

# Untersuchungen über das Pollenschlauchwachstum von *Pisum sativum* und einiger Mutanten

## I. Die Wirkung freier Aminosäuren auf das Pollenschlauchwachstum

GISELA WOLFF

Institut für Genetik der Universität Bonn (BRD)

### Investigations on Pollen Tube Growth of *Pisum sativum* and its Mutants

#### I. Influence of Free Amino Acids on Pollen Tube Growth

**Summary.** When the pollen tubes of *Pisum sativum* (initial line) and of its mutants are grown on a standard medium containing only sucrose, boric acid and agar-agar, no difference in maximum length was observed. But, while pollen tubes of the initial line took nine hours to reach this length, pollen tubes of the mutants needed only six hours. Growth seems to be faster in pollen tubes of the mutants than in those of the initial line.

Further investigations examined the influence of twenty-one amino acids on pollen tube growth. With the initial line, these substances can be classified into three groups: those that promote pollen tube growth; those which have no influence upon its growth; and those which reduce its growth. The amino acids of each group are characterized by special structural properties. Those amino acids which accelerate pollen tube growth of the initial line show variable effects on the pollen tubes of the mutants. In some cases the same behaviour of pollen tubes can be observed whether amino acids are added or not, in others the addition of amino acids has a positive effect on pollen tube growth, though less than on pollen tubes of the initial line, and in a single case the addition of an amino acid is followed by a negative effect on growth.

#### Einleitung

Im Rahmen pollenphysiologischer Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß der Pollenschlauch während seines Wachstums durch den Griffel auch von Substanzen ernährt wird, die aus dem umgebenden Gewebe stammen (v. Berg, 1930; Hellmers, 1956; Kühlwein, 1948; Stanley, 1964). Hierbei scheinen neben Zuckern, Mineralien und Enzymen die Aminosäuren eine Rolle zu spielen. Verschiedene Forscher (Bellartz, 1956; Linskens, 1955; Linskens et al., 1966; Tupy, 1961) wiesen im Griffelgewebe freie Aminosäuren nach. Und Linskens et al. (1959) konnten mit Hilfe markierter Substanzen zeigen, daß die Pollenschläuche aus dem Griffelgewebe Aminosäuren und Zucker aufnehmen, die dann in den zelleigenen Stoffwechsel eingeschleust werden. Fernerhin wurden veränderte Reaktionen von wachsenden Pollenschläuchen beobachtet, wenn dem Kulturmedium Aminosäuren zugefügt waren (Branscheidt, 1930; Sawado, 1960). Die Bedeutung dieser Verbindungen sehen Britikov *et al.* (1964) und Tupy (1964) in ihrer Verwendung als „Reservestoffe“ für die Proteinsynthese und in ihrem Mitwirken im Stoffwechsel; damit kommt dieser Stoffklasse eine nicht unbedeutende Funktion in der Pollenschlauchentwicklung zu. Da erst für wenige Aminosäuren genauere Untersuchungen über den Einfluß auf das Pollenschlauchwach-

tum durchgeführt wurden, soll eine umfassende Bearbeitung dieses Themenkreises mit der vorliegenden Arbeit begonnen werden.

Um das Wachstum der Pollenschläuche direkt überwachen zu können, wurden *in vitro*-Versuche angestellt: Pollen von *Pisum sativum* (Normalform) wurden auf einem Kulturmedium, dem jeweils eine Aminosäure zugegeben war, zum Keimen gebracht, und das anschließende Wachstum wurde beobachtet. In der gleichen Weise wurden verschiedene Mutanten des hiesigen Sortiments bearbeitet. Eventuelle Differenzen im Wachstumsverhalten der Pollenschläuche von Normalform und Mutanten geben Hinweise auf unterschiedliche physiologische Bedingungen im Griffelgewebe und im Pollen und lassen möglicherweise Rückschlüsse auf wachstumsfördernde Verbindungen in den Geweben zu.

#### Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an Pollen von Freilandpflanzen des Jahres 1972 durchgeführt. Da das Alter der Pollen den entscheidenden Einfluß auf das Schlauchwachstum ausübt, wurde darauf geachtet, daß nur solche Pollen verwendet wurden, die den Pollensack gerade verlassen hatten. Bis zum Auftragen auf das Kulturmedium wurde der Pollen in den Blüten belassen. Da sich schon nach kurzer Lagerung die Keimbereitschaft und das Wachstum der Pollenschläuche vermindert, wurde das

Intervall zwischen der Ernte der Blüten und dem Auftragen der Pollen möglichst kurz gehalten.

Als Standardmedium diente ein Gemisch aus 30% Saccharose, 1 g Agar-Agar, 0,001 g Borsäure in 100 ml Wasser. Um den Einfluß der freien Aminosäuren auf das Wachstum zu prüfen, wurde dem Kulturmedium jeweils 0,02 g der entsprechenden Aminosäure zugefügt. Die folgenden Aminosäuren wurden verwendet: Lysin, Threonin, Glycin, Asparagin, Serin, Arginin, Phenylalanin, Prolin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Glutaminsäure, Glutamin, Asparaginsäure, Tyrosin, Tryptophan, Histidin, Cystein, Cystin und Methionin. Die Lösung wurde auf Objektträger ausgegossen; nach dem Erkalten wurden die Pollen aufgetragen. Die Objektträger wurden in einem Exsikkator bei Zimmertemperatur aufbewahrt; die relative Luftfeuchtigkeit im Exsikkator wurde durch eine gesättigte Natriumkarbonatlösung konstant gehalten. Nach 3, 6 und 9 Stunden wurden die Objektträger kurzfristig dem Exsikkator entnommen und die jeweiligen Wachstumsstadien bei 20facher Vergrößerung photographisch festgehalten. Die Länge der Pollenschläuche wurde bei 11facher Vergrößerung der Negative mit einem Kurvenrädchen ermittelt. Allen Längenangaben liegt die gleiche Einheit E zugrunde.

### Ergebnisse

#### I. Das Pollenschlauchwachstum der Normalform auf einem aminosäurehaltigen Kulturmedium

Läßt man Pollen unter in vitro-Bedingungen auf Standardmedium keimen und beobachtet das Pollenschlauchwachstum, so ist zu erkennen, daß letzteres nicht dem Wachstum unter in vivo-Bedingungen entspricht. Während die Keimungsrate auf Narbengewebe und dem hier verwandten Nährmedium gleich ist (etwa 90%), erreichen die Pollenschläuche nicht die Länge, die nach der Abmessung der Griffel zu erwarten ist. Offenbar sind für das optimale Wachstum verschiedene, das Wachstum fördernde Stoffe notwendig, die im Griffelgewebe vorhanden sind, im Standardmedium aber fehlen. Im folgenden soll untersucht werden, inwieweit die Zugabe einzelner Aminosäuren zum Kulturmedium das Schlauchwachstum in vitro beeinflusst.

Auf Standardmedium weisen die Pollenschläuche nach 9 Stunden eine Maximallänge von 3,3 E auf.

Aus Tab. 1 geht hervor, daß das stärkste Wachstum in den ersten 3 Stunden erfolgt. Während die Pollenschläuche in dieser Zeit eine Länge von 1,8 E erreichen, verlängern sie sich in der 2. Wachstumsperiode nur noch um 0,7 E, bzw. um 0,8 E in der 3. Phase. Nach dieser Zeit kommt das Wachstum unter den vorliegenden Bedingungen zum Erliegen. Fügt man dem Kulturmedium verschiedene freie Aminosäuren hinzu, so ist, wie Tabelle 1 erkennen läßt, die Wirkung der einzelnen Substanzen unterschiedlich: Auf die Zugabe einiger Aminosäuren reagieren die Pollenschläuche positiv; in diesem Fall ist eine Wachstumsförderung zu beobachten. Einige haben keinerlei Einfluß auf das Wachstum; die Länge der Pollenschläuche hier und auf Standardmedium ist gleich. Die übrigen Aminosäuren bewirken, daß die Pollenschläuche in ihrem Wachstum gehemmt

Tab. 1. Länge der Pollenschläuche von *Pisum sativum* nach 3, 6 und 9 Stunden auf Standardmedium (B) und auf Kulturmedium, dem jeweils eine Aminosäure (Lys, Thr . . .) zugefügt war  
0 = Werte entsprechen B

	Länge der Pollenschläuche in E nach		
	3 h	6 h	9 h
B	1,8	2,5	3,3
Lys	3,2	5,6	5,5
Thr	2,5	4,3	5,5
Gly	3,2	3,8	4,7
Asn	2,7	3,8	5,0
Ser	2,8	4,1	4,6
Arg	3,1	3,7	4,3
Phe	0	0	0
Pro	0	0	0
Ala	0	0	0
Glu	0	0	0
Asp	0	0	0
Try	0	0	0
Tyr	0	0	0
Val	1,9	1,8	1,7
Leu	1,1	1,7	1,6
Ileu	<1	<1	<1
Gln	<1	<1	<1
His	<1	<1	<1
Cys	<1	<1	<1
(Cys) <sub>2</sub>	<1	<1	<1
Met	<1	<1	<1

werden. Wenn man auf die Aminosäuren der verschiedenen Gruppen näher eingeht, so wird deutlich, daß jeder Gruppe vorwiegend Substanzen bestimmter chemischer Struktur angehören. So zählen zur ersten Gruppe die meisten basischen Aminosäuren (Lys, Asn und Arg), ferner die beiden Hydroxysäuren Thr und Ser. Die Aminosäuren, die ein Ringsystem besitzen (Phe, Pro, Try und Tyr), sind der zweiten Gruppe zuzuordnen, während die verzweigten und die schwefelhaltigen zur dritten Gruppe gehören. Aus diesem Schema fallen zwei Aminosäuren heraus, das basische Gln und das His, das einen Fünfer-Ring besitzt; beide sind in der dritten Gruppe zu finden. In diese Gruppen nicht einzuordnen sind Gly und Arg und Glu und Ala; die beiden ersten haben eine das Wachstum fördernde Wirkung, während die Pollenschläuche auf die Zugabe von Ala und Glu nicht reagieren.

Von besonderem Interesse sind die Aminosäuren, die das Wachstum positiv beeinflussen (Lys, Thr, Gly, Asn, Ser und Arg). Nicht nur die Gesamtlänge der Schläuche wird durch diese Substanzen beeinflusst, sondern auch die Wachstumsstärke während der verschiedenen Perioden.

In Tab. 2 ist die Länge der Pollenschläuche eingetragen. Die angegebenen Zahlen sind %-Werte, die sich auf den neun-Stunden-Wachstums-Wert auf Standardmedium beziehen. Es konnte gezeigt werden, daß das stärkste Wachstum auf Standardmedium in den ersten 3 Stunden erfolgt. Auch unter Aminosäureeinfluß ist dieses Verhalten zu beobachten, allerdings übersteigt hier die Längenzunahme der

Tab. 2. Länge der Pollenschläuche in %, bezogen auf den neun-Stunden-Wachstums-Wert auf B (= 100%).  
B = Standardmedium

Länge der Pollenschläuche nach	Länge der Pollenschläuche nach		
	3 h	6 h	9 h
B	54,5	75,8	100,0
Lys	97,0	169,7	166,7
Thr	75,8	130,3	166,7
Gly	97,0	115,2	142,4
Asn	81,8	115,2	151,5
Ser	84,8	124,2	139,4
Arg	93,9	112,1	130,0

ersten Wachstumszeit diejenige ohne Aminosäureeinfluß beträchtlich: Nach 3 Stunden wird unter Lys-, Gly- und Arg-Einfluß annähernd die Länge erreicht, die ohne Zugabe dieser Substanzen erst nach 9 Stunden zu beobachten ist. Asn, Ser und Thr zeigen hier eine etwas geringere Wirkung. Nach dieser Periode ist in allen Fällen eine Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit zu beobachten. Während Gly und Arg das weitere Wachstum im Vergleich zu demjenigen auf Standardmedium nicht beeinflussen — in diesen Fällen wachsen die Pollenschläuche in jeder weiteren Periode um etwa 25% —, bewirken Lys, Thr, Asn und Ser eine gesteigerte Längenzunahme in der 2. Wachstumsphase. Lys zeichnet sich hierbei besonders aus: Unter seinem Einfluß ist ein Längenzuwachs von etwa 70% festzustellen. Außerdem zeigt Lys eine weitere Besonderheit: Das Pollenschlauchwachstum wird in allen Fällen erst nach einer Zeit von 9 Stunden beendet, ist aber Lys im Nährmedium enthalten, so ist bereits nach 6 Stunden kein Wachstum mehr nachzuweisen. Mit einer Länge von 5,5 E (vgl. Tab. 1) ist bei der Ausgangsform offenbar unter den vorliegenden Bedingungen das Maximum erreicht. Das Wachstum während der dritten Periode entspricht in den meisten Fällen dem auf Standardmedium. Zu erwähnen ist noch, daß unter Thr-Einfluß die gleiche Maximallänge (5,5 E) wie unter Lys-Einwirkung erreicht wird. Diese Länge wird allerdings durch unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeiten bewirkt: Während auf einem Lys-haltigen Medium bereits nach 6 Stunden der Maximalwert erreicht wird, ist dieser auf einem Thr-Medium erst nach 9 Stunden zu beobachten.

Insgesamt kann gesagt werden, daß die positiv wirkenden Aminosäuren das Pollenschlauchwachstum in charakteristischer Weise beeinflussen. In allen Fällen wird das Wachstum während der ersten Phase nach der Keimung beschleunigt. Während unter Gly- und Arg-Wirkung dann ein etwa gleichstarker Zuwachs wie auf Standardmedium zu beobachten ist, bewirken die anderen Aminosäuren auch während der zweiten Periode ein schnelleres Wachstum, das besonders stark unter Lys-Einfluß in Erscheinung tritt. Während der dritten Wachstumsperiode ist im allgemei-

nen keine starke Beeinflussung der Längenzunahme durch Aminosäuren zu beobachten, mit Ausnahme von Lys, das ein Weiterwachsen der Pollenschläuche während dieser Zeit völlig verhindert.

## II. Das Pollenschlauchwachstum einiger Mutanten von *Pisum sativum*

Die Untersuchungen an Pollenschläuchen der Normalform hatten gezeigt, daß das Wachstum durch verschiedene Aminosäuren unterschiedlich beeinflußt wird. Es ist daher von Interesse zu untersuchen, in welcher Weise die Veränderung des Erbgutes auf dieses Verhalten Einfluß nimmt. Aus dem hiesigen Sortiment wurden einige Mutanten ausgewählt, deren genetische Veränderungen sich in erster Linie auf morphologisch erkennbare Merkmale beziehen (130A und 106B = Chlorophyllmutanten, 122 und 85 = Blattmutanten, 116 = wachlose Blätter und 66 = gestaucht; vgl. Gottschalk, 1964). Es ist anzunehmen, daß außer diesen Veränderungen weitere Eigenschaften der Pflanzen durch das mutierte Gen beeinflußt werden. Von einer mutativen Veränderung des Pollenschlauchwachstums ist in diesem Zusammenhang nichts bekannt. Läßt man Pollen der verschiedenen Mutanten auf Standardmedium auskeimen, so erreichen die Pollenschläuche nach einer Wachstumsdauer von 9 Stunden in allen Fällen die Länge der Normalform-Pollenschläuche oder übersteigen diese (vgl. Abb. 1). Während die Schläuche der Mutante 122 unter diesen Bedingungen ein Wachstumsverhalten zeigten, das dem der Normalform völlig entspricht, lassen alle übrigen Mutanten ein beschleunigtes Pollenschlauchwachstum erkennen. Nach einer Zeitdauer von 6 Stunden wird von allen Schläuchen — mit Ausnahme derer der Mutante 122 — der 100%-Wert erreicht. Danach erlischt aber bei den meisten Mutanten das Pollenschlauchwachstum (vgl. Mutante 130A, 85, 116 und 106B). Allein die Pollenschläuche der Mutanten 66 und 122 wachsen weiter, wobei die Schläuche der Mutante 66 wesentlich länger als die der Normalform werden. Diese Beobachtungen lassen die Tendenz erkennen, daß die mutierten Gene — wenn sie das Pollenschlauchwachstum überhaupt beeinflussen (vgl. Mutante 122) — die erste und dritte Wachstumsperiode beeinflussen: Das Wachstum in der ersten Zeit wird verstärkt, während das der dritten Periode reduziert wird. Eine Ausnahme bildet hier Mutante 66, die auch noch während der letzten Stunden ein deutliches Wachstum zeigt.

Im folgenden wurde das Pollenschlauchwachstum der Mutanten unter Aminosäureeinfluß untersucht. Ausgewählt wurden die Aminosäuren, die das Pollenschlauchwachstum der Normalform förderten (vgl. Abb. 1). Es ist zu erkennen, daß diese Substanzen nicht immer eine positive Wirkung haben. In den meisten Fällen reagieren die Pollenschläuche indifferent auf eine Aminosäurezugabe. Ein negativer Effekt ist nur ein einziges Mal zu beobachten: Asn redu-

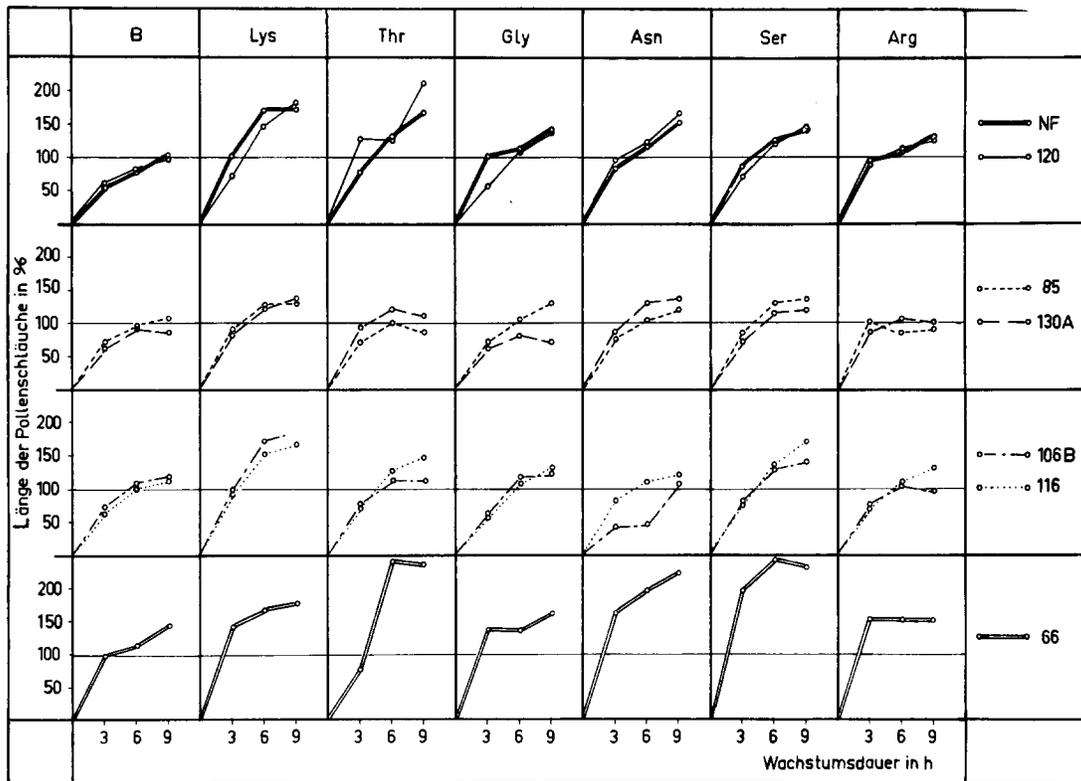


Abb. 1. Das Pollenschlauchwachstum der Normalform und einiger Mutanten von *Pisum sativum*. Bezugsgröße: 9-Stunden-Wachstumswert der Normalform (= 100%) auf Standardmedium (B)

ziert bei Mutante 116 das Wachstum in den ersten 6 Stunden. Diese Behinderung wird allerdings durch ein verstärktes Wachstum in der dritten Periode wieder aufgehoben.

Schon auf Standardmedium zeigten die Pollenschläuche der Mutante 66 gegenüber denen der übrigen Mutanten und der Normalform ein verstärktes Wachstum. Dieser Effekt wird unter Aminosäure-Einfluß nicht nur beibehalten, sondern teilweise in außergewöhnlichem Maße verstärkt. Damit verbunden ist allerdings, daß das Wachstum bereits nach 6 Stunden — auf Standardmedium nach 9 Stunden — abgeschlossen ist. Somit wird hier nicht nur die absolute Länge vergrößert, sondern auch die Wachstumsgeschwindigkeit. Dieser bemerkenswerte Effekt wird vorwiegend durch die Aminosäuren Thr, Asn und Ser hervorgerufen, während Lys, Gly und Arg eine geringere Wirkung haben.

Keine der übrigen Mutanten läßt eine derart starke Wachstumsförderung erkennen. Verhielten sich die Pollenschläuche der Mutante 122 auf Standardmedium so wie die der Normalform unter entsprechenden Bedingungen, so gilt dies nicht uneingeschränkt für das Wachstum auf aminosäurehaltigem Medium. Asn, Ser und Arg haben auf diese Pollenschläuche die gleiche Wirkung wie auf die der Normalform, dagegen hat die Zugabe von Lys, Thr und Gly zum Kulturmedium hier ein etwas abweichendes Wachstumsver-

halten zur Folge (Abb. 1): Lys und Gly verringern die Wachstumsgeschwindigkeit während der ersten Phase nach der Keimung, ein Effekt, der allerdings durch ein verstärktes Wachstum während der folgenden Stunden wieder aufgehoben wird. Thr dagegen beschleunigt sowohl das Wachstum der ersten als auch der dritten Periode, so daß die Pollenschläuche länger als die entsprechenden der Normalform werden.

Das Pollenschlauchwachstum der übrigen Mutanten wird von unterschiedlichen Aminosäuren positiv beeinflusst, wobei die fördernde Wirkung geringer als bei den Schläuchen der Normalform oder allenfalls gleich ist. Eine Ausnahme hiervon macht Mutante 116: Ser bewirkt hier ein stärkeres Pollenschlauchwachstum als bei der Normalform. Auf die Zugabe von Lys und Ser reagieren alle Mutanten positiv. Thr wirkt nur auf Pollenschläuche der Mutante 106B fördernd und Arg nur auf solche von Mutante 116. Die Anwesenheit von Gly im Nährmedium beantwortet die Pollenschläuche der Mutanten 85 und 106B mit einem verstärkten Wachstum und die Zugabe von Asn hat bei Mutante 130A einen positiven Wachstums-Effekt zur Folge.

### Diskussion

In der Einleitung wurde bereits darauf hingewiesen, daß das Pollenschlauchwachstum nicht nur von

den Reservestoffen der Pollen, sondern auch von Substanzen des Griffelgewebes beeinflusst wird, also von außen her. Es ist bekannt, daß neben Zuckern und Enzymen auch freie Aminosäuren hierbei eine Rolle spielen. Die vorliegenden Untersuchungen konnten zeigen, daß nur ein Teil der 21 häufig vorkommenden Aminosäuren in bezug auf das Pollenschlauchwachstum eine positive, also fördernde Wirkung haben. Dies gilt vornehmlich für die basischen Aminosäuren und die Hydroxysäuren. Offenbar hängt diese Wirkungsweise eng mit der zusätzlichen  $-NH_2$  bzw.  $-OH$ -Gruppe zusammen. Auf welche Weise diese Gruppen in das biochemische Geschehen eingreifen, ist nicht bekannt. Indifferent reagieren die Pollenschläuche auf die Zugabe der zyklischen Aminosäuren. Es ist vorstellbar, daß diese Aminosäuren aufgrund ihrer biochemischen Struktur nicht in die Pollenschläuche eindringen und deshalb auch nicht wirksam werden können. Toxisch, in dem Sinne, daß sie das Pollenschlauchwachstum reduzieren — in keinem Fall wurde ein völliges Aufheben des Pollenschlauchwachstums beobachtet —, wirken die schwefelhaltigen und die verzweigten Aminosäuren. Diese Aminosäuren können möglicherweise im Gegensatz zu den zyklischen in die Pollenschläuche eindringen und eine normale Entwicklung der Schläuche verhindern. Auch hierüber ist aus der Literatur nichts bekannt. Neben Aminosäuren, die sich in diese Gruppen einfügen, bleiben noch einige, die nicht hier einzuordnen sind. So übt Gly einen positiven Effekt aus, während Ala keine Wirkung hat. Bemerkenswert ist, daß die basischen Aminosäuren Gln und His sogar einen negativen Einfluß haben und daß Glu und Asp das Pollenschlauchwachstum nicht beeinflussen. Neben einer mutmaßlichen Wirkung bestimmter Seitengruppen liegt somit offenbar noch eine individuelle Wirkungsweise einzelner Aminosäuren vor.

Die Untersuchungen an verschiedenen Mutanten von *Pisum sativum* ergaben, daß die Pollenschläuche dieser Pflanzen zum überwiegenden Teil anders auf eine Aminosäurezufuhr reagieren als die Normalform. Während sich Pollenschläuche der Mutante 122 sowohl auf Standardmedium als auch auf aminosäurehaltigem Medium weitgehend wie die der Normalform verhalten, wird das Pollenschlauchwachstum von Mutante 66 in überaus starkem Maße durch die hier verwandten Aminosäuren gefördert. Offenbar beeinflusst das mutierte Gen im ersten Fall das Pollenschlauchwachstum nur geringfügig, während in der zweiten Mutante neben der morphologischen Veränderung (gestaucht) das Pollenschlauchwachstum dahingehend geändert ist, daß die Schläuche auch auf Standardmedium schon wesentlich länger werden als die der Normalform. Auch bei den übrigen Mutanten scheint das Pollenschlauchwachstum verändert worden zu sein, allerdings nicht im Sinne einer Wachstumsförderung. Hervorzuheben ist hier, daß das Wachstum während der dritten Wachstumspe-

riode stark reduziert war, dafür aber die Wachstumsgeschwindigkeit der ersten Stunden erhöht war. Außerdem konnte bei diesen Mutanten teilweise keine Reaktion auf eine Aminosäurezugabe beobachtet werden. Auch hier scheint unter dem Einfluß des mutierten Gens die normale Reaktion (s. Normalform) auf Aminosäurezugabe verändert zu werden. In den Fällen, in denen eine Wachstumsförderung vorliegt, bleiben die Werte — mit einer Ausnahme: Mutante 116, Ser — unter den entsprechenden der Normalform oder gleichen diesen.

Man muß davon ausgehen, daß die Wachstumsbedingungen der hier vorliegenden *in vitro*-Kulturen auf Standardmedium in keinem Fall den normalen, im Griffel vorliegenden Bedingungen entsprechen. Aus den Ergebnissen wird aber deutlich, daß ein Teil der untersuchten Aminosäuren einen bedeutenden positiven Einfluß auf das Wachstum der Pollenschläuche nehmen können. Ob diese Aminosäuren tatsächlich im Griffelgewebe frei vorliegen und zum normalen Pollenschlauchwachstum beitragen, soll in weiterführenden Arbeiten untersucht werden. Zumindest ist nachgewiesen, daß Aminosäuren aus dem Griffelgewebe aufgenommen werden (Linskens et al. 1959), und die Untersuchungen dieser Arbeit haben erwiesen, daß ihre Anwesenheit nicht ohne Einfluß auf das Pollenschlauchwachstum ist. Weiterhin zeigte sich, daß die Anwesenheit mutierter Gene im Organismus, die zunächst durch morphologisch erkennbare Merkmale sichtbar wurde, auch auf das Pollenschlauchwachstum Einfluß nehmen kann. Die normale Reaktionsfähigkeit der Pollenschläuche wird verändert: Die Pollenschläuche der Mutanten wachsen auf Standardmedium schneller als die der Normalform; sie reagieren nicht auf die Zugabe von Aminosäuren zum Kulturmedium (vgl. Mutante 85), oder sie zeigen ein überaus starkes Wachstum mit einer besonderen Sensitivität gegenüber Aminosäuren (vgl. Mutante 66). Worauf dieses Verhalten beruht, kann im einzelnen noch nicht gesagt werden; auch hier sind weiterführende Arbeiten notwendig. Beispielsweise könnten Untersuchungen über die Aminosäurezusammensetzung von Griffel und Pollen zur Klärung einiger Fragen beitragen.

Möglicherweise liegt in dem einen oder anderen Fall ein durch die Mutation bedingtes Aminosäure-Defizit im Griffelgewebe vor, so daß eine normale Versorgung der Pollenschläuche mit dieser Aminosäure nicht mehr gewährleistet ist. Nicht außer acht gelassen werden darf, daß auch die Pollenkörner einen reichen Vorrat an Nährstoffen besitzen, der während des Pollenschlauchwachstums aufgebraucht wird. Auch hier sind mutative Veränderungen in der Aminosäurezusammensetzung denkbar. In beiden Fällen könnte das Pollenschlauchwachstum negativ beeinflusst bzw. durch Zugabe der entsprechenden Aminosäure zum Kulturmedium wieder normalisiert werden. Ehlers (1951) konnte beispielsweise nachweisen, daß Pollenkörner verschiedener Pflanzenarten eine

unterschiedliche Zusammensetzung an freien Aminosäuren besitzen. Auch die Untersuchungen von Jahr (1970) zeigen, daß die Aminosäurezusammensetzung der Pollen einzelner *Pisum*-Mutanten variieren kann. Eine Erklärungsmöglichkeit für die Beobachtung, daß die Pollenschläuche einiger hier untersuchter Mutanten nicht auf eine Aminosäurezugabe reagieren, bieten die Untersuchungen von Harte (1953): Die Pollenschläuche können infolge mutativer Stoffwechselstörungen die angebotenen Substanzen nicht in genügendem Maße aufnehmen.

Die Bedeutung der freien Aminosäuren für das Pollenschlauchwachstum ist noch nicht hinreichend bekannt. Steward et al. (1958) konnten feststellen, daß während des Wachstums Aminosäuren reduziert werden. Genauere Daten sind über die Wirkungsweise des Pro — einer Aminosäure, deren Anteil im Pollen sehr hoch ist — bekannt. Pro spielt eine bedeutende Rolle im Stoffwechsel keimender Pollen (Britikov et al., 1964). Bemerkenswert ist, daß Pro im Verlauf der hier vorliegenden Untersuchungen in keinem Fall eine positive Wirkung zeigte. Offenbar ist der Pro-Gehalt in jedem Fall so hoch — obschon unterschiedliche Mengen bei verschiedenen Mutanten festzustellen sind (Jahr et al., 1973) —, daß eine normale Entwicklung nicht gefährdet ist.

#### Literatur

- Bellartz, S.: Das Pollenschlauchwachstum nach arteeigener und artfremder Bestäubung einiger Solanaceen und die Inhaltstoffe ihres Pollens und ihrer Griffel. *Planta* **47**, 588—612 (1956).
- v. Berg, H.: Beiträge zur Kenntnis der Pollenphysiologie. *Planta* **9**, 105—143 (1930).
- Branscheidt, P.: Zur Physiologie der Pollenkeimung und ihrer experimentellen Beeinflussung. *Planta* **11**, 368 bis 456 (1930).
- Britikov, E. A., Musatova, N. A., Vladimirtseva, S. V., Protsenko, M. A.: Proline in the reproductive system of plants. In: *Pollen Physiology and Fertilisation*, 77—85, editor H. F. Linskens. Amsterdam: North-Holland Publishing Company 1964.
- Ehlers, H.: Untersuchungen zur Ernährungsphysiologie der Pollenschläuche. *Biol. Zentralblatt* **70**, 432—451 (1951).
- Gottschalk, W.: Die Wirkung mutierter Gene auf die Morphologie und Funktion pflanzlicher Organe. *Bot. Studien* **14**, eds. W. Troll, H. v. Guttenberg. Jena: Fischer 1964.
- Harte, C.: Untersuchungen über Gonenkonkurrenz und crossing over bei spaltenden *Oenothera*-Bastarden. *Z. Vererb.-Lehre* **85**, 97—117 (1953).
- Hellmers, H., Machlis, L.: Exogenous substrat utilisation and fermentation by the pollen of *Pinus ponderosa*. *Plant Physiology* **31**, 284—289 (1956).
- Jahr, G.: Das Pollenschlauchwachstum strahleninduzierter Mutanten von *Pisum sativum* unter besonderer Berücksichtigung der freien Aminosäuren. Dissertation Rh. Fried.-Wilhelms-Univ. Bonn (1970).
- Jahr, G., Gottschalk, W.: Das Pollenschlauchwachstum von *Pisum*-Mutanten unter Berücksichtigung der freien Aminosäuren. *Theor. Appl. Genetics* **43**, 281—290 (1973).
- Kühlwein, H.: Über keimungsfördernde Substanzen in Pollen und Narben. *Planta* **35**, 528—535 (1948).
- Linskens, H. F.: Physiologie der Pollenschlauchhemmung selbststeriler Petunien. *Z. Bot.* **43**, 1—44 (1955).
- Linskens, H. F., Esser, K. L.: Stoffaufnahme der Pollenschläuche aus dem Leitgewebe der Griffel. *Proc. kon. ned. Akad. Wet. Ser. C* **62**, 150—154 (1959).
- Linskens, H. F., Tupy, J.: The amino acid pool in the style of selfcompatible strains of *Petunia* after self- and crosspollination. *Genetics and Breeding Res.* **36**, 151—158 (1966).
- Sawado, Y.: Physiological and morphological studies of pollen grains. XVIII. *Bot. Mag.* **73**, 252—257 (1960).
- Stanley, R. G.: Physiology of pollen and pistil. *Sci. Progr.* **52**, 122—132 (1964).
- Steward, F. C., Bidwell, R. G. S., Yemm, E. W.: Nitrogen metabolism, respiration and growth of cultured plant tissue. *J. exp. Bot.* **9**, 11—51 (1958).
- Tupy, J.: Investigation of free amino acids in cross-, self- and non-pollinated pistils of *Nicotiana glauca*. *Biol. plant.* **3**, 47—64 (1961).
- Tupy, J.: Metabolism of Proline in styles and pollen tubes of *Nicotiana glauca*. In: *Pollen Physiology and Fertilisation*, 86—94, ed. H. F. Linskens. Amsterdam: North-Holland Publishing Company 1964.

Eingegangen am 16. Juli 1973

Angenommen durch H. Stubbe

Dr. Gisela Wolff  
Institut für Genetik  
der Universität Bonn  
Kirschallee 1  
D-53 Bonn (Germany/BRD)