©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Polyploidie der Organoide einiger Komplextumoren

Von

Helga Kelbitsch

Aus dem Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen der Universität Graz

Mit 3 Abbildungen

Eingelangt am 22. September 1961

Durch *Agrobacterium tumefaciens*, den Erreger der crown gall, können zweierlei Tumoren entstehen: Geschwülste mit undifferenziertem Wachstum, die man auch crown gall oder einfache Tumoren nennt und solche mit mehr oder weniger mißbildeten Sprossen, die den Namen Komplextumoren oder Teratome führen (vgl. Stapp 1956: 188). Komplextumoren sind also Wucherungen, „die außer irregulären Zellhaufen Neubildungen von Wurzeln und Sprossen mit Blättern aufweisen" (Höhn 1957: 125).

Ausführlich untersucht wurden diese Teratome u. a. von Smith 1916, 1917, 1921, Levine 1937, 1947, Stapp 1939, 1953, 1956, 1958, Buvat 1945, Braun 1948, 1951, 1953, Tamm 1954, Rack 1954, Höhn 1957, Braun & Stonier 1958, Gautheret 1959, Schmidt & Brucker 1959, Huxley 1960.

Die Regenerate, die auf den Tumoren entstehen, wurden von Schmidt & Brucker 1959 Organoide genannt.

Bereits Küster 1926 beobachtete, daß im Winter und Frühjahr eher Komplextumoren als im Sommer und Herbst gebildet werden. Auch kürzere Induktionszeit, geringere Virulenz der Bakterien und der Induktionsort, z. B. die Nähe eines Vegetationspunktes, begünstigen die Bildung von Komplextumoren (Braun 1951).

In meinen früheren Arbeiten habe ich mich mit der Übertragung des tumorinduzierenden Prinzips mit Hilfe von *Cuscuta* und mit Tumoren an viruskranken Pflanzen beschäftigt (Kelbitsch 1960, 1961). Es standen mir daher immer sehr viele mit *Agrobacterium tumefaciens* geimpfte Pflanzen zur Verfügung.

Von vierzehn unter den gleichen Bedingungen geimpften Pflanzen verschiedener Gattungen (*Zygocactus*, *Hesperis*, *Crassula*, *Pelargonium*, ferner an *Brassica*, *Kalanchoe*, *Tropaeolum*, *Impatiens*, *Solanum*, *Datura*, *Nicotiana*, *Helianthus*, *Solidago*, *Chrysanthemum*) konnte ich nur an den vier erstgenannten Komplextumoren beobachten. Bei den anderen entstanden undifferenzierte Geschwülste. Warum nicht in allen Fällen Teratome ausgebildet worden sind, ist unbekannt. Den schönsten und größten Komplextumor bildete *Zygocactus truncatus* aus (Abb. 1). An diesem ent-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

stand sogar eine abnormale Blütenknospe, die leider ohne aufzublühen abfiel. Nur einige Organoide waren den normalen Kladodien ähnlich, die übrigen mißbildet. Die Organoide der Komplextumoren von *Hesperis candida*, *Crassula argentea* und *Pelargonium zonale* waren durchwegs mißbildet und hatten mit normalen Blättern kaum eine Ähnlichkeit. Auffallend waren die häufig auftretenden Trichterbildungen (Abb. 2). Trichterblätter sind bei normalen Pflanzen schon öfters beobachtet worden. Weber & Kenda 1952, Thaler 1954 führten dies auf höheren Wuchsstoffgehalt zurück. Durch einen solchen sind Tumoren ausgezeichnet (Kulescha 1949, Bitancourt 1954, Gautheret 1959 u. a.). Daher kann angenommen werden, daß die Organoide wuchsstoffreicher sind als normale Organe. Dafür sprächen auch weitere Mißbildungen der Organoide, wie z. B. die auffallend große Zahl von Stomataanomalien. In der Epidermis der Regenerate finden sich zahlreiche, eng aneinanderliegende, unvollständig ausgebildete Spaltöffnungsapparate. Die von Bünning 1953 angenommene Hemmzone, die das regelmäßige Mosaik bestimmt, scheint bei den Organoiden nicht oder nur abgeschwächt vorhanden zu sein. Umrath 1949 und Kropfitsch 1951 a, b, c haben ähnliche Anomalien in der Epidermis von Pflanzen, die mit Heteroauxin behandelt worden waren, beobachtet.

Auch die Epidermiszellen der Organoide unterscheiden sich von denen normaler Blätter. Sie sind dünnwandiger, weitaus kleiner, ihre Zellwände gerade, während die normaler Blätter gewellte Zellwände besitzen (Abb. 3 a, b). Besonders auffallend sind die Interzellularen in der Epidermis der Organoide. Sie treten meist dann auf, wenn das Wachstum eines Organs derart angeregt wird, daß die Epidermis nicht mehr Schritt halten kann. So wurden von Zweigelt 1931 Lückenbildungen in der Epidermis von Gallen beobachtet.

Die nächstliegende Frage war die, ob sich die Regenerate in ihrem Chromosomenbestand von normalen Organen unterscheiden.

Es gelang leider nicht, Meiosen durch Verletzen der Organoide zu erhalten, weil diese nachher sofort zugrunde gingen. Bereits Mochizuki & Sueoka 1955 haben auf den Zusammenhang zwischen Ploidiestufe und Chloroplastenzahl aufmerksam gemacht und Butterfass 1958, 1959 hat dies bei zahlreichen Pflanzen nachgeprüft und bestätigt.

Nach der Methode von Butterfass 1959 habe ich die Chloroplasten der normal ausgebildeten Stomata mit einer Jod-Jodkalium-Pril-Lösung zum Zählen deutlich sichtbar gemacht. Bei *Hesperis candida*, *Crassula argentea* und *Pelargonium zonale* waren die Chloroplasten sehr gut zählbar, nur bei *Zygocactus truncatus* waren sie stets so zusammengeballt, daß ihre Zahl nicht eindeutig festgestellt werden konnte.

Die normal ausgebildeten Schließzellen der untersuchten Organoide enthalten stets eine größere Anzahl von Chloroplasten als die normaler Blätter (Abb. 3, c, d).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

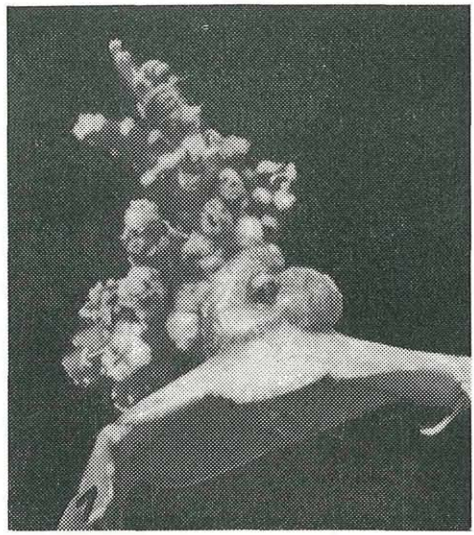

Abb. 1. *Zygocactus truncatus,* Kladodium mit 12 Monate altem Komplextumor (vergr. 2×).

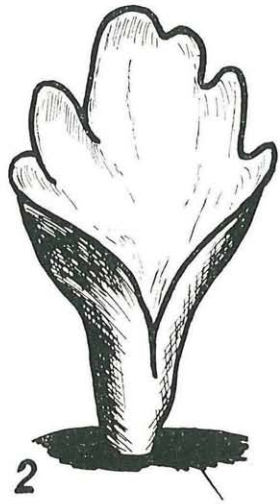

Abb. 2. *Pelargonium zonale,* trichterförmiges Organoid (vergr. 20×).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 1

Chloroplasten je Spaltöffnungsapparat

	Hesperis candida	*Crassula argentea*	*Pelargonium zonale*
normales Blatt	28,9	21,2	16
Organoide	37,8	62,6	37,5

Vergleicht man die Chloroplastenzahlen der Stomata der Organoide von Tabelle 1 mit der Tabelle von BUTTERFASS 1959: 441, so könnte man auf Polyploidie der Organoide schließen, u. zw. bei *Hesperis candida* vermutlich auf Tetraploidie, bei *Crassula argentea* und *Pelargonium zonale* auf Oktoploidie.

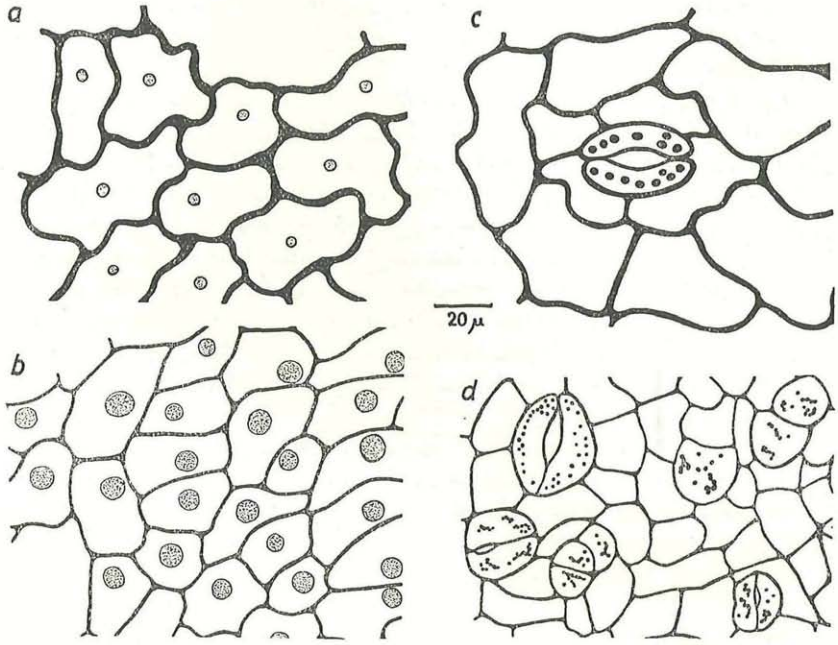

Abb. 3, a, b. *Zygocactus truncatus,* Kern-Zell-Relation; a: Obere Epidermis eines normalen Kladodiums, b: Obere Epidermis eines Organoids. — c, d. *Pelargonium zonale,* c: Untere Epidermis eines normalen Blattes mit gefärbten Chloroplasten im Spaltöffnungsapparat, d: Untere Epidermis eines Organoids mit normalen Stomata und Stomata-Mißbildungen.

Aber nicht nur auf Grund der Chloroplastenzahlen sind die Regenerate als polyploid anzusehen, sondern auch auf Grund der Kern-Volums-Messung. Die Kerne der Epidermis der Organoide erscheinen schon bei flüchtigem Durchmustern der Präparate auffallend vergrößert. Genaues

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Messen (Okularmikroskop bzw. Integrationsokular von ZEISS vgl. HENNIG 1957) ergab folgende Kern-Zell-Relation in der oberen Blattepidermis.

Tabelle 2

Kern-Zellrelation der oberen Blattepidermis

	normal	Organoid
Zygocactus truncatus	1:37,6	1:6,5
Hesperis candida	1:56,4	1:2,4
Crassula argentea	1:52,4	1:8,7

Die Änderung der Kern-Zell-Relation geht zum Teil auf eine geringere Zellgröße der Organoiden zurück, hauptsächlich aber auf vergrößerte Kernvolumina (vgl. Abb. 3, a, b). GEITLER 1953 hat nämlich festgestellt, daß sich die Kerngröße mit dem Polyploidiegrad der Pflanze in bestimmter Weise ändert.

Die Kern-Volumina von *Zygocactus truncatus* normaler Blätter verhalten sich zu denen der Organoide wie 1:3 (Abb. 3, a, b), die von *Crassula argentea* wie 1:3,46, von *Hesperis candida* wie 1:1,19. Vergleicht man diese Zahlen mit den von GEITLER 1953:63 für verschiedene Ploidiegrade angegebenen Kernvolumina, so ergibt sich, daß die Kerne in der Epidermis der Organoide von *Zygocactus truncatus* als tetraploid angesehen werden könnten. Die von *Crassula argentea* könnten oktoploid sein, was mit dem aus den Chloroplastenzahlen erhaltenen Ergebnis übereinstimmt. Unerwartet gering war die Zunahme des Kernvolumens bei *Hesperis candida*, so daß die Messung allein nach dieser Methode keinen Rückschluß auf den Ploidiegrad erlaubt.

Auch bei *Pelargonium zonale* waren die Kerne der Organoide weitaus größer als die der normalen Blätter; allerdings hatten sie so unregelmäßige Formen, daß ihr Volumen nicht zu bestimmen war.

Zusammenfassung

Auf *Zygocactus truncatus*, *Hesperis candida*, *Crassula argentea* und *Pelargonium zonale* entstanden nach Infektion mit *Agrobacterium tumefaciens* außer undifferenzierten crown galls Komplextumoren, u. zw. besonders in der kalten Jahreszeit.

Auf Grund der Trichterbildungen, des Epidermiszellencharakters und der Spaltöffnungsanomalien kann man auf einen höheren Wuchsstoffgehalt der Organoide schließen.

Die Chloroplastenzahlen der Schließzellen der Organoide und die Größe der Kerne ihrer Epidermis weisen auf Polyploidie der Organoide hin.

Das Verhältnis von Kern- zu Zellgröße (Kern-Zell-Relation) ist bei den Organoiden stark zugunsten der Kerne verschoben.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Schrifttum

BITANCOURT A. A. 1954. La nature des auxines des tumeurs végétales. Ann. biol. Paris. 58: 361—370.

BRAUN A. C. 1948. Studies on the origin and development of plant teratomas incited by the crown-gall bacterium. Amer. J. Bot. 35: 511—519.

— 1951. Cellular autonomy in crown gall. Phytopathology 41: 963—966.

— 1953. Bacterial and host factors concerned in determining tumor morphology in crown gall. Bot. Gaz. 114: 363—371.

— & STONIER T. 1958. Morphology and physiology of plant tumors. Protoplasmatologia 10 (5a). Wien.

BÜNNING E. 1953. Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. 3. Aufl. Berlin, Göttingen, Heidelberg.

BUTTERFASS T. 1958. Die praktische Ermittlung des Ploidiegrades von Zuckerrüben durch Zählen der Schließzellen-Chloroplasten. Züchter 28: 309—314.

— 1959. Ploidie und Chloroplastenzahlen. Ber. dtsch. bot. Ges. 72: 440—451.

BUVAT R. 1945. Recherches sur la dédifférenciation des cellules végétales. Ann. Sci. natur. 6: 1—119.

GAUTHERET R. J. 1959. La culture des tissus végétaux. Paris.

GEITLER L. 1953. Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. Protoplasmatologia 6 (C). Wien.

HENNIG A. 1957. Das Problem der Kernmessung. Eine Zusammenfassung und Erweiterung der mikroskopischen Meßtechnik. Mikroskopie 12: 174—202.

HÖHN K. 1957. Der Pflanzenkrebs und seine Beziehung zum Humankrebs. Naturwiss. Rdsch. 10: 125—132.

HUXLEY J. 1960. Krebs in biologischer Sicht. Stuttgart.

KELBITSCH H. 1960. *Cuscuta* als Überträger des Crown-gall-erzeugenden Prinzips. Protoplasma 52: 437—445.

— 1961. Crown gall an viruskranken Pflanzen. Protoplasma 53: 205—211.

KROPFITSCH M. 1951a. Apfelgas-Wirkung auf Stomatazahl. Protoplasma 40: 256—265.

— 1951b. UV-Bestrahlung und Stomatazahl. Protoplasma 40: 266—274.

— 1951c. Spaltöffnungszahl und Heteroauxin. Protoplasma 40: 461—474.

KÜSTER E. 1926. Regenerationserscheinungen an Bakteriengallen. Flora 120: 179—197.

KULESCHA Z. 1949. Recherches sur l'élaboration de substances de croissance par les cultures de tissus de vigne. C.R. Soc. biol. 143: 1499—1500.

LEVINE M. 1937. Tumors of tobacco hybrids. Amer. J. Bot. 24: 250—256.

— 1947. Differentiation of carrot root tissue grown in vitro. Bull. Torrey bot. Club 74: 321—328.

MOCHIZUKI A. & SUEOKA N. 1955. Genetic studies on the number of plastid in stomata. 1. Effects of autopolyploidy in sugar beets. Cytologia 20: 358—366.

RACK K. 1954. Untersuchungen über die Bedeutung der Verwundung und über die Rolle von Wuchsstoffen beim bakteriellen Pflanzenkrebs. Phytopathol. Z. 21: 1—44.

SCHMIDT W. A. K. & BRUCKER W. 1959. Zum Wachstum des crown-gall-Gewebes von *Datura innoxia* MILL. in vitro. Flora 147: 242—262.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

SMITH E. F. 1916. Studies on the crown gall of plants. J. Canc. Res. 1: 231—309.
— 1917. Embryomas in plants. Johns Hopkins Hospital Bull. 28: 277—294.
— 1921. Effect of crown gall inoculations on *Bryophyllum*. J. agric. Res. 21: 593—598.
STAPP C. 1939. Bakterielle Pflanzenerkrankungen. Zbl. Bakt. I., 144: 94—108.
— 1953. Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse über pflanzliche Tumoren. Zbl. Bakt. II., 107: 172—189.
— 1956. Bakterielle Krankheiten. In: SORAUER P. Handb. d. Pflanzenkrankheiten. 2 (2). 6. Aufl. Berlin, Hamburg.
— 1958. Pflanzenpathogene Bakterien. Berlin, Hamburg.
TAMM B. 1954. Experimentelle Untersuchungen über die Verbreitung des bakteriellen Pflanzenkrebses und das Auftreten von Sekundärtumoren. Arch. Mikrobiol. 20: 273—292.
THALER I. 1954. Änderung der Blattform durch ß-Naphtylessigsäure. Phyton 5: 304—308.
UMRATH K. 1949. Dornenbildung, Blattform und Blütenbildung in Abhängigkeit von Wuchsstoffen und korrelativer Hemmung. Planta 36: 262—297.
WEBER F. & KENDA G. 1952. Stomata am *Tropaeolum*-Schlauchblatt. Phyton 4: 51—54.
ZWEIGELT F. 1931. Blattlausgallen. Monogr. angew. Entomol. Beih. angew. Entomol. 17. Berlin.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1961

Band/Volume: 9_3_4

Autor(en)/Author(s): Kelbitsch Helga

Artikel/Article: Polyploidie der Organoide einiger Komplextumoren. 293-298