

(Aus dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung Berlin-Dahlem)

Quantitative Untersuchungen an chlorophylldefekten und normalen diploiden und tetraploiden Pflanzen

Von KÄTHE BRIX*

Mit 1 Textabbildung

Einleitung

Chlorophylldefekte treten in der Natur sehr häufig und an fast allen Kulturpflanzen auf. Ihre genetischen Ursachen sind weitgehend untersucht und in der Literatur ausführlich diskutiert worden. Neben völliger Dominanz kann bei den Chlorophyllfaktoren auch ein intermediäres Verhalten gefunden werden, und BAUR (1910) fand folgende Erklärung dafür: Ein Faktor Z soll für die Grundausbildung verantwortlich sein. zz-Pflanzen sind rein weiß, Zz ist gelb. Y, ein weiterer Faktor für die Grünausbildung, kann nur bei Anwesenheit von mindestens einem Z wirken. Z.Y. färbt die Blätter schwach grün. Ein Gen N wirkt nur bei Anwesenheit von YY. Z.YY N. = normal grün. Zwischen Y und N liegen noch weitere Faktoren für die Grünausbildung. Dieses von BAUR aufgestellte Wirkungsschema wurde von RASMUSSEN (1920) und anderen Autoren bestätigt und erweitert.

Die Chlorophyllfaktoren wirken nicht nur auf die Färbung der Chloroplasten, sondern können auch ihre Ausbildung beeinflussen, und zwar werden bei chlorophylldefekten Pflanzen weniger Plastiden gebildet (KIESLING 1912), oder bei gleicher Zahl können die Chloroplasten kleiner, unregelmäßiger geformt oder völlig denaturiert sein (Noack 1931, EULER, BERGMANN, BURSTRÖM 1935, GUSTAFSSON 1942). Die Zerstörung der normalen Chloroplasten kann auch erst im Laufe der Entwicklung eintreten, wie EUE (1953) an der Mutante „defecta“ der Petunie *nyctaginiflora* gezeigt hat: Die rezessiven Pflanzen waren hier sogar völlig normal grün, und erst im Laufe der Entwicklung trat eine Vergilbung ein durch Chloroplastenzerfall.

In den oben beschriebenen Fällen ist also die hellere Blattfärbung die Folgeerscheinung einer Chloroplastendegeneration, und es ist meist nicht möglich, die letale oder subletale Wirkung dieser Chlorophylldefektoren durch günstige Vegetationsbedingungen zu ändern.

Ein großer Teil der chlorophylldefekten Formen läßt sich jedoch stark durch Licht und Temperatur beeinflussen. Je nach Art des Chlorophylldefektes wirken beide Faktoren gemeinsam, oder einer von beiden herrscht vor. Reine Temperaturabhängigkeit fanden GASSNER (1915) bei Hafer, COLLINS (1927) bei Gerste, FISCHBACH (1933) bei Artbastarden von *Linum*, NEATBY (1934) bei Weizenbastarden. Andere Autoren untersuchten den Lichteinfluß auf die Chlorophyllbildung der Pflanzen. MONTFORT und KRESS-RICHTER (1950) unterscheiden danach den photostabilen von dem photolabilen Typ und rechnen die chlorophylldefekten Pflanzen zu dem letzteren, bei dem direktes Sonnenlicht die Chlorophyllbildung hemmt oder sogar das schon gebildete Chlorophyll zerstört. Zu diesen photolabilen Typen gehören die von ÅKERMAN (1922) beschriebene Albinoform einer Hafersorte, bestimmte chlorophylldefekte Typen beim Roggen (SIRKS 1929)

und die verschiedensten Aureagehölze, bei denen durch die intensive Sonneneinstrahlung im Sommer nicht nur das Chlorophyll zerstört wird, sondern sogar die Chloroplasten zerfallen (MICHAEL 1953).

Andere chlorophylldefekte Formen lassen sich durch Temperatur und Licht weniger beeinflussen und zeigen bei mehr oder weniger starker Subletalität ihren defekten Charakter die ganze Vegetationszeit hindurch.

Aus diesen wenigen Beispielen geht schon hervor, daß die Chlorophylldefekte sehr verschiedene Ursachen haben können und je nach ihrer Art mehr oder weniger Außeneinflüssen unterworfen sind. In dieser Arbeit wurde die Wirkungsweise zweier Chlorophylldefektoren, eines an *Dactylis* und eines an Tomaten, untersucht. Im Falle der Umweltstabilität bestand die Hoffnung, bei den tetraploiden Formen eine quantitative Abstufung von C₀ — C₄ in der Chlorophyllausbildung zu finden und in einer Genwirkungskurve festzulegen.

Material und Methode

Versuchsmaterial waren *Dactylis glomerata chlorina*, eine natürliche Tetraploide, an der bereits eine tetrasome Spaltung in bezug auf die Blattfarbe nachgewiesen worden war (BRIX u. QUADT 1953), sowie ein artifizierlicher tetraploider Tomatenstamm (Nr. 112 L u. U) und sein diploider Ausgangsstamm (Nr. 112) aus anderen Versuchen des Institutes.

Nachdem zunächst im Papierchromatogramm festgestellt worden war, daß auch die chlorophylldefekten Formen alle vier Blattfarbstoffe besaßen, wurden durch wiederholte Bonituren die Einzelpflanzen verschiedenen Phänotypenklassen zugeordnet und diese später mit den durch Nachkommenschaftsprüfungen ermittelten Genotypen verglichen.

Mikroskopische Untersuchungen gaben Auskunft über Qualität und Quantität der Chloroplasten normaler und chlorophylldefekter Pflanzen. Hierzu wurden Flächenschnitte hergestellt, mit der Epidermis nach unten auf einen Objektträger gelegt, und zwar die Schnitte von grünen Pflanzen bzw. Organen in einen Tropfen Leitungswasser und die von weißen in einen Tropfen Rhodamin B (1:1000).

Durch kolorimetrische Messungen wurde endlich die prozentuale Absorption der Chlorophyllösungen der verschiedenen Genotypen bestimmt und als Maß für die vorhandene Chlorophyllmenge benutzt. Hierzu wurde das Material in siedendem Wasser mit einem Zusatz von CaCO₃ gebrüht und in einem Mörser extrahiert. Das Chlorophyll wurde mit 15 ccm Aceton extrahiert. Anschließend wurde der Absorptionswert der Lösung mit dem Universal-Kolorimeter der Firma Lange/Berlin in Verbindung mit einem Multiflex-Galvanometer der gleichen Firma gemessen. Da Voruntersuchungen ergeben hatten, daß das Gewicht als alleinige Bezugsgröße, wegen der verschieden starken Mittelrippen der ausgewachsenen Pflanzenblätter, zu

* Herrn Prof. H. KAPPERT zum 65. Geburtstag gewidmet

Tabelle 1. Einfluß verschiedener Belichtungsart auf wachsende Albino-Tomaten

Datum	Nr. 62 a	Nr. 62 b	Nr. 63 a	Nr. 63 b	Nr. 63 c
14.9.	Aussaat Gewächsh.	Aussaat Gewächsh.	Aussaat Gewächsh.	Aussaat Gewächsh.	Aussaat Gewächsh.
21.9.	Keimung Gewächs.	Keimung Gewächsh.	Keimung Gewächsh.	Keimung Gewächsh.	Keimung Gewächsh.
21.9.— 28.9.	HNG/2800 L gelbgr.	HNG/2800L gelbgr.	Gewächsh. weiß	Gewächsh. weiß	Gewächsh. weiß
28.9.— 5.10.	HNG/2500L 16 Std.	Gewächsh. Kurztag	Gewächsh. Langtag	Gewächsh. Kurztag	HNG/2500L 16 Std.
12.10.	HNG/2500L vergrünt	Gewächsh. abgest.	Gewächsh. abgest.	Gewächsh. abgest.	HNG/2500L abgest.

ungenau ist, wurde die gleiche Blattfläche ausgestochen, gewogen und das Ergebnis später auf 100 mg Blattgewicht umgerechnet.

Ergebnisse

Während bei *Dactylis* die rein weißen Phänotypen bald nach der Keimung abstarben, war es bei den Tomaten möglich, die albinotischen Pflanzen durch Kultur unter HNG-Röhren von Osram zum allmählichen Vergrünen zu bringen und dadurch am Leben zu erhalten. Allerdings mußten die Keimpflanzen bald nach der Keimung, bevor die Kotyledonen ausgewachsen waren, mit Kunstlicht behandelt werden, da nur die Chloroplasten der wachsenden Zellen die Fähigkeit hatten zu ergrünen. Keimlinge mit ausgewachsenen Kotyledonen starben, nachträglich ins Kunstlicht gebracht, genau so schnell ab wie unter normalen Lichtbedingungen (Tabelle 1).

Ist ein bestimmtes Entwicklungsstadium erreicht, dann können auch die Albinotypen unter normalen Lichtbedingungen weiterwachsen. Der Grad ihrer Vergrünung hängt jedoch von der Temperatur ab, der die wachsenden Zellen ausgesetzt sind (Abb. 1).

Die Bonituren an dem autotetraploiden Gras *Dactylis glomerata chlorina* zeigten, daß im Frühjahr drei Typen zu unterscheiden sind. Da die nicht lebensfähigen rein weißen Genotypen offensichtlich mit C_0 bezeichnet werden können, wurde angenommen, daß die gelbgrünen Pflanzen C_1 -, die hellgrünen C_2 - und die dunkelgrünen C_3 - und C_4 -Genotypen waren. Bei den mit C_1 und C_2 bonitierten Pflanzen entsprachen die Nachkommenschaftsprüfungen im allgemeinen der Erwartung. Es wurden allerdings stets viel zu wenig als C_2 anzusprechende hellgrüne Pflanzen gefunden. Dafür wurden aber diese fehlenden C_2 -Typen durch Nachkommenschaftsprüfungen unter den dunkelgrünen Pflanzen neben den C_3 - und C_4 -Genotypen nachgewiesen. So befanden sich z. B. unter 16 grünen F_1 -Pflanzen aus einer Kreuzung $C_1 \times C_3$ laut Nachkommenschaftsprüfungen 10 C_2 -Genotypen, von denen nur 4 phänotypisch erkannt worden waren, während die übrigen 6 phänotypisch nicht von ihren C_3 -Geschwisterpflanzen zu unterscheiden waren (Tab. 2).

Auch bei zunächst hellen Pflanzen tritt im Laufe der Vegetationszeit eine völlige Vergrünung ein, so daß sie unter für die Entwicklung der Pflanzen günstigen

Witterungsbedingungen nicht mehr von den von Anfang an dunkelgrünen Formen zu unterscheiden sind.

In derselben Weise wie bei den Gräsern wurde auch bei den Tomaten versucht, durch Bonitur die F_1 -Nachkommenschaft einer heterozygoten Mutterpflanze in verschiedene Phänotypenklassen einzuteilen. In der Keimchale fiel eine Pflanze als besonders hell auf und



Abb. 1. Temperaturabhängige Vergrünung von cc-Genotypen des Tomatenstammes 112

eine als besonders dunkel. Die übrigen Keimlinge konnten nicht voneinander unterschieden werden. Im Laufe der Vegetationsperiode verwischte sich auch der Unterschied der beiden extremen Phänotypen. Nachkommenschaftsprüfungen ergaben, daß von 31

Tabelle 2. Bonitur und Nachkommenschaftsprüfung von 16 F_1 -Pflanzen von *Dactylis* aus einer Kreuzung $C_1 \times C_3$

Nr. F_1	F_1 -Nachkommen			Bonitur F_1	Genotyp F_1
	gelbgr.	hellgrün	grün		
11	7	124	0	grün	C_2
13	16	85	0	grün	C_2
14	7	125	123	hellgr.	C_2
16	7	58	175	grün	C_2
17	7	11	34	grün	C_2
19	13	185	258	hellgr.	C_2
21	7	26	69	hellgr.	C_2
23	11	114	98	grün	C_2
25	10	146	69	hellgr.	C_2
26	7	37	135	grün	C_2
12	0	0	6	grün	C_3
15	1	172	237	grün	C_3
20	0	8	31	grün	C_3
22	0	1	23	grün	C_3
27	3	62	113	grün	C_3
28	0	52	79	grün	C_3

F₁-Pflanzen 10 C₄ bzw. C₃, 16 C₂ und 5 C₁-Pflanzen vorhanden waren. Erwartet wurden 7,97 C₄ bzw. C₃, 15,94 C₂ und 7,08 C₁. Ein X² von 1,14 bei 2 FG zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen Befund und Erwartung an. Die dunkel bonitierte Keimpflanze gehörte, wie die Nachkommenschaftsprüfung ergab, dem C₄- oder C₃-Typ an, da sie nur grüne Nachkommen hatte, während die hellgrüne Pflanze vom C₁-Typ war.

Die Bonituren an Gräsern und Tomaten zeigen also, daß es zwar möglich ist, einzelne extrem ausgebildete Typen von den übrigen Pflanzen zu unterscheiden; in der Mehrzahl der Fälle weist die Merkmalsausbildung der verschiedenen Genotypen jedoch keine für das Auge wahrnehmbaren Differenzen auf.

Mikroskopische Untersuchungen an beiden Objekten zeigten, daß zwar die Zellen der weißen Blattzonen normal ausgebildete Plastiden besitzen, daß diese jedoch denen der grünen Blattzonen zahlenmäßig unterlegen sind: Zählungen bei 15 albinotischen Tomatenpflanzen ergaben für die weißen Blatteile $2,32 \pm 0,30$ Plastiden pro Zelle, während in den grünen Partien dieser Pflanzen $7,12 \pm 0,25$ Plastiden gezählt wurden. Die Differenz konnte mit einem $p < 0,10\%$ gesichert werden (Tab. 3).

Tabelle 3. Vergleichende Plastidenzählungen weißer und grüner Zonen albinotischer Tomaten

Nr.	weiße Zone		grüne Zone		p-Wert
	durchschnittl. Plastidenz.	M ± m	durchschnittl. Plastidenz.	M ± m	
1.	2,52	$2,32 \pm 0,30$	7,80	$7,12 \pm 0,25$	0,10%
2.	0,52				
3.	2,60				
4.	1,92				
5.	3,22				
6.	1,28				
7.	3,60				
8.	4,29				
9.	1,56				
10.	3,25				
11.	1,72				
12.	1,52				
13.	1,56				
14.	68,1				
15.	4,36				

Während die grügefärbten Chloroplasten beider Objekte vollständig granuliert waren, besaßen die farblosen Plastiden keine Grana oder doch nur ein dunkles punktförmiges Gebilde, das nach der Definition von STRUGGER (1951) das Primärgranum darstellen könnte. In keinem Falle konnte beobachtet werden, daß eine Zelle neben farblosen auch gefärbte Plastiden enthielt.

Die Auszählung von Chloroplasten aus 100 Zellen bei *Dactylis* aus den weißen, gelben und grünen Zonen gelbgrüner und normalgrüner Pflanzen ergab, daß die

verschiedenen Zonen des gleichen Genotypes gesicherte Unterschiede in der Chloroplastenzahl aufweisen, die Differenz zwischen den beiden untersuchten Genotypen sich jedoch nur in der weißen Zone sichern läßt (Tab. 4).

Ein Vergleich der Plastidenzahl vergrünter albinotischer Tomaten mit normal grünen Pflanzen, von denen je 20 Pflanzen und pro Pflanze 25 Zellen gezählt wurden, ergab eine mit einem p-Wert von 0,10% gesichert höhere Plastidenzahl der vergrünter albinotischen Typen (Tab. 5).

Tabelle 5. Plastidenzahl pro Zelle in grünen Geweben von normal grünen und albinotischen Tomatenpflanzen

Nr.	I. Albino		II. Normal		Sicher. d. Diff. I—II
	durchschnittl. Plastidenz.	M ± m	durchschnittl. Plastidenz.	M ± m	
1.	7,80	$6,93 \pm 0,21$	6,84	$5,80 \pm 0,18$	p = 0,10%
2.	6,28				
3.	6,24				
4.	7,88				
5.	7,80				
6.	8,96				
7.	6,64				
8.	8,16				
9.	8,00				
10.	7,72				
11.	6,12				
12.	6,56				
13.	6,12				
14.	6,68				
15.	5,96				
16.	5,92				
17.	6,08				
18.	7,16				
19.	5,60				
20.	6,96				

Außerdem konnte noch festgestellt werden, daß die Schwankung der Chloroplastenzahl pro Zelle zwischen den Pflanzen ein und derselben Gruppe ebenfalls große Unterschiede aufwies.

Kolorimetrische Messungen der homozygoten C₄- und C₀-Typen der Tomatenkeimlinge zeigten, daß das Chlorophyllmerkmal einer starken umweltbedingten Variabilität unterliegt. Die prozentuale Absorption des C₄-Types war $2,01 \pm 0,13$, und der Variabilitätskoeffizient war 21,98; die prozentuale Absorption des C₀-Types war $0,21 \pm 0,02$ mit einem Variabilitätskoeffizienten von 14,29. Da es wegen der starken Variabilität sehr fraglich erschien, ob die einzelnen Genotypen quantitativ voneinander getrennt werden können, wurden Kontrolluntersuchungen an diploiden Pflanzen durchgeführt. Zunächst wurde die Nachkommenschaft einer heterozygoten Mutterpflanze, bestehend aus 100 Individuen, in denen alle drei Genotypen vorhanden sein mußten, einzelpflanzenweise kolorimetriert. Um die Variabilität möglichst weitgehend einzuschränken, wurden die Samen im Dunkeln

Tabelle 4. Durchschnittliche Plastidenzahl weißer, gelber und grüner Zonen von C₁- und C₃-Genotypen von *Dactylis*

Zone	Genotyp		Sicherung d. Diff. C ₃ —C ₁
	C ₁	C ₃	
weiß	$1,0 \pm 0,15$	$3,4 \pm 0,34$	p < 0,10%
gelb	$4,3 \pm 0,13$	$4,5 \pm 0,31$	nicht gesichert
grün	$6,8 \pm 0,26$	$7,0 \pm 0,24$	nicht gesichert

Tabelle 6. Kolorimetrische Chlorophyllbestimmungen spaltender und homozygoter Nachkommenschaften nach verschieden langer Belichtung

Nr.	prozentuale Absorption pro 100 mg						
	spaltend Belichtung in Std.			Nr.	homozygot Belichtung in Std.		
	2,5	3,5	15,0		2,5	3,5	15,0
L 22	7,56	9,67	20,78	L 25	11,81	12,59	16,64
L 28	9,53	12,49	18,41	L 33	9,13	12,37	17,69
L 29	8,87	12,21	22,27	U 6	6,32	8,16	20,27
L 30	7,89	6,00	17,67	U 9	8,24	13,17	20,82
L 31	11,40	15,76	16,91	U 18	8,41	12,60	21,87
L 32	15,14	10,77	27,17	U 23	21,66	27,50	23,46
L 35	7,05	11,67	19,67	U 27	8,85	10,97	30,63
U 1	9,63	9,21	20,15	U 30	9,67	19,14	26,67
U 4	10,41	10,22	24,22	U 33	9,32	17,35	21,64
U 5	10,11	7,34	25,71	F	15,00	16,07	20,88
U 7	11,50	12,33	24,44	H	13,91	16,15	19,63
U 8	14,88	14,00	18,58	K	14,13	13,91	22,33
U 10	8,71	13,94	16,86	P	10,26	15,56	20,42
U 11	15,79	10,00	24,15	U	8,06	10,73	9,93
U 16	14,57	16,06	19,75				
U 17	15,51	15,00	22,07				
U 19	8,72	11,10	24,02				
U 22	15,00	17,27	20,37				
U 26	11,67	17,29	31,09				
U 28	9,22	13,29	22,11				
U 31	11,90	23,93	27,76				
U 32	9,70	18,68	24,24				
U 34	13,27	16,33	23,8				
M	11,78	13,53	21,36				
± m	±0,53	±0,69	±0,69				
	p = 4,5%		p < 0,1%		p = 1,1%		p < 0,1%

angekeimt und die Keimpflanzen nach Entfaltung ihrer Kotyledonen mit grünlichem Licht 15 Stunden lang beleuchtet. Die aus den Einzelwerten resultierende Kurve konnte mit Hilfe von Ogivenpapier in drei Einzelkurven zerlegt werden, die sich stark überschneiden. Ein weiterer Versuch, die Genotypen zu trennen, wurde durch Messungen ganzer Nachkommenschaften unternommen, um auf diese Weise zu Mittelwerten zu kommen. Die prozentuale Absorption von 34 spaltenden, aus Homo- und Heterozygoten bestehenden Nachkommenschaften unter Ausschluß der Albinotypen wurde mit der von 14 einheitlich grünen Nachkommenschaften nach verschieden langer Belichtung mit grünlichem Licht verglichen (Tab. 6).

Zwischen den Mittelwerten der spaltenden und der einheitlichen grünen Nachkommenschaften bestehen offensichtlich keine signifikanten Unterschiede.

Zwischen den einzelnen Belichtungszeiten waren jedoch gesicherte Unterschiede vorhanden, und die Variabilität der Einzelwerte war recht groß. Die Variabilitätskoeffizienten lagen zwischen 18,49 und 36,08, und zwar zeigten die Homozygoten eine etwas stärkere Schwankung als die Heterozygoten, wenn die Differenz auch nicht zu sichern war.

Kurze Belichtungsdauer:

Homozygoten $V_h = 36,08$, Heterozygoten $V_h = 26,18$.

Lange Belichtungsdauer:

Homozygoten $V_h = 26,15$, Heterozygoten $V_h = 18,49$.

Das oben behandelte Ergebnis konnte durch Einzelpflanzenmessungen an 33 Nachkommen einer heterozygoten Mutterpflanze bestätigt werden. Die Messungen wurden im Laufe der Vegetation 3 mal durchgeführt (Tab. 7).

Die Pflanzen standen im Gewächshaus in 11 Reihen zu je 4-5 Pflanzen. Die äußerste Reihe stand direkt am Fenster. Innerhalb einer Reihe war die Schwan-

Tabelle 7. Vergleichende Messungen des Chlorophyllgehaltes von Homo- und Heterozygoten

Genotyp	Nr.	Prozentuale Absorption auf 100 mg			
		1. Messung	2. Messung	3. Messung	Mittel
heterozygot	150	33,33	51,00	58,00	47,44
	151	30,00	31,00	63,00	41,33
	154	84,00	51,00	63,00	66,00
	159	39,62	32,00	53,00	41,54
	160	28,33	30,00	63,00	40,44
	163	30,16	31,00	66,00	42,38
	165	33,48	22,00	68,00	41,16
	166	33,83	42,00	59,00	44,94
	170	31,75	32,00	68,00	43,92
	171	66,92	32,00	64,00	54,31
	172	56,98	29,00	60,00	48,63
	177	17,95	33,00	63,00	37,98
	178	22,83	25,00	58,00	35,28
	181	31,92	32,00	81,00	48,30
	182	39,47	40,00	76,00	51,82
	183	50,50	29,00	70,00	49,83
	185	24,76	31,00	74,00	43,25
	186	34,33	30,00	78,00	47,44
	190	70,71	22,00	80,00	57,57
195	35,54	24,00	79,00	46,18	
198	81,50	26,00	74,00	60,50	
homozygot	156	48,50	28,00	89,29	55,26
	158	39,50	38,00	49,00	42,16
	161	30,96	30,00	63,00	41,32
	162	42,65	30,00	62,00	44,88
	164	45,28	39,00	78,00	54,09
	168	37,62	34,00	64,00	45,20
	173	30,48	33,00	56,00	39,82
	179	21,46	29,00	62,00	37,49
	187	36,94	30,00	66,00	44,31
	194	28,79	28,00	56,00	37,60
	197	77,31	36,00	76,00	63,16
199	61,79	22,00	76,00	53,26	

kung während einer Messung sehr gering, während von der inneren zur äußeren Reihe eine allmähliche Abnahme des Chlorophyllgehaltes eintrat; nach Austausch dieser beiden Reihen waren wieder die

Pflanzen der inneren Reihen dunkler als die der äußeren. Licht- und Temperaturunterschiede konnten nicht festgestellt werden; da das Fenster jedoch nicht ganz schloß, trat ein geringer Zug auf, der offenbar die Chlorophyllbildung beeinflusste.

Es konnte festgestellt werden, daß die Schwankung der drei Einzelmessungen sehr groß war und zwischen den Homo- und Heterozygoten wiederum keine gesicherten Unterschiede bestanden.

Bei allen drei Messungen zeigten Homo- und Heterozygoten eine starke Variabilität, die jedoch bei beiden gleich stark ausgeprägt war (Tab. 8).

Tabelle 8. Ergebnisse der vergleichenden Messungen des Chlorophyllgehaltes von Homo- und Heterozygoten:

Heterozygote (n = 21)					
	ϵ_x	\bar{x}	s_x	$s_{\bar{x}}$	V_h
1. Messung	877,91	41,81	19,12	4,17	45,74
2. Messung	675,00	12,14	7,95	1,74	24,73
3. Messung	1418,00	67,52	8,24	1,80	12,21
Durchschnitt					
1-3	990,24	47,15	7,59	1,66	16,90
Homozygote (n = 12)					
1. Messung	501,28	41,77	15,35	4,43	36,76
2. Messung	377,00	31,42	4,81	1,39	15,32
3. Messung	797,29	66,44	11,35	3,28	17,09
Durchschnitt					
1-3	558,55	46,55	8,08	2,33	17,35

Diskussion der Ergebnisse

In der Literatur wurden bisher nur vergleichende kolorimetrische Messungen zwischen chlorophylldefekten Formen einerseits und ihren normalen Geschwisterpflanzen andererseits beschrieben. CORRENS (1903 und 1909) verglich den Chlorophyllgehalt von defekten und normalen Pflanzen besonders bei den verschiedenen *Mirabilis*-Sippen und fand neben erblichen auch durch die Umwelt hervorgerufene Unterschiede. ÄKERMAN (1922) stellte fest, daß die Luteszenzform einer Hafersorte nur halb so viel Chlorophyll besaß wie die normale. EULER und Mitarbeiter (1934) verglichen kolorimetrisch den Chlorophyllgehalt defekter Gersten mit ihren normalen Geschwisterpflanzen. In keinem der beschriebenen Fälle war es möglich, die grünen Homo- und Heterozygoten einwandfrei voneinander zu trennen.

Obwohl die Meßgenauigkeit des Kolorimeters in Verbindung mit dem Multiflex-Galvanometer heute schon sehr genau ist — es konnten Differenzen von 0,05% Absorption unterschieden werden, und die extremen Werte lagen während einer Messung bei $0,21 \pm 0,02$ und $2,01 \pm 0,13$ —, gelang es bei den vorliegenden Versuchen auch nur, die makroskopisch unterscheidbaren Phänotypen einwandfrei voneinander zu trennen. Die einzelnen Pflanzen unterlagen jedoch so starken umweltbedingten Schwankungen, daß sich die Kurven für den Chlorophyllgehalt der Genotypen stark überschneiden. Da deshalb mit Hilfe des Kolorimeters auch nur die Extreme mit Sicherheit voneinander unterschieden werden konnten, war es nicht möglich, die Wirkung der Vermehrung von C_1 auf C_4 zu verfolgen und in Gestalt einer Genwirkungskurve festzulegen. Für das Studium der quantitativen Genwirkung erwiesen sich die untersuchten Chlorophyllfaktoren daher als ungeeignet.

Die Untersuchungen zeigen weiterhin, daß die hier beteiligten Chlorophylldefektfaktoren die Entwicklung der Plastiden selbst nicht beeinflussen. Die grünen Zonen der C_1 -Typen von *Dactylis* enthalten nämlich die gleiche Plastidenzahl wie die normalen Typen (Tab. 4), und bei den albinotischen Tomatenpflanzen wurde in den grünen Gewebepartien im Durchschnitt sogar ein Chloroplast mehr pro Zelle gezählt als bei den normalen Geschwisterpflanzen (Tab. 5), wohingegen in jedem Gewebe, das unabhängig vom jeweiligen Genotyp des Individuums im Verlauf seiner ontogenetischen Entwicklung zunächst weiß ist, eine Hemmung der Plastidteilung eintritt. Die untersuchten Chlorophylldefektfaktoren beeinflussen also offenbar die Ausbildung der Chlorophyllfarbstoffe in den Grana.

Da die Biosynthese von niedermolekularen Verbindungen bis zum Protochlorophyll anscheinend sehr schnell vor sich geht, gelang es bisher weder mit chromatographischen noch spektroskopischen Methoden gefärbte oder fluoreszierende Substanzen als Zwischenstufen nachzuweisen. Es war nur möglich, das Protochlorophyll als direkte Vorstufe des Chlorophylls zu identifizieren. Der letzte Schritt ist dann eine Oxydation. Da nicht bei allen Pflanzen zu dieser Oxydation das Licht nötig ist — Coniferenkeimlinge bilden z. B. im Dunkeln die gleiche Menge Chlorophyll wie im Licht (EGLE 1953) —, bezeichnet GRANICK (zitiert nach EGLE 1953) die Chlorophyllbildung als einen enzymatischen Vorgang, der jedoch meistens vom Licht ausgelöst werden muß. SMITH (zitiert nach EGLE 1953) gelang es an etiolierten Gerstenpflanzen, eine quantitative Umwandlung des Protochlorophylls in Chlorophyll nachzuweisen, indem er die Pflanzen niedrigen Temperaturen aussetzte (0°C) und so eine Neubildung von Protochlorophyll verhinderte. In normal grünen Pflanzen läßt sich im Licht kein Protochlorophyll nachweisen, weil die Umwandlung in Chlorophyll sehr schnell vor sich geht. Da in chlorophylldefekten Pflanzen jedoch Protochlorophyll auftritt, wird augenscheinlich der enzymatische Vorgang der Oxydation von den Chlorophylldefektfaktoren beeinflusst.

Übertragen auf die von mir untersuchten Chlorophyllfaktoren, würde das heißen, daß die rezessiven Typen offenbar so wenig von dem zur Chlorophyllbildung nötigen Enzym produzieren, daß diese Genotypen unter normalen Bedingungen kein Chlorophyll bilden können und als letal angesehen werden müssen. Durch geeignete Kulturmaßnahmen gelingt es jedoch häufig, diese Letalität zu überwinden. So galt die Albinoform des Tomatenstammes 112 zunächst als nicht lebensfähig. Die Keimlinge waren zwar gleich nach dem Anlaufen kräftiger als ihre normalen Geschwisterpflanzen, da sie jedoch kein Chlorophyll bildeten, starben sie spätestens nach 14 Tagen bis drei Wochen ab. Versuche, sie durch Veränderung der Lichtintensität bzw. durch Verkürzung der Tageslänge am Leben zu erhalten, mißlangen. Erst durch die Verwendung von HNG Röhren (OSRAM „Bellalux“) gelang es, die Letalität zu überwinden. Dabei waren Lichtintensität und Belichtungsdauer völlig gleichgültig, ausschlaggebend allein war die Lichtqualität. Da das Gelblicht, das den hauptsächlichsten Bestandteil der HNG-Röhren bildet, besonders das vegetative Wachstum und damit auch die Chlorophyllbildung fördert, ist seine günstige Wirkung durchaus verständlich. Sind erst einmal die Primärblätter ausge-

bildet, dann können die Albinos auch im natürlichen Licht Chlorophyll bilden. Bei einem anderen Tomatenstamm (2803) gelang es auch durch die Verwendung von Gelblicht nicht, die Letalität der rezessiven Genotypen zu überwinden; daß jedoch auch hier die Fähigkeit, Chlorophyll zu bilden, nicht völlig verloren gegangen war, zeigte eine Behandlung der Keimpflanzen mit Zucker, bei der eine nach Angaben von WENT und CARTER (1948) hergestellte Zuckerlösung (10% Zucker, etwa 0,1% eines beliebigen Benetzungsmittels und 0,025% Sulfonamid) täglich 1–2 mal auf die Oberfläche der Kotyledonen gebracht wurde. Die ersten Blättchen bildeten sich bei dieser Behandlung fast ebenso schnell wie die der normalen Kontrollen und zeigten eine grünliche Färbung! Bald darauf gingen jedoch die Pflanzen an zu faulen und starben ab.

GOLDSCHMIDT, der schon 1920 die Ansicht vertrat, daß die Gene als Enzyme wirken, stellte darüberhinaus die Hypothese auf, daß die Geschwindigkeit der Reaktionen, die zur Merkmalsbildung führen, von der Quantität der betreffenden Enzyme und damit der Erbfaktoren abhängig sei, daß sie jedoch auch bis zu einem gewissen Grade temperaturabhängig sei. Diese Hypothese könnte auch einige Erscheinungen bei *Dactylis* und den albinotischen Tomaten erklären: Ein normales Blatt von *Dactylis glomerata* hat an der Basis eine kurze weiße Zone, die sehr schnell und ohne Übergang in die grüne ausläuft. Der C_1 -Typ dagegen hat eine längere weiße Zone, die ganz allmählich über gelb und hellgrün in eine grüne Spitze übergeht. Die Länge der einzelnen Bezirke ist temperaturabhängig. Bei niedriger Temperatur ist die weiße Zone sehr weit ausgedehnt und wird nur von gelb abgelöst, bei höheren Temperaturen im Sommer dagegen ist der Übergang von der weißen in die grüne Zone ähnlich wie bei den normal grünen Genotypen. Auch die Keimung der C_1 -Genotypen ist je nach Temperatur verschieden. In der kalten Jahreszeit keimen sie weiß und werden erst allmählich gelb und später grünlich, während sie im Sommer schon von Anfang an gelbgrün keimen. Die Blattfärbung der albinotischen Tomaten (Abb. 1–3) ist ebenfalls temperaturabhängig: bei höheren Temperaturen ist der Blattfarbstoff normal ausgebildet, bei niedrigen Temperaturen dagegen ist der Albinocharakter deutlich zu erkennen. Die Erklärung hierfür wäre nach der Theorie von GOLDSCHMIDT folgendermaßen: Die normalen Genotypen bilden eine bestimmte Menge der zur Chlorophyllbildung notwendigen Substanz, deren Reaktionsgeschwindigkeit so groß ist, daß eine sofortige Vergrünung eintritt, die unter normalen Bedingungen schon ihr Maximum erreicht hat. Die albinotischen Formen dagegen besitzen sehr viel weniger von dieser Substanz, deren Reaktionsgeschwindigkeit dementsprechend geringer ist, so daß unter normalen Bedingungen kein grüner Farbstoff gebildet wird. Eine Temperaturerhöhung beschleunigt jedoch die zur Chlorophyllbildung notwendige Reaktion so stark, daß die Vergrünung der Albinos genau so schnell vor sich geht wie die der normalen Genotypen.

Wie im Fall der Chlorophylldefekte könnte vielleicht auch der von IKENO (1913) beschriebene „Dominanzwechsel“ in der Stellung des Blüten- bzw. Fruchstiels bei Paprika auf einer verschiedenen schnellen Stoffproduktion zweier Allele beruhen. Während sich nämlich der Blüten- und damit auch der Fruchstiel einer

Sippe A von *Capsicum annum* dem positiven Geotropismus folgend senkt, nehmen bei einer zweiten Sippe B Blüten- und Fruchstiel eine aufrechte Stellung ein. Der Bastard zwischen ihnen zeigt zunächst eine völlige Dominanz des aufrechten Blütenstiels. Im Laufe der Entwicklung verändert sich jedoch das Verhältnis, und in einem gewissen Stadium nimmt der Stiel eine transversale Lage ein. Bei der Fruchtreife dominiert dann hängend über aufrecht. Dieser „Dominanzwechsel“ im Laufe der Entwicklung könnte so erklärt werden, daß die Sippe A eine bestimmte Menge des den positiven Geotropismus auslösenden Enzyms bildet, das Sippe B fehlt, und dessen Reaktionsgeschwindigkeit in A so stark ist, daß schon bei der Blütenbildung eine Senkung des Blütenstiels eintritt. Im Bastard zwischen beiden Sippen ist dieses Enzym in geringerer Menge vorhanden als in Sippe A und seine Reaktionsgeschwindigkeit entsprechend geringer, so daß sich der Fruchstiel im Laufe der fortschreitenden Entwicklung nur sehr allmählich senken kann.

Im Gegensatz zu der Annahme einer verschiedenen schnellen Stoffproduktion zweier Allele ist MICHAEL der Ansicht (1953), daß im Falle der Chlorophyllfaktoren die chlorophylldefekten Pflanzen Hemmformen der normalen sind. Das hieße also, daß die rezessiven Chlorophyllfaktoren nicht nur weniger Chlorophyll produzieren, sondern daß sie darüberhinaus Stoffe bilden, die die Chlorophyllbildung hemmen. Er kam zu dieser Ansicht durch die Feststellung, daß die Blätter der aurea-Varietäten einiger Gehölze nicht nur weniger Chlorophyll enthalten, sondern auch in ihrer Entwicklung zurück sind. Da die Entwicklungsstörungen jedoch sekundär durch den Mangel an Chlorophyll hervorgerufen sein können, scheint mir die erste Hypothese, die einfach eine langsamere Stoffproduktion des rezessiven Gens annimmt, einleuchtender zu sein.

Die starke Umweltabhängigkeit der Chlorophyllausbildung drückt sich in einer hohen Variabilität der einzelnen Genotypen aus, und zwar nicht nur bei verschiedenen, sondern auch bei gleicher Belichtungszeit. Der Variabilitätskoeffizient erreichte stets einen höheren Wert als 10, dabei schienen die Homozygoten eine Tendenz für eine größere Schwankung zu zeigen. Da die durch äußere Einflüsse hervorgerufenen Schwankungen in der Chlorophyllausbildung innerhalb eines Genotypes größer sein können als die erblich fixierten Unterschiede zwischen verschiedenen Genotypen, erwiesen sich die von mir untersuchten Chlorophyllfaktoren als ungeeignet für quantitative Untersuchungen.

Zusammenfassung

1. Der Genotypus tetraploider *Dactylis glomerata* und diploider Tomatenpflanzen, die beide chlorophylldefekte Typen abspalteten, wurde durch Beurteilung nach dem Augenschein und durch anschließende Nachkommenschaftsprüfung ermittelt. Nur bei den hellen Formen gestattete der Phänotyp einen sicheren Schluß auf den Genotyp.

2. Mikroskopische Untersuchungen führten zu folgenden Feststellungen:

a) die Chloroplasten der albinotischen Formen sind völlig normal ausgebildet,

b) eine Hemmung der Chloroplastenteilung tritt in jedem im Verlauf der ontogenetischen Entwicklung

zunächst weißen Gewebe ein, unabhängig vom Genotyp des Individuums,

c) vergleichende Chloroplastenzählungen in grünen Gewebeteilen albinotischer und normal grüner Pflanzen ergaben die gleiche Anzahl Plastiden pro Zelle bei *Dactylis* und eine statistisch gesicherte höhere Anzahl pro Zelle bei den albinotischen Tomaten gegenüber ihren normalen Geschwisterpflanzen.

3. Die kolorimetrischen Messungen ließen infolge der starken Variabilität des Chlorophyllgehaltes nur eine Unterscheidung der erkennbaren Typen zu. Sie wurden durchgeführt

a) an tetraploiden Einzelpflanzen und Nachkommen-schaften bei gleicher Belichtungsdauer,

b) an diploiden Kontrollen einzelpflanzen- und nachkommenschaftsweise nach verschieden langer Belichtung.

4. Bonituren, mikroskopische und kolorimetrische Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis:

a) Die untersuchten Chlorophylldefekt-faktoren haben keinen Einfluß auf die Ausbildung und Teilungs-fähigkeit der Plastiden, sondern sie beeinflussen die Chlorophyllbildung in den Grana.

b) Die Chlorophylldefekte der in den Versuchen beobachteten albinotischen Formen wurden durch eine verringerte Chlorophyllproduktion verursacht und nicht durch das grundsätzliche Unvermögen der betreffenden Pflanzen, Chlorophyll zu bilden.

c) Die Verringerung der Chlorophyllmenge kann so stark sein, daß die Wirkung bei den betroffenen Genotypen als letal angesehen werden muß. Durch geeignete Veränderungen der Außenbedingungen kann diese „Letalität“ jedoch überwunden werden.

d) Die Versuchsergebnisse weisen darauf hin, daß die untersuchten Chlorophyllfaktoren nicht einen bestimmten verschieden hohen Chlorophyllgehalt bewirken, sondern daß sie nur die Reaktionsgeschwindigkeit der chemischen Vorgänge beeinflussen, die zur Chlorophyllbildung führen.

Die Untersuchungen wurden durch Mittel der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT in Godesberg ermöglicht.

Herrn Prof. Dr. KAPPERT danke ich für seine Unterstützung und für seine stete Anteilnahme an dem Fortgang der Untersuchungen.

Literatur

I. ÅKERMAN, Å.: Untersuchungen über eine in direktem Sonnenlicht nicht lebensfähige Sippe von *Avena*

sativa. Hereditas 3, 147, (1922). — 2. BAUR, E.: Untersuchungen über die Vererbung von Chromatophorenmerkmalen bei *Melandrium*, *Antirrhinum* und *Aquilegia*. Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 4, 81, (1910). — 3. BRIX, K. u. QUADT, F.: Experimentell-genetische Untersuchungen über die Natur einer natürlichen Polyploiden. Z. f. Pflanz. 32, 407, (1953). — 4. COLLINS, J. L.: A low temperature type of albinism in Barley. J. of Heredity 18, 331, (1927). — 5. CORRENS, C.: Über die dominierenden Merkmale der Bastarde. Ber. d. dtsh. bot. Ges. 21, 133, (1903). — 5b. CORRENS, C.: Vererbungsversuche mit blaß (gelb) grünen und buntblättrigen Sippen bei *Mirabilis*, *Urtica* und *Lunaria*. Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 1, 291, (1909). — 6. EGLE, K.: Die Biosynthese der Chlorophyllfarbstoffe. Naturw. 40, 569, (1953). — 7. EUE, L.: Chlorophyllbestimmungen und Pfropfversuche bei der *Petunia*-Mutante *defecta*. Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 85, 429, (1953). — 8. EULER, H. v., BURSTRÖM, D. u. HELLSTRÖM, H.: Über die Konstanz des Chlorophyllgehaltes in drei Chlorophyll-Mutanten. Hereditas 18, 225, (1934). — 9. EULER, H. v. BERGMANN, H., HELLSTRÖM, H., BURSTRÖM, D.: Konstanz des Chlorophyllgehaltes und Chromatophorendegeneration chlorophyllmutierter Gerstensippen. Hereditas 21, 121, (1935/36). — 10. FISCHBACH, C.: Untersuchungen an den beiden heterostylen Leinarten *L. hirsutum* und *L. viscosum* und ihren Bastarden. Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 65, 180, (1933). — 11. GASSNER, G.: Über einen Fall von Weißblättrigkeit durch Kältewirkung. Ber. d. dtsh. bot. Ges. 33, 478, (1915). — 12. GOLDSCHMIDT, R.: Die quantitative Grundlage von Vererbung und Artbildung. Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen, Heft 24, 1920. — 13. GUSTAFSSON, A.: The plastid development in various types of chlorophyll mutations. Hereditas 28, 483, (1942). — 14. IKENO, S.: Studien über die Bastarde von Paprika (*Capsicum annuum*). Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 10, 99, 1913. — 15. KISSLING, L.: Einige besondere Fälle von chlorophylldefekten Gersten. Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 19, 160, (1918). — 16. MICHAEL, K.: Vergleichende Untersuchungen über die Farbeigenschaften und den Bau der Blätter von Aurea-Varietäten verschiedener Gehölze. Züchter 23, 296, (1953). — 17. MONTFORD, C. u. KRESS-RICHTER, I.: Reversible photochemische Chlorophyllzerstörungen in besonnten Laubblättern von Aurea-Formen und ihre Beziehungen zu Strahlungsklima und Erbgut. Planta 38, 516, (1950). — 18. NEATBY, K. W.: A chlorophyll mutation in Wheat. J. of Heredity 24, 159, (1933). — 19. NOACK, K. L.: Über eine buntblättrige Form von *Borrigo officinalis* Z. f. indukt. Abst.- u. Vererbgs. 58, 372, (1931). — 20. RASMUSSEN, J.: Mendelnde Chlorophyllfaktoren bei *Allium cepa*. Hereditas 1, 128, (1920). — 21. SEYBOLD, A.: Zur Kenntnis des Protochlorophylls. Planta 26, 712, (1937). — 22. SIRKS, M. J.: Über einen Fall vererbbarer Lichtempfindlichkeit des Chlorophylls beim Roggen. Genetica 11, 375, (1929). — 23. STRÜGGER, S.: Über den Bau der Proplastiden und Chloroplasten. Naturw. 37, 166, (1950). — 24. WENT, F. W. u. CARTER, M.: Growth response of Tomato plants to applied sucrose. Am. J. of Bot. 35, 95, (1948).

(Aus dem Institut für Gärtnerische Pflanzenzüchtung der Technischen Hochschule Hannover)

Über die Auswertung von Blockversuchen

Von HANS RUNDFELDT *

Mit 1 Textabbildung

Bei Versuchen mit nur wenigen Versuchsgliedern ist die Blockanlage, wie auch MUDRA (1954) betont, zwar nicht immer die beste Versuchsmethode, jedoch keinesfalls eine schlechte. Da sie außerdem relativ vorteilhaft bezüglich Anlage und Auswertung ist,

* Herrn Prof. H. KAPPERT zum 65. Geburtstag gewidmet

weil gewisse erschwerende Bedingungen anderer Methoden entfallen, wie z. B. die Abhängigkeit der Anzahl der Versuchsglieder von der Vergleichsteilstückzahl beim lateinischen Quadrat, sollte sie häufig angewendet werden. Nun sind jedoch die Anforderungen an die Genauigkeit der Feldversuche sehr verschieden. Teilweise werden zur Lösung eines Problems zahlreiche