Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Plasmonabänderungen von *Epilobium*-Bastarden

IV. Mischzellen mit normalen und atypischen Chondriosomen

I. ANTON-LAMPRECHT

Abteilung für Plasmavererbung am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang

(Z. Naturforschg. **22 b**, 1340—1342 [1967]; eingegangen am 6. Mai 1967)

Mitochondria revealing an atypical differentiation of their tubular inner membranes have been found to occur in "mixed cells" together with the normal mitochondrial type in the meristem of one shoot apex of an *Epilobium* cytoplasmic alteration. This finding, indicating the likely genetical independence of both types of mitochondria, is discussed with regard to recent results of biochemical and genetical investigations on the hereditary basis of the chondriome.

Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Plasmonabänderungen von *Epilobium*-Bastarden¹⁻³ wurden verschiedentlich strukturelle Abweichungen vom normalen Chondriosomentyp beobachtet. Die Chondriosomenanomalien betrafen sowohl Form und Anordnung der Tubuli wie Viskosität und Formstabilität der Organellen; sie stehen wahrscheinlich in physiologischem Zusammenhang mit den plasmatypisch bedingten Störungen der untersuchten Bastarde.

Im Rahmen der Plasmonanalyse von *Epilobium*⁴ ist es von Interesse, daß in einem Fall ein morphologisch in charakteristischer Weise abgeänderter Chondriosomentyp (Abb. 1) * zusammen mit dem Normaltyp in „Mischzellen“ festgestellt wurde (Abb. 2).

Es handelte sich um Sproßmeristemzellen von Winterrosen des Klon 57.3029.10, der aus der Kreuzung *E. hirsutum* Essen ♀ × *E. parviflorum* Tübingen normalisatum ♂ entstanden und nach Entmischung als irreguläre-Pflanze isoliert worden war; nach weiterer Normalisierung ist der Klon zunächst adaequatum, später bei besserer Pollenfertilität transformatum zugeordnet worden^{5, 6}.

Der normale Chondriosomentyp dieser Mischzellen entspricht dem für Pflanzenzellen vielfach beschriebenen tubulären Typ; er ist in den Meristemen von *Epilobium* durch eine lockere Verteilung seiner inneren Membranen und große, schwach kontrastierte Matrixzonen charakterisiert, in denen kontrastreiche

Komplexe fibrillärer Aggregate von Chondriosomen-DNS vorliegen⁷.

Der abweichende Chondriotyp weist parallele Reihen gleichartiger Tubuli oder Vesikel etwa gleichen Durchmessers auf (Abbn. 1 und 2), die bei peripherer Lage ihre Herkunft von der inneren Chondriosomenmembran erkennen lassen; fibrilläre Aggregate von DNS kommen auch in diesem Typ vor. Chondriosomen des normalen und des abweichenden Typs lagen ohne Übergangsformen in unmittelbarer Nachbarschaft in einer Zelle nebeneinander. Insgesamt sind nur wenige solcher Chondriosomen-Mischzellen inmitten normaler meristematischer Zellen gefunden worden, und zwar lediglich in einem von sechs untersuchten Vegetationskegeln. Eine artifizielle Ursache kann ausgeschlossen werden. —

Der Nachweis von Mischzellen, in denen normale und mutierte Plastiden unabhängig nebeneinander vorliegen, wird bei Plastidenschecken als wesentliches Kriterium für die Lokalisation extrachromosomaler Scheckungsfaktoren in den Plastiden gewertet. Das Vorkommen von Mischzellen mit charakteristisch verschiedenen Chondriosomentypen in *Epilobium*-Plasmonabänderungen kann in gleicher Weise ein Zeichen für die genetische Verschiedenheit und Unabhängigkeit beider Typen sein.

Der vorliegende Befund soll im Zusammenhang mit Untersuchungsergebnissen der letzten Jahre betrachtet werden, nach denen die Chondriosomen ebenfalls Träger autonomer genetischer Informatio-

¹ I. ANTON-LAMPRECHT, J. Ultrastructure Res. **12**, 624 [1965]; Protoplasma, im Druck.

² I. ANTON-LAMPRECHT, Z. Vererb.-Lehre **98**, 257 [1966].

³ I. ANTON-LAMPRECHT, Ber. dtsch. bot. Ges. **79**, 324 [1966].

⁴ P. MICHAELIS, Biol. Zbl. **73**, 353 [1954]; Züchter **25**, 209 [1955]; Cytologia **20**, 315 [1955]; Handbuch Pflanzenzücht. Bd. I, 140, Verlag Paul Parey, Berlin 1958; Naturwissenschaften **50**, 581 [1963].

* Abbn. 1—2 s. Tafel S. 1326 b.

⁵ Vgl. l. c. ², Tab. 3 — Blindversuch.

⁶ P. MICHAELIS, Z. indukt. Abstamm. Vererb.-Lehre **83**, 36 [1949].

⁷ P. MICHAELIS, Nucleus **9**, 1 [1966], Abb. 15; s. auch I. ANTON-LAMPRECHT, Z. Pflanzenphysiol. **54**, 417 [1966].

nen sein dürften⁸⁻¹⁰. Es wurde gezeigt, daß Chondriosomen ebenso wie Plastiden eine eigene DNS enthalten¹¹⁻¹³, daß sie eine DNS-abhängige, kern-unabhängige RNS-¹⁴ und Protein-Synthese¹⁵ aufweisen und daß sie sich durch Teilung vorhandener Chondriosomen vermehren (kritische Zusammenstellung der Literatur: ⁹, s. auch l. c.¹²).

Hinweise auf die genetische Natur der Chondriosomen ergaben sich vor allem aus der Untersuchung atmungsdefekter Mutantenstämme von Hefen und von *Neurospora*. Die Atmungsdefekte werden teils chromosomal, teils plasmatisch vererbt^{16, 17}. Die plasmatischen petite-Mutanten der Hefe unterscheiden sich von den chromosomalen und den Normalformen sowohl in der Feinstruktur der Chondriosomen¹⁸ wie in der Dichte der Chondriosomen-DNS im Caesiumchlorid-Dichtegradienten¹³, d. h. in der Basenzusammensetzung dieser DNS-Fraktion. Außerdem war es bei Hefen möglich, Mischzellen mit verschiedenen Chondriosomentypen nachzuweisen, und zwar sowohl hinsichtlich der Feinstruktur¹⁸ als auch der Enzymausstattung der Chondriosomenpopulationen¹⁹. Diese Beobachtungen bieten ein wesentliches Argument für eine intrachondriosomale autonome genetische Kontrolle von Chondriosomenphänomenen.

Mischzellen mit normalen und atypischen Chondriosomen traten interessanterweise auch in Zellen von Hamstertumoren auf, die durch Adenovirus 12 oder durch Methylcholanthren induziert worden waren. Dagegen wurden in Tumoren, die durch Viren vom Typ SV 40 oder Polyoma bzw. durch verschiedene andere chemische Carcinogene hervorgerufen waren, keine Chondriosomen-Anomalien und keine Mischzellen gefunden²⁰.

Anomalien oder Sonderbildungen von Chondriosomen, oft im Zusammenhang mit den speziellen physiologischen Verhältnissen der untersuchten Gewebetypen, sind häufig beschrieben worden²¹⁻²⁴. In einigen Fällen scheinen die atypischen Chondriosomen neben normalen in Mischzellen vorzuliegen²¹. In anderen Fällen sind keine Angaben über Mischzellen vorhanden²²⁻²⁴. BEHNKE²³ erwähnt, daß nur etwa 20% aller Chondriosomen die von ihm beschriebenen helicalen Einschlüsse enthielten, und WRISCHER und DEVIDÉ²⁴ beobachteten nach Vergiftung der Atmung von *Allium*- und *Sinapis*-Wurzelzellen, daß nur einige der Chondriosomen verändert waren. — Es sei darauf hingewiesen, daß eine genetische Ursache von Chondriosomen-Mischzellen nur dann angenommen werden kann, wenn folgende Kriterien erfüllt sind: Fehlen von Übergangsformen

- ⁸ R. HAGEMANN, Plasmatische Vererbung. Beitrag 4 aus: Genetik; Grundlagen, Ergebnisse und Probleme in Einzeldarstellungen. Hrsg. H. STUBBE. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1964.
- ⁹ R. HAGEMANN, Genetik V. Extrachromosomale Vererbung. Fortschr. Bot. **28**, 202 [1966].
- ¹⁰ J. L. JINKS, Extrachromosomal Inheritance. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J. 1964; D. WILKIE, The Cytoplasm in Heredity. Methuen and Co., Ltd., London, John Wiley and Sons Inc., New York 1964; H. TUPPY u. E. WINTERSBERGER, Mitochondrien als Träger genetischer Informationen, in: Probleme der biologischen Reduplikation. 3. wissenschaft. Konferenz der Ges. Deut. Naturf. Ärzte, Semmering bei Wien, 1965. Hrsg. P. SITTE. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1966.
- ¹¹ H. RIS, Ultrastructure of the Cell Nucleus, in: Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle. Hrsg. P. KARLSON. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1963; M. NASS and S. NASS, J. Cell Biol. **19**, 593 [1963]; J. Cell Biol. **19**, 613 [1963]; J. nat. Cancer Inst. **33**, 777 [1964]; Méd. et Hyg. **22**, 404 [1964]; M. NASS, S. NASS, and B. A. AFZELIUS, Exp. Cell Res. **37**, 516 [1965]; S. NASS, M. NASS, and U. HENNIX, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **95**, 426 [1965]; N. KISLEV, H. SWIFT, and L. BOGORAD, J. Cell Biol. **25**, 327 [1965]; Y. SUYAMA and J. R. PREER JR., Genetics **52**, 1051 [1965]; Y. SUYAMA, J. R. PREER, and W. D. BONNER, Plant Physiol. **40** (Suppl.), 65 [1965]; Y. YOTSUYANAGI, Résumés des Communications Colloque de Marseille, 1966, 79; J. H. SINCLAIR and B. J. STEPHENS, Proc. nat. Acad. Sci. USA **56**, 508 [1966].
- ¹² Y. YOTSUYANAGI and C. GUERRIER, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **260**, 2344 [1965].
- ¹³ J. C. MONOULOU, H. JACOB, and P. P. SLONIMSKY, Biochem. biophysic. Res. Commun. **24**, 218 [1966].
- ¹⁴ E. WINTERSBERGER u. H. TUPPY, Biochem. Z. **341**, 399 [1965].
- ¹⁵ E. WINTERSBERGER, Biochem. Z. **341**, 409 [1965].
- ¹⁶ Literatur bei F. SHERMAN, Genetics **48**, 375 [1963].
- ¹⁷ Literatur bei D. J. L. LUCK, The Biogenesis of Mitochondria in *Neurospora*, in: Probleme der Biologischen Reduplikation. Hrsg. P. SITTE, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1966.
- ¹⁸ Y. YOTSUYANAGI, J. Ultrastructure Res. **7**, 141 [1962].
- ¹⁹ C. J. AVERS, M. W. RANCOURT, and FU HAI LIN, Proc. nat. Acad. Sci. USA **54**, 527 [1965]; C. J. AVERS, C. R. PFEFFER, and M. W. RANCOURT, J. Bacteriol. **90**, 481 [1965].
- ²⁰ W. BERNHARD and P. TOURNIER, Int. J. Cancer **1**, 61 [1966]; E. H. LEDUC, W. BERNHARD, and P. TOURNIER, Exp. Cell Res. **42**, 597 [1966].
- ²¹ K. BLINZINGER, N. B. REWCASTLE u. H. HAGER, Z. Naturforsch. **19b**, 514 [1964]; B. TANDLER and F. H. SHIPKEY, J. Ultrastructure Res. **11**, 292 [1964]; R. J. STEPHENS and R. F. BILS, J. Cell Biol. **24**, 500 [1965]; H. FALK, Z. Pflanzenphysiol. **53**, 456 [1965].
- ²² H. DAVID, Beitr. pathol. Anatom. allg. Pathol. **130**, 187 [1964]; E. MUGNAINI, J. Ultrastructure Res. **11**, 525 [1964]; D. B. SLAUTTERBACK, J. Cell Biol. **24**, 1 [1965]; Y. YOTSUYANAGI, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **262**, 1348 [1966], Sér. D.
- ²³ O. BEHNKE, Exp. Cell Res. **37**, 687 [1965].
- ²⁴ M. WRISCHER u. Z. DEVIDÉ, Z. Naturforsch. **20b**, 260 [1965].

zwischen den verschiedenen Chondriosomentypen, Stabilität der Typen während der Zellteilungsfolgen, bestimmte Zahlenverhältnisse beider Typen in den betreffenden Zellen (vergleichbar den Spaltungszahlen von Mendelklassen), Bindung an ontogenetische Zelldeszendenz und Unabhängigkeit von physiologisch bedingten Gewebezonen, etwa vom Nervenverlauf im Blatt. Diese Kriterien, die zur Beurteilung von Plastiden-Mischzellen erarbeitet wurden^{4, 8}, sollten auch bei der Beurteilung von Chondriosomen-Mischzellen berücksichtigt werden. Bei *Epilobium* ist die Prüfung der genannten Kriterien nur teilweise möglich gewesen, da zu wenige Zellen mit abweichenden Chondriosomen gefunden wurden.

Für die Plasmonanalyse an höheren Pflanzen kann das Vorkommen echter Chondriosomen-Mischzellen neue Ansatzpunkte bieten. Defekte im Chondriom — der Gesamtheit der bislang noch nicht endgültig bewiesenen Erbanlagen in den Chondriosomen — könnten in vielzelligen Organismen zu Störungen führen, wie sie als Wachstumsdefekte und Zellteilungsausfälle (vergleichbar den *petite*-Mutanten der Hefe), teils auch als tumorähnliche Zellwucherungen in den Plasmonabänderungen der irregulare-Gruppe von *Epilobium* auftreten, vor allem in irregulare und rhytidiophyllum^{6, 3}. Es ist möglich, daß der

Klon, aus dem die hier beschriebenen Mischzellen stammten, noch irregulare-Komponenten enthielt, da er aus irregulare hervorgegangen war; restliche irregulare-Anteile in scheinbar entmischten normalisierten Klonen sind oft nur an den Kreuzungsnachkommen nachweisbar⁶. — Ob die aufgefundenen Chondriosomen-Mischzellen eine genetische Bedeutung für die Ausbildung von irregulare-Störungen haben, kann nicht entschieden werden. In insgesamt 40 weiteren Klonen der irregulare-Gruppe² sind solche Mischzellen nie gefunden worden. Es ist allerdings anzunehmen, daß nicht jeder Defekt des Chondrioms sich auch in der Feinstruktur der mutierten Chondriosomen zu erkennen gibt. Eine kombinierte Anwendung von Enzymaktivitätsmessungen an Zellhomogenaten, Elektronenhistochemie und Elektronenmikroskopie — wie bei Hefen — könnte zur Lokalisation der für die irregulare-Gruppe verantwortlichen plasmatischen Erbanlagen²⁵ beitragen.

Mein Dank gilt Herrn Dr. P. MICHAELIS für sein Interesse an den Untersuchungen und für Pflanzenmaterial seines *Epilobium*-Sortiments, Fräulein B. MEYER für die sorgfältige Durchführung aller technischen Arbeiten, sowie Herrn D. BOCK, Fotografenmeister des Instituts, für die Herstellung der Vergrößerungen. Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

²⁵ An *Oenothera*-Bastarden extrem disharmonischer Genom-Plastom-Kombinationen treten irregulate Typen auf, die — wie STUBBE (Z. Vererb.-Lehre 94, 392 [1963]) gezeigt hat — auf die chimärische Natur dieser Bastardtypen und

die teilweise Ausstattung mit ergrünungsfähigen väterlichen Plastiden zurückzuführen sind. Eine Vererbung väterlicher Plastiden bei *Epilobium* wird von MICHAELIS ausgeschlossen (Panta 51, 722 [1958]).

Abb. 1. Atypische Anordnung der Tubuli in parallelen Reihen in einem Chondriom einer Mischzelle aus dem Sproßmeristem einer *Epilobium*-Plasmonabänderung. Fixierung in isotonischem Osmiumsäure-Bichromat-Gemisch pH 7,3; Einbettung in Vestopal W; Schnittkontrastierung mit Uranylacetat 1 Prozent. Primärvergrößerung 40 000 : 1, Sekundärvergrößerung 98 000 : 1.

Abb. 2. Ausschnitt aus einer Mischzelle des Sproßmeristems mit Chondriosomen des normalen (C_1) und des abweichenden Typs (C_2). Im Zentrum des Normaltyps kontrastreiche fibrilläre Aggregate von Chondriosomen-DNS ($\rightarrow$); der abweichende Typ charakterisiert durch Reihen parallel gelagerter Tubuli. N — Zellkern; PL — Plasmalemma; V — Gerbstoffvakuole; ZW — Zellwand. Fixierung und Einbettung wie bei Abb. 1 angegeben. Primärvergrößerung 40 000 : 1, Sekundärvergrößerung 117 500 : 1.