs-Typs offenbar von der behandelten Pflanzenart und der angewandten Röntgendosis abhängig ist. Wir können unsere Ergebnisse zu folgender Arbeitshypothese verallgemeinern.

1. *Nicotiana rustica*. Bestrahlungen mit einer für die betreffende Pflanzenart nahe der Letalitätsgrenze liegenden Röntgendosis töten in erster Linie die Zentralzellen der Sproßspitze ab. Diese kann bei Pflanzen mit allgemein guter Regenerationsfähigkeit (Solanaceen!) durch ein- oder mehrfache Adventivsprosse aus mehr peripher entstandenen Meristemkomplexen ersetzt werden (= regenerative Form der Restitution). Warum die Regenerate bei *Nicotiana* besonders häufig von den jüngsten Primordien und da speziell von den zukünftigen Randbereichen ausgehen, bleibt dabei noch eine offene Frage¹.

2. *Lepidium sativum* und *Arabidopsis thaliana*. Bewegt sich die Bestrahlungsdosis einigermaßen unterhalb der Letalitätsgrenze, dann werden die Zentralzellen nicht in ihrer Gesamtheit abgetötet, aber in ihren Funktionen und vor allem *in ihren gegenseitigen Beziehungen* derart geschädigt, daß sie ihre Differenzierungspotenz und Apikaldominanz verlieren, ohne daß das Teilungswachstum völlig aufhört. Es ist bekannt, daß gerade die Differenzierungsprozesse zu den strahlenempfindlichsten Lebensvorgängen gehören (ERRERA 1957, S. 181). Es kommt zu einer anomalen Verbreiterung und schließlichen Aufteilung der Sproßspitze (Restitution nach hyperplastischem Wachstum).

VON KREYBIG (1961), der die bis heute vorliegenden Untersuchungen über strahleninduzierte Gabelsprosse zusammenfassend besprochen hat, stellt fest, daß gerade die besonders strahlenresistenten Arten bestimmter Verwandtschaftskreise (z. B. die Cruciferen oder *Melilotus albus* und *Lupinus luteus* unter dem Leguminosen) zu ausgeprägten und über die ganze Wachstumsperiode hin sich erstreckenden Gabelungseffekten neigen. Wir möchten das damit erklären, daß nur bei hoher Strahlentoleranz der Abstand zwischen den zum Differenzierungsblock führenden Dosen und der Letalitätsgrenze groß genug ist, damit es zu ausgedehnterem hyperplastischem Wachstum kommen kann.

Über die Frage des Zusammenhangs zwischen strahleninduzierten Gabelungen und Verbänderungserscheinungen gehen, wie eingangs bereits erwähnt, die Meinungen der Autoren noch erheblich auseinander. Wir können aufgrund unserer Beobachtungen, wenigstens was unsere Objekte betrifft, die Ablehnung eines solchen Zusammenhangs durch

¹ Kürzlich haben MEISELMAN, GUNCKEL u. SPARROW (1961) über ähnliche von den Blattprimordien ausgehende, aber nicht blattachselbürtige Adventivsprosse bei auf dem γ -Feld kultivierten *Nicotiana*-Hybriden berichtet.

MICKE (1961) nicht bestätigen. Es ist bekannt, daß Fasziationen und Zwangsdrehungen zu den relativ häufigen somatischen Strahlenschäden gehören (GÜNCKEL 1957, S. 51). Wir konnten bei *L. sativum* alle Übergänge zwischen verbänderten und gegabelten Pflanzen beobachten (vgl. Abb. 2 II), während wir allerdings bei als Sämlinge bestrahlten Caryophyllaceen-Arten die schönsten Verbänderungen und Zwangsdrehungen, aber niemals Gabelungen fanden. Wir möchten vermuten, daß die Entscheidung darüber, ob und wie bald es bei einer anomal verbreiterten Achse zu einer Aufteilung kommt, davon abhängt, ob und wie rasch die Einebnung der morphogenetischen Gradienten infolge des Differenzierungsblocks durch die sich herausbildenden neuen Wachstumszentren wieder rückgängig gemacht werden kann. Sicher sind hierbei artspezifische Dispositionen entscheidend beteiligt.

Im allgemeinen handelt es sich bei den strahleninduzierten Sproßgabelungen um rein somatische Alterationen, die sich lediglich in der bestrahlten Generation manifestieren. Die Nachkommenschaft geselbsteter Gabelpflanzen zeigt, nach den übereinstimmenden Angaben der oben genannten Autoren, keine über das Normalverhalten hinausgehenden Gabelungstendenzen. Das Vorkommen von Röntgen-Mutanten mit erblich fixierter Häufung von Gabelsprossen, wie sie z. B. GOTTSCHALK (1963) bei *Pisum sativum* erzielen konnte, widerspricht dieser Feststellung nicht, aber die Aussichten, Gabel-Mutanten unter den Selbstungsnachkommen gegabelter X_1 -Pflanzen zu finden, sind sicher nicht größer als unter denjenigen nichtgegabelter bestrahlter Pflanzen. Offenbar kann die Tendenz zu hyperplastischem und zu Dissoziationen neigendem Wachstum der Sproßachse sowohl als genetisch übertragbare Defekt-Eigenschaft als auch als somatisch induzierbare anomale Reaktionsweise der betroffenen Pflanze selbst (Phänokopie) auftreten.

Zusammenfassung

Durch geeignet dosierte Röntgen-Bestrahlung der angekeimten Samen von drei (aufgrund der Literatur ausgewählten) Dikotylen-Arten werden modifikative Sproßgabelungen induziert, deren Bildungsweise entwicklungs geschichtlich und histologisch genau verfolgt wird.

Bei den relativ strahlensensiblen *Nicotiana rustica*-Sämlingen kommt es nach Anwendung subletaler Röntgen-Dosen (1000—15000 r) zu einer Totalschädigung der Zentralzellen des Sproßvegetationspunktes und zu dessen ein-, zwei- oder mehrfachen regenerativen Restitution aus neugebildeten Meristem-Komplexen im Bereich der beiden Plumula-Primordien.

Im Falle der (wesentlich höhere Strahlenintensitäten tolerierenden) Keimpflanzen von *Arabidopsis thaliana* und *Lepidium sativum* ist

dagegen die Gabelungsreaktion kein eigentliches Regenerationsphänomen, sondern die Folge eines durch die Strahlung (6000 r) verursachten vorübergehenden Differenzierungsblocks und gleichzeitigen *hyperplastischen Wachstums* des Vegetationskegels, das zu dessen Verbreiterung und schließlichen *Restitution durch Aufteilung* führt.

Während bei den untersuchten Cruciferen-Arten kein Fall einer regenerativen Achsenwiederherstellung zu beobachten war, kommen bei *Nicotiana* vermutlich auch Vegetationskegel-Teilungen nach vorherigem hyperplastischem Wachstum vor, speziell nach Anwendung niedrigerer Strahlendosen (750 r).

Vermutete Zusammenhänge zwischen Verbänderungserscheinungen und Gabelungen und zwischen Gabelungs-Typus und artspezifischer Strahlen-Resistenz werden diskutiert.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die wirksame Unterstützung unserer Untersuchungen durch Sachbeihilfen.

Literatur

- BISHOP, C. J., and L. E. AALDERS: A comparison of the morphological effects of thermal neutron and x irradiation of apple scions. *Amer. J. Bot.* **42**, 618 (1955).
- CROCKETT, L. J.: A study of the tunica corpus and anneau initial of irradiated and normal stem apices of *Nicotiana tabacum* L. *Bull. Torrey Bot. Club* **84**, 229 (1957).
- ERRERA, M.: Effects biologiques des radiations. Aspects biochimiques. In: *Protoplasmatologie*, Bd. 10/3. Wien 1957.
- GOTTSCHALK, W.: *Atompraxis* 1963 (im Druck).
- GRÖBER, K.: Mutationsversuche an Kulturpflanzen. XI. Die Erzeugung von somatischen Mutationen mittels Röntgenstrahlen beim Obst. *Kulturpflanze* **7**, 37 (1959).
- GUNCKEL, J. E.: Symposium on the effects of ionizing radiation on plants. IV. The effects of ionizing radiation on plants: Morphological effects. *Quart. Rev. Biol.* **32**, 46 (1957).
- HACCIUS, B.: Weitere Untersuchungen zum Verständnis der zerstreuten Blattstellungen bei den Dikotylen. S.-B. Heidelberg. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. **6**. Abh. S. 289. Heidelberg 1950.
- HIRMER, M.: Neue Untersuchungen auf dem Gebiet der Organstellungen. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **52**, 26 (1934).
- JOHNSON, E. L.: Effects of x-rays upon growth, development and oxidizing enzymes of *Helianthus annuus*. *Bot. Gaz.* **82**, 373 (1926).
- Susceptibility of seventy species to x-radiation. *Plant Physiol.* **11**, 319 (1936a).
- The relation of x-ray dosage to degree of injury in *Nemophila* and *Zinnia*. *Amer. J. Bot.* **23**, 414 (1936b).
- KRESS, H.: Ergebnisse der Röntgenbestrahlung bei der Gülzower Süßen Gelblupine (*L. luteus*). *Züchter* **23**, 168 (1953).
- KREYBIG, TH. V.: Strahleninduzierte Sproßgabelungen bei *Sinapis alba*. *Öst. bot. Z.* **108**, 421 (1961).
- MEISELMAN, N., J. E. GUNCKEL and A. H. SPARROW: The general morphology and growth responses of two species of *Nicotiana* and their interspecific hybrid after chronic gamma irradiation. *Radiat. Bot.* **1**, 69 (1961).

- MICKE, A.: Über die Auslösung isotomer Sproßgabelungen bei *Melilotus albus* durch Röntgenbestrahlung der Samen. *Angew. Bot.* **31**, 106 (1957).
— Comparison of the effects of x-rays and thermal neutrons on viability and growth of sweet clover (*Melilotus albus*) after irradiation of dry seeds. In: Effects of ionizing radiation on seeds, p. 403. Wien 1961.
- PRATT, C.: Radiation damage in shoot apices of concord grape. *Amer. J. Bot.* **46**, 65 (1959).
- REINHOLTZ, E.: X-ray mutations in *Arabidopsis thaliana* (L.) HEYNH. and their significance for plant breeding and the theory of evolution. Fiat-Report Nr. 1006, 16. Januar 1947.
- SANKEWITSCH, E.: Untersuchungen von Röntgenmorphosen bei *Nicotiana rustica* L. *Beitr. Biol. Pflanz.* **29**, 1 (1952).

Prof. Dr. B. HACCIOUS,
Botanisches Institut der Universität, 65 Mainz, Saarstr. 21