

EUR 947.d

REPRINT

TEIL I

ASSOZIATION

Europäische Atomgemeinschaft - EURATOM
Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw - I.T.A.L.

QUANTITATIVE PIGMENTUNTERSUCHUNGEN
AN STRAHLENINDUZIERTEN
CHLOROPHYLLMUTANTEN VON PISUM SATIVUM
I. DIE LETALMUTANTEN

von

W. GOTTSCHALK und F. MÜLLER (Universität Bonn)

1964



Arbeit erstellt beim Institut für
Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn, Deutschland

Assoziation Nr. 003-61-5 BIAN

Sonderdruck aus
PLANTA
Bd. 61, Heft 3 - 1964

HINWEIS

Das vorliegende Dokument ist im Rahmen des Forschungsprogramms der Kommission der Europäischen Atomgemeinschaft (EURATOM) ausgearbeitet worden.

Es wird darauf hingewiesen, dass die Euratomkommission, ihre Vertragspartner und alle in deren Namen handelnden Personen :

- 1° — keine Gewähr dafür übernehmen, dass die in diesem Dokument enthaltenen Informationen richtig und vollständig sind oder dass die Verwendung der in diesem Dokument enthaltenen Informationen oder der in diesem Dokument beschriebenen technischen Anordnungen, Methoden und Verfahren nicht gegen gewerbliche Schutzrechte verstößt;
- 2° — keine Haftung für die Schäden übernehmen, die infolge der Verwendung der in diesem Dokument enthaltenen Informationen oder der in diesem Dokument beschriebenen technischen Anordnungen, Methoden oder Verfahren entstehen könnten.

This reprint is intended for restricted distribution only. It reproduces, by kind permission of the publisher, an article from "PLANTA", Bd. 61, Heft 3 - 1964, 259-282. For further copies please apply to Springer-Verlag — 69 Heidelberg 1, Neuenheimer Landstrasse 28-30 (Deutschland).

Dieser Sonderdruck ist für eine beschränkte Verteilung bestimmt. Die Wiedergabe des vorliegenden in „PLANTA“, Bd. 61, Heft 3 - 1964, 259-282 erschienenen Aufsatzes erfolgt mit freundlicher Genehmigung des Herausgebers. Bestellungen weiterer Exemplare sind an Springer-Verlag — 69 Heidelberg 1, Neuenheimer Landstrasse 28-30 (Deutschland), zu richten.

Ce tiré-à-part est exclusivement destiné à une diffusion restreinte. Il reprend, avec l'aimable autorisation de l'éditeur, un article publié dans « PLANTA », Bd. 61, Heft 3 - 1964, 259-282. Tout autre exemplaire de cet article doit être demandé à Springer-Verlag — 69 Heidelberg 1, Neuenheimer Landstrasse 28-30 (Deutschland).

Questo estratto è destinato esclusivamente ad una diffusione limitata. Esso è stato riprodotto, per gentile concessione dell'Editore, da « PLANTA », Bd. 61, Heft 3 - 1964, 259-282. Ulteriori copie dell'articolo debbono essere richieste a Springer-Verlag — 69 Heidelberg 1, Neuenheimer Landstrasse 28-30 (Deutschland).

Deze overdruk is slechts voor beperkte verspreiding bestemd. Het artikel is met welwillende toestemming van de uitgever overgenomen uit „PLANTA“, Bd. 61, Heft 3 - 1964, 259-282. Meer exemplaren kunnen besteld worden bij Springer-Verlag — 69 Heidelberg 1, Neuenheimer Landstrasse 28-30 (Deutschland).

EUR 947.d

REPRINT

TEIL I.

QUANTITATIVE PIGMENTUNTERSUCHUNGEN AN STRAHLENINDUZIERTEN CHLOROPHYLLMUTANTEN VON PISUM SATIVUM - I. DIE LETALMUTANTEN von W. GOTTSCHALK und F. MÜLLER (Universität Bonn).

Assoziation : Europäische Atomgemeinschaft - EURATOM,
Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw - I.T.A.L.

Arbeit erstellt beim Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn (Deutschland).

Association Nr. 003-61-5 BIAN.

Sonderdruck aus „Planta“, - Bd. 61, Heft 3 - 1964 - Seiten 259-282.

Es wurden die assimilatorisch wirksamen Farbstoffe von 26 röntgen-induzierten Letalmutanten der Species *Pisum sativum* analysiert. Hierbei wurden folgende Ergebnisse erhalten :

1. Die genetisch bedingte Variationsbreite des Materials, bezogen auf das Frischgewicht, umfasst im Hinblick auf die Gesamtchlorophyllmenge den Bereich von 0-141 % des Vergleichswerts der Ausgangsform. Für die Carotinoide liegen die entsprechenden Werte bei 8-141 %. Das Verhältnis von Chlorophyll a : b liegt zwischen 0,1 (Mutante 154 A) und 5,1 (Mutante 140 A).

2. Bei einigen chlorophyllhaltigen Letalmutanten wurde im Warburg-Apparat eine negative Assimilationsbilanz nachgewiesen. Die vorhandenen Chlorophyllmengen können also infolge der Anwesenheit der mutierten Gene für Assimilationszwecke nicht ausgenutzt werden.

3. Bei einer Gruppe von Letalmutanten ist in der Blattfolge am Stengel ein Gradient im Pigmentgehalt aufeinanderfolgender Blätter feststellbar. So sinkt der Chlorophyllgehalt des 5. und 6. Blattes bei der *lutescens*-Mutante 11 A auf etwa

EUR 947.d

REPRINT

PART I.

QUANTITATIVE PIGMENT STUDIES ON RADIATION-INDUCED CHLOROPHYLL MUTANTS OF PISUM SATIVUM - I. THE LETHAL MUTANTS by W. GOTTSCHALK and F. MÜLLER (Universität Bonn).

Association : European Atomic Energy Community - EURATOM,
Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw - I.T.A.L.

Work performed at the "Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität", Bonn (Germany).

Association No 003-61-5 BIAN.

Reprinted from "Planta", Vol. 61, No 3 - 1964 - pp. 259-282.

Analyses were carried out on the assimilatively effective pigments of 26 X-ray-induced lethal mutants of the species *Pisum Sativum*, the following results being obtained :

1. The genetically conditioned variation in the breadth of the material, referred to the gross weight, covers a range from 0 to 141 % of the reference value of the starting form in relation to the total quantity of chlorophyll. The corresponding values for the carotinoids are 8-141 %. The chlorophyll ratio a : b is between 0.1 (mutant 154 A) and 5.1 (mutant 140 A).

2. With the aid of the Warburg apparatus a negative assimilation balance was observed in some chlorophyll-containing lethal mutants. Because of the

EUR 947.d

REPRINT

PART I.

QUANTITATIVE PIGMENT STUDIES ON RADIATION-INDUCED CHLOROPHYLL MUTANTS OF PISUM SATIVUM - I. THE LETHAL MUTANTS by W. GOTTSCHALK and F. MÜLLER (Universität Bonn).

Association : European Atomic Energy Community - EURATOM,
Instituut voor Toepassing van Atoomenergie in de Landbouw - I.T.A.L.

Work performed at the "Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität", Bonn (Germany).

Association No 003-61-5 BIAN.

Reprinted from "Planta", Vol. 61, No 3 - 1964 - pp. 259-282.

Analyses were carried out on the assimilatively effective pigments of 26 X-ray-induced lethal mutants of the species *Pisum Sativum*, the following results being obtained :

1. The genetically conditioned variation in the breadth of the material, referred to the gross weight, covers a range from 0 to 141 % of the reference value of the starting form in relation to the total quantity of chlorophyll. The corresponding values for the carotinoids are 8-141 %. The chlorophyll ratio a : b is between 0.1 (mutant 154 A) and 5.1 (mutant 140 A).

2. With the aid of the Warburg apparatus a negative assimilation balance was observed in some chlorophyll-containing lethal mutants. Because of the

10 % des Vergleichswertes des 1. Blattes ab. Andererseits lässt sich bei der *virescens*-Form 200 A beim Vergleich des 1. und 2. Blattpaares ein Anstieg der Chlorophyllmenge auf das Zehnfache nachweisen.

4. Bei einigen Mutanten ist die Chlorophyllbildung licht- bzw. temperaturabhängig. So tritt der charakteristische Gradient der Mutante 11 A nur bei normalen Insulationsverhältnissen auf; bei Schattenkultur wird auch in den höher inserierten Blättern Chlorophyll gebildet. Die temperaturlabile Mutante 159 bildet oberhalb von 18° C Chlorophyll und ist fertil. Unterhalb dieses Schwellenwertes ist kaum Chlorophyllbildung möglich, die Pflanzen sind letal geschädigt. Bei beiden Mutanten bleibt das gebildete Chlorophyll erhalten, wenn man die Pflanzen Bedingungen aussetzt, unter denen eine Neubildung von Chlorophyll nicht möglich ist.

5. In der Diskussion werden die Beziehungen zwischen Letalität und Chlorophylldefekt behandelt. Aus dem Vergleich fertiler und letaler Mutanten folgt, dass ein Chlorophyllgehalt von etwa 10 % des Vergleichswerts normal grüner Erbsen prinzipiell für die Durchführung der Ontogenese bis zur Samenreife ausreicht. Bei der Mehrzahl aller chlorophyllgeschädigten Letalmutanten ist die Letalwirkung folglich nicht allein auf den Chlorophyllmangel zurückzuführen. Die Verbindung von Chlorophylldefekt und Letalwirkung dürfte teils auf Pleiotropie der mutierten Gene, teils auf den Ablauf von Defizienzen zurückzuführen sein.

presence of the mutated genes, therefore, the available chlorophyll cannot be used for assimilation purposes.

3. In one group of lethal mutants a gradient can be observed in the pigment content of successive leaves on the stalk. In the fifth and sixth leaves of the lutescens mutant 11 A, for instance, the chlorophyll content drops to about 10 % of the reference value for the first leaf. Comparison of the first and second pair of leaves in the virescens form 200 A, on the other hand, indicates that the chlorophyll content increases by a factor of 10.

4. In some mutants the chlorophyll formation is light- and/or temperature-dependent. The characteristic gradient in the mutant 11 A, for example, only occurs under normal isolation conditions, while in the case of plants cultivated in the shade chlorophyll is also formed in the leaves inserted higher up. The temperature-labile mutant 159 forms chlorophyll above 18° C and is fertile, but below this threshold value chlorophyll formation is hardly possible, the plants are lethally damaged. In both mutants the chlorophyll formed is preserved if the plants are exposed to conditions under which a further formation of chlorophyll is not possible.

5. The discussion deals with the correlation between lethality and chlorophyll defect. Comparison of fertile and lethal mutants shows that a chlorophyll content of about 10 % of the reference value for normal green peas is usually sufficient to permit ontogenesis up to maturation. In the majority of all chlorophyll-damaged lethal mutants the lethal effect is therefore not due solely to the chlorophyll deficiency. The combination of chlorophyll defect and lethal effect is probably due partly to pleiotropy of the mutated genes and partly to the effects of deficiencies.

presence of the mutated genes, therefore, the available chlorophyll cannot be used for assimilation purposes.

3. In one group of lethal mutants a gradient can be observed in the pigment content of successive leaves on the stalk. In the fifth and sixth leaves of the lutescens mutant 11 A, for instance, the chlorophyll content drops to about 10 % of the reference value for the first leaf. Comparison of the first and second pair of leaves in the virescens form 200 A, on the other hand, indicates that the chlorophyll content increases by a factor of 10.

4. In some mutants the chlorophyll formation is light- and/or temperature-dependent. The characteristic gradient in the mutant 11 A, for example, only occurs under normal isolation conditions, while in the case of plants cultivated in the shade chlorophyll is also formed in the leaves inserted higher up. The temperature-labile mutant 159 forms chlorophyll above 18° C and is fertile, but below this threshold value chlorophyll formation is hardly possible, the plants are lethally damaged. In both mutants the chlorophyll formed is preserved if the plants are exposed to conditions under which a further formation of chlorophyll is not possible.

5. The discussion deals with the correlation between lethality and chlorophyll defect. Comparison of fertile and lethal mutants shows that a chlorophyll content of about 10 % of the reference value for normal green peas is usually sufficient to permit ontogenesis up to maturation. In the majority of all chlorophyll-damaged lethal mutants the lethal effect is therefore not due solely to the chlorophyll deficiency. The combination of chlorophyll defect and lethal effect is probably due partly to pleiotropy of the mutated genes and partly to the effects of deficiencies.

Aus dem Institut für landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn

QUANTITATIVE PIGMENTUNTERSUCHUNGEN
AN STRAHLENINDUZIERTEN CHLOROPHYLLMUTANTEN
VON *PISUM SATIVUM*

I. DIE LETALMUTANTEN

Von

W. GOTTSCHALK und F. MÜLLER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Februar 1964)

A. Einleitung

In Mutationsexperimenten nehmen Chlorophyllmutanten in der Regel den zahlenmäßig höchsten Anteil aller erfaßbaren Mutationstypen ein. Trotz der ungeheuren Ausweitung der experimentellen Mutationsforschung, die bei günstigen Objekten zum Aufbau ausgedehnter Sortimente mit Hunderten, z. T. mit Tausenden von Mutanten geführt hat, stehen wir noch immer am Anfang der Analyse der Zusammensetzung bestimmter Genome. Wir können noch nicht abschätzen, wie groß die Anzahl der auf dem Chlorophyllsektor wirksamen Gene ist, müssen jedoch annehmen, daß bei jeder höheren Pflanze ein recht beträchtlicher Teil aller überhaupt vorhandenen Gene in irgendeiner Weise auf die Bildung und Funktion der assimilatorischen Pigmente Einfluß nimmt. So sind im Rahmen umfangreicher Mutationsversuche an *Hordeum* allein von EHRENBERG, GUSTAFSSON und LUNDQUIST (1961) etwa 6400 Chlorophyllmutanten erfaßt worden. Selbst wenn wir berücksichtigen, daß im Verlauf dieser Versuche viele Gene mehrmals mutiert sein dürften, so zeigt dieses Beispiel doch in eindrucksvoller Weise, wie vielgestaltig und kompliziert die genphysiologischen Grundlagen des Chlorophyllsektors in seiner Gesamtheit sein mögen.

In morphologischer Beziehung beanspruchen die Chlorophyllmutanten wegen der geringen Spezifität ihrer Anomalien zumeist wenig Interesse. In Verbindung mit Pigmentanalysen eröffnen sie jedoch interessante Einblicke in eine Fülle physiologischer Probleme des Assimilationsgeschehens. Es sind in diesem Zusammenhang zu nennen:

a) die Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt und Assimilationsleistung, Vitalität, Fertilität;

b) der Einfluß der Verschiebung des gegenseitigen Mengenverhältnisses von Chlorophyll a : b bzw. des völligen Ausfalls einer der beiden Komponenten auf die Assimilationsleistung;

c) die Abhängigkeit der Chlorophyllsynthese von bestimmten äußeren und inneren Faktoren;

d) die Beziehungen zwischen Chlorophylldefekt und Letalität bei letalen Chlorophyllmutanten;

e) die vielfältigen Verknüpfungen der Chlorophyllsynthese mit anderen physiologischen und morphogenetischen Prozessen im Organismus infolge der Pleiotropie derartiger Gene.

Schließlich besteht bei zunehmender Vervollkommnung der biochemischen Methodik die Möglichkeit, genetisch bedingte Stoffwechselblocks innerhalb des Gesamtablaufs der Photosynthese zu lokalisieren und damit Beiträge zur Genphysiologie und zum biochemischen Mechanismus dieses Prozesses zu liefern.

Einige der eben aufgeführten Fragestellungen werden in der vorliegenden Arbeit behandelt, wobei wir im I. Teil die *Letalmutanten* besprechen wollen, während der II. Teil den *fertilen* und *sterilen Formen* vorbehalten ist. Es wird gezeigt werden, daß bei der überwiegenden Mehrzahl aller Chlorophyllmutanten unseres Sortiments im Hinblick auf die Pigmentverhältnisse kein prinzipieller Unterschied zwischen fertilen, sterilen und letalen Formen besteht. Wenn wir bei der Publizierung unserer Befunde die eben erwähnte Zweiteilung vorgenommen haben, so soll damit nicht eine Sonderstellung der letalen Chlorophyllmutanten demonstriert werden.

Über die Pigmentverhältnisse bei Chlorophyllmutanten liegt bereits eine umfangreiche Literatur vor, die bei RÖBBELEN (1957) und EGGLE (1960) eingehend zitiert ist. Das von uns verwendete Objekt *Pisum sativum* ist in den vergangenen Jahrzehnten mutationsgenetisch intensiv bearbeitet worden. Hierbei sind vornehmlich von BLIXT, EHRENBURG und GELIN nach Anwendung von Röntgenstrahlen, Neutronen und mutagenen Chemikalien Hunderte von Chlorophyllmutanten erhalten worden (BLIXT, EHRENBURG und GELIN 1958, 1960, GELIN, EHRENBURG und BLIXT 1961, GELIN 1960). In einer zusammenfassenden Darstellung hat BLIXT (1961) unter Verwendung des von LAMPRECHT (1960) publizierten nomenklatorischen Systems eine Klassifizierung und Beschreibung aller von *Pisum* bekanntgewordenen Chlorophyllmutanten gegeben. Bezüglich der Literatur sei auf diese Arbeit verwiesen. Trotz des reichlich vorhandenen Mutantenmaterials sind bei *Pisum* bisher noch keine Pigmentanalysen durchgeführt worden. Im Rahmen unserer strahlengenetischen Versuche haben wir insgesamt 176 Chlorophyllmutanten erhalten, von denen 26 Letalmutanten im vorliegenden I. Teil unserer Arbeit berücksichtigt sind.

B. Methodischer Teil

Versuchsmaterial und Versuchsanordnung

Es wurden lufttrockene Samen der Handelssorte „Dippes gelbe Viktoria“ von *Pisum sativum* mit Röntgendosen von 5–15 kr in Intervallen von jeweils 2 kr

bestrahlt. Die Bestrahlungen wurden mit einer Apparatur vom Typus MG 150 der Firma Müller, Hamburg, ohne Verwendung von Filtern durchgeführt (durchschnittliche Dosisausbeute etwa 100 r/min bei 150 kV, 20 mA und einem Focusabstand von 50 cm). Die für die Analysen verwendeten Chlorophyllmutanten entstammen der X_4 — X_6 -Generation unserer strahlengenetischen Versuche; die Pigmentanalysen wurden in den Jahren 1961—1963 durchgeführt. Das im Freiland aufgezoogene Material wurde an Maschendrahtzäunen, das Gewächshausmaterial in Mitscherlich-Gefäßen kultiviert. Während die fertilen Chlorophyllmutanten über homozygotes Saatgut unmittelbar vermehrt werden konnten, sind die sterilen und letalen Formen aus heterozygoten Mutterpflanzen alljährlich neu gewonnen worden.

Erwartungsgemäß konnten weder im Gewächshaus noch im Freiland gleichförmige Kulturbedingungen geschaffen werden. Die empirischen Daten der Mutanten wurden daher auf vergleichbares Kontrollmaterial von Individuen unserer Ausgangsform bezogen, die am jeweiligen Standort der Mutanten aufgewachsen waren. Bei der Zählung der Internodien blieben das Epikotyl sowie das Stengelglied zwischen den beiden Niederblättern unberücksichtigt. Von jeder Mutante wurden mindestens drei Pigment-Einzelanalysen durchgeführt, hieraus wurden die Mittelwerte errechnet. Das Blattmaterial für die Einzelanalysen wurde gut gemischt, um zufällige Unterschiede im Pigmentgehalt zwischen Nebenblättern und Fiedern, zwischen Blättern verschiedener Nodien, u. U. auch Unterschiede in der Pigmentverteilung innerhalb eines Blattes auszugleichen. Bei einigen Mutanten treten derartige Unterschiede konstant auf und sind als Charakteristika der Genwirkung anzusehen. In diesen Fällen wurden die unterschiedlich gefärbten Organe getrennt analysiert.

Infolge der geringen Blattflächen und unterschiedlichen Blattgrößen unserer Versuchsobjekte war es nicht zweckmäßig, die Blattfläche als Bezugssystem zu wählen. Wir verwendeten für unsere Berechnungen vielmehr das Frischgewicht. Daneben wurden noch Trockengewichtsbestimmungen durchgeführt, die uns jedoch nur einen Überblick über die von den verschiedenen Mutanten produzierte Trockenmasse vermitteln sollten. Als Bezugsgröße brachten sie gegenüber dem Frischgewicht keine Vorteile.

Extraktion des Pflanzenmaterials. Frische, voll turgeszente Blätter wurden unmittelbar nach dem Abschneiden gewogen und im Mörser mit 80%igem wäßrigen Aceton (p. A. Merck) und einer kleinen Menge Seesand homogenisiert. Ein Zusatz von einer Spatelspitze $CaCO_3$ diente zum Neutralisieren der Pflanzensäuren. Der Acetonextrakt wurde abfiltriert. Hierauf wurden der Gewebebrei und das verwendete Filter bis zur Farblosigkeit mit 80%igem Aceton gewaschen. Der vereinte Acetonextrakt wurde in einem Mischzylinder mit 80%igem Aceton auf ein Volumen von 100 ml aufgefüllt. Für diese Arbeiten war eine Abdunkelung des Raumes notwendig, da Sonnenlicht oder starkes diffuses Tageslicht in relativ kurzer Zeit zu einer sichtbaren Zerstörung der Pigmente führt [vgl. NAGEL (1939) und andere Autoren].

Quantitative Pigmentbestimmung. Im Spektralphotometer Zeiss M4G2 wurden in Glasküvetten (Schichtdicke 1 cm) die Extinktionswerte der frisch bereiteten, klaren Acetonextrakte bestimmt; die Chlorophylle wurden bei 662 und 644 μm photometriert. Bei diesen Wellenlängen ist die Absorption der Carotinoide nicht störend. Für die Carotinoide wurde die Extinktion bei 440 μm gemessen. Der Berechnung der Pigmentkonzentrationen wurden die spezifischen Extinktionskoeffizienten für 80%iges Aceton von MACKINNEY (1941) sowie von SMITH und BENTEZ (1955) zugrunde gelegt (vgl. auch HOLM 1954). Mittels dieser Koeffizienten kann man über Gleichungen, die sich vom Lambert-Beerschen Gesetz ableiten, folgende Beziehungen aufstellen, mit deren Hilfe sich die Konzentrationen von Chlorophyll a, Chlorophyll b und der Carotinoide in γ Pigment pro ml Extrakt berechnen lassen:

$$C_{\text{Chl. a}} = 9,78 \cdot E_{662} - 0,99 \cdot E_{644},$$

$$C_{\text{Chl. b}} = 21,4 \cdot E_{644} - 4,65 \cdot E_{662},$$

$$C_{\text{Carot.}} = 4,69 \cdot E_{440} - C_{(\text{Chl. a} + \text{Chl. b})} \cdot 0,268.$$

Die Absorptionsmaxima der einzelnen gelben Pigmente liegen so nahe beieinander, daß die Carotinoide und Xanthophylle nur gemeinsam bestimmt werden können. Eine Trennung dieser Farbstoffe war daher nur mit chromatographischen Methoden möglich (MÜLLER unpubl.). Vor der Durchführung der spektralphotometrischen Untersuchungen in einer mit Wasser mischbaren Flüssigkeit war es notwendig, sich durch Papierchromatographie davon zu überzeugen, daß in unserem Versuchsmaterial keine wasserlöslichen Pigmente (Flavone und Anthocyane) vorkommen, die die Meßwerte verfälscht hätten.

C. Experimenteller Teil

Im Rahmen unserer strahlengenetischen Versuche an *Pisum sativum* sind bei einer Gesamtzahl von etwa 500 Mutanten insgesamt 176 Formen mit abweichender Grünfärbung aufgetreten. Hiervon wurden 79 im Hinblick auf die quantitativen und qualitativen Verhältnisse ihrer Pigmente analysiert, und zwar 26 letale und 53 fertile bzw. sterile Formen. Die Farbskala reicht von hellgelben, chlorophyllfreien Mutanten über Formen mit graduell zunehmendem Chlorophyllgehalt bis zu Mutanten, die intensiver gefärbt sind als die Ausgangsform. In der Literatur sind für *Pisum* vereinzelt auch rein weiße Mutanten beschrieben worden, die offenbar überhaupt keine Pigmente enthalten (FRUWIRTH 1920, RASMUSSEN 1929, LUTKOV 1937, LAMPRECHT 1952, VON ROSEN 1957, BLIXT 1961). Auch in unseren Versuchen sind in Winteraussaaten im Gewächshaus drei Individuen eines derartigen Mutationstypus herausgespalten; das mutierte Gen ist jedoch verlorengegangen, so daß uns die Mutanten für Analysen nicht zur Verfügung standen. Gemessen an der Zahl gelber, gelbgrüner und hellgrüner Mutanten ist die bisher bekannte Zahl weißer Formen auffallend gering. Offenbar sind im Genom der Species *Pisum sativum* nur wenige Gene vorhanden, die im recessiven Zustand eine völlige Blockierung der Synthese aller assimilatorischen Farbstoffe verursachen.

In Abb. 1 ist die genetisch bedingte Variationsbreite des Chlorophyllgehalts unseres Materials graphisch dargestellt. Für die Kurven wurde jeweils die Gesamtchlorophyllmenge einer jeden analysierten Mutante verwendet, bezogen auf den Vergleichswert der Ausgangsform = 100%. Die Mutanten sind in der Reihenfolge steigender Chlorophyllmengen geordnet. Bei den Letalmutanten variiert der Chlorophyllgehalt von Null (Mutanten 34 E, 154 B, 155 A) bis 141,4% des Vergleichswertes der Stammform (Mutante 404 B). Für die Gruppe der fertilen und sterilen Formen liegen die Werte im Bereich von 12,2 (Mutante 150 A) bis 107,3% (Mutante 20 C).

Die chlorophyllgeschädigten Letalmutanten unseres Sortimentes sind relativ merkmalsarm. Für ihre morphologische Charakterisierung

können Anzahl und Länge der Internodien, der Wachstumsrhythmus des Stengels, Verzweigungsgrad, Blattgröße, ferner Lebensdauer sowie die im Organismus erkennbaren Veränderungen vor dem Absterbeprozess verwendet werden. In Einzelfällen treten darüber hinaus noch spezifische Anomalien auf, die zu einer weiteren Charakterisierung der Genwirkung beitragen. Eine eingehende Darstellung der morphologischen Verhältnisse ist an anderer Stelle erfolgt (GOTTSCHALK 1964). In der vorliegenden Arbeit ist jeweils nur eine kurze Beschreibung der analysierten Mutanten gegeben. Das Schwergewicht liegt dabei auf dem Grad des

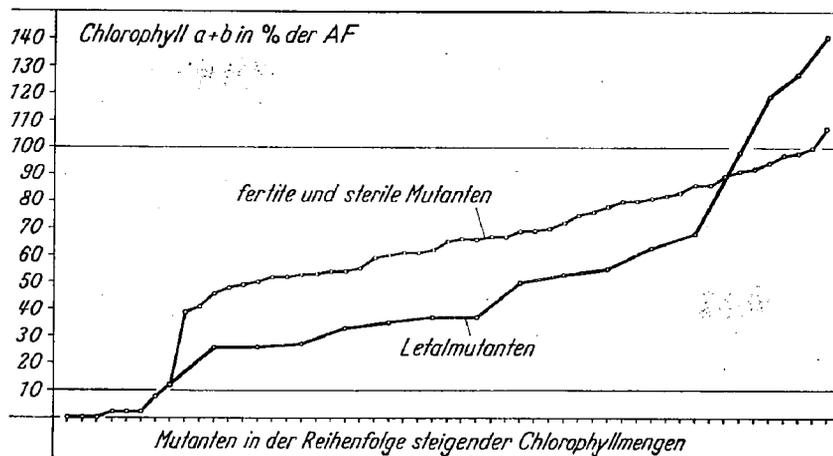


Abb. 1. Der Vergleich des Chlorophyllgehalts fertiler und letaler Mutanten von *Pisum sativum*

Chlorophylldefekts und den hieraus resultierenden Folgen für die Entwicklung der betreffenden Organismen. Der Pigmentgehalt der analysierten Letalmutanten ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Als ordnendes Prinzip wurde wiederum der steigende Gehalt an Chlorophyll a + b verwendet (Spalte 5). Den Mittelwerten für Chlorophyll a, b und den Carotinoiden wurden jeweils die mittleren Fehler zugeordnet, die bei einigen Mutanten sehr hoch sind (etwa der Nummer 149 A). Die Streuung der Einzelwerte, die zum jeweiligen Mittelwert vereinigt worden sind, dürfte auf die in manchen Fällen unvermeidbare Inhomogenität des Analysenmaterials zurückzuführen sein. So können schon geringe zufällige Schwankungen im Pigmentgehalt zweier Blätter der gleichen Pflanze oder von vergleichbaren Blättern verschiedener Individuen des gleichen Mutationstypus zu stärker variierenden Werten führen. Für die Mutanten 112D, 154 A, 200 A und 440 C sind in der Tabelle keine mittleren Fehler angegeben, weil bei diesen Formen bestimmte Gradienten im Pigmentgehalt aufeinanderfolgender Blätter bzw. spezifische Degenerationserscheinungen auftreten (Näheres S. 268).

Tabelle 1. Übersicht über den Pigmentgehalt von 24 Letalmutanten unseres Sortiments
 Die Mutanten sind nach steigendem Gesamtchlorophyllgehalt geordnet. Für die Analysen wurde jeweils das 1.—3. Laubblatt verwendet.

Mutante	Pigmentgehalt (γ Pigment/g Frischgewicht)			Gesamt-pigmentgehalt		Relativer Pigmentgehalt		Pigmentgehalt in Prozent der Pigmente der NF			Trocken-gewicht in Prozent des Frisch-gewichtes
	Chlor. a 2	Chlor. b 3	Carot. 4	a + b 5	a + b + c 6	a : b 7	(a + b) : c 8	a + b 9	Carot. 10	a + b + c 11	
155A			51 ± 1,0	51					8,8	8,8	8,48
34E			51 ± 7,4	51					8,8	8,8	9,86
154B			87 ± 18,8	87					15,0	15,0	12,94
159		12 ± 3,0	47 ± 4,8	22	69	0,83	0,47	1,6	8,1	3,3	10,06
128A	10 ± 3,0	11 ± 2,4	47 ± 0,4	22	69	1,00	0,58	2,1	8,1	3,3	14,11
154A	3	29	55	32	87	0,10	0,52	7,7	9,5	4,2	10,27
200A	83	33	98	116	214	2,52	1,18	17,0	17,0	10,2	10,17
113	130 ± 4,7	57 ± 6,3	62 ± 4,6	187	449	2,28	3,02	12,4	10,7	21,4	12,58
149A	291 ± 33,0	100 ± 23,3	190 ± 7,0	391	581	2,91	2,06	25,9	32,9	27,8	10,04
440C	284	113	203	397	600	2,51	1,95	26,3	35,2	28,7	10,17
107A	266 ± 9,6	144 ± 13,1	211 ± 8,5	410	621	1,85	1,94	27,1	36,6	29,7	9,87
62A	328 ± 13,0	168 ± 12,5	242 ± 4,0	496	738	1,95	2,05	32,8	41,9	35,3	9,34
34A	416 ± 13,5	116 ± 4,0	270 ± 5,0	532	802	3,59	1,97	35,2	46,8	38,4	9,09
180B	447 ± 10,7	105 ± 2,0	263 ± 9,4	552	815	4,26	2,10	36,5	45,6	39,0	9,61
160	379 ± 7,5	180 ± 18,5	279 ± 2,6	559	838	2,11	2,40	37,0	48,4	40,1	10,69
112D	529	220	320	749	1069	2,40	2,34	49,5	55,5	51,2	10,75
134A	600 ± 3,3	195 ± 20,2	346 ± 9,2	795	1141	3,08	2,30	52,6	60,0	54,6	10,95
140A	693 ± 13,5	135 ± 2,6	413 ± 14,6	828	1341	5,13	2,00	54,8	71,6	64,2	9,48
1A	745 ± 22,9	208 ± 18,9	406 ± 3,2	953	1359	3,58	2,35	63,0	70,4	65,1	11,36
120A	832 ± 9,5	192 ± 3,0	403 ± 15,5	1024	1427	4,33	2,54	67,8	69,7	68,3	16,20
68E	1180 ± 7,8	299 ± 4,2	637 ± 2,0	1479	2116	3,95	2,32	97,8	110,4	70,8	20,49
153A	1399 ± 21,1	394 ± 12,2	746 ± 8,0	1793	2539	3,55	2,40	118,6	129,3	121,5	20,67
136A	1555 ± 7,0	359 ± 0,7	705 ± 2,0	1914	2619	4,33	2,71	126,6	122,2	125,4	17,75
404B	1735 ± 21,2	404 ± 3,6	811 ± 10,1	2139	2950	4,29	2,64	141,4	140,6	140,7	17,81
NF	1198 ± 6,3	314 ± 7,5	577 ± 8,6	1512	2089	3,82	2,62				13,07

1. Die gelben Letalmutanten

Von den 26 analysierten Letalmutanten weisen 8 eine hell- bis goldgelbe Färbung auf, sie sind folglich nach der Nomenklatur von GUSTAFSSON (1940) der Gruppe der *xantha*-Typen zuzuordnen. Ihre Aufzucht unter Freiland- und Gewächshausbedingungen rechtfertigt eine Unterteilung dieser morphologisch einheitlichen Gruppe.

Die Mutanten 34E, 154B und 155A sind sowohl bei Freiland- als auch bei Gewächshausanzucht völlig chlorophyllfrei. Auch papier- und dünn-schichtchromatographisch konnte bei ihnen kein Chlorophyll nachgewiesen werden (MÜLLER 1964)¹. Die Menge der Carotinoide ist stark herabgesetzt und liegt in der Größenordnung von 9—15% der Vergleichswerte der Ausgangsform (Tabelle 1).

Die Mutanten 128A, 154A und 159 besitzen bei Freilandaufzucht in den unteren beiden Blättern etwas Chlorophyll, wobei das Mengenverhältnis von a : b bei allen 3 Formen stark zugunsten der gelbgrünen Komponente verschoben ist. In ganz extremer Weise gilt dies für die Mutante 154A (a : b = 0,10). Die gelbe Grundfarbe der Blätter dieser Form stimmt praktisch mit dem Farbton der chlorophyllfreien Mutanten überein, es lassen sich jedoch in den Fiederspitzen bereits mit bloßem Auge geringe Chlorophyllmengen erkennen. Die höher inserierten Blätter der oben genannten Genotypen weisen keine grünen Farbstoffe mehr auf. Im Gewächshaus ist ein wesentlich höherer Chlorophyllgehalt feststellbar. Assimilationsmessungen mit der Warburg-Apparatur haben gezeigt, daß die Mutanten 154A und 159 unter bestimmten Bedingungen Sauerstoffmengen produzieren, die in der Größenordnung der Vergleichswerte der Ausgangsform liegen (Abb. 2). Die erstgenannte Form ist sogar zur Durchführung einer annähernd normalen Ontogenese bis zur Samenreife befähigt. Nach Freilandaufzucht hingegen läßt sich bei den Individuen der gleichen Mutationstypen im Warburg-Apparat keine Sauerstoffausscheidung nachweisen. Die Abhängigkeit der Chlorophyllbildung von bestimmten Umweltfaktoren wird in Abschnitt 5 der vorliegenden Arbeit näher behandelt.

2. Die hellgrünen Formen

Neben der gelben Gruppe ist in unseren Versuchen eine größere Anzahl von Letalmutanten aufgetreten, deren Farbskala von einem ganz hellen Gelbgrün bis zu einem Ton reicht, der kaum noch von der Normalform zu unterscheiden ist. Die Mutanten 1A, 62A, 107A, 134A, 140A

¹ MOTHES und BAUDISCH (1958) haben bei spektralphotometrischen Messungen an chlorophyllfreien Formen festgestellt, daß die Anwesenheit von gelben Pigmenten geringe Extinktionswerte im Bereich der Chlorophylle vortäuscht. Eine chromatographische Überprüfung der spektralphotometrischen Befunde ist bei derartigen Mutanten daher unbedingt notwendig.

und 160 sind außer im Pigmentgehalt noch in der Anzahl und Länge ihrer Internodien sowie im Hinblick auf den Zeitpunkt der effektiven Letalphase im Sinne von HADORN (1955) zu unterscheiden, sie sind im übrigen aber relativ merkmalsarm. Ihr Chlorophyllgehalt liegt zwischen 26 und 63% des Vergleichswertes der Stammform; das Verhältnis von Chlorophyll a : b ist bei einigen Formen dieser Gruppe zugunsten von Chlorophyll b verschoben.

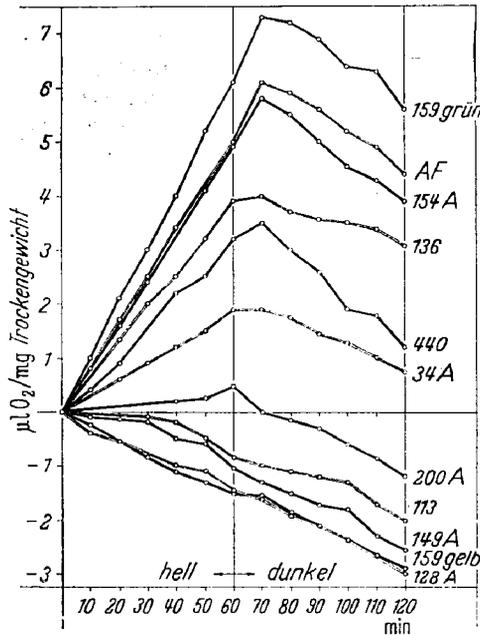


Abb. 2. Sauerstoffabgabe bzw. -verbrauch von Blättern der Ausgangsform und einigen Letalmutanten im Licht/Dunkelversuch im Warburg VL (Fa. Braun, Messungen). Puffer: 4 ml pro Gefäß m/10 $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$, 1 : 9. Menge des Blattmaterials pro Gefäß: ca. 100 mg

Einzelheiten können der Tabelle 1 entnommen werden. Die Mutanten 149 A und 160 entfalten trotz eines Chlorophyllgehalts von 26 bzw. 36% und eines relativ normalen Mengenverhältnisses von Chlorophyll a : b keine größeren Entwicklungspotenzen als die oben besprochenen chlorophyllfreien Mutanten; sie bilden nur 4—5 Internodien aus. Messungen im Warburg-Apparat haben für die Mutante 149 A eine negative Assimilationsbilanz erbracht (Abb. 2). Wir müssen folglich annehmen, daß der Chlorophyllmangel nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit der Letalität der Mutante steht. Der Letalfaktor bewirkt vielmehr, daß die Mutante ihre verfügbaren Chlorophyllmengen nicht zur Assimilation ausnützen kann. Es liegen offenbar analoge Verhältnisse wie bei einer Letalmutante von *Vicia faba* vor, bei der die biochemischen Ursachen des Defekts aufgeklärt werden konnten (HEBER und GOTTSCHALK 1963). Eine Deutung unserer Befunde wird im theoretischen Teil der Arbeit gegeben. Im Gegensatz zu den oben besprochenen Formen zeigen die Mutanten 107 A und 140 A eine deutlich größere Vitalität, die sich vornehmlich in einer Verschiebung der effektiven Letalphase und damit einer Verbesserung der Entwicklungspotenzen äußert. Die Pflanzen bilden im Durchschnitt 7—8 Internodien aus und erreichen mittlere Internodienlängen von 80—86% gleichalter Kontrollpflanzen.

Einige hellgrüne Letalmutanten sind durch eine größere Anzahl verschiedener Anomalien gekennzeichnet und lassen sich nicht zu Gruppen vereinigen. Sie seien im folgenden kurz charakterisiert:

Die Mutanten 149 A und 160 entfalten trotz eines Chlorophyllgehalts von 26 bzw. 36% und eines relativ normalen Mengenverhältnisses von Chlorophyll a : b keine größeren Entwicklungspotenzen als die oben besprochenen chlorophyllfreien Mutanten; sie bilden nur 4—5 Internodien aus. Messungen im Warburg-Apparat haben für die Mutante 149 A eine negative Assimilationsbilanz erbracht (Abb. 2). Wir müssen folglich annehmen, daß der Chlorophyllmangel nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit der Letalität der Mutante steht. Der Letalfaktor bewirkt vielmehr, daß die Mutante ihre verfügbaren Chlorophyllmengen nicht zur Assimilation ausnützen kann. Es liegen offenbar analoge Verhältnisse wie bei einer Letalmutante von *Vicia faba* vor, bei der die biochemischen Ursachen des Defekts aufgeklärt werden konnten (HEBER und GOTTSCHALK 1963). Eine Deutung unserer Befunde wird im theoretischen Teil der Arbeit gegeben. Im Gegensatz zu den oben besprochenen Formen zeigen die Mutanten 107 A und 140 A eine deutlich größere Vitalität, die sich vornehmlich in einer Verschiebung der effektiven Letalphase und damit einer Verbesserung der Entwicklungspotenzen äußert. Die Pflanzen bilden im Durchschnitt 7—8 Internodien aus und erreichen mittlere Internodienlängen von 80—86% gleichalter Kontrollpflanzen.

Mutante 180 B. Kleinblättrig, stark gestaucht. An den Rändern von Fiedern und Nebenblättern bräunlich gefärbte, abgestorbene Gewebepartien. Verhältnis von Chlorophyll a : b verschoben (Quotient = 4,26).

Mutante 440 C. Kleinblättrig, gestaucht. Frühzeitige Degenerationserscheinungen an Fiedern und Nebenblättern in Form eines partiellen Chlorophyllabbaus, der zu unterschiedlich großen, gelblichweißen Flecken führt. Im Warburg-Apparat schwächere Sauerstoffbildung gegenüber der Ausgangsform (Abb. 2).

Mutante 120 A. Schwacher Chlorophylldefekt, kleinblättrig. Extrem gestauchter, buschförmig verzweigter Wuchs; am Sproßaufbau reichlich Beiknospen beteiligt. Langlebig (8—11 Internodien). Entwicklungsgeschwindigkeit stark gedrosselt. Hohes Trockengewicht. Verhältnis von Chlorophyll a : b verschoben (Quotient = 4,33).

Mutante 113. Ganz hellgrün, kleinblättrig, extrem gestaucht. Entwicklungsgeschwindigkeit stark verlangsamt. Hohes Trockengewicht. Aktive plagiogeotrope Krümmung des zweiten Internodiums. Sauerstoffbilanz im Warburg-Apparat negativ (Abb. 2).

Angaben über den Pigmentgehalt dieser Mutanten sind ebenfalls in Tabelle I enthalten.

3. Die dunkelgrünen Letalmutanten

Die zwergförmigen Mutanten 68 E, 136 A, 153 A und 404 B sind durch eine auffallend dunkelgrüne Färbung gekennzeichnet. In den spektral-photometrischen Untersuchungen haben sich größere Pigmentmengen als bei der Stammform nachweisen lassen, ohne daß eine stärkere Verschiebung der Mengenverhältnisse der einzelnen Komponenten feststellbar war. Das Trockengewicht dieser Formen ist gegenüber den Kontrollwerten stark erhöht. Im Warburg-Apparat wurde nur die langlebige Mutante 136 A untersucht; ihre Sauerstoffbildung war etwas niedriger als diejenige der Stammform (Abb. 2). Die geringfügige Drosselung der Assimilationsleistung steht offenbar nicht mit der Letalität in Verbindung. Bis jetzt haben wir bei den Mutanten dieser Gruppe noch keine näheren Hinweise auf die physiologischen bzw. biochemischen Ursachen der Letalwirkung der mutierten Gene erhalten.

Mutanten mit erhöhten Chlorophyllmengen sind bereits von HIGHKIN (1950) für *Hordeum* und RÖBBELEN (1957) für *Arabidopsis* nachgewiesen worden; die Pigmentmengen lagen für beide Formen in der Größenordnung von 130—135% des Kontrollwerts und entsprechen damit etwa den Mutanten 136 A und 404 B unseres Sortiments. Es muß freilich damit gerechnet werden, daß unsere Analysenergebnisse der Ausgangsform und der kleinblättrigen, dunkelgrünen Mutanten mit ihrem erhöhten Trockengewicht — möglicherweise wegen eines unterschiedlichen anatomischen Aufbaus — nicht streng miteinander vergleichbar sind.

4. Letalmutanten mit ungleichmäßig verteiltem Pigmentgehalt

Das Kennzeichen einiger Letalmutanten unseres Sortiments besteht darin, daß trotz der kurzen Lebensdauer starke Unterschiede der

Pigmentmengen innerhalb des Blattes oder der Blattfolge am Organismus auftreten. So entsprechen die unteren beiden Blätter der Mutante 112D in ihrer Färbung nahezu den gleichalten Organen der Stammform, während das 3. Blatt bei hellgrüner Färbung wesentlich weniger Chlorophyll besitzt. Die Mutante ist folglich der Gruppe der *lutescens*-Formen zuzuordnen, wobei der Gradient trotz der geringen Blattzahl sehr deutlich in Erscheinung tritt. Ein besonders schönes Beispiel für einen derartigen Gradienten stellt die langlebige Letalmutante 11A dar. Ihre unteren drei Blätter unterscheiden sich im Pigmentgehalt nur unwesentlich von den Vergleichswerten der Ausgangsform. Das 4. Blatt ist hellgrün, das 5. gelbgrün gefärbt, die noch höher inserierten Blätter sind weißlich gelb. Der Chlorophyllgehalt der oberen Blätter sinkt bei normalen Insolationsbedingungen bis auf etwa 10% des Gehaltes gleichalter Blätter der Ausgangsform ab (die Verhältnisse sind in den Abb. 2 und 3 des zweiten Teiles der vorliegenden Arbeit in Verbindung mit analogen Gradienten fertiler Mutanten graphisch dargestellt). Die Mutante ist mit größter Wahrscheinlichkeit mit der von LAMPRECHT (1955, 1959) bearbeiteten *albina-terminalis*-Form von *Pisum* identisch. Die Pflanzen sterben nach Ausbildung von 7—10 Blättern ab.

Der umgekehrte Gradient tritt bei der Letalmutante 200A in Erscheinung. Die unteren Blätter dieser extrem gestauchten Form enthalten nur wenig, die höher inserierten wesentlich mehr Pigmente. Während der kurzen Ontogenese erfolgt ein starker Chlorophyllabbau von der Basis her. Die Ergebnisse getrennter Pigmentanalysen sind in Tabelle 2

Tabelle 2. Der unterschiedliche Pigmentgehalt der Letalmutante 200A in Blättern verschiedener Insertionshöhe

Material	Pigmentgehalt γ Pigment/g Frischgewicht			Gesamt- pigmentgehalt		Relativer Pigmentgehalt		Färbung der Blätter
	Chlor. a	Chlor. b	Carot.	a + b	a + b + Carot.	a:b	(a + b):Carot.	
Ausgangs- Form								
1.—4. Blatt	1198	314	577	1512	2089	3,82	2,62	dunkel- grün
Mut. 200A								
1.+2. Blatt	12	8	49	20	69	1,50	0,41	gelb
3.+4. Blatt	153	58	148	211	359	2,64	1,43	gelb- grün gefleckt

zusammengestellt. Nach Ausbildung von 4 Blättern (der maximalen Entwicklungskapazität dieser Organismen) war gegenüber der Ausgangsform zunächst generell ein starker Pigmentmangel feststellbar. Darüber hinaus enthielten die unteren beiden Blätter nur etwa ein Zehntel der

Chlorophyllmenge des 3. und 4. Blattes. Ähnliche, wenn auch nicht so starke Unterschiede sind für die Carotinoide nachweisbar. Als zusätzliche Anomalie ist noch eine starke Verschiebung des gegenseitigen Mengenverhältnisses der Chlorophylle zu den Carotinoiden zugunsten der gelben Komponenten realisiert. In der Warburg-Apparatur zeigte die Mutante eine negative Assimilationsbilanz (Abb. 2).

Als letzte Form dieser Gruppe ist schließlich noch die Mutante 34 A zu nennen. Die unteren Blätter dieser Pflanzen besitzen zu Beginn der kurzen Ontogenese relativ viel Chlorophyll, das auf gelbem Grunde fleckenhaft über die Spreite verteilt ist. Die Marmorierung ist so fein, daß eine getrennte analytische Auswertung der unterschiedlich gefärbten Partien nicht möglich ist. Die oberen Blätter besitzen mehr Chlorophyll und zeigen die Marmorierung in stark abgeschwächter Form. Der Effekt ist an den Fiedern wesentlich deutlicher erkennbar als an den Nebenblättern. Sehr bald setzt von der Basis her—von den Adern ausgehend—ein Chlorophyllabbau ein; die Pflanzen sterben nach Entfaltung von 4 bis 5 Blättern ab. Die Pigmentverteilung ähnelt in gewisser Beziehung den Verhältnissen der eben besprochenen Mutante 200 A, ist hier jedoch in genphysiologischer Beziehung offenbar noch komplizierter, denn es kommt zur Ausbildung von zwei Gradienten: es besteht eine Korrelation zwischen Pigmentmenge und Insertionshöhe des Blattes, außerdem treten innerhalb des Blattes, nämlich zwischen Fiedern und Nebenblatt, noch gesetzmäßige Unterschiede im Pigmentgehalt auf. Darüber hinaus kommt durch einen partiellen Chlorophyllabbau noch eine Marmorierung in strenger Abhängigkeit vom ontogenetischen Entwicklungsablauf zustande. Sie wirkt sich zwar in sehr charakteristischer Weise morphologisch in Form eines zusätzlichen Chlorophylldefekts aus, kann jedoch nicht unbedingt als Folge der Anwesenheit des mutierten Gens gedeutet werden. Möglicherweise handelt es sich hierbei um einen prämortalen physiologischen Abbauvorgang, der nicht mit dem Chlorophylldefekt in Verbindung steht.

5. Die Abhängigkeit des Pigmentgehaltes letaler Chlorophyllmutanten von Umweltfaktoren

Bei vielen grünen Pflanzen ist eine *Lichtabhängigkeit* der Chlorophyllsynthese feststellbar, ohne daß hierbei mutierte Gene wirksam werden. Bei den *photolabilen* Formen im Sinne von MONTFORT (1950; MONTFORT und KRESS-RICHTER 1950, MONTFORT, FELGNER und MÜLLER 1953) wird die Chlorophyllbildung oberhalb einer bestimmten Lichtintensität verhindert; die bereits vorhandenen Chlorophyllmoleküle werden durch den Einfluß des Lichtes zerstört. Bei einer ganzen Reihe verschiedener Species, die als *photostabil* anzusehen sind, sind jedoch Mutanten bekanntgeworden, deren Chlorophyllbildung ebenfalls lichtempfindlich ist.

Dies gilt für bestimmte Letalmutanten, bei denen die effektive Letalphase durch Verwendung niedriger Lichtintensitäten hinausgeschoben oder die Letalwirkung des Gens völlig verhindert werden kann. Befunde hierübereil gen vor für Mutanten von *Avena* (AKERMANN 1922), *Secale* (SIRKS 1929), *Zea* (DEMEREZ 1935, KOSKI und SMITH 1951, ANDERSON und ROBERTSON 1960), *Linum* (LEVAN 1944), *Lupinus* (TEDIN und HAGBERG 1952) und *Helianthus* (WALLACE und SCHWARTING 1954, WALLACE und HABERMANN 1959). Bei nichtletalen Mutanten kann die entsprechende Erscheinung in abgeschwächter Form auftreten [TEDIN und HAGBERG (1952) für *Lupinus*, STUBBE (1957) für *Lycopersicon*, RÖBBELEN (1957) für *Arabidopsis*, BERGFELD (1958) für *Antirrhinum*]. Sinngemäß das gleiche gilt auch für heterozygote Individuen der dominanten Letalmutante *xanthophyllous* von *Lycopersicon* (BUTLER und CHANG 1958). Bei den Carotinoiden scheinen im Hinblick auf die Lichtempfindlichkeit ganz entsprechende Verhältnisse vorzuliegen, wenn sie auch im allgemeinen etwas resistenter sind als die Chlorophylle (RÖBBELEN 1957, FALUDI-DANIEL und KELEMEN 1960). Ganz vereinzelt ist der umgekehrte Effekt, nämlich eine Förderung der Chlorophyllbildung mit zunehmender Lichtintensität, nachweisbar [BERGFELD (1958) für *Antirrhinum*]. Untersuchungen an Chlorophyllmutanten von *Lycopersicon* haben darüber hinaus gezeigt, daß der Ausprägungsgrad des Chlorophylldefekts auch von der Lichtqualität (BRIX 1955) sowie der Tageslänge abhängig sein kann (SAGROMSKY 1954). Für *Pisum sativum* hat LAMPRECHT (1960) bei einigen nichtletalen Mutanten eine Abhängigkeit der Chlorophyllbildung von der Lichtintensität feststellen können. Stärkere Wirkungen beschreiben RASMUSSEN (1938) und BLIXT (1961) für zwei Letalmutanten.

Gemessen an der großen Zahl der in den verschiedenen Sortimenten vorhandenen Chlorophyllmutanten ist die Anzahl lichtempfindlicher Formen äußerst gering. Nach eingehender Bearbeitung wird sich jedoch zeigen, daß ihr wirklicher Anteil wesentlich höher ist. Von unserem Material ist in diesem Zusammenhang vornehmlich die Mutante 11 A zu nennen. Der im vorigen Abschnitt für diese Mutante bereits beschriebene charakteristische Gradient im Chlorophyllgehalt aufeinanderfolgender Blätter (S. 268) tritt nur unter normalen Insolationsbedingungen, nicht aber bei Aufzucht der Pflanzen an sehr schattigen Standorten in Erscheinung. Sie entwickeln sich hier wie die nichtmutierten Vergleichspflanzen. Nach Überführung in normales Licht wird der für die Genwirkung spezifische Gradient bei den neu entfalteten Blättern rasch erkennbar.

Wir möchten den Chlorophylldefekt dieser Mutante nicht als „Photolabilität“ bezeichnen, weil dieser Begriff von MONTFORT et al. für ein Phänomen geprägt wurde, das nur teilweise mit der bei unserer Mutante realisierten Situation vergleichbar ist. Im Gegensatz zu den photolabilen Objekten im Sinne MONTFORTS wird bei den unteren Blättern der Mutante 11 A grundsätzlich Chlorophyll gebildet, das durch starke Belichtung keine Veränderung erfährt. Erst bei den höher inserierten Organen tritt ein graduell zunehmender Chlorophyllmangel in Erscheinung, der bei Schattenkultur verhindert werden kann. Ist in diesen Blättern aber Chlorophyll gebildet worden, so kann es durch später einwirkende höhere Lichtintensitäten nicht wieder zersetzt werden. Die Mutante verhält sich also teils wie eine photostabile, teils wie eine photolabile Form.

Auch die Letalmutante 34 A zeigt im Hinblick auf ihre Chlorophyllbildung eine deutliche Abhängigkeit von der Belichtung; sie reagiert auf sehr viel geringere Schwankungen der Lichtintensität als die eben behandelte Mutante 11 A. Bei Verwendung einiger Lagen lichtdämpfender Kunststoff-Folie war in den Nachkommenschaften heterozygoter Mutterpflanzen keine Spaltung erkennbar, während der mutierte Charakter der Homozygoten bereits 3 Tage nach Entfernung der Folien in Form des Chlorophylldefekts deutlich in Erscheinung trat. Schon im diffusen Licht normaler Gewächshäuser wird genügend Chlorophyll für eine bescheidene Ontogenese bis zur Blüten- und Samenbildung synthetisiert. Schließlich wurde auch bei den Mutanten 128 A und 200 A nach Gewächshauskultur eine deutliche Erhöhung der Pigmentmengen gegenüber der Freilandkultur festgestellt. Die wirksamen Außenfaktoren konnten bei diesen beiden Formen noch nicht ermittelt werden.

In Abb. 3 sind die Pigmentmengen der Mutanten 34 A, 128 A und 200 A sowie der Ausgangsform bei Anzucht im Gewächshaus (Gesamtlänge der Säulen) und im Freiland (unterer Teil der Säulen). Ordinate: Pigmentgehalt in Gamma je Gramm Frischgewicht. Linke und mittlere Säule jeweils Chlorophyll a und b, rechte Säule Carotinoide

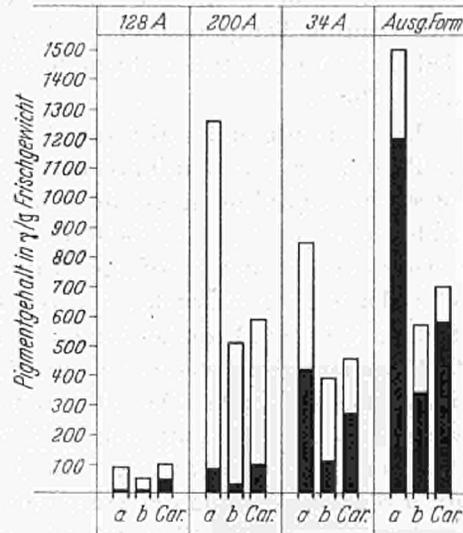


Abb. 3. Der Pigmentgehalt der Letalmutanten 128 A, 200 A und 34 A sowie der Ausgangsform bei Anzucht im Gewächshaus (Gesamtlänge der Säulen) und im Freiland (unterer Teil der Säulen). Ordinate: Pigmentgehalt in Gamma je Gramm Frischgewicht. Linke und mittlere Säule jeweils Chlorophyll a und b, rechte Säule Carotinoide

Neben dem Licht kann auch die *Temperatur* in hohem Maße für den Ausprägungsgrad des Chlorophylldefekts von Mutanten verantwortlich

sein. Bei derartigen „temperaturlabilen“ Formen wird die Chlorophyllbildung i. a. bei niederen Temperaturen stark eingeschränkt oder verhindert. Befunde hierüber liegen vor bei Mutanten von *Hordeum* (HALLQUIST 1923, COLLINS 1927, NYBOM 1955, HÄNSEL 1960, GAUL 1957, 1963), *Avena* (GASSNER 1915), *Zea* (WEIJER 1952, PINNEY und KAY 1954) und *Tagetes* (LITTLE, KANTOR und ROBINSON 1940). Bei *Arabidopsis* ist im Gegensatz hierzu eine Mutante bekannt, bei der der Chlorophyllmangel bei höheren Temperaturen (27°C) in Erscheinung tritt, während bei niederen Temperaturen normale Chlorophyllbildung stattfindet (LANGRIDGE 1955).

Die Individuen der Mutante 159 unseres Sortiments sind bei Aufzucht im Freiland gelbe Letalmutanten; sie besitzen zwar im Primärblatt geringe Chlorophyllmengen, die höher inserierten Blätter sind jedoch praktisch chlorophyllfrei (Tabelle 1). Nach Ausbildung von 4—5 Blättern sterben die Pflanzen infolge Nährstoffmangels ab. Bei Versuchen in Klimakammern¹ unter konstanten Lichtverhältnissen konnten wir feststellen, daß die Mutante bei einer Keim- und Anzuchttemperatur von 25°C keine gelben, sondern grüngefärbte Blätter mit normaler Assimilationsleistung bildet. Die Pflanzen entwickeln sich bis zur Samenreife weiter. Kultiviert man die in der 25°-Kammer angezogenen grünen Pflanzen nach Entfaltung von 5 Blättern bei 15°C weiter, so tritt unter der Einwirkung der veränderten Kulturbedingungen beim 6. Blatt ein starker Abfall des Chlorophyllgehalts in Erscheinung. Die noch später gebildeten Blätter sind nahezu chlorophyllfrei und entsprechen den Organen der Freilandpflanzen. Nach Anzucht bei 15°C gleichen die Pflanzen in ihrer Färbung den Individuen des Freilandversuchs. Überführt man die gelben Pflanzen in eine 25°-Kammer, so bildet sich in den neu entfalteten Blättern reichlich Chlorophyll. Für die Carotinoidbildung scheint eine ganz entsprechende Temperaturabhängigkeit zu bestehen. Einzelheiten können der graphischen Darstellung der Abb. 4 entnommen werden. Durch Verwendung von Temperaturschränken konnte der Bereich der wirksamen Temperatur inzwischen weiter eingeengt werden: bei 19°C kommt Chlorophyllbildung zustande, bei 17°C unterbleibt sie. Die Befunde entsprechen weitgehend den Beobachtungen, die PINNEY und KAY (1954) für eine Mutante von *Zea* publiziert haben: der Temperaturschwellenwert der Chlorophyllbildung wird für diese Form mit 16,5°C angegeben. Die Assimilationskurven der Mutante 159 nach Freiland- und Gewächshausaufzucht sind in Abb. 2 enthalten. Im ersteren Fall ist die Assimilationsbilanz negativ, im letzteren Falle (25°C) entspricht sie größenordnungsmäßig der Ausgangsform. Die Mutante kann

¹ Dem Direktor des Botanischen Instituts der Universität Bonn, Herrn Prof. Dr. W. SCHUMACHER, sind wir für sein freundliches Entgegenkommen sehr dankbar, die Einrichtungen seines Instituts benutzen zu können.

also nur unter Vorbehalt als Letalmutante bezeichnet werden, da es ohne Schwierigkeiten möglich ist, die Letalwirkung des mutierten Gens durch die Wahl geeigneter Kulturbedingungen zu unterbinden. Bei dieser Mutante wird nicht der Chlorophylldefekt als solcher und die damit verbundene Letalität vererbt. Vererbt wird vielmehr die Fähigkeit, oberhalb eines exakt feststellbaren Temperatur-Schwellenwertes

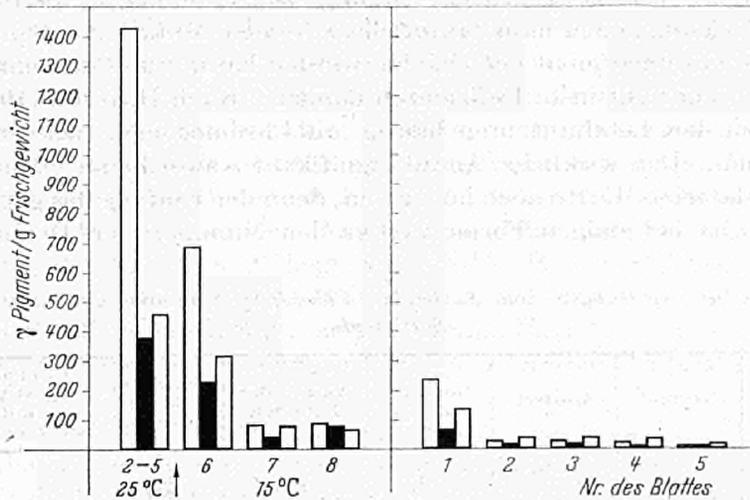


Abb. 4. Der Pigmentgehalt der Mutante 159 unter der Einwirkung verschiedener Temperaturen bei Aufzucht in Klimakammern. Linker Teil: Aufzucht bei 25°C (2. bis 5. Blatt), Weiterzucht bei 15°C (6. bis 8. Blatt). Rechter Teil: Aufzucht bei 15°C. In jeder Säule sind links und in der Mitte jeweils die Mittelwerte für Chlorophyll a und b, rechts der Wert für die Carotinoide in Gamma Pigment je Gramm Frischgewicht angegeben (Erläuterungen im Text)

die für *Pisum* normalen Pigmente zu bilden, während die Synthese dieser Substanzen unterhalb des Schwellenwertes unterbleibt.

Eine Deutung dieser Befunde soll erst nach Durchführung weiterer Experimente vorgenommen werden. Ein wichtiger Punkt für die Interpretation liegt darin, daß die unter günstigen Temperaturen gebildeten Chlorophyllmoleküle auch dann erhalten bleiben, wenn wir die Pflanzen ungünstigen Temperaturen aussetzen, bei denen keine Chlorophyllbildung möglich ist. Es besteht in dieser Beziehung eine prinzipielle Übereinstimmung zwischen der Temperaturabhängigkeit der Chlorophyllsynthese der Mutante 159 und der Lichtabhängigkeit der Pigmentbildung der Mutante 11 A.

6. Die Spaltungen in der X_3 — X_7 -Generation

Die Spaltungen der Letalmutanten wurden während der Aufzucht der X_3 — X_7 -Generation ermittelt; sie sind mit den notwendigen statistischen Angaben in Tabelle 3 zusammengestellt. In nur 12 Fällen liegen

die erhaltenen Daten noch im Fehlerbereich der 3:1-Spaltung, bei den übrigen 13 Mutanten ist ein unterschiedlich hohes Recessivendefizit nachweisbar, das bei einigen Formen ein sehr hohes Ausmaß erreicht. So liegt der Recessivenanteil der Mutanten 154 A und 154 B, die aus dem gleichen bestrahlten Embryo stammen, in der Größenordnung von nur 10—11%. Es kann als sicher angenommen werden, daß selbst diesen stark gestörten Erbgängen noch Vorgänge zugrunde liegen, die in genetischer Beziehung einer monofaktoriell spaltenden Mutation entsprechen, wobei im einzelnen nicht entschieden werden kann, ob es sich um Genmutationen oder kleinste Defizienzen handelt. Nach HADORN (1955) ist gerade bei den Letalmutanten häufig mit Chromosomenstückverlusten zu rechnen. Der wirkliche Anteil signifikant abweichender Mutanten unseres Materials dürfte noch höher sein, denn der Umfang des geprüften Materials ist bei einigen Formen (etwa den Nummern 112D und 160)

Tabelle 3. Die Spaltungen von 25 letalen Chlorophyllmutanten des untersuchten Sortiments

Nr. der Mutante	Normal	Mutiert	Gesamtzahl	Anzahl der Familien	Mutantenanteil in %	Grad der Übereinstimmung mit der 3:1-Spaltung ¹
1 A	91	31	122	10	25,4	—
11	923	237	1160	34	20,4	+++
34 A	749	193	942	48	20,5	++
62 A	116	31	147	11	21,1	—
68 E	41	14	55	4	25,5	—
107 A	221	71	292	10	24,3	—
112D	127	29	156	10	18,6	—
113	663	152	815	46	18,7	+++
120 A	880	262	1142	47	22,9	—
128 A	713	131	844	48	15,5	+++
134 A	217	62	279	18	22,2	—
136 A	672	195	867	34	22,5	—
140 A	1219	213	1432	73	14,9	+++
144 A	215	57	272	12	21,0	—
149 A	1547	308	1855	84	16,6	+++
153 A	156	53	209	10	25,4	—
154 A	841	107	948	43	11,3	+++
154 B	532	61	584	34	10,4	+++
155 A	182	29	211	12	13,7	+++
159	1144	348	1492	81	23,3	—
160	74	16	90	7	17,8	—
180 B	397	98	495	22	19,8	++
200 A	231	49	280	15	17,5	++
404 B	191	46	237	10	19,4	+
440 C	168	38	206	7	18,4	+
Summe	12301	2831	15132	730	18,7	+++

¹ Es bedeuten: — Abweichung nicht signifikant; + Abweichung signifikant, $0,05 > P > 0,01$; ++ Abweichung signifikant, $0,01 > P > 0,001$; +++ Abweichung signifikant, $P < 0,001$.

relativ gering, so daß selbst starke Abweichungen von den Erwartungswerten statistisch noch mit der Annahme einer 3 : 1-Spaltung verträglich sind.

Die Gesamtsplaltung aller berücksichtigten Letalmutanten beträgt nach Auswertung von 730 spaltenden Familien 12301 normal : 2831 mutiert, das entspricht einem Recessivenanteil von nur 18,3%. Dieser Wert liegt weit außerhalb der Signifikanzgrenzen. Die naheliegende Annahme, dieses Defizit sei auf eine frühzeitige Zygoteneliminierung zu Beginn der Ontogenese — also auf eine Vorverlegung der effektiven Letalphase — zurückzuführen, hat sich nach Prüfung eines umfangreichen Materials nicht bestätigt. Außerdem tritt des Recessivendefizit nicht nur bei den Letalmutanten, sondern auch bei den übrigen Mutantengruppen unseres Sortimentes in Erscheinung. Der Recessivenanteil der im II. Teil der vorliegenden Arbeit behandelten fertilen und sterilen Chlorophyllmutanten z.B. liegt mit 17,9% in der gleichen Größenordnung. Diese Befunde deuten darauf hin, daß das Defizit in der Mehrzahl aller Fälle offenbar auf eine gleichartige Ursache — wahrscheinlich auf Zertationsvorgänge in den heterozygot-mutierten Griffeln — zurückzuführen ist.

Da sich die für jede Mutante angegebene Gesamtsplaltung aus einer wechselnden Anzahl von Einzelsplaltungen zusammensetzt, war es notwendig, die Homogenität des bearbeiteten Materials zu prüfen. Nach Anwendung des Homogenitätstests ergab sich für alle in der Tabelle 3 enthaltenen Mutanten Homogenität.

D. Diskussion

Rein gelbe, chlorophyllfreie Mutanten von *Pisum sativum* bilden 3—5 Laubblätter aus, dann sind ihre Entwicklungspotenzen erschöpft, und sie sterben rasch ab. Die im Minimum vorhandenen Substanzen der in den Kotyledonen gespeicherten Reservestoffe sind offenbar bis zu diesem Entwicklungsstadium aufgebraucht und können nicht ergänzt werden, da die Mutanten nicht zur autotrophen Ernährungsweise befähigt sind. Bei den rein gelben Formen genügt also schon der Chlorophyllmangel zur Erklärung der Letalität. Prinzipiell das gleiche gilt für Mutanten mit ganz geringem Chlorophyllgehalt. Es ist anzunehmen, daß die Chlorophyllmengen der Mutanten 128 A, 154 A und 159, die in der Größenordnung von 2% des Vergleichswerts der Ausgangsform liegen, ernährungsphysiologisch nicht wirksam werden; die Mutanten unterscheiden sich in ihren Entwicklungspotenzen nicht von den rein gelben Formen. Die unmittelbare Verbindung von Chlorophyllmangel und Letalität konnte SPOEHR (1942) an albinotischen Mutanten von *Zea* nachweisen: durch Zugabe von Zucker konnte diesen Pflanzen eine Weiterentwicklung bis zur Ausbildung rudimentärer Kolben ermöglicht werden.

Mit zunehmendem Chlorophyllgehalt muß jedoch ein Schwellenwert erreicht werden, nach dessen Überschreitung der Chlorophyllmangel nicht mehr als Ursache der Letalität angenommen werden kann. Es fragt sich nun, in welcher Höhe dieser Schwellenwert für die Species *Pisum sativum* anzusetzen ist. Die ganz blaßgrünen Mutanten 200 A und 113 besitzen Chlorophyllmengen von 8 bzw. 12% des Kontrollwerts und sterben nach Entfaltung von 4—6 Blättern ab. Man sollte annehmen, daß die Assimilationsleistung dieser Formen so gering ist, daß eine Weiterführung der Ontogenese nach dem Verbrauch der in den Keimblättern abgelagerten Reservestoffe nicht möglich ist, daß im Hinblick auf die Entwicklungspotenzen also praktisch die gleichen ungünstigen Verhältnisse vorliegen wie bei den chlorophyllfreien Letalmutanten. Diese Vorstellung ließe sich auch mit den Befunden RÖBBELENs (1957) an *Arabidopsis* vereinbaren. Bei seiner lichtempfindlichen Mutante V 18 reichen zwar Chlorophyllmengen von 1,6% des Kontrollwerts für die Erhaltung des Existenzminimums aus, ein erkennbares Wachstum ist jedoch erst bei einem Wert von 14% erkennbar. Das zur Durchführung einer vollständigen Ontogenese notwendige Chlorophyllminimum wird von RÖBBELEN mit etwa 30% angegeben. Auf *Pisum sativum* kann der letztgenannte Wert nicht übertragen werden, denn eine unserer ganz hellgrünen Mutanten mit einem Chlorophyllgehalt von nur 12% des Vergleichswerts der Stammform ist nicht nur zur Ausbildung der normalen Internodienzahl befähigt, sie produziert sogar geringe Samenmengen. Die zum Ablauf einer bescheidenen Ontogenese bis zur Ausbildung keimfähiger Samen notwendige Chlorophyllmenge ist für das von uns verwendete Objekt folglich mit etwa 10% des Vergleichswerts normalgrüner Formen anzusetzen. Das bedeutet aber, daß im Hinblick auf die Letalwirkung kein prinzipieller Unterschied zwischen normalgrünen und ganz hellgrünen Letalmutanten besteht. Diese Schlußfolgerung ergibt sich auch aus dem Vergleich des Kurvenverlaufs der lebensfähigen und der letalen Chlorophyllmutanten in Abb. 1. Nur bei den unterhalb der 12%-Linie liegenden Mutanten kann der Chlorophyllmangel als Ursache der Letalität in Erwägung gezogen werden. Alle übrigen in der Abbildung berücksichtigten Formen überschreiten — falls überhaupt ein Chlorophylldefekt nachweisbar ist — den eben genannten Schwellenwert, ihre Letalität hat folglich andere Ursachen.

Die Aufklärung dieser Ursachen dürfte mit großen methodischen Schwierigkeiten verbunden sein. Bei den Mutanten 128 A, 159, 113 und 149 A konnte in der Warburg-Apparatur keine Sauerstoffausscheidung nachgewiesen werden, die Assimilation dieser kurzlebigen Formen kommt offenbar gar nicht erst in Gang. Für die erstgenannten beiden Genotypen war dieser Befund zu erwarten, denn sie sind nahezu chlorophyllfrei. Die Mutanten 113 und 149 A hingegen besitzen Chlorophyll-

mengen von 12 bzw. 26% des Vergleichswertes der Ausgangsform. Es muß folglich an irgendeiner Stelle des Ablaufs der Photosynthese ein genetisch fixierter Stoffwechselblock liegen, der dafür sorgt, daß die Mutanten ihre verfügbaren Chlorophyllmengen zur Assimilation nicht ausnützen können. Es liegen offenbar analoge Verhältnisse wie bei einer Letalmutante von *Vicia faba* vor, bei der der Block lokalisiert werden konnte (HEBER und GOTTSCHALK 1963). Andere Mutanten unterscheiden sich im Warburg-Apparat nicht nennenswert von der Stammform, trotzdem bricht der Stoffwechsel nach Ausbildung weniger Blätter infolge eines noch nicht bekannten physiologischen Defekts zusammen.

Diese Befunde sind für die Interpretation der Letalwirkung von unmittelbarem Interesse. Wir können in Analogie zu den Verhältnissen bei *Drosophila* annehmen, daß ein Teil unserer Letalmutanten auf einfache *Genmutationen*, ein anderer Teil auf kleinste *Defizienzen* zurückzuführen ist, ohne daß es bei unserem Objekt methodisch möglich ist, diese beiden Vorgänge gegeneinander abzugrenzen. Wie soeben dargestellt wurde, kann schon ein Chlorophyllgehalt von nur 10% des Kontrollwerts nicht mehr allein für die Letalität eines Organismus verantwortlich gemacht werden. Ist nun eine hellgrüne Letalmutante auf die Wirkung einer *Genmutation* zurückzuführen, so müssen wir dem mutierten Gen ein pleiotropes Wirkungsspektrum zuordnen, das neben den primären Ursachen der Letalität im Sinne eines biochemischen Defekts noch den Chlorophylldefekt, häufig auch noch andere Anomalien verursacht. Chlorophyllmangel und primäre Ursache der Letalität sind in diesem Falle also zwei getrennte Teilwirkungen des gleichen mutierten Gens. Ohne Zweifel ist es berechtigt, die den grünen Letalmutanten zugrunde liegende genphysiologische Situation auf einen Teil der chlorophyllfreien Mutanten zu übertragen. Wir müssen also damit rechnen, daß das Pleiotropiespektrum derartiger Gene sowohl für den Chlorophyllmangel als auch für einen spezifischen biochemischen Letaleffekt verantwortlich ist. Bei derartigen Formen würden also — ausgehend vom gleichen mutierten Gen — zwei völlig getrennte Letalprinzipien wirksam werden, die sich infolge der Überlagerung der beiden biochemischen Störungsquellen am Organismus im einzelnen nicht nachweisen lassen. Gehen wir hingegen von einer *Defizienz* aus, so besteht durchaus die Möglichkeit, daß vom Stückverlust mehr als ein Gen betroffen ist; die morphologischen und physiologischen Anomalien sind in derartigen Fällen also auf den Ausfall *mehrerer* absolut gekoppelter Gene zurückzuführen. Bei der großen Anzahl von Genen, die den Chlorophyllgehalt eines Organismus beeinflussen, wird im Genom oft ein sehr enges Kopplungsverhältnis zwischen einem derartigen Gen und einem Letalfaktor realisiert sein, so daß in Verbindung mit Defizienzen relativ häufig Mutanten mit beiden Anomalien zu erwarten sind.

Unsere Befunde und Interpretationen dürfen jedoch nicht so aufgefaßt werden, daß Letalität und Chlorophylldefekt bei *allen* chlorophyllhaltigen Letalmutanten prinzipiell als zwei \pm selbständige Teilwirkungen der Gesamtwirkung eines mutierenden Gens bzw. einer Defizienz in Erscheinung treten. In Einzelfällen ist vielmehr eine gewisse Korrelation zwischen diesen beiden Phänomenen feststellbar. Dies wird am ontogenetischen Entwicklungsablauf der Mutante 11A erkennbar. Die unteren drei Blätter dieser langlebigen Letalmutante sind normalgrün gefärbt, die höher inserierten zeigen einen graduell stark zunehmenden Chlorophylldefekt, der wohl als spät auftretende biochemische Mangelerscheinung bzw. stoffwechselphysiologische Fehlleistung zu deuten ist, die der Organismus nicht ausgleichen kann. Aus unseren Befunden an *fertilen* Chlorophyllmutanten kann geschlossen werden, daß die Assimilationsleistung der unteren 5 Blätter der Mutante 11A für den Ablauf der Ontogenese bis zur Samenreife prinzipiell ausreichen müßte. Bei der von LAMPRECHT (1957a, b) bearbeiteten *aureovirescens*-Mutante von *Pisum* treten durchaus vergleichbare Erscheinungen auf, die nicht mit Letalität verknüpft sind. Die Individuen unserer Mutante hingegen sterben regelmäßig nach Ausbildung von 7—10 Blättern ab. Interessanterweise ist die Letalwirkung des Gens aber bis zu einem gewissen Grade an den Chlorophylldefekt gebunden. So läßt sich die Lebensdauer der Pflanzen durch Dekapitierung der chlorophyllgeschädigten Apikalregion beträchtlich verlängern, wenn es uns auch bisher nicht gelang, die Letalwirkung des Gens auf diesem Wege völlig aufzuheben. Verhindern wir jedoch den Chlorophylldefekt durch Aufzucht der photolabilen Pflanzen unterhalb eines sehr niedrig gelegenen Lichtintensitäts-Schwellenwerts, so tritt auch die Letalität nicht in Erscheinung. Wir konnten auf diese Weise Pflanzen mit neun grünen Blättern erzeugen, die sich weder im Chlorophyllgehalt noch in der Vitalität nennenswert von den unter gleich ungünstigen Lebensbedingungen kultivierten Kontrollpflanzen unterschieden. Eine Weiterführung dieser Versuche war wegen der starken Hungerschäden im tiefen Schlagschatten nicht möglich. Nach Überführung der Mutanten in normales Licht trat nicht nur der erwartete Chlorophylldefekt, sondern auch die Letalwirkung des mutierten Gens in Erscheinung. Eine Deutung dieser Befunde soll erst nach Auswertung weiterer Versuche gegeben werden.

Zusammenfassung

Es wurden die assimilatorisch wirksamen Farbstoffe von 26 röntgeninduzierten Letalmutanten der Species *Pisum sativum* analysiert. Hierbei wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. Die genetisch bedingte Variationsbreite des Materials, bezogen auf das Frischgewicht, umfaßt im Hinblick auf die Gesamtchlorophyll-

menge den Bereich von 0—141 % des Vergleichswerts der Ausgangsform. Für die Carotinoide liegen die entsprechenden Werte bei 8—141 %. Das Verhältnis von Chlorophyll a : b liegt zwischen 0,1 (Mutante 154A) und 5,1 (Mutante 140A).

2. Bei einigen chlorophyllhaltigen Letalmutanten wurde im Warburg-Apparat eine negative Assimilationsbilanz nachgewiesen. Die vorhandenen Chlorophyllmengen können also infolge der Anwesenheit der mutierten Gene für Assimilationszwecke nicht ausgenutzt werden.

3. Bei einer Gruppe von Letalmutanten ist in der Blattfolge am Stengel ein Gradient im Pigmentgehalt aufeinanderfolgender Blätter feststellbar. So sinkt der Chlorophyllgehalt des 5. und 6. Blattes bei der *lutescens*-Mutante 11A auf etwa 10% des Vergleichswertes des 1. Blattes ab. Andererseits läßt sich bei der *virescens*-Form 200A beim Vergleich des 1. und 2. Blattpaares ein Anstieg der Chlorophyllmenge auf das Zehnfache nachweisen.

4. Bei einigen Mutanten ist die Chlorophyllbildung licht- bzw. temperaturabhängig. So tritt der charakteristische Gradient der Mutante 11A nur bei normalen Insolationsverhältnissen auf; bei Schattenkultur wird auch in den höher inserierten Blättern Chlorophyll gebildet. Die temperaturlabile Mutante 159 bildet oberhalb von 18°C Chlorophyll und ist fertil, unterhalb dieses Schwellenwertes ist kaum Chlorophyllbildung möglich, die Pflanzen sind letal geschädigt. Bei beiden Mutanten bleibt das gebildete Chlorophyll erhalten, wenn man die Pflanzen Bedingungen aussetzt, unter denen eine Neubildung von Chlorophyll nicht möglich ist.

5. In der Diskussion werden die Beziehungen zwischen Letalität und Chlorophylldefekt behandelt. Aus dem Vergleich fertiler und letaler Mutanten folgt, daß ein Chlorophyllgehalt von etwa 10% des Vergleichswerts normal grüner Erbsen prinzipiell für die Durchführung der Ontogenese bis zur Samenreife ausreicht. Bei der Mehrzahl aller chlorophyllgeschädigten Letalmutanten ist die Letalwirkung folglich nicht allein auf den Chlorophyllmangel zurückzuführen. Die Verbindung von Chlorophylldefekt und Letalwirkung dürfte teils auf Pleiotropie der mutierten Gene, teils auf den Ablauf von Defizienzen zurückzuführen sein.

Die Untersuchungen wurden vom „Bundesministerium für wissenschaftliche Forschung“ sowie von der „Association Euratom-Ital“ in Wageningen unterstützt. Unser besonderer Dank gilt dem Direktor des Instituts für landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn, Herrn Professor Dr. H. ULLRICH, der uns die Einrichtungen seines Instituts in großzügiger Weise für unsere Arbeit zur Verfügung gestellt hat.

Literatur

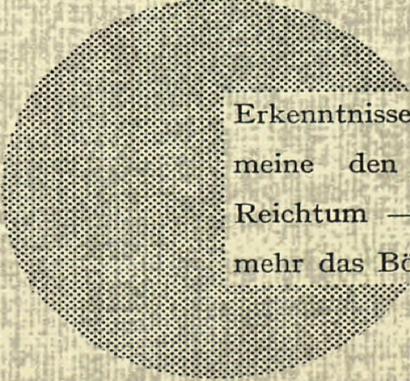
- AKERMANN, A.: Untersuchungen über eine im direkten Sonnenlicht nicht lebensfähige Sippe von *Avena sativa*. *Hereditas* (Lund.) **3**, 147—177 (1922).
ANDERSON, I. C., and D. S. ROBERTSON: Role of carotenoids in protecting chlorophyll from photodestruction. *Plant Physiol.* **35**, 531—534 (1960).

- BERGFELD, R.: Untersuchungen an einigen Blattfarbenmutanten der Sippe 50 von *Antirrhinum majus*. Z. Vererbungsl. 89, 143—160 (1958).
- BLIXT, S.: Quantitative studies of induced mutations in peas. V. Chlorophyll mutations. Agri. Hort. Genet. 19, 402—447 (1961).
- L. EHRENBURG, and O. GELIN: Quantitative studies of induced mutations in peas. I. Methodological investigations. Agri. Hort. Genet. 16, 238—250 (1958).
- — — Quantitative studies of induced mutations in peas. III. Mutagenic effect of ethylene-imine. Agri. Hort. Genet. 18, 109—123 (1960).
- BRIX, K.: Quantitative Untersuchungen an chlorophylldefekten und normalen diploiden und tetraploiden Pflanzen. Züchter 25, 246—252 (1955).
- BUTLER, L., and L. O. CHANG: Genetics and physiology of the xanthophyllous mutant of the tomato. Canad. J. Bot. 36, 251—267 (1958).
- COLLINS, L. J.: A low temperature type of albinism in barley. J. Hered. 18, 331—334 (1927).
- DEMEREK, M.: Behaviour of chlorophyll in inheritance. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 3, 80—86 (1935).
- EGLÉ, K.: Menge und Verhältnis der Pigmente. In: RUHLAND, Handbuch der Pflanzen-Physiologie Bd. V, Teil 1, S. 444—496, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- EHRENBURG, L., A. GUSTAFSSON, and U. LUNDQUIST: Viable mutants in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. Hereditas (Lund) 47, 243—282 (1961).
- FALUDI-DANIEL, A. G., and G. KELEMAN: Genetical pigment lability and its relation to the respiratory system in mutants of corn. Ann. Univ. Sci. Budapest, Sec. Biol. 3, 179—187 (1960).
- FRUWIRTH, C.: Neunzehn Jahre Geschichte einer reinen Linie der Futtererbse. Fühlings Landw. Z. 69, 1—28 (1920).
- GASSNER, G.: Über einen Fall von Weißblättrigkeit durch Kälteeinwirkung. Ber. dtsh. bot. Ges. 33, 478—486 (1915).
- GAUL, H.: Die Wirkung von Röntgenstrahlen in Verbindung mit CO₂, Colchicin und Hitze auf Gerste. Z. Pflanzenzüchtg. 38, 397—429 (1957).
- Mutationen in der Pflanzenzüchtung. Z. Pflanzenzüchtg. 50, 194—307 (1963).
- GELIN, O.: Experimental mutation in *Pisum*. Genetica Agraria 13, 67—78 (1960).
- L. EHRENBURG, and S. BLIXT: Quantitative studies of induced mutations in peas. II. Mutagenic effect of oxygen. Agri. Hort. Genet. 17, 265—274 (1959).
- GOTTSCHALK, W.: Die Wirkung mutierter Gene auf die Morphologie und Funktion pflanzlicher Organe. Bot. Stud. H. 14, 1—359 (1964).
- GUSTAFSSON, A.: The mutation system of the chlorophyll apparatus. Lunds Univ. Arsskr., N. F. 36, 1—40 (1940).
- HADORN, E.: Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung. Stuttgart 1955.
- HÄNSEL, H.: Beobachtungen über albinotische und virescente Chlorophyllaberranten und deren Nachkommen bei Gerste (*Hordeum vulgare* Convar. *distichon*). Z. Vererbungsl. 91, 358—372 (1960).
- HALLQUIST, C.: Gametenelimination bei der Spaltung einer zwerghaften und chlorophylldefekten Gerstensippe. Hereditas (Lund) 4, 191—205 (1923).
- HEBER, U., u. W. GOTTSCHALK: Die Bestimmung des genetisch fixierten Stoffwechselblockes einer Photosynthese-Mutante von *Vicia faba*. Z. Naturforsch. 18b, 36—44 (1963).
- HIGHKIN, H. R.: Chlorophyll studies in barley mutants. Plant Physiol. 25, 294—306 (1950).
- HOLM, G.: Chlorophyll mutations in barley. Acta agric. scand. 4, 457—471 (1954).
- KOSKI, V. M., and J. H. SMITH: Chlorophyll formation in a mutant white-seedling-3. Arch. Biochem. 34, 189—195 (1951).

- LAMPRECHT, H.: Über Chlorophyllmutanten bei *Pisum* und die Vererbung einer neuen, goldgelben Mutante. *Agri. Hort. Genet.* **10**, 1—18 (1952).
- Die Vererbung der Chlorophyllmutante *albina-terminalis* von *Pisum* sowie Allgemeines zum Verhalten von Chlorophyll- und anderen Genen. *Agri. Hort. Genet.* **13**, 103—114 (1955).
- Durch Röntgenbestrahlung von *Pisum*-Samen erhaltene neue und bekannte Genmutationen. *Agri. Hort. Genet.* **15**, 142—154 (1957 a).
- Röntgeninduzierte spezifische Mutationen bei *Pisum* in ihrer Abhängigkeit von der genotypischen Konstitution. *Agri. Hort. Genet.* **15**, 169—193 (1957 b).
- Über Wirkung und Koppelung des Gens *Alt* von *Pisum*. *Agri. Hort. Genet.* **17**, 15—25 (1959).
- Über Blattfarben von Phanerogamen, Klassifikation, Terminologie und Gensymbole von Chlorophyll- und anderen Farbmутanten. *Agri. Hort. Genet.* **18**, 135—168 (1960).
- LANGRIDGE, J.: Biochemical mutations in the Crucifer *Arabidopsis thaliana* L. *Nature (Lond.)* **176**, 260—261 (1955).
- LEVAN, A.: Experimentally induced chlorophyll mutants in flax. *Hereditas (Lund.)* **30**, 225—230 (1944).
- LITTLE, T. M., J. H. KANTOR, and B. A. ROBINSON: Early and virescent marigolds. *J. Hered.* **31**, 73—78 (1940).
- LUTKOV, A. N.: Reciprocal translocations and gene mutations in *Pisum sativum* induced by X-radiation of pollen. *Contr. Lab. Genet. Inst. Pl. Indust., Ser. II*, **7**, 377—416 (1937). Zit. nach VON ROSEN 1942.
- MACKINNEY, G.: Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. biol. Chem.* **140**, 315—322 (1941).
- MONTFORT, C.: Beziehungen zwischen der Mächtigkeit des cuticularen Hautfilters und der relativen Depression des Chlorophyllspiegels in stark besonnten Geweben. *Planta (Berl.)* **38**, 499—502 (1950).
- J. FELGNER u. L. MÜLLER: Zeitphasen im Jahresablauf des lichtökologischen Chlorophyllspiegels beim photostabilen Laubblatt. *Beitr. Biol. Pflanzen* **29**, 106—128 (1953).
- , u. I. KRESS-RICHTER: Reversible photochemische Chlorophyllzerstörungen in besonnten Laubblättern von Aureaformen und ihre Beziehungen zu Strahlungsklima und Erbgut. *Planta (Berl.)* **38**, 516—520 (1950).
- MOTHES, K., u. W. BAUDISCH: Untersuchungen über die Reversibilität der Ausbleichung grüner Blätter. *Flora (Jena)* **146**, 521—531 (1958).
- MÜLLER, F.: Chromatographische Pigmentuntersuchungen an röntgeninduzierten Chlorophyllmutanten von *Pisum sativum* (1964; im Druck).
- NAGEL, W.: Über die Blattfarbstoffe des Tabaks. *Bot. Arch.* **40**, 1—57 (1939).
- NYBOM, N.: The pigment characteristics of chlorophyll mutations in barley. *Hereditas (Lund)* **41**, 483—498 (1955).
- PHINNEY, B. O., and R. E. KAY: Interaction of environment and genotype in the expression of a virescent gene, pale-yellow-1, of maize. *Hilgardia* **23**, 185—196 (1954).
- RASMUSSEN, J.: Notes on some mutants in *Pisum*. *Hereditas (Lund)* **24**, 231—257 (1938).
- Letalfaktorer hos ärter. *Nord. Jordbruksforskning*, 4. Kongr. 1929, S. 611—613. Zit. nach LAMPRECHT 1952.
- RÖBBELEN, G.: Untersuchungen an strahleninduzierten Blattfarbmутanten von *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh. *Z. induct. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre* **88**, 189—252 (1957).
- ROSEN, G. VON: Röntgeninduzierte Mutationen bei *Pisum sativum*. *Hereditas (Lund)* **28**, 313—338 (1942).

- ROSEN, G. VON: Mutations induced by the action of metal ions in *Pisum*. *Hereditas* (Lund) **43**, 644—664 (1957).
- SAGROMSKY, H.: Einfluß von Lichtintensität und Tageslänge auf Wachstum und Pigmentbildung verschiedener Tomatenmutanten. *Kulturpflanze* **2**, 155—163 (1954).
- SIRKS, M. J.: Über einen Fall vererbbarer Lichtempfindlichkeit des Chlorophylls beim Roggen. *Genetica* **11**, 375—386 (1929).
- SMITH, J. H. C., and A. BENITEZ: Chlorophylls, analysis in plant materials. In: K. PAECH u. M. V. TRACEY, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Bd. IV. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- SPOEHR, H. A.: The culture of albino maize. *Plant Physiol.* **17**, 397—409 (1942).
- STUBBE, H.: Mutanten der Kulturtomate *Lycopersicon esculentum* Miller. I. *Kulturpflanze* **5**, 190—220 (1957).
- TEDIN, O., and A. HAGBERG: Studies on X-ray induced mutations in *Lupinus luteus* L. *Hereditas* (Lund) **38**, 267—296 (1952).
- WALLACE, R. H., and H. M. HABERMANN: Genetic history and general comparisons of two albino mutations of *Helianthus annuus* L. *Amer. J. Bot.* **46**, 157—162 (1959).
- , and A. E. SCHWARTING: A study of chlorophyll in a white mutant strain of *Helianthus annuus*. *Plant Physiol.* **29**, 431—436 (1954).
- WEIJER, J.: A catalogue of genetic maize types together with a maize bibliography. *Bibliogr. genet.* **14**, 189—425 (1952).

Prof. Dr. WERNER GOTTSCHALK und Dr. FRANZ MÜLLER
Institut für landwirtschaftliche Botanik der Universität, 53 Bonn,
Meckenheimer Allee 176



Erkenntnisse verbreiten ist soviel wie Wohlstand verbreiten — ich meine den allgemeinen Wohlstand, nicht den individuellen Reichtum — denn mit dem Wohlstand verschwindet mehr und mehr das Böse, das uns aus dunkler Zeit vererbt ist.

Alfred Nobel

CDNA00947DEC