

Untersuchungen zur Pollenentwicklung und Pollenschlauchbildung bei höheren Pflanzen

I. Quantitative Bestimmungen des DNS-Gehalts generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen von *Petunia-hybrida*-Mutanten¹

C. U. HESEMANN

Lehrstuhl für Allgemeine Genetik der Universität Hohenheim, Stuttgart-Hohenheim² (BRD)

The Development of Pollen Grains and Formation of Pollen Tubes in Higher Plants

I. Quantitative Measurements of the DNA-Content of Generative and Vegetative Nuclei in the Pollen Grain and Pollen Tube of *Petunia hybrida* Mutants

Summary. The DNA-content of generative and vegetative nuclei in mature pollen grains of four *Petunia hybrida* mutants was determined by cytophotometry. In addition the DNA-content of generative and vegetative nuclei in the pollen tube of two of these four mutants (*virescens-2 n* and *ustulata-2 n*) was cytophotometrically measured.

The DNA-values found in the generative nuclei indicate that the DNA-replication continues in the mature pollen grain and comes to an end only after the migration of the nuclei into the pollen tube. These data are in disagreement with the results of DNA-measurements described for a limited number of other species which all show completion of DNA-synthesis during the maturation stage of the pollen grains.

The vegetative nuclei of the four *Petunia* mutants studied show significant differences in the onset of the degenerative phase. Extreme variation is manifested in the *ustulata-2 n* mutant in which the degeneration of nuclei may reach the final stage in the maturing pollen grain. However in this mutant vegetative nuclei with an unaltered DNA-content may also be demonstrated in the pollen tube. Some of the vegetative nuclei in the pollen tube of *ustulata-2 n* exhibit an increased amount of DNA which could be the result of differential DNA-replication in the vegetative nuclei. The decrease of the DNA-content in a certain fraction of the vegetative nuclei in the maturing pollen grain does not agree with observations made in other species by several authors who report DNA constancy until the pollen grain is fully matured.

The data obtained from the analysis of the four *Petunia hybrida* mutants point to an important role of the vegetative nucleus in the development of the pollen tube. The *Petunia hybrida* mutants may be regarded as especially favourable material for investigations concerning the function of the vegetative cell in the development of the pollen grain and pollen tube.

1. Einleitung

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen besteht darin, den DNS-Gehalt generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen von *Petunia-hybrida*-Mutanten zu bestimmen. Mit diesen Untersuchungen soll am speziellen Beispiel *Petunia* ein Beitrag zu dem Fragenkreis der Entwicklung von Pollenkorn und Pollenschlauch bei höheren Pflanzen geliefert werden. Besondere Berücksichtigung soll dabei die Frage nach den Aufgaben der vegetativen Zelle bei der Pollenschlauchbildung finden.

Diese Arbeit soll eine geplante Veröffentlichungsreihe einleiten, in der über Ergebnisse von cytologischen und cytochemischen Untersuchungen zur Entwicklung des männlichen Gametophyten der Angiospermen berichtet wird.

¹ Herrn Prof. Dr. J. Straub zum 60. Geburtstag gewidmet.

² Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

2. Material und Methoden

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden vier Mutanten von *Petunia hybrida* gewählt, die aus den Kulturen von Prof. Dr. J. Straub³, Direktor des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung in Köln-Vogelsang, stammen: *virescens-2 n*, *ustulata-2 n*, *compressa-2 n* und *virescens-4 n*. Die tetraploide Mutante *virescens* ist aus der diploiden durch Colchicinierung entstanden. Die vier Mutanten sind bezüglich der mutierten Gene homozygot-recessiv und weisen einen hohen Grad von Isogenität auf. Für die cytochemischen Untersuchungen zur Pollenkorn- und Pollenschlauchentwicklung bei *Petunia hybrida* fiel die Wahl deshalb auf die genannten vier Mutanten, weil die drei diploiden bereits 1964 benannt und vor allem ausführlich beschrieben worden sind (Hesemann, 1964). Weitere Untersuchungsergebnisse, die bei der Ausgangsform der Mutanten und bei anderen Mutanten erhalten wurden, werden in einer zweiten Veröffentlichung dargestellt.

Die Pflanzen wurden im Gewächshaus bei 20 °C angezogen, die Pollenkörner zu Beginn der Anthese entnommen. Um eventuelle milieubedingte Unterschiede zwis-

³ Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. J. Straub für die Überlassung des Pflanzenmaterials.

schen den Pflanzen auszugleichen, wurde jeweils ein Pollenkorgemisch aus verschiedenen Antheren mehrerer Blüten und mehrerer Pflanzen der betreffenden Mutante untersucht. Die Pollenkörner wurden zunächst in 70%igem Isopropanol (iso-Propylalkohol, p. a., Merck, Darmstadt) fixiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Zur Anzucht der Pollenschläuche — auch hier wurde von einem Pollenkorgemisch ausgegangen — diente eine Nährlösung folgender Zusammensetzung: Saccharose 12%; Kinetin 0,01%; Calciumnitrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $8 \cdot 10^{-4}$ mol/l; Borsäure H_3BO_3 10^{-3} mol/l. Alle Chemikalien stellen p. a. Substanzen dar, die von den Firmen Merck, Darmstadt, bzw. Serva, Heidelberg, bezogen wurden. Die Pollenschläuche wurden in 25 ml Enghals-Erlenmeyer-Kolben bei Zimmertemperatur angezogen und nach 21 Stunden in 70%igem Isopropanol fixiert.

Um parallel am gleichen Material zusätzliche Bestimmungen vornehmen zu können, wurde ein Teil der fixierten Pollenkörner und Pollenschläuche der Feulgen-Färbung nicht unterzogen. Bei diesem Material wurde der Anteil an steriles Pollen, der Prozentsatz an „normal“ aussehenden, aber nicht ausgekeimten Pollenkörnern und die Längen von Pollenschläuchen bestimmt. Um den DNS-Gehalt generativer und vegetativer Kerne quantitativ cytophotometrisch bestimmen zu können, wurde das übrige Material wie folgt behandelt: Die Kern-DNS wurde nach der von Feulgen und Rossenbeck (1924) beschriebenen Methode angefärbt. Im einzelnen wurde so vorgegangen, daß das Schiffische Reagens nach den Angaben von Graumann (1953) angesetzt wurde. Das verwendete Pararosanilin entstammte immer der gleichen Charge, Firma Chroma, Stuttgart. Die Feulgen-Färbung wurde in Mikrofilternutschen (2 ml Inhalt, Porositätsstufe 3, Firma Schott, Mainz) vorgenommen. Zunächst wurde das Material in Lösungen abnehmender Isopropanolkonzentration (70, 50, 30, 10%) und darauf in dest. Wasser mehrmals gewaschen. Dann wurde die Hydrolyse in $n\text{ HCl}$ bei $60^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ genau 12 Minuten durchgeführt. Anschließend erfolgte sofortiges Abkühlen des Materials, Entfernen der Salzsäure und darauf mehrmaliges Nachwaschen mit dest. Wasser. Das Material wurde für 2 Stunden in das Schiffische Reagens gestellt, danach mehrmals mit jeweils frisch angesetztem Kaliummetabisulfit und darauf mit dest. Wasser nachgewaschen. Dann wurde das Material über eine aufsteigende Äthanolreihe in Glycerin gebracht, das als Einbettungsmittel diente. Sofort im Anschluß an die Einbettung wurden die quantitativen Bestimmungen vorgenommen. Die DNS-Messungen wurden mit einem Universal-Mikro-Spektralphotometer, UMSP I, Firma Carl Zeiss, Oberkochen, durchgeführt. Es wurde bei einer Wellenlänge von 550 nm gemessen. Außer der Extinktion des Areals mit dem jeweiligen Kern wurde die Extinktion eines gleich großen Areals ohne Kern ermittelt, um den durch Plasma und Zellwand bedingten Untergrund-Wert zu bestimmen. Aus der Differenz beider Werte ergibt sich der endgültige Extinktionswert des gemessenen Kerns. Alle Messungen wurden einmal wiederholt und die Mittelwerte aus beiden Messungen angegeben. Die Meßwerte aus den beiden Wiederholungen wichen maximal 1,5% voneinander ab. Auf Grund der gewählten Kombination von Meßblende/Leuchtfeldblende/Zeilenhub konnte nicht lückenlos vom gesamten Meßfeld die Extinktion ermittelt werden, vielmehr erfolgte die Absuchung des Areals streifenförmig. Es wird jedoch für die im Rahmen dieser Arbeit zu treffenden Aussagen für ausreichend erachtet, vergleichbare Relativwerte des DNS-Gehalts der Kerne zu erhalten, so daß auf die Methode einer lückenlosen Absuchung verzichtet werden kann.

Bei den cytophotometrischen DNS-Bestimmungen mit dem UMSP I wurden die folgenden Meßgrößen verwandt: Objektiv: Ultrafluar 100×/1,25 Glycerin; UV-Projektiv

100×; UV-Kondensor, achromatisch 0,8; Lichtquelle: Xenonlampe XBO 450 W; Meßblende 3,2; Leuchtfeldblende 2; Zeilenhub 0,5 μ .

Die Gerätekonstanten werden gesondert angegeben, um Vergleiche mit Meßergebnissen, die mit anderen UMSP I-Geräten erhalten wurden, zu ermöglichen; die folgenden Integrationskonstanten wurden ermittelt:

$$\begin{aligned} \text{Ky (25)} &= 0,00955 \\ \text{Ky (50)} &= 0,0191 \\ \text{Ky (100)} &= 0,0382 \\ \text{Ky (200)} &= 0,0764 \\ \text{Ky (400)} &= 0,1528. \end{aligned}$$

Auf detaillierte Angaben und eine kritische Auseinandersetzung zu Fragen der verwendeten Methodik wird verzichtet. Daraüber soll an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

In der anschließenden Darstellung der Befunde wird zwischen reifen Pollenkörnern und Pollenschläuchen unterschieden. Zur ersten Gruppe zählen die zu Beginn der Anthese entnommenen, reifen, aber noch nicht ausgekeimten Pollenkörner. Für sie wird künftig die Abkürzung P. K. (reife Pollenkörner) benutzt. In der zweiten Gruppe sind die zu Pollenschläuchen ausgekeimten Pollenkörner zusammengefaßt. Es handelt sich in der Regel um Pollenschläuche, in die beide Kerne eingewandert sind. Wenn bereits die Teilung des generativen Kerns in die beiden Spermakerne erfolgt ist, so wurde es extra vermerkt. Für diese zweite Gruppe wird im folgenden die Abkürzung P.S. (Pollenschläuche) verwandt. In dieser Gruppe sind auch die Ausnahmefälle aufgeführt und als solche gekennzeichnet, bei denen trotz eines durchschnittlich normal langen Pollenschlauchs die Einwanderung der Kerne unterblieben ist.

3. Ergebnisse

3.1. Charakterisierung der verwendeten *Petunia*-Mutanten bezüglich Pollensterilität, Prozentsatz des ausgekeimten Pollens und Längenwachstum der Pollenschläuche in vitro

Um eine erste kurze Charakterisierung der vier Mutanten hinsichtlich der Eigenschaften ihres Pollens zu geben, sind in Tab. 1 Auszählungen über Pollensterilität, Prozentsatz der nicht ausgekeimten Pollenkörner sowie Meßdaten der von ausgekeimten Pollenkörnern nach 21 Stunden erreichten Pollenschlauchlängen zusammengestellt. Das erste in dieser Tabelle aufgeführte Merkmal ist die Pollensterilität. Aus den Angaben geht hervor, daß die Pollensterilität bei *ustulata-2n* geringer als bei den anderen drei Mutanten ist. Eine detaillierte Analyse dieses mit einer großen Umwelt-Variabilität behafteten Merkmals der Mutanten soll an anderer Stelle erfolgen. Zweitens sind in Tab. 1 die Prozentsätze der in Nährlösung nicht ausgekeimten Pollenkörner, bezogen auf die Anzahl der bei Bestimmung der Pollensterilität als fertil angesprochenen, angegeben. Diese Werte sind gesondert dargestellt, weil der Anteil an fertil erscheinenden Pollenkörnern häufig zu höheren Werten führt als der Anteil an ausgekeimten; das bedeutet, daß nicht alle als fertil angesprochenen Pollenkörner auch tatsächlich auskeimen. Als dritte Größe ist die Pollenschlauchlänge angegeben, und zwar die Länge, die in vitro (vgl. Abschnitt 2 Material und Methoden) 21 Stunden nach Auskeimen erreicht wurde. Unter

Tabelle 1. Bestimmungen des Pollen-Sterilitätsgrades sowie bei Wachstum auf künstlicher Nährösung des Prozentsatzes der ausgekeimten Pollenkörner und der Längen von Pollenschläuchen von vier *Petunia-hybrida*-Mutanten

Bezeichnung der Mutante	Anteil an sterilen Pollenk. in Prozent*	Anteil an nicht ausgekeimten Pollenk. in Prozent*	Länge der Pollenschläuche in μ **
<i>virescens-2 n</i>	28,99	23,48	93,63 \pm 53,72*** 135,19 \pm 33,35 124,81 \pm 33,29
<i>ustulata-2 n</i>	10,33	51,24	197,60 \pm 50,87 124,81 \pm 30,92 104,02 \pm 56,99
<i>compressa₁-2 n</i>	26,40	—	—
<i>virescens-4 n</i>	25,37	—	—

* es wurden je Mutante 600–800 Pollenkörner analysiert

** es wurden je Mutante 300–400 Pollenschläuche analysiert

*** es werden die Pollenschlauchlängen von drei verschiedenen Stichproben angegeben

den experimentellen Bedingungen vermögen die Pollenkörner von *virescens-2n* und *ustulata-2n* normal auszukeimen und Pollenschläuche von einer Länge zu bilden, daß beide Kerne einwandern, während die Pollenkörner der restlichen zwei Mutanten nur in seltenen Fällen auskeimen und dann ein ganz geringes Pollenschlauchwachstum zeigen, so daß keine Einwanderung der Kerne erfolgt. Aus diesen Gründen sind in Tab. 1 die Prozentsätze des nicht ausgekeimten Pollens und die Werte der Pollenschlauchlängen nur für *virescens-2n* und *ustulata-2n* angegeben. Der Prozentsatz der nicht ausgekeimten Pollenkörner ist bei *ustulata-2n* etwa doppelt so hoch wie bei *virescens-2n*. Die Mittelwerte der Pollenschlauchlängen von jeweils drei Stichproben liegen bei *virescens-2n* zwischen 94 μ und 135 μ , bei *ustulata-2n* zwischen 104 μ und 198 μ . Einer weiteren Veröffentlichung ist die Darstellung von Untersuchungen zur näheren Charakterisierung der speziellen Eigenschaften dieser vier Mutanten bezüglich des Pollenschlauchwachstums in vitro bei Variation von insbesondere Nährösung, Temperatur, pH-Wert und Reifegrad des Pollenmaterials vorbehalten.

3.2. Quantitative Bestimmungen des DNS-Gehalts des generativen und vegetativen Kerns von Pollenkörnern und Pollenschläuchen

Bei den vier Mutanten wurden Bestimmungen des DNS-Gehalts von generativem und vegetativem Kern in reifen Pollenkörnern und bei zwei Mutanten auch in Pollenschläuchen vorgenommen. Die Einzelwerte der DNS-Messungen sind in Häufigkeitsverteilungen in Tab. 2 wiedergegeben. Die Mittelwerte der DNS-Bestimmungen aller Kerne einer Mutante sowie die entsprechenden Streuungen sind in Tab. 3a aufgeführt. Wenn man die Häufigkeitsverteilungen der DNS-Werte der generativen Kerne in Pollenkörnern bei den drei diploiden Mutanten betrachtet, so fällt sofort auf, daß *virescens-2n* und *ustulata-2n* ähnliche Häufigkeitsverteilungen haben. Bei *ustulata-2n* wurde bei Messungen generativer Kerne von Pollen-

körnern in drei Fällen gefunden, daß der DNS-Wert unter 70 AE lag. Es handelt sich bei diesen Ausnahmefällen mit großer Wahrscheinlichkeit um nicht voll funktionsfähige Kerne. Die Mehrzahl der Meßwerte von *ustulata-2n* und *virescens-2n* fällt in den Bereich von 150–200 AE. Hingegen sind die bei *compressa₁-2n* ermittelten Werte höher und zeigen einen größeren Streubereich; von insgesamt 24 sind 13 Werte zwischen 150–260 AE zu finden. Es verwundert nicht, daß $\frac{2}{3}$ aller Meßwerte der generativen Kerne von *virescens-4n* weit höher, nämlich in dem Bereich von 300–400 AE liegen. Auffallend sind jedoch 9 Werte, die mit 450–550 AE einen noch höheren DNS-Gehalt anzeigen. Diese Werte sind nicht ohne weiteres durch die tetraploide Stufe zu erklären, die aus der diploiden durch Colchicinierung entstanden ist. Auch wenn man von den DNS-Werten von *virescens-2n* ausgehend die theoretisch zu erwartenden Werte auf tetraploidem Niveau errechnet und mit den wirklich gefundenen vergleicht, findet man, daß die Erwartungswerte weitaus niedriger als die tatsächlich gefundenen Werte liegen. An dieser Stelle soll auf diese Diskrepanz in den DNS-Werten nicht näher eingegangen werden; es wird auf den Diskussionsteil verwiesen. Betrachtet man die Mittelwerte der DNS-Messungen in Pollenkörnern und deren Streuungen, so ergeben sich zwischen *virescens-2n* und *ustulata-2n* keine gravierenden Unterschiede (Tab. 3a). Eine Sonderstellung unter den diploiden Mutanten nimmt *compressa₁-2n* ein. Der Mittelwert ist hier deutlich höher als bei den beiden anderen diploiden Mutanten; er wird aber von einer erhöhten Streuung begleitet. Auch bei *compressa₁-2n* kann man das zuvor bereits in diesem Abschnitt erläuterte Berechnungsschema anwenden, um von den DNS-Werten der diploiden Mutante ausgehend die theoretisch zu erwartenden Werte auf tetraploider Stufe zu berechnen. Bei Vergleich der auf diese Weise errechneten Erwartungswerte mit den tatsächlich gefundenen Werten von *virescens-4n* ergibt sich, daß die entsprechenden Mittelwerte sich nur geringfügig unter-

Tabelle 2. Häufigkeitsverteilungen der DNS-Bestimmungen generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen der vier *Petunia*-Mutanten. Sofern bereits Spermakerne vorlagen, ist die Summe der DNS-Werte beider Kerne angegeben

Klassen der Extinktionswerte in AE	Bezeichnung der Mutanten											
	<i>virescens</i> -2 n				<i>ustulata</i> -2 n				<i>compressa</i> -1-2 n		<i>virescens</i> -4 n	
	gen. Kerne	veg. Kerne	gen. Kerne	veg. Kerne	generative Kerne	vegetative Kerne	generative Kerne	vegetative Kerne	generative Kerne	vegetative Kerne	generative Kerne	vegetative Kerne
	P.K.	P.S.	P.K.	P.S.	P.K.	P.S.	P.K.	P.S.	P.K.	P.K.	P.K.	P.K.
0			14	19			26	1		1		
10					1					1		1
20							1	2				
30			3				1	2				
40							1	2		1		1
50			2	1			1	2		2		
60			4	1			1	1		4		1
70			1	2	1		1	3		4		1
80			1	3	2		1			3		4
90	1	2	2	1			2	4	2	2		5
100		1	2				1	1				1
110	1	7		4			3	2		1		1
120	7	3	1	1	4	4	2	2	1			2
130	4	6		1	6	5	2		3	2		4
140	5	2			5	4			3	1		
150	3				3	2	1	1				
160	5	2			3	5	1	2				1
170	3	1										
180		2			3	1						
190		1			1							1
200		1			5	1			3	2		3
210					1	1			1		1	
220		1							2			1
230					1				1			1
240									1			
250									2			
260											2	
270											1	
280												2
290										3		
300										4		

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Klassen der Extinktions-werte in AE	Bezeichnung der Mutanten							
	<i>virescens-2 n</i>		<i>ustulata-2 n</i>		<i>compressa-2 n</i>		<i>virescens-4 n</i>	
	gen. Kerne	veg. Kerne	gen. Kerne	veg. Kerne	generative	vegetative	generative	vegetative
	P.K.	P.S.	P.K.	P.S.	Kerne P.K.	Kerne P.K.	Kerne P.K.	Kerne P.K.
310							1	
320								
330							2	
340								
350							1	
360								
370								
380							2	
390							3	
400							1	
410								
420							2	
430								
440							1	
450							1	
460							1	
470								
480							1	
/								
490								
500							1	
510								
520							1	
530								

Es bedeuten: P.K. = reife Pollenkörner
P.S. = Pollenschläuche

scheiden, zugleich aber die Streuung des Erwartungsmittelwerts deutlich erhöht ist. Im übrigen wird auf die ausführliche Darstellung dieser Mittelwertvergleiche im Diskussionsteil verwiesen.

Unter den experimentellen Bedingungen (vgl. Abschnitt 2 Material und Methoden) vermögen *in vitro* nur *virescens-2n* und *ustulata-2n* in normalem Umfang Pollenschläuche auszubilden, während bei den beiden anderen Mutanten nur ganz kurze Pollenschläuche entstehen — ein Einwandern von Kernen war hier überhaupt noch nicht zu beobachten — oder das Pollenschlauchwachstum, insbesondere bei

der tetraploiden Mutante, nahezu ganz unterbleibt. Um Vergleichsmöglichkeiten zu den DNS-Bestimmungen von generativen Kernen aus reifen Pollenkörnern zu besitzen, wurden entsprechende DNS-Messungen an Kernen von zu Pollenschläuchen ausgekeimten Pollenkörnern durchgeführt. In fast allen Fällen waren die Kerne in die Schläuche eingewandert. Die Ausnahmefälle sind besonders vermerkt. Es wird darauf verzichtet, zu jedem gemessenen Wertepaar von generativem und vegetativem Kern die Länge des jeweiligen Pollenschlauchs anzugeben, da hier allein die Gegenüberstellung der DNS-Be-

Tabelle 3a. Mittelwerte und mittlere Abweichungen der DNS-Bestimmungen generativer und vegetativer Kerne in reifen und ausgekeimten Pollenkörnern von vier *Petunia*-Mutanten

Bezeichnung der Mutante	Zahl der analysierten Pollenkörner	Entwicklungs- zustand der Pollenkörner	DNS-Bestimmungen in AE			
			generative Kerne		vegetative Kerne	
			Mittelwert	mittlere Abweichung	Mittelwert	mittlere Abweichung
<i>virescens-2n</i>	31	P. K.	138,14	26,83	29,78	39,29
<i>virescens-2n</i>	27	P. S.	126,92	29,15	25,84	44,85
<i>ustulata-2n</i>	40	P. K.	140,84	39,03	30,63	47,78
<i>ustulata-2n</i>	25	P. S.	136,80	30,00	72,27	41,48
<i>compressa₁-2n</i>	24	P. K.	166,38	48,41	84,58	55,76
<i>virescens-4n</i>	30	P. K.	359,94	85,77	125,19	68,37

Es bedeuten: P. K. = reife Pollenkörner

P. S. = Pollenschläuche

stimmungen in reifen Pollenkörnern und außerdem in Pollenschläuchen bedeutsam erscheint (vgl. jedoch Tab. 5). Aus der Häufigkeitsverteilung für die Werte der generativen Kerne von Pollenschläuchen kann man entnehmen, daß sich für *virescens-2n* und *ustulata-2n* ähnliche Verhältnisse wie bei den Messungen in Pollenkörnern ergeben. Die Mehrzahl der Werte liegt wieder im Bereich von 150—200 AE, nur in wenigen Ausnahmen wird dieser Bereich überschritten. Bei *virescens-2n* sind schon ca. in einem Drittel der analysierten Pollenschläuche Spermakerne vorhanden. Die Besonderheiten der Meßergebnisse bei den Spermakernen werden im Diskussionsteil ausführlich behandelt. Die Mittelwerte und Streuungen der DNS-Bestimmungen in Pollenschläuchen weichen gegenüber denjenigen in Pollenkörnern bei beiden diploiden Mutanten nur geringfügig voneinander ab (Tab. 3a).

Wenn man die DNS-Bestimmungen generativer Kerne denjenigen vegetativer gegenüberstellt, so ergibt sich für letztere eine völlig andere Häufigkeitsverteilung. Zunächst sollen die Messungen vegetativer Kerne in Pollenkörnern behandelt werden: Bei *virescens-2n* und *ustulata-2n* gehen die höchsten Werte nicht über 150 AE hinaus. Bei *ustulata-2n* liegen von insgesamt 40 Werten 5 zwischen 50 bis 100 AE, bei *virescens-2n* liegen 11 von insgesamt 31 Werten im selben Bereich. Zu einem erheblichen Anteil, bei *ustulata-2n* zu 65%, bei *virescens-2n* zu 45%, ist der vegetative Kern nach Feulgen-Anfärbung mit Hilfe quantitativ-photometrischer Bestimmungen nicht mehr nachweisbar. Die Mittelwerte der Messungen von vegetativen Kernen sind bei beiden diploiden Mutanten sehr ähnlich, die Streuung des Mittelwerts jedoch ist bei *ustulata-2n* etwas höher als bei *virescens-2n*, ähnlich wie es schon für die Streuungen der Mittelwerte von Messungen der generativen Kerne festgestellt wurde (Tab. 3a). Die Streuung der DNS-Werte der vegetativen Kerne von *ustulata-2n* ist so groß, daß etwa 25% davon in den Bereich der generativen Kerne fallen, während bei *virescens-2n* fast keine Überschneidungen auftreten. Die Häufigkeitsverteilungen von *compressa₁-2n* und

virescens-4n weichen charakteristischerweise von denjenigen der zuvor erwähnten ab. Es fällt sofort auf, daß bei der tetraploiden Mutante nur solche reifen Pollenkörner gefunden wurden, in denen der vegetative Kern nachweisbar war. Von insgesamt 31 Werten liegen 19 zwischen 100 bis 150 AE, die restlichen Werte sind über einen größeren Bereich bis zu 280 AE verteilt, greifen aber nur in wenigen Ausnahmefällen in den Bereich der an generativen Kernen ermittelten Werte über. Bei dieser tetraploiden Mutante liegt der DNS-Mittelwert der vegetativen Kerne und die Streuung deutlich höher als in Pollenkörnern von *virescens-2n* und *ustulata-2n* und in Pollenschläuchen von *virescens-2n*. Hingegen ist dieser Unterschied beim Vergleich des Mittelwerts der tetraploiden Mutante mit den Mittelwerten von *compressa₁-2n* in Pollenkörnern und von *ustulata-2n* in Pollenschläuchen nicht mehr klar erkennbar, so daß erst der Signifikanztest genauen Aufschluß geben kann. Auch für vegetative Kerne kann man auf der Grundlage der ermittelten Werte bei *virescens-2n* Erwartungswerte für die Mutante auf tetraploider Stufe aufstellen und mit den tatsächlich gefundenen vergleichen. Dieses Berechnungsschema ist schon bei der Besprechung der Befunde bei generativen Kernen angewendet worden. Derartige Vergleiche von erwarteten und gefundenen Mittelwerten sind bei der Besprechung der Befunde sehr aufschlußreich. Ausführliche Angaben hierzu sind im Diskussionsteil enthalten. Ein besonders extremes Ergebnis haben die quantitativen DNS-Bestimmungen der vegetativen Kerne von *compressa₁-2n* erbracht: Man kann der Häufigkeitsverteilung entnehmen, daß nur in einem Fall der vegetative Kern nicht mehr nachweisbar war, bei allen übrigen Messungen sich jedoch Werte bis fast zu 200 AE ergaben, wobei die Mehrzahl dieser Werte zwischen 50—100 AE lag. Weiterhin kann man aus der Häufigkeitsverteilung ablesen, daß sich bei dieser Mutante die Bereiche der Werte generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern in größerem Umfange als bei allen anderen Mutanten überschneiden. Der Mittelwert der DNS-Bestimmungen vegetativer Kerne ist bei *compressa₁-2n* im Vergleich zu

den Mittelwerten der übrigen diploiden Mutanten erhöht, sofern es sich um Messungen in Pollenkörnern handelt. Jedoch wird die Mittelwertzunahme von einer ausgeprägten Erhöhung der Streuung begleitet.

Tabelle 3b. Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den in Tab. 3a aufgeführten Mittelwerten und Varianzen

Bezeichn. der Mut.	<i>virescens-2n</i>		<i>ustulata-2n</i>		<i>compressa₁-2n</i>	<i>virescens-4n</i>
	P. K.	P. S.	P. K.	P. S.	P. K.	P. K.
t-Teste der Mittelwerte generativer Kerne						
<i>virescens-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	**
<i>virescens-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	**
<i>ustulata-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	**
<i>ustulata-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	**
<i>compressa₁-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	**
<i>virescens-4n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
t-Teste der Mittelwerte vegetativer Kerne						
<i>virescens-2n</i> P. K.	—	—	—	*	—	**
<i>virescens-2n</i> P. S.	—	—	—	*	—	**
<i>ustulata-2n</i> P. K.	—	—	*	—	—	**
<i>ustulata-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	—
<i>compressa₁-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
<i>virescens-4n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
F-Teste der mittleren Abweichungsquadrate generativer Kerne						
<i>virescens-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	**
<i>virescens-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	**
<i>ustulata-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	**
<i>ustulata-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	**
<i>compressa₁-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
<i>virescens-4n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
F-Teste der mittleren Abweichungsquadrate vegetativer Kerne						
<i>virescens-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
<i>virescens-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	—
<i>ustulata-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
<i>ustulata-2n</i> P. S.	—	—	—	—	—	—
<i>compressa₁-2n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—
<i>virescens-4n</i> P. K.	—	—	—	—	—	—

Es bedeuten: — = nicht signifikant
* = signifikant bei 5%
** = signifikant bei 1%

P. K. = reife Pollenkörner
P. S. = Pollenschläuche

3.3. Vergleich der quantitativen DNS-Bestimmungen generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen

Um die Mittelwerte der DNS-Bestimmungen generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen der vier Mutanten auf signifikante Unterschiede zu prüfen, wurden entsprechende t- und F-Tests durchgeführt und in Tabelle 3b zusammengestellt. Die Mittelwerte der generativen Kerne und deren Streuungen bei *virescens-2n* und *ustulata-2n* weichen nicht signifikant von einander ab. Der Mittelwert in Pollenkörnern von *compressa₁-2n* ist gegenüber den Mittelwerten in Pollenkörnern und Pollenschläuchen der übrigen zwei diploiden Mutanten erhöht, weicht aber nicht signifikant von diesen ab. Ein entsprechender Vergleich der Streuungen zeigt, daß diejenige von *compressa₁-2n* ebenfalls nicht signifikant verschieden ist von denjenigen der restlichen diploiden Mutanten. Der Mittelwert der Messungen generativer Kerne von *virescens-4n* unterscheidet sich signifikant von den Werten der drei diploiden Mutanten. Bei den Streuungen jedoch bestehen allein signifikante Unterschiede zwischen *virescens-4n* und *ustulata-2n*, während sich bei *compressa₁-2n* bezeichnenderweise kein signifikanter Unterschied zur tetraploiden Mutante ergibt.

Betrachtet man jede Mutante gesondert für sich, so sieht man, daß die Mittelwerte und in den meisten Fällen auch die Streuungen der Messungen generativer und vegetativer Kerne signifikant verschieden sind. Diese Signifikanz-Tests werden deshalb in Tab. 3b nicht aufgeführt.

Ein Vergleich der Mittelwerte der DNS-Messungen vegetativer Kerne und deren Streuungen der verschiedenen Mutanten untereinander führt zu folgendem Resultat: DNS-

Mittelwerte und Streuungen in Pollenkörnern von *virescens*-2n und *ustulata*-2n sowie in Pollenschläuchen von *virescens*-2n weichen nicht signifikant voneinander ab. Die Mittelwerte der eben genannten diploiden Mutanten unterscheiden sich jedoch signifikant vom Mittelwert von *virescens*-4n. Andererseits weichen die Mittelwerte in Pollenkörnern von *compressa*₁-2n und in Pollenschläuchen von *ustulata*-2n nicht signifikant vom Mittelwert in Pollenkörnern der tetraploiden Mutante ab. Außerdem verdient der Befund Erwähnung, daß sich die Streuungen der Mittelwerte aller diploiden Mutanten untereinander und zugleich von *virescens*-4n nicht signifikant unterscheiden. Die tetraploide Mutante weist also trotz ihres polyploiden Niveaus keine größere Streuung als die diploiden Typen auf.

Es wurde außerdem mit statistischen Methoden zu prüfen versucht, ob eine Korrelation zwischen den quantitativ ermittelten DNS-Werten generativer und vegetativer Kerne bei einer Mutante besteht. Der Umfang des untersuchten Materials reicht jedoch nicht aus, um einen statistisch gesicherten Zusammenhang zwischen beiden Merkmalsreihen festzustellen. Auf Grund der vorliegenden Werte läßt sich mit aller Vorsicht nur soviel sagen, daß ein Korrelationskoeffizient von 0,30 bis 0,40 je nach Mutantentyp auf eine positive Korrelation hindeuten könnte. Eine verbindliche Aussage über das Bestehen einer positiven Korrelation kann erst getroffen werden, wenn ein umfangreicheres Analysenmaterial zur Verfügung steht.

4. Diskussion

Verlauf der Replikation generativer Kerne

Die DNS-Messungen generativer Kerne wurden bei allen vier Mutanten in reifen Pollenkörnern und bei *virescens*-2n und *ustulata*-2n auch in Pollenschläuchen durchgeführt. Die Ergebnisse der Messungen in Pollenkörnern wurden denjenigen in Pollenschläuchen gegenübergestellt. Innerhalb der Gruppe der Pollenschläuche wurde keine weitere Differenzierung nach der jeweiligen Pollenschlauchlänge und der Position der Kerne im Pollenschlauch getroffen, abgesehen von den weiter unten erläuterten Befunden bei Pollenschläuchen von *virescens*-2n. Alle DNS-Messungen der generativen Kerne bzw. der Sperma-kerne wurden an nicht in Teilung begriffenen Kernen vorgenommen, d. h. die Kerne befanden sich im Stadium der Interphase. Aus den in Tab. 2 dargestellten Häufigkeitsverteilungen kann man entnehmen, daß die DNS-Werte sich über einen großen Bereich verteilen. Diese Bereiche der DNS-Werte generativer Kerne sind für alle vier Mutanten in der

Tabelle 4. Übersicht über die Bereiche der DNS-Werte generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern (P. K.) und Pollenschläuchen (P. S.) sowie über die Bereiche der geschätzten C- bzw. 2C-Niveaus der vier *Petunia*-Mutanten

Bezeichnung der Mutante	Entwicklungs-zustand der Pollenkörper	Bereiche der DNS-Werte in AE	Bereich des geschätzten C- bzw. 2C-Niveaus in AE
	generative Kerne	vegetative Kerne	
<i>virescens</i> -2n	P. K.	80–210	0–110
	P. S.	80–180	0–120
<i>ustulata</i> -2n	P. K.	40–230	0–140
	P. S.	70–200	0–150
<i>compressa</i> ₁ -2n	P. K.	80–250	0–190
<i>virescens</i> -4n	P. K.	200–520	10–280
			100–150
			220–250

in Tabelle 4 gegebenen Übersicht dargestellt. Da die DNS-Replikation während der Interphase abläuft, lassen die Befunde keinen anderen Schluß zu als den, daß im reifen Pollenkorn oder vielfach sogar im Pollenschlauch die Replikationsphase des generativen Kerns noch nicht abgeschlossen ist. Diese an vier *Petunia*-Mutanten gewonnenen Befunde stehen im Gegensatz zu den quantitativen Resultaten von Jalouzot (1969) bei *Lilium candidum* und Woodard (1958) bei *Tradescantia paludosa*. Diese Autoren fanden bei ihren Objekten, daß die Replikationsphase spätestens im reifen Pollenkorn beendet ist. Die vier *Petunia*-Mutanten unterscheiden sich somit im zeitlichen Ablauf der DNS-Replikation des generativen Kerns wesentlich von den übrigen untersuchten Objekten: selbst nach Einwandern des generativen Kerns in den Pollenschlauch dauert die Replikationsphase häufig noch an. Ähnliche Befunde wurden bei quantitativen Analysen des DNS-Gehalts generativer Kerne von *Tradescantia* spec. (Hesemann, unveröffentlicht) erhoben.

Abschätzung des C- bzw. 2C-Niveaus generativer Kerne

Die in dieser Veröffentlichung dargestellten Untersuchungen sind darauf ausgerichtet, quantitative Informationen über den DNS-Gehalt zugleich von generativem und vegetativem Kern in Pollenkörnern und Pollenschläuchen zu erhalten. Es wurde bei diesen ersten Untersuchungen auf Analysen verzichtet, welche exakten Aufschluß über den DNS-Gehalt eines generativen Kerns unmittelbar vor oder nach der DNS-Replikationsphase geben. Da also keine DNS-Messungen nur während der G₁-Phase oder allein während der G₂-Phase durchgeführt wurden, sind exakte Angaben über die DNS-Werte auf C- oder 2 C-Niveau der generativen Kerne der vier Mutanten vorläufig nicht möglich. Auf Grund der vorliegenden Befunde lassen sich nur Schätzwerte angeben, in welchem Bereich die C-Niveaus der generativen Kerne zu suchen sind. Bei *virescens*-2n und *ustulata*-2n liegen DNS-Messungen von generativen Kernen in Pollenkörnern und außerdem in Pollenschläuchen vor. Diese DNS-Bestimmungen an Pollenschläuchen verdienen in diesem Zusammenhang aus folgenden Grün-

den besonderes Interesse. Zunächst muß zur Begründung der auf Grund dieser Befunde gezogenen Schlußfolgerungen vermerkt werden, daß bereits detaillierte Untersuchungen über enge Korrelationen zwischen Pollenschlauchlänge einerseits und Zeitpunkt des Einwanderns der Kerne sowie Zeitpunkt der Teilung des generativen Kerns in die Spermakerne andererseits bei *Tradescantia*- und *Petunia*-Formen vorliegen. Diese Befunde werden an anderer Stelle publiziert (Hesemann, in Vorbereitung). Die Länge des Pollenschlauchs kann man folglich als „Indikator“ ansehen, der anzeigt, bei welcher durchschnittlichen Länge die Einwanderung der Kerne bzw. die Teilung des generativen Kerns erfolgt. Man kann also auf Grund der Pollenschlauchlänge eine Voraussage machen über den Zeitpunkt der Teilung des generativen Kerns in die beiden Spermakerne. Bei DNS-Bestimmungen von Kernen in Pollenschläuchen entsprechender Länge kann man entweder bereits in die Spermakerne geteilte generative Kerne, die sich mit großer Wahrscheinlichkeit noch in der G_1 -Phase befinden, oder kurz vor der Teilung stehende generative Kerne erwarten, die in der Schlußphase der DNS-Replikation oder bereits in der G_2 -Phase stehen. Bei beiden diploiden Mutanten wurden die Messungen bis auf wenige Ausnahmefälle bei generativen Kernen vorgenommen, die bereits in die Pollenschläuche eingewandert waren. Bei *virescens-2n* haben die generativen Kerne außerdem zu einem großen Anteil schon die Teilung in die Spermakerne vollzogen. Auf Grund dieser Befunde und der zuvor angestellten Überlegungen kommt man für *virescens-2n* und *ustulata-2n* zu einem Schätzwert des C-Niveaus von ca. 75–100 AE (Tab. 4).

Auffallenderweise weichen die Schätzwerte von *compressa-2n* und *virescens-4n* erheblich von denjenigen der eben genannten ab. Bei *virescens-4n* liegt der geschätzte Wert des 2 C-Niveaus viel höher als nach den Schätzungen von *virescens-2n* und auch *ustulata-2n* zu erwarten wäre. Allerdings sei erwähnt, daß die Schätzwerte von *compressa-2n* und *virescens-4n* mit einem größeren Unsicherheitsfaktor als die der anderen Mutanten belastet sind. Von diesen beiden Mutanten konnten nur quantitative DNS-Bestimmungen von generativen Kernen in Pollenkörnern durchgeführt werden, weil im Experiment diese beiden Mutanten nur geringe oder gar keine Keimungstendenz aufwiesen. Bei ihnen finden sich vereinzelt DNS-Werte von generativen Kernen, die offenbar erst am Anfang oder in anderen Fällen bereits am Ende der S-Phase standen. Unter Einbeziehung dieser Extremwerte ergibt sich für *compressa-2n* ein Schätzwert des C-Niveaus von ca. 100–150 AE, für *virescens-4n* von ca. 220–250 AE (Tab. 4). Auf Grund dieser nur geschätzten, aber mit großer Wahrscheinlichkeit in dem angegebenen Bereich liegenden Werte des C-Niveaus generativer Kerne muß man folgern, daß sich *compressa-2n* und *virescens-4n* — auch wenn man das tetraploide Niveau letzterer

Form berücksichtigt — in ihren C-Werten von *virescens-2n* und *ustulata-2n* unterscheiden. Eine Erklärung für die Zunahme der DNS-Werte auf dem C- bzw. 2 C-Niveau bei diesen beiden Mutanten kann zur Zeit nicht gegeben werden.

Auf Grund der für *virescens-2n* und *ustulata-2n* gefundenen Schätzwerte des C-Niveaus lassen sich die zu erwartenden Schätzwerte auf 2 C-Niveau berechnen. Diese 2 C-Erwartungs-Schätzwerte lassen sich mit dem 2 C-Schätzwert vergleichen, der nach den DNS-Einzelwerten generativer Kerne bei *virescens-4n* ermittelt wurde. Ein entsprechendes Berechnungsschema, das auf den Einzelwerten der generativen Kerne der jeweiligen Mutante basiert, ist bereits im Abschnitt 3.2 der Ergebnisse erläutert worden. Nach dem Berechnungsschema auf der Basis von C-Schätzwerten von *virescens-2n* und *ustulata-2n* ergibt sich, daß deren rechnerisch ermittelte 2 C-Erwartungs-Schätzwerte weit unter dem 2 C-Schätzwert liegen, der nach den DNS-Einzelwerten generativer Kerne von *virescens-4n* ermittelt wurde. Zieht man hingegen *compressa-2n* zu derartigen Vergleichsberechnungen von 2 C-Schätzwerten heran, so findet man keinen deutlichen Unterschied zwischen den Werten von *compressa-2n* und *virescens-4n*.

Besonderheiten der DNS-Werte von generativen Kernen bzw. Spermakernen in Pollenschläuchen von *virescens-2n*

Im Vorgriff auf die ausführliche Besprechung von DNS-Messungen vegetativer Kerne der vier Mutanten sei bereits hier auf die Tabelle 5 verwiesen, in der die DNS-Werte generativer und vegetativer Kerne in Pollenschläuchen von *virescens-2n* einzeln aufgeführt sind und außer der Pollenschlauchlänge auch vermerkt ist, ob die Kerne bereits in den Pollenschlauch eingewandert sind. Aus der Tabelle geht hervor, daß fast alle analysierten Kerne bereits in die Schläuche eingewandert waren. Insgesamt wurden DNS-Bestimmungen bei 27 Pollenschläuchen vorgenommen. In 10 Fällen war der generative Kern bereits in die beiden Spermakerne geteilt, so daß hier nicht der Wert des generativen Kerns, sondern die Summe der beiden Spermakerne zur Verfügung steht. Betrachtet man in Tab. 5 zunächst die DNS-Werte ungeteilter generativer Kerne, so findet man DNS-Werte über einen weiten Bereich von 83–176 AE. Mit großer Wahrscheinlichkeit einen Sonderfall stellt der generative Kern mit 187,0 AE dar. Es handelt sich also in der Regel um Kerne, bei denen die Replikation bei Werten von 80–100 AE noch in der Anfangsphase steht bis zu solchen, bei denen die S-Phase bereits in das Endstadium eingetreten ist mit Werten von 160–180 AE. Bei DNS-Bestimmungen von Spermakernen sollte man Werte erwarten, die mindestens dem für *virescens-2n* charakteristischen C-Niveau entsprechen. In sechs Fällen liegen sie jedoch unter diesem zu erwartenden Schätzwert. Eine nähere Erklärung dafür läßt sich noch nicht geben. Weiteren

Untersuchungen muß es vorbehalten bleiben, zu prüfen, ob sich derartige Pollenschläuche mit Spermakernen geringeren DNS-Gehalts als voll funktionsfähig erweisen. Zum mindest in einem von diesen sechs Fällen erscheint es besonders fragwürdig, daß ein voll funktionsfähiger Pollenschlauch vorliegt: der vegetative Kern ist hier nicht mehr nachweisbar; die Spermakerne sind entgegen allen übrigen beobachteten Fällen im Pollenkorn verblieben und nicht in den Pollenschlauch eingewandert.

Vergleich der DNS-Werte vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen

Wenn man sich der Diskussion über die DNS-Bestimmungen vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen zuwendet, so vermittelt die in Tab. 2 wiedergegebene Häufigkeitsverteilung einen ersten Gesamtüberblick. Den Häufigkeitsverteilungen ist zunächst zu entnehmen, daß die DNS-Werte über einen großen Bereich streuen, für *virescens-2n* und *ustulata-2n* von 0—150 AE, für *compressa-1-2n* von 0—190 AE und für *virescens-4n* von 10—280 AE. Weiterhin geht aus den Häufigkeitsverteilungen hervor, daß einerseits Werte auftreten, welche die jeweiligen C-Niveaus erreichen oder in einigen Fällen sogar überschreiten — auf letztere Fälle kommen wir noch zurück —, andererseits werden Werte gefunden, die besagen, daß der vegetative Kern zumindest mit Feulgen-Technik quantitativ nicht mehr nachweisbar ist, wie es zu etwa 50% in Pollenkörnern von *viresscens-2n* und *ustulata-2n* und zu ca. 70% in Pollenschläuchen von *viresscens-2n* angetroffen wurde. So werden, um die Extremfälle bei *viresscens-2n* und *ustulata-2n* anzuführen, sowohl reife Pollenkörner bereits ohne nachweisbare vegetative Kerne als auch in Pollenschläuchen Kerne gefunden, die offensichtlich noch keinen DNS-Abbau erfahren haben. Schon dieser erste Überblick über die DNS-Analysen vegetativer Kerne zeigt eindeutig, daß die bei *Petunia*-Mutanten erhaltenen Ergebnisse sich von denjenigen unterscheiden, die von Jalouzot (1969) und Woodard (1958) bei ihren jeweiligen Objekten erhalten wurden. Diese Autoren fanden, daß der DNS-Gehalt des vegetativen Kerns bis zur Pollenreife unverändert erhalten bleibt. Der Begriff der Pollenreife ist in der

Tabelle 5. Bestimmungen des DNS-Gehalts vegetativer und generativer Kerne bzw. Sperma-Kerne sowie der Pollenschlauchlänge bei ausgekeimten Pollenkörnern von *viresscens-2n*

lfd. Nr.	DNS-Wert in AE des		Zustand des generativen Kerns	Position beider Kerne im P. K. bzw. P. S.	Länge des Pollenschlauchs in μ
	generativen Kerns bzw. der Spermakerne	vegetativen Kerns			
1.	101,33	—	ungeteilt	P. S.	151,10
2.	122,00	—	ungeteilt	P. K./P. S.	8,89
3.	172,00	71,00	geteilt	P. S.	522,17
4.	157,00	79,65	geteilt	P. S.	561,06
5.	105,00	—	ungeteilt	P. S.	205,54
6.	176,00	—	ungeteilt	P. S.	202,20
7.	120,00	—	ungeteilt	P. S.	272,20
8.	110,00	—	ungeteilt	P. S.	222,20
9.	114,00	—	geteilt	P. S.	249,98
10.	129,00	—	geteilt	Spermak. i. P. K. veg. K. i. P. S.	77,78
11.	87,00	—	ungeteilt		
12.	116,00	111,40	geteilt	P. K.	55,55
13.	106,00	—	ungeteilt	P. S.	144,43
14.	126,50	75,00	ungeteilt	P. S.	149,99
15.	132,00	—	geteilt	P. S.	201,09
16.	127,30	—	geteilt	P. S.	277,75
17.	161,00	123,00	ungeteilt	P. K.	4,45
18.	92,80	—	ungeteilt	P. S.	99,98
19.	159,50	—	geteilt	P. S.	349,97
20.	82,75	—	ungeteilt	P. S.	133,32
21.	187,50	67,50	ungeteilt	P. S.	199,90
22.	138,00	—	geteilt	P. S.	477,73
23.	106,50	65,00	geteilt	P. S.	588,83
24.	124,00	105,00	geteilt	P. S.	138,88
25.	107,00	—	ungeteilt	P. S.	250,00
26.	122,25	—	ungeteilt	P. S.	194,43
27.	120,50	—	ungeteilt	P. S.	122,21

Es bedeuten: P. K. = Pollenkorn

P. S. = Pollenschlauch

Literatur nicht genau definiert. Von den meisten Autoren wird der Zeitpunkt der Pollenreife gleichzeitig mit demjenigen der Anthese angesetzt. Die wenigen Angaben der Autoren Jalouzot und Woodard zu dieser Frage legen den Schluß nahe, daß auch sie die Ansicht der meisten übrigen Autoren über den Zeitpunkt der Pollenreife teilen. Weiterhin zeigen die Befunde dieser Autoren, daß bei ihren Objekten, *Lilium candidum* bzw. *Tradescantia paludosa*, der DNS-Abbau des vegetativen Kerns frühestens nach Erreichen der Reife des Pollenkorns stattfindet. Bei den vegetativen Kernen der *Petunia*-Mutanten hingegen lassen die DNS-Bestimmungen keinen anderen Schluß zu als den, daß bei einem Teil der Pollenkörner der DNS-Abbau viel früher als nach Abschluß der Pollenreife einsetzt, so daß bei bestimmten Mutanten reife Pollenkörner gefunden werden, in denen der vegetative Kern überhaupt nicht mehr nachweisbar ist. Außerdem wurden bei den *Petunia*-Mutanten in einigen Fällen in reifen Pollenkörnern, speziell bei *ustulata-2n* in Pollenschläuchen zu ca. 30% DNS-Werte vegetativer Kerne ermittelt, welche die entsprechenden geschätzten Bereiche des C-Niveaus weit überschritten. Zur Erklärung dieses Phänomens könnte man daran denken, in diesen Fällen des erhöhten DNS-Gehalts vegetativer Kerne eine partielle

DNS-Replikation anzunehmen. Diese Hypothese wird durch den folgenden Befund gestützt: quantitative Untersuchungen an Gerstenpollen haben ergeben, daß in den vegetativen Kernen eine DNS-Zunahme über das C-Niveau hinaus stattgefunden hat. Die Untersuchungsergebnisse sind zwangsläufig ohne die Annahme einer DNS-Replikation nicht erkläbar (Hesemann, in Vorbereitung).

Bei der Erörterung der an vegetativen Kernen erhaltenen Befunde wurden zunächst Ergebnisse berücksichtigt, die für alle vier Mutanten eine gemeinsame Aussage erlauben. Im folgenden sollen einige spezielle Beobachtungen zur Diskussion gestellt werden, die bei den Untersuchungen vegetativer Kerne nur bei bestimmten Mutanten gemacht wurden. Bei den Messungen in Pollenkörnern von *virescens-2n* und *ustulata-2n* konnte in über der Hälfte der Fälle keine DNS in vegetativen Kernen mehr nachgewiesen werden. In diesen reifen Pollenkörnern war der vegetative Kern also bereits vor dem Zeitpunkt des Auskeimens degeneriert. Trifft die Hypothese zu, daß der vegetative Kern maßgeblich an den Vorgängen des Auskeimens und der Pollenschlauchbildung beteiligt ist, so müssen die Informationen vom vegetativen Kern für Keimung und Pollenschlauchbildung lange vor Erreichen der Reife des Pollenkorns und vor Eintritt dieses Kerns in die Degenerationsphase abgegeben werden. Vergleicht man bei *ustulata-2n* die Meßergebnisse vegetativer Kerne in Pollenkörnern mit solchen in Pollenschläuchen, so ergibt sich ein zunächst überraschendes Ergebnis. Bei dieser Mutante wurden bei 26 analysierten nur 1 Pollenschlauch gefunden, in dem ein vegetativer Kern nicht mehr festgestellt werden konnte. Auch die begrenzte Zahl von analysierten reifen Pollenkörnern und Pollenschläuchen erlaubt die Aussage, daß bevorzugt solche Pollenkörner auszukeimen vermochten, bei denen der vegetative Kern noch nicht abgebaut war. Aus der Häufigkeitsverteilung der Werte in Pollenschläuchen von *ustulata-2n* kann man entnehmen, daß die DNS-Werte über einen großen Bereich streuen, in einigen Fällen offenbar noch kein Abbau stattgefunden hat und in mehreren anderen Fällen eine starke DNS-Zunahme zu bemerken ist, für die eine partielle DNS-Replikation für möglich gehalten wird. Die Besonderheit bezüglich des DNS-Gehalts vegetativer Kerne in Pollenschläuchen dieser Mutante spiegelt sich auch im DNS-Mittelwert wider. Der Mittelwert vegetativer Kerne in Pollenschläuchen liegt höher als die Mittelwerte in Pollenkörnern der gleichen Mutante und in Pollenkörnern sowie Pollenschläuchen von *virescens-2n*. Die begrenzte Zahl an Meßwerten reicht jedoch nicht aus, um signifikante Unterschiede zwischen diesen Mittelwerten feststellen zu können. Außerdem verdient der Mittelwert vegetativer Kerne in Pollenschläuchen von *ustulata-2n* deshalb besondere Erwähnung, weil sich, im Gegensatz zu den übrigen Mittelwerten der beiden diploiden Mutanten, keine signifikanten Unterschiede zu den Mittelwerten

von *compressa-2n* und *virescens-4n* ergeben. Bezuglich der entsprechenden Streuungen finden sich bei den drei diploiden Mutanten keine eindeutig nachweisbaren Unterschiede (Tab. 3 b).

Aus den Häufigkeitsverteilungen der DNS-Bestimmungen vegetativer Kerne in Pollenkörnern von *compressa-2n* und *virescens-4n* kann man entnehmen, daß bei beiden Mutanten nur als Ausnahmefall Pollenkörner analysiert wurden, in denen der vegetative Kern nicht nachweisbar war. Bei beiden Mutanten ist im Gegensatz zu *virescens-2n* und *ustulata-2n* das Einsetzen der Degenerationsphase bzw. die Schnelligkeit ihres Ablaufs verändert. Bei *compressa-2n* sind die DNS-Werte vegetativer Kerne über einen größeren Bereich als bei den übrigen diploiden Mutanten verteilt. Der Mittelwert der DNS-Bestimmungen bei dieser Mutante ist so hoch, daß sich signifikante Unterschiede zu den Mittelwerten in Pollenkörnern von *virescens-2n* und *ustulata-2n* und zu dem Mittelwert in Pollenschläuchen von *virescens-2n* ergeben. Die entsprechenden Streuungen weichen nicht signifikant voneinander ab. Die Mittelwerte der DNS-Bestimmungen in Pollenkörnern von *compressa-2n* und in Pollenschläuchen von *ustulata-2n* unterscheiden sich untereinander und vom Mittelwert der Bestimmungen in Pollenkörnern von *virescens-4n* nicht signifikant.

Besonderheiten der DNS-Werte von vegetativen Kernen in Pollenschläuchen von *virescens-2n*

Wenn nun besonders auf die DNS-Messungen vegetativer Kerne bei *virescens-2n* eingegangen wird, so sprechen vor allem zwei Gründe dafür: erstens waren bei dieser Mutante unter den experimentellen Bedingungen die Pollenschläuche in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten als bei *ustulata-2n*. Zweitens wird die Ansicht vertreten, daß sich die Messungen an Pollenschläuchen dieser Mutante besonders gut für die Darstellung einiger grundsätzlicher Überlegungen eignen. Sie werden mit aller Vorsicht wiedergegeben, ihr vorläufiger Charakter steht außer Zweifel. Erst weitere umfangreiche Untersuchungen können zu abschließenden Ergebnissen führen.

In Tab. 5 sind alle DNS-Einzelwerte generativer und vegetativer Kerne in Pollenschläuchen und die jeweiligen Längen der Pollenschläuche von *virescens-2n* aufgeführt. Zieht man noch zusätzlich die entsprechende Häufigkeitsverteilung der DNS-Werte heran, so stellt man fest, daß sich *virescens-2n* in den DNS-Werten vegetativer Kerne in Pollenschläuchen deutlich von *ustulata-2n* unterscheidet. Bei *virescens-2n* trifft man nur noch in 8 von insgesamt 27 analysierten Pollenschläuchen vegetative Kerne an.

In diesem Zusammenhang soll noch einmal auf die bereits oben angeführten Befunde hingewiesen werden, daß enge Korrelationen zwischen Länge des Pollenschlauches und Zeitpunkt der Einwanderung der Kerne sowie Zeitpunkt der Teilung des generativen Kerns in die beiden Spermakerne bestehen.

Wenn nicht anders in Tab. 5 vermerkt, wurden die Messungen an Pollenschläuchen vorgenommen, in welche die Kerne bereits eingewandert waren. Die Pollenschläuche hatten in diesen Fällen die kritische Länge erreicht, um eine Einwanderung der Kerne zu erlauben. Unter diesen Pollenschläuchen fielen bezüglich des DNS-Gehalts der Kerne zwei Typen auf. Einerseits wurden zahlreiche Pollenschläuche gefunden, deren generative Kerne die Replikationsphase bei weitem noch nicht abgeschlossen hatten, aber die vegetativen Kerne schon nicht mehr nachweisbar waren. Wenn man dem vegetativen Kern eine bedeutsame Rolle bei der Pollenschlauchbildung zubilligt — die wichtigsten Befunde der verschiedenen Autoren, die für diese Annahme der Funktion des vegetativen Kerns bei der Pollenschlauchbildung sprechen, sollen am Schluß der Diskussion erörtert werden —, dann wurden in diesen Pollenschläuchen die Informationsübermittler in Form von langlebiger m-RNS und r-RNS von den vegetativen Kernen vor ihrer Degenerationsphase bereitgestellt und ermöglichten ein allerdings begrenztes Pollenschlauchwachstum auch ohne direkte Anwesenheit der vegetativen Kerne. Andererseits wurde bei *virescens-2n* nur als Ausnahmefall ein Pollenschlauch gefunden, dessen eingewandter generativer Kern bereits die Endphase der Replikation erreicht hatte und einen vegetativen Kern vermissen ließ. Normalerweise wurden in Pollenschläuchen von *virescens-2n*, welche die „kritische Länge“ überschritten hatten und in welche die Kerne eingewandert waren, zusammen mit generativen Kernen, die sich in der Endphase der Replikation befanden, auch noch vegetative Kerne angetroffen. Dieser Befund läßt die Vermutung aufkommen, daß bei besonders frühzeitigem Abschluß der Replikation generativer Kerne die Degenerationsphase der vegetativen Kerne verspätet einsetzt. Bereits im Abschnitt 3.3 wurde darauf hingewiesen, daß zwischen den DNS-Gehalten generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen der vier Mutanten bis auf eine Ausnahme positive Korrelationen zu bestehen scheinen, die aber zur Zeit wegen der zu geringen Anzahl der Meßdaten nicht exakt geprüft werden können. Die analysierten Pollenschläuche, bei denen bereits die Teilung des generativen Kerns in die beiden Spermakerne erfolgt ist, lassen sich in zwei Gruppen ordnen. Zur ersten Gruppe zählen diejenigen Pollenschläuche, die sich durch ihre besondere Länge auszeichnen. Der DNS-Gehalt der in diesen enthaltenen Spermakerne entsprach dem für diese Mutante geschätzten Wert auf C-Niveau. Bei zwei von insgesamt drei derartigen Pollenschläuchen war noch der vegetative Kern vorhanden. Der DNS-Gehalt dieser Kerne war so hoch, daß die Degenerationsphase des vegetativen Kerns noch gar nicht eingesetzt hatte oder erst im Anfangsstadium stand. Man kommt nach den Befunden bei diesen drei besonders langen Pollenschläuchen zu dem Schluß, daß hier eine Verzögerung des Beginns

der Degenerationsphase vegetativer Kerne eingetreten sein muß, so daß in zwei Fällen der vegetative Kern noch nahezu oder ganz unversehrt erhalten blieb. Die weitere Annahme scheint dann nicht abwegig, daß für die Ausbildung derartig langer Pollenschläuche die vegetativen Kerne möglichst lange funktionstüchtig bleiben. In reifen Pollenkörnern, in denen der vegetative Kern bereits nicht mehr nachweisbar ist, reicht der Vorrat an Informationsübermittlern nur für die Ausbildung eines mittellangen Pollenschlauchs aus. Für die Ausbildung eines extrem langen Pollenschlauchs muß der vegetative Kern folglich noch zusätzliche Informationsübermittler bereitstellen können. Diese Überlegungen finden in den Untersuchungen von Mascarenhas (1966) bei *Tradescantia paludosa* eine Stütze. In Gegenwart von Actinomycin D in entsprechend hohen Dosen, um die gesamte RNS-Synthese zu blocken, finden auf künstlichem Nährmilieu Keimung, in gewissem Umfang Pollenschlauchwachstum und Einwandern der Kerne in den Pollenschlauch statt. Das Auswachsen des Pollenschlauchs zur vollen Länge und Teilung des generativen Kerns in die beiden Spermakerne werden dagegen verhindert. Die Funktionstüchtigkeit des vegetativen Kerns nach Einwandern in den Pollenschlauch wird von diesem Autor autoradiographisch dadurch bewiesen, daß Uridin-H³ nicht nur in den generativen, sondern auch in den vegetativen Kern eingebaut wird. Jedoch muß die Frage zunächst offen bleiben, inwieweit die Ergebnisse von Mascarenhas (1966) bei *Tradescantia paludosa* mit denen von *Petunia*-Mutanten in Parallel zu setzen sind, zumal von Mascarenhas (1966) gleichzeitig keinerlei quantitative DNS-Bestimmungen generativer und vegetativer Kerne vorgenommen wurden und eigene quantitative Analysen bei *Tradescantia paludosa* und *virginiana* erkennen lassen, daß die Funktionstüchtigkeit der vegetativen Kerne bei diesen Objekten offenbar zu einem weitaus späteren Zeitpunkt in der Entwicklung der Pollenschlauchbildung als bei *Petunia* erlischt.

Zur zweiten Gruppe zählen Pollenschläuche, die sich fast ausnahmslos durch eine nur mittlere Länge auszeichnen, aber bereits Spermakerne enthalten und bis auf einen Fall den vegetativen Kern vermissen lassen. Alle diese Spermakerne wiesen überraschenderweise DNS-Gehalte auf, die weit unter dem für diese Mutante geschätzten Wert des C-Niveaus liegen. Eine Erklärung für dieses Phänomen kann zur Zeit noch nicht gegeben werden. Die bloßen Befunde dieser Gruppe sprechen für die Hypothese, daß diese Pollenschläuche wahrscheinlich nicht mehr voll funktionsfähig sind.

**Vergleich fremder und eigener Befunde
zur Frage der Rolle der vegetativen Zelle
bei der Pollenschlauchbildung**

Der endgültige Beweis für die bedeutende Rolle der vegetativen Zelle bei der Pollenkorn- und vor allem

Pollenschlauchbildung steht noch aus. Die von verschiedenen Autoren innerhalb der letzten 10—15 Jahre veröffentlichten Untersuchungsergebnisse lassen aber keinen Zweifel daran, daß die Hypothese, der vegetativen Zelle eine entscheidende Rolle bei der Pollenschlauchbildung zuzubilligen, die überzeugendsten Argumente für sich hat. Diese Untersuchungen wurden bei verschiedenen Objekten mit cyto- und biochemischen, cytologischen und/oder elektronenmikroskopischen Methoden bei Pollenkörnern und Pollenschläuchen durchgeführt. Diese Vielfalt an Befunden, die mit den verschiedensten Techniken gewonnen wurden, soll im Rahmen dieser Arbeit nicht dargestellt werden, ausgenommen die bereits oben erwähnten, in engem Zusammenhang zu den eigenen Ergebnissen stehenden und mit cytochemischen Methoden erhaltenen Befunde von Jalouzot (1969), Mascarenhas (1966) und Woodard (1958). Mit diesen Untersuchungsergebnissen, die mit recht verschiedenen Techniken erzielt wurden, wurde bewiesen, daß die vegetative im Gegensatz zur generativen Zelle, insbesondere bis zum Zeitpunkt der Anthese, eine bedeutende physiologische Aktivität entfaltet. In allen diesen Arbeiten, auch aus jüngster Zeit, wird nur indirekt geschlossen, daß die physiologisch aktive, vegetative Zelle eine wichtige Rolle bei der Pollenschlauchbildung spielt. Bisher wurde in keinem Falle ein unmittelbarer Kausalzusammenhang zwischen Pollenschlauchwachstum und Aktivität allein der vegetativen Zelle nachgewiesen.

Die eigenen Befunde der DNS-Messungen bei *Petunia* lassen sich zwanglos mit dieser Hypothese in Einklang bringen, nach welcher der vegetativen Zelle eine besondere Bedeutung bei der Pollenschlauchbildung zukommt. Einen wertvollen Beitrag zur Untermauerung dieser Hypothese liefern die bereits oben erwähnten Befunde von Mascarenhas (1966), der auf Grund seiner Ergebnisse bei *Tradescantia* annimmt, daß die m-RNS, die für das Wachstum des Pollenschlauchs und den Prozeß der Einwanderung der Kerne zur Verfügung gestellt wird, vom langlebigen Typ sein muß. Dieser Autor nimmt weiterhin an, daß die für diese Prozesse benötigte m-RNS und r-RNS im Pollenkorn vor Eintritt der Anthese und Reife des Pollenkorns gebildet werden. Es wurde bereits oben erläutert, welche Konsequenzen sich ergeben, wenn man die von Mascarenhas (1966) gemachten Annahmen auf die Befunde bei *Petunia* überträgt. Aus den in dieser Arbeit dargelegten Befunden geht hervor, daß einige der *Petunia*-Mutanten gegenüber den von anderen Forschern untersuchten Objekten darin abweichen, daß vielfach bereits in reifen Pollenkörnern der vegetative Kern nicht mehr nachweisbar ist. Bei diesen Pollenkörnern, die zum Zeitpunkt der Reife keinen vegetativen Kern mehr besitzen, muß man annehmen, daß m- und r-RNS-Synthese sehr früh in der Pollenentwicklung stattfinden, eben vor Erreichen der Reife des Pollenkorns und vor Degeneration des vegetativen Kerns. Dabei

ist es allerdings fraglich, ob die von diesen Pollenkörnern, bei denen sehr frühzeitig der vegetative Kern vollständig degeneriert ist, gebildeten Pollenschläuche in jedem Fall noch voll funktionstüchtig sind. Wie die Befunde bei den Pollenschläuchen von *virescens-2n* gezeigt haben, erreichen derartige Pollenschläuche ohne nachweisbaren vegetativen Kern noch eine durchschnittliche Länge, können aber vermutlich keine „vollwertigen“ Spermakerne mehr ausbilden. Dagegen führt eine im Verlauf der Entwicklung des Pollenkorns bzw. Pollenschlauchs von *virescens-2n* besonders spät erfolgende Degeneration des vegetativen Kerns zu besonders langen und bezüglich der Spermakerne voll funktionsfähigen Pollenschläuchen.

Diese von Mascarenhas (1966) auf Grund der Befunde bei *Tradescantia* gemachten Annahmen, die auf die eigenen Befunde bei *Petunia* übertragen wurden, finden durch die folgenden Untersuchungsergebnisse, die mit biochemischer Technik geführt wurden, eine Stütze. Aus den Befunden von Tano und Takahashi (1964) bei *Nicotiana* und Steffensen (1966) bei *Lilium* geht hervor, daß in Pollenschläuchen ein RNS-Typ angetroffen wird, der sich klar von dem ribosomalen in Pollenkörnern unterscheidet und der m-RNS zu entsprechen scheint. Durch diese Befunde von zwei Forschergruppen werden die Annahmen von Mascarenhas (1966) zum großen Teil bestätigt. Die bereits im Pollenkorn vorgegebene langlebiger- und m-RNS — letztere wurde allerdings bisher in Pollenkörnern noch nicht nachgewiesen — reicht nur aus, um die Ausbildung eines kurzen Pollenschlauchs, die Einwanderung der Kerne und allein im Fall von *virescens-2n* auch die Teilung des generativen Kerns in die Spermakerne zu ermöglichen. Für das weitere Pollenschlauchwachstum jedoch und bei dem von Mascarenhas (1966) untersuchten Objekt *Tradescantia* auch für den Vorgang der Teilung des generativen Kerns in die beiden Spermakerne ist es erforderlich, daß Neusynthese von m-RNS einsetzt. Das Auftreten von m-RNS in wachsenden Pollenschläuchen konnte durch die auf biochemischem Wege erhaltenen Befunde der oben genannten Autoren wahrscheinlich gemacht werden.

Herich (1969) glaubt auf Grund seiner cyto-morphologischen Untersuchungen bei einer Tulpenart Hinweise dafür zu haben, daß der vegetative Kern nichts mit dem Pollenschlauchwachstum, sondern mit der Teilung des generativen Kerns zu tun hat. Die Argumente von Herich (1969) beruhen jedoch weitgehend nicht auf Untersuchungsergebnissen, sondern sind mehr spekulativer Art und mit den Befunden anderer Autoren aus jüngster Zeit nicht in Einklang zu bringen, so daß erst weitere Untersuchungen eine Klärung dieser Fragestellung herbeiführen können.

Die vorgelegte Arbeit soll eine geplante Veröffentlichungsreihe über Untersuchungen zur Entwicklung des männlichen Gametophyten von höheren Pflanzen einleiten. Die Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit

über den DNS-Gehalt generativer und vegetativer Kerne in Pollenkörnern und Pollenschläuchen von vier *Petunia*-Mutanten sollen einen Beitrag zu dem Fragenkomplex über die Funktionen der vegetativen Zelle während der Pollenkorn- und Pollenschlauchbildung liefern. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, daß dieser Fragenkomplex einem übergeordneten Problemkreis angehört. In diesem Problemkreis geht es letztlich um die folgende Frage: Welche Differenzierungsvorgänge laufen im Zuge der Entwicklung des männlichen Gametophyten der Angiospermen ab, Differenzierungsvorgänge, die nach der Zellteilung im Pollenkorn zu Tochterzellen, der generativen und vegetativen Zelle, führen, die sich völlig unterschiedlich weiterentwickeln und mit großer Wahrscheinlichkeit völlig verschiedene Funktionen zu erfüllen haben. Es wird die Ansicht vertreten, daß *Petunia hybrida*-Mutanten besonders gut als Modellbeispiel dienen können, um derartige grundsätzliche Fragen zur Entwicklung des männlichen Gametophyten einer Lösung zuzuführen. Schon diese hier dargestellten ersten Untersuchungsergebnisse von Pollenkörnern und Pollenschläuchen haben gezeigt, daß sich die Mutanten in charakteristischer Weise voneinander abheben. Gerade diese „individuellen Eigenheiten“ der einzelnen Mutanten lassen sie in ganz besonderem Maße als brauchbares Ausgangsmaterial für weitere Analysen geeignet erscheinen.

5. Zusammenfassung

In reifen Pollenkörnern von vier *Petunia hybrida*-Mutanten wurde gleichzeitig die DNS-Menge der generativen und vegetativen Kerne cytophotometrisch gemessen. Bei zwei dieser Mutanten wurden die entsprechenden Messungen auch an Pollenschläuchen vorgenommen.

Die DNS-Werte generativer Kerne zeigen, daß die Replikation der DNS im allgemeinen nicht im reifen Pollenkorn, sondern erst im Pollenschlauch nach Einwandern der Kerne ihren Abschluß findet. Diese Befunde bei *Petunia*-Mutanten stehen im Gegensatz zu den bisher nur bei ganz wenigen Objekten in Pollenkörnern durchgeföhrten DNS-Messungen generativer Kerne, nach denen die S-Phase während der Reifung des Pollenkorns abläuft und spätestens zum Zeitpunkt der Pollenreife die G₂-Phase erreicht wird.

Aus den Befunden für den vegetativen Kern ergibt sich, daß eine große Variabilität bezüglich des Einsetzens der Degeneration dieses Kerns besteht. Im

Extremfall von *ustulata-2n* kann einerseits bereits in reifen Pollenkörnern die Degeneration ihren Endpunkt erreicht haben. Andererseits lassen sich bei dieser Mutante in Pollenschlauch eingewanderte Kerne nachweisen, deren DNS-Gehalt unverändert geblieben ist. Außerdem wurden in einigen Pollenschläuchen von *ustulata-2n* vegetative Kerne mit einem erhöhten DNS-Gehalt gefunden. Bei diesen Kernen wird eine partielle DNS-Replikation für möglich gehalten. Die Befunde einer Abnahme des DNS-Gehalts vegetativer Kerne bereits in Pollenkörnern stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Autoren, die gefunden haben, daß bei ihren Objekten die DNS-Menge bis zur Pollenreife konstant bleibt.

In der Diskussion wird dargelegt, daß sich die eigenen Befunde mit der Hypothese vereinbaren lassen, die der vegetativen Zelle eine außerordentliche Rolle bei der Pollenschlauchbildung zuschreibt. Die *Petunia hybrida*-Mutanten werden als besonders geeignetes Ausgangsmaterial betrachtet, um die Aufklärung des Fragenkomplexes über die Bedeutung und Funktion der vegetativen Zelle für die Pollenkorn- und Pollenschlauchbildung voranzutreiben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. Mechelke für die Anregung zu diesen Untersuchungen und Fräulein H. Nagel für gewissenhafte technische Assistenz.

6. Literatur

1. Feulgen, R., Rossenbeck, H.: Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. Z. Physiol. Chem. **135**, 203–248 (1924). — 2. Graumann, W.: Zur Standardisierung des Schiffischen Reagens. Z. wiss. Mikr. **61**, 225–226 (1952/53). — 3. Herich, R.: Untersuchung über die Bedeutung der vegetativen Kerne und ihrer Nukleolen in den Pollenkörnern und Pollenschläuchen. Theoret. Appl. Genetics **39**, 62–67 (1969). — 4. Hesemann, C. U.: Cytogenetische Untersuchungen an Trisomen von *Petunia hybrida*. Z. Pflanzenzüchtung **51**, 1–11 (1964). — 5. Jalouzot, R.: Differentiation nucléaire et cytoplasmique du grain de pollen de *Lilium candidum*. Exptl. Cell Res. **55**, 1–8 (1969). — 6. Mascarenhas, J. P.: Pollen tube growth and ribonucleic acid synthesis by vegetative and generative nuclei of *Tradescantia*. Am. J. Bot. **53**, 563–569 (1966). — 7. Steffensen, D. M.: Synthesis of ribosomal RNA during growth and division in *Lilium*. Exptl. Cell Res. **44**, 1–12 (1966). — 8. Tano, S., Takahashi, H.: Nucleic acid synthesis in growing pollen tubes. J. Biochem. (Tokio) **56**, 578–580 (1964). — 9. Woodard, J. W.: Intracellular amounts of nucleic acids and protein during pollen grain growth in *Tradescantia*. J. Biophysic. Biochem. Cytol. **4**, 383–390 (1958).

Eingegangen am 30. März 1971

Angenommen durch F. Mechelke

Dr. C. U. Hesemann
Lehrstuhl für Allgemeine Genetik
der Universität Hohenheim
Kirchnerstr. 7
7000 Stuttgart 70 (Germany/BRD)