

Actinomycin gehemmt wird. Daher wäre auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das Actinomycin über die Reaktion mit Chloroplasten-DNS die Chloroplasten in ihrer Funktion oder Vermehrung etwas beeinträchtigt.

Hinsichtlich der Beziehungen zwischen morphogenetischen Substanzen und RNS, insbesondere Informations-(messenger)RNS ergibt sich folgendes: Da aus den Versuchsergebnissen hervorgeht, daß Actinomycin bei *Acetabularia* im wesentlichen primär am Kern angreift, kann geschlossen werden, daß die an anderen Objekten gewonnenen Erkenntnisse, daß Actinomycin die DNS-abhängige RNS-Synthese blockiert, auch für *Acetabularia* gilt. Daraus und aus den Transplantations-Versuchen (Versuch 7) läßt sich folgern, daß die DNS-abhängige RNS-Synthese bei der Bildung der artspezifischen morphogenetischen Substanzen zumindest eine wichtige Rolle spielt. Weiterhin ist aus Puromycinversuchen, die an anderer Stelle geschildert werden sollen, zu entnehmen, daß die im Kern synthetisierten Informationsüberträger für die artspezifische Morphogenese als solche in das Cytoplasma abgegeben werden³⁵.

Die Befunde der Actinomycin- und Puromycin-

versuche zusammengenommen bilden daher eine weitere starke Stütze für die Annahme, daß es sich bei den im Cytoplasma aktiven, genomabhängigen, artspezifischen morphogenetischen Substanzen der *Acetabularien* um Informations-(messenger)RNS handelt. Das entspricht der Erwartung, daß die für andere Prozesse entwickelten molekulargenetischen Vorstellungen: DNS → Informations-RNS → Protein auch für das Grundproblem der Morphogenese gelten. Hierzu sei noch bemerkt, daß die artspezifische Morphogenese der *Acetabularien* in einer artspezifischen Gestaltung der Membran besteht, was die genabhängige Synthese artspezifischer Enzymsysteme voraussetzt^{2, 4}.

Über die Natur der nichtartspezifischen morphogenetischen Substanzen und ihre Beziehungen zu RNS lassen sich zur Zeit keine Aussagen machen, da unsere Versuche vorläufig keinen Schluß darüber zulassen, ob ihre Bildung gleichfalls durch Actinomycin gehemmt wird. Hierüber sind weitere Versuche im Gange.

Frl. A. FRIESE danke ich für sorgfältige technische Assistenz.

Determination des Zeichnungsmusters von *Plodia interpunctella* (Lepidopt.) durch Entwicklungsverschiebung

VON KURT BRÄNDLE UND KONRAD SCHMIDT

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Tübingen

(Z. Naturforschg. **19 b**, 759—763 [1964]; eingegangen am 6. März 1964)

Deskriptive und experimentelle Untersuchungen führten zur Bestätigung einer alten Hypothese R. GOLDSCHMIDTS: Die Schuppen der Querbinden des zentralen Symmetriesystems auf dem Vorderflügel von *Plodia interpunctella* entwickeln sich langsamer als die Untergrundschuppen der Umgebung. Die Modifikation des Schuppentyps wird durch diese Entwicklungsverschiebung bestimmt, die ihrerseits durch den Ausbreitungsvorgang determiniert wird.

Das Zeichnungsmuster der Schmetterlinge ist ein schönes Objekt für die Untersuchung von Determinationsprozessen. KÜHN und VON ENGELHARDT¹ wiesen an *Ephesia* nach, daß bestimmte Elemente des Zeichnungsmusters auf dem Flügel während einer kurzen Phase der Puppenruhe durch einen Ausbreitungsvorgang determiniert werden. Inzwischen konnte dieser Ausbreitungsvorgang auch für *Plodia interpunctella* durch die Untersuchungen von SCHWARTZ² und BRÄNDLE³ nachgewiesen werden.

Dabei ergab sich ein interessantes Problem: Der Ausbreitungsvorgang, der die Lage der Schuppentypen auf dem Flügel festlegt, läuft schon früh im Flügelepithel ab. Nach seiner Beendigung folgen aber noch eine, sehr wahrscheinlich sogar zwei differentielle Teilungen, die die Schuppenstammzellen in Schuppenbildungszellen und Balgbildungszellen aufteilen. Nicht die Schuppenbildungszellen, sondern die Schuppenstammzellen werden also durch den Ausbreitungsvorgang determiniert.

¹ A. KÜHN u. M. v. ENGELHARDT, Roux' Arch. 130 [1933].

² V. SCHWARTZ, Biol. Zbl. **81**, 19 [1962].

³ K. BRÄNDLE, Die Beeinflussbarkeit der Flügelmusterdetermination bei *Plodia interpunctella* während und nach der Ausbreitungsphase. Zool. Jb., im Druck.

Unsere Frage lautet: Wie wird der Determinationszustand an die auswachsende Schuppe übermittelt?

Den ersten Anhaltspunkt zur Beantwortung dieser Frage bietet die Beobachtung der Ausfärbung des Flügelmusters. Um die Ausfärbungsvorgänge verstehen zu können, müssen wir uns zunächst das fertige Zeichnungsmuster wenigstens in groben Zügen vor Augen führen (vgl. Abb. 1). Es wird bei *Plodia* von zwei Deckschuppentypen gebildet, den Untergrundschuppen und den Bindenschuppen. Diese Schuppen bilden nach SCHWARTZ⁴ vier verschiedene Zeichnungssysteme aus. In unserem Zusammenhang interessieren nur:

1. Das Querbindensystem: Es umfaßt alle von Bindenschuppen bestanden Areale, also vor allem die proximale und distale Binde des zentralen Symmetriesystems. Die Bindenschuppen sind schon bei Binokularvergrößerung sehr gut erkennbar, da ihre Spitzen nach unten gekrümmt sind, weshalb sie bei entsprechendem Lichteinfall durch Reflexion aufleuchten.
2. Das Farbsystem: Es unterteilt die Flügelfläche in ein distales, von roten bzw. gelben Untergrundschuppen bestandenes Farbfeld, und eine Proximalfläche, die weiß bleibt.

Wir betrachten hier nur die Ausfärbung beim Wildstamm, der rote Untergrundschuppen und schwarze Bindenschuppen trägt. Das Flügelepithel,

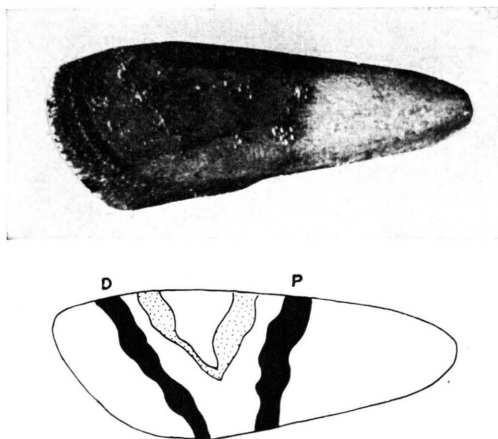


Abb. 1. a) Photographie eines Normalflügels von *Plodia interpunctella*, b) schematische Darstellung der für diese Arbeit wichtigen Teile des Zeichnungsmusters. D = Distalbinde, P = Proximalbinde.

das zunächst der Flügelscheide eng anliegt, beginnt sich etwa einen Tag nach der Verpuppung (30 °C) abzuheben und gibt in den entstehenden Hohlraum die Exuvialflüssigkeit ab. In diesen Hohlraum wachsen die Schuppen ein. 115 – 130 Std. nach der Verpuppung wird die Exuvialflüssigkeit eingesogen; die Schuppen bleiben weiterhin weich und mit Lymphe angefüllt. Zur gleichen Zeit beginnen sich die Schuppen gelb auszufärben. Schon zu diesem Zeitpunkt lassen sich die Orte, an welchen später die schwarzen Bindenschuppen stehen, an herauspräparierten, getrockneten Flügeln gut erkennen. Im durchfallenden Licht werden die Binden als helle Streifen sichtbar, wie ein in Papier eingepprägtes Wasserzeichen. Dieses sog. Reliefstadium, das erstmals von GOLDSCHMIDT⁵ an dem Saturniiden *Samia cecropia* beobachtet wurde, kommt zustande, weil die Untergrundschuppen sehr schnell trocknen und sich dabei schräg aufrichten. Die Bindenschuppen dagegen trocknen langsam und verkleben miteinander. Am 6. Tag wird das rote Pigment des Untergrundes sichtbar, während die Binden hellgelb ausgespart bleiben (Abb. 2). Erst 10 – 12 Std. nach der Rotfärbung färben sich auch die Bindenschuppen aus. Sie werden sofort schwarz.

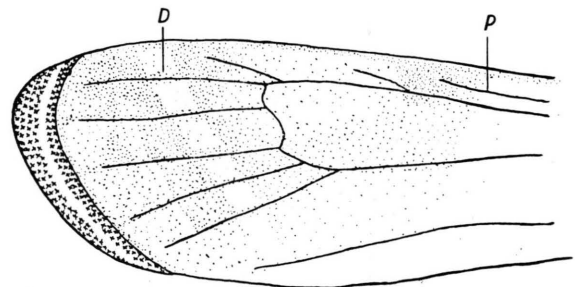


Abb. 2. Ausfärbungszustand eines 6 Tage alten Flügels des Wildstammes. :: = rot ausgefärbte Schuppen, ++ = schwarz ausgefärbte Schuppen, D und P = Orte der Distal- und Proximalbinde.

Auf der Beobachtung des Reliefstadiums basiert GOLDSCHMIDTS Hypothese einer Determination der Flügelmuster durch Entwicklungsverschiebung. Ob die schneller trocknenden und sich eher ausfärbenden Untergrundschuppen tatsächlich vor den Bindenschuppen einen Entwicklungsvorsprung haben, wie GOLDSCHMIDT annimmt, konnten am ehesten elektronenmikroskopische Untersuchungen erweisen.

⁴ V. SCHWARTZ, Z. ind. Abst. u. Vererbgs. **85**, 51 [1953].

⁵ R. GOLDSCHMIDT, Arch. Entw. mechan. **47**, 1 [1921]; Arch. mikroskop. Anat. u. Entw. mechan. **98**, 292 [1923].

Sowohl Querschnitte als auch Totalaufnahmen zeigten, daß die Bindenschuppen besonders an der Spitze in ihrem Bau von den Untergrundschuppen abweichen (Abb. 3 *). Die Poren, die die Schuppenoberseiten-Lamelle durchbrechen, sind bei Bindenschuppen an der Spitze höchstens halb so groß wie bei den Untergrundschuppen; außerdem liegen oft mehrere Löcher nebeneinander in einem Zwischenraum zwischen zwei Längsrippen, was bei Untergrundschuppen nie vorkommt. An Querschnitten sieht man, daß die Oberseitenlamelle zwischen den im Vergleich zur Untergrundschuppen-Spitze schmalen und niederen Rippen ganz flach ausgespannt ist, im Gegensatz zu der wie ein Wellblech konstruierten Untergrundschuppen-Spitze.

Auf Grund dieser überraschend großen Unterschiede zwischen Bindenschuppen und Untergrundschuppen kann schon an verhältnismäßig jungen, unfertigen Schuppen eindeutig festgestellt werden, ob es sich um spätere Binden- oder Untergrundschuppen handelt. Dabei stellte sich heraus, daß die Untergrundschuppen von 6–6½ Tage alten Flügeln, die schon rot ausgefärbt sind, deren Bindenschuppen aber noch hell sind, schon ihre endgültige Struktur aufweisen. Die Löcher sind durchgebrochen *, und die Stützpfeiler zwischen Oberseiten- und Unterseitenlamelle fertig ausgeformt. Die Bindenschuppen sind in ihrer Entwicklung noch zurück; die ersten Löcher sind gerade durchgebrochen, die Stützpfeiler noch wenig entwickelt (Abb. 4). Daß häufig zwei und mehr Löcher bzw. Lochanlagen in einem Zwischenraum stehen, weist die abgebildete Schuppe sicher als Bindenschuppe aus. Präpariert man Schuppen des Reliefstadiums (also aus 4½ bis 5 Tage alten Puppen), so findet man im Untergrundbereich Schuppen, deren Löcher schon alle durchgebrochen sind. In den präsumptiven Binden stehen dagegen solche, deren Schuppenspitzen noch völlig ohne Lochanlagen sind, während in der Mitte die Löcher angelegt und teilweise schon durchgebrochen sind. Bei diesen dürfte es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um Bindenschuppen handeln.

Diese morphologischen Befunde sprechen sehr für GOLDSCHMIDTS Hypothese; in unserem Falle, für eine Determination der Bindenschuppen durch Entwicklungsverzögerung.

Wann tritt diese Entwicklungsverschiebung zum ersten Male auf? Ist sie Ursache für die Schuppen-differenzierung oder nur eine Nebenerscheinung? Darüber soll eine Analyse der Zellteilungsvorgänge Aufschluß geben.

Schon KÖHLER ⁶ und BRAUN ⁷ hatten unter diesem Gesichtspunkt die Mitosentätigkeit auf dem Puppenflügel von *Ephesia kühniella* während der Entwicklung untersucht. Sie fanden eine Häufung von Zellteilungen an den präsumptiven Bindenorten. BRAUN stellte nach Abschluß der Mitosenperiode in diesen Flügelarealen eine höhere Zelldichte der Schuppenbildungszellen und der Epithelzellen fest, die die höhere Zellteilungsrate erklärte. Eine Entwicklungsverschiebung der Mitosentätigkeit fand er jedoch nicht.

Im Gegensatz zu BRAUN konnten wir bei *Phlodia interpunctella* nach Ablauf der Zellteilungsperiode keine Erhöhung der Zelldichte an den späteren Bindenorten feststellen.

Nun untersuchten wir die Mitosentätigkeit während der Puppenentwicklung. Dazu wurden die fixierten Flügel aus der Exuvie herauspräpariert und mit Feulgen-Reagens gefärbt. Leider gelang das erst bei 50 Stdn. (19 °C) alten Tieren, d. h. am Ende der Ausbreitungsphase, da die Flügel vorher noch fest mit der Exuvie verwachsen sind. Jede Mitose wurde als Punkt auf Millimeterpapier herausgezeichnet.

Die Gesamtzahlen der Mitosen auf der Flügeloberseite wechseln stark. Bis 60 Stdn. nach der Verpuppung (19 °C) nehmen sie ab; danach steigen sie wieder an und erreichen 80 Stdn. nach der Verpuppung ein Maximum. Später verringert sich die Zahl der Zellteilungen wieder, um etwa 110 Stdn. nach der Verpuppung zu versiegen. Bei dem Mitosenmaximum 80 Stdn. nach der Verpuppung handelt es sich um die letzte differentielle Teilung, die die Schuppenstammzellen zweiter Ordnung in eine Schuppenbildungszelle und eine Balgbildungszelle aufteilt.

Dabei ließ sich zeigen, daß das Mitosenmaximum dieser differentiellen Teilung nicht an allen Stellen gleichzeitig auftritt, sondern von der Flügelspitze zur Flügelbasis wandert. BRAUN fand diese Mitosenwellen bei *Ephesia* auch, nur laufen sie dort von proximal nach distal.

* Abb. 3 u. 4 s. Tafel S. 762 a u. b.

* Die Löcher entstehen durch Auflösung des Oberseitenlamellenchitins an den betreffenden Stellen.

⁶ W. KÖHLER, Z. Morph. Ökol. Tiere **24**, 582 [1932].

⁷ W. BRAUN, ROUX' Arch. **135**, 494 [1936].

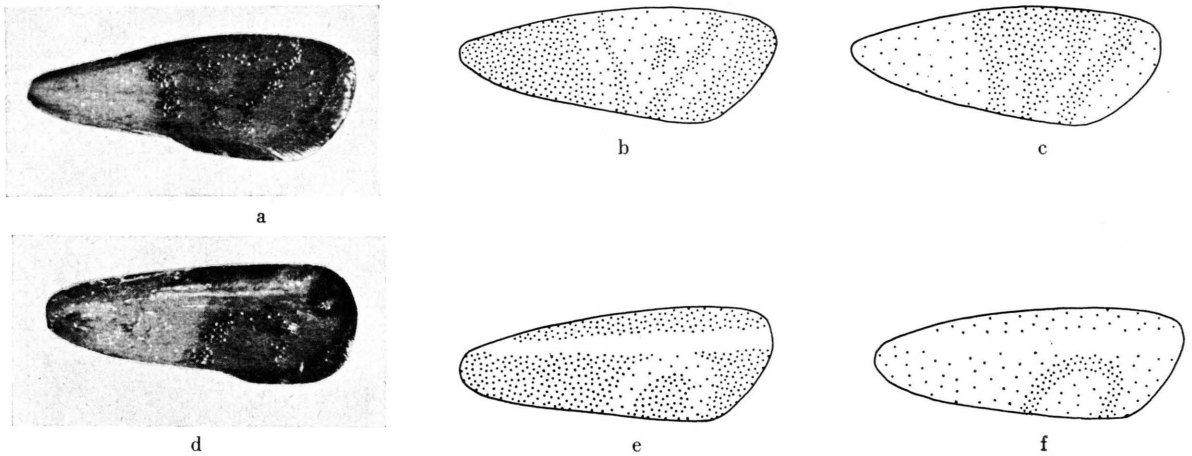


Abb. 5. Idealierte Mitosenverteilung auf der Flügeloberseite. a—c) Normalflügel, d—f) Flügel mit UV-Längsdefekt, b) und e) Schema der Mitosenverteilung vor dem allgemeinen Mitosenmaximum, c) und f) Schema der Mitosenverteilung

nach dem allgemeinen Mitosenmaximum. Jeder Punkt stellt eine Mitose dar. Der unpunktuierte Streifen der Abbildungen e und f gibt die Lage des UV-Längsdefektes an.

Wie verhält sich nun die Mitosenverteilung der präsumptiven Bindenbezirke zu der der übrigen Flügelareale?

Vor dem allgemeinen Mitosenmaximum der letzten differentiellen Teilung, d. h. zwischen 60 und 80 Stdn. nach der Verpuppung, ist die Anzahl der Zellteilungen in den Bindenbezirken stets *vermindert* gegenüber anderen Bezirken der Flügeloberfläche. Die Binden heben sich in der Abbildung als helle Streifen ab (Abb. 5 b). Eine Verminderung der Mitosen in den Bindenarealen war aber bei *Ephestia* noch nie beobachtet worden.

Zwischen 80 und 100 Stdn. nach der Verpuppung, also nach Ablauf des allgemeinen Mitosenmaximums, kehrt sich die Mitosenverteilung um. Die Anzahl der Zellteilungen ist jetzt an den Bindeorten *höher* als in den übrigen Bezirken; die Binden erscheinen in der Abbildung als dunkle Streifen (Abb. 5 c).

SCHWARTZ hatte gefunden, daß sich das Bindenmuster modifizieren läßt, wenn man einen UV-Längsdefekt auf der Flügeloberseite anbringt. Untersuchten wir derart behandelte Flügel, so folgten die örtlichen Maxima und Minima der veränderten Anordnung der Binden (Abb. 5 d—f).

Das Maximum der letzten differentiellen Teilung tritt also in den Bindenbezirken später auf!

Die aus den Mitosenverteilungen abgeleitete Entwicklungsverzögerung der Bindenschuppen-Bildungszellen schon zu diesem frühen Zeitpunkt ließ sich durch radioaktive Bestrahlung am Ende der letzten

differentiellen Zellteilung gut belegen. POHLEY⁸ stellte an *Ephestia* fest, daß die Empfindlichkeit der Flügelzellen gegen Röntgenstrahlen nach der letzten differentiellen Teilung erlischt.

Bestrahlten wir Puppen zum betreffenden Zeitpunkt, so ließ sich ein bevorzugter Schuppenausfall im Bereich der Binden durch Balgzählungen nachweisen. Für vier Flügel einer Bestrahlungsgruppe ergab sich:

Mittelwerte der Balgzahlen der Versuchsflügel:

An der Proximalbinde 28% niedriger als bei den Kontrollflügeln. An der Distalbinde 9% niedriger als bei den Kontrollflügeln.

Im Zentralfeld, wo höchstens ganz vereinzelt Bindenschuppen stehen, war die Schuppenzahl auf den bestrahlten Flügeln nur 4% niedriger als auf den Kontrollflügeln. Die Bindenbezirke sind gegen radioaktive Bestrahlung länger empfindlich, weil hier die Mitosentätigkeit längere Zeit andauert.

Ist diese beobachtete Entwicklungsverzögerung der Bindenbezirke die Ursache für die Determination zu Bindenschuppen, so müßte ein chemischer Eingriff in die Mitosentätigkeit die Ausbildung des normalen Musters stören.

Zur Untersuchung wurden die Substanzen in Insekten-Ringer gelöst und in die Spitze der Flügelscheide injiziert. Zum Zeitpunkt der Injektion waren die Puppen 60 Stdn. alt (19 °C). Die temperatursensiblen Perioden sind zu dieser Zeit vorüber.

Behandelten wir die Flügel mit Colchizin, so unterblieb die Schuppenbildung, da die differentiell-

⁸ H.-J. POHLEY, Biol. Zbl. 72, 577 [1953].



Abb. 3 a.

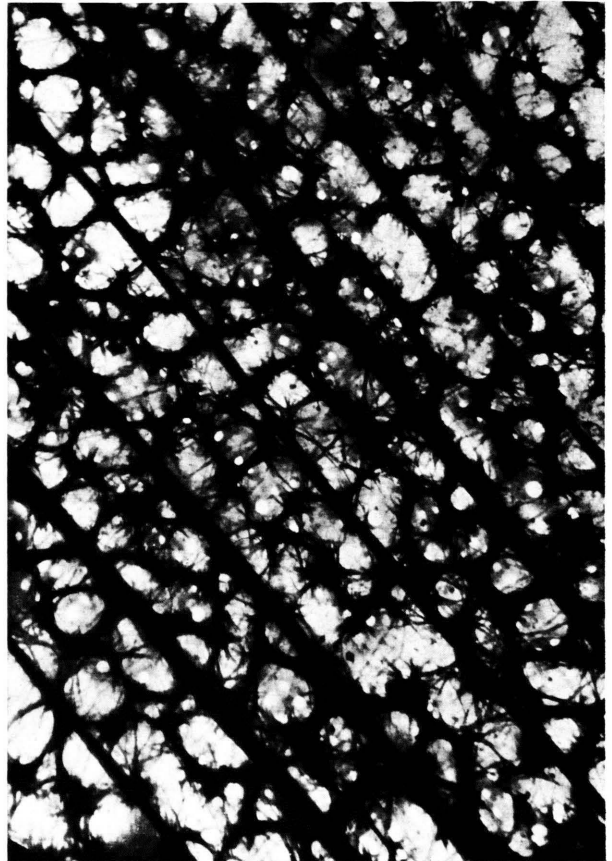


Abb. 3 b.

Abb. 3 c.

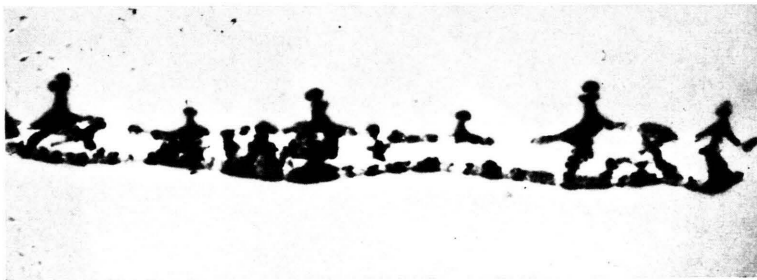
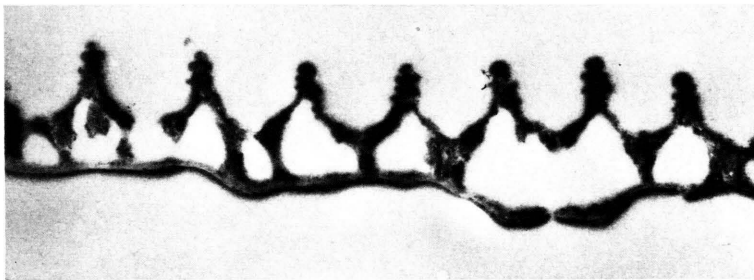


Abb. 3 d.

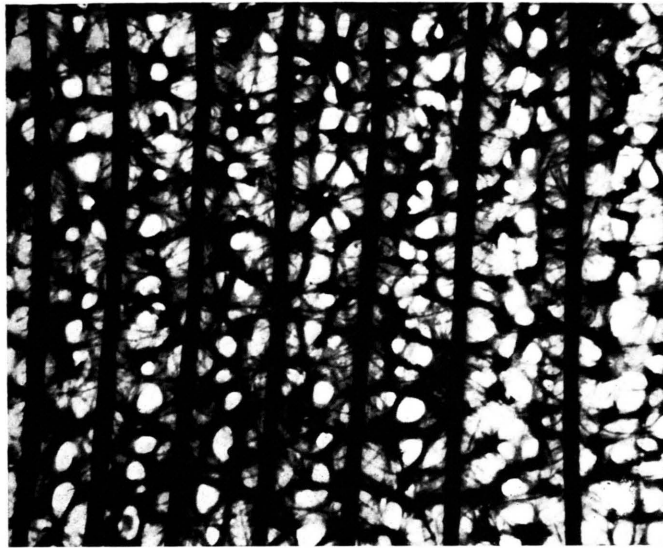


Abb. 4 a.

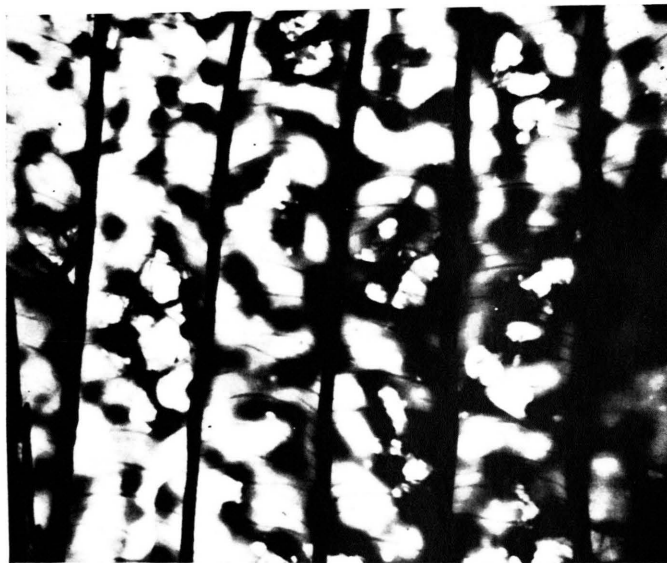


Abb. 4 b.

Abb. 3. a) Untergrundschuppe, Spitze; b) Bindenschuppe, Spitze; c) Untergrundschuppe, Spitze quer; d) Bindenschuppe, Spitze quer. Vergrößerung jeweils 12 800-fach.

Abb. 4. Wildstamm; 6 1/2 Tage nach der Verpuppung. Beide Schuppen stammen vom gleichen Flügel! a) Untergrundschuppe, Spitze; b) Bindenschuppe, Spitze. Vergrößerung jeweils 11 000-fach.

len Teilungen unterdrückt worden waren. Daher vermochte dieser Versuch nichts über eine mögliche Änderung der Schuppendedetermination auszusagen.

Gute Ergebnisse erzielten wir mit der Injektion von Kinetin (Furfuryl-amino-purin). Kinetin beschleunigt in Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-4}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ mg/cm³ die Zellteilungen bei Pflanzen.

In der Nähe der Injektionsstelle fehlten die Binden völlig; etwas weiter entfernt waren sie verschmälert. Ein Vergleich der Schuppenzahl des Versuchsflügels mit der des Kontrollflügels zeigte jedoch, daß der Versuchsflügel seine volle Schuppenzahl besaß. Die Bindenschuppen mußten also zu Untergrundschuppen umdeterminiert worden sein. Das läßt darauf schließen, daß das Kinetin auch bei

diesem Objekt die Teilungsbereitschaft erhöht, wodurch die Entwicklungsverzögerung der präsumptiven Bindenschuppen aufgehoben wird.

Flügel, die nach Ablauf der Mitosenperiode mit Kinetin behandelt wurden, zeigten keine Reaktion mehr.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen kaum daran zweifeln, daß das Entwicklungstempo die Modifikation des Schuppentyps bestimmt!

Diese Ergebnisse sind unseren von Prof. Dr. V. SCHWARTZ angeregten Dissertationen^{1, 9} entnommen.

⁹ K. SCHMIDT, Untersuchungen zur Determination der Schuppenform und Schuppenfarbe auf dem Vorderflügel von *Plodia interpunctella*. Zool. Jb., im Druck.

Zur Beurteilung der Kaliumpermanganat-Fixierung von Chloroplasten

VON RICHARD BERZBORN UND WILHELM MENKE

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

(Z. Naturforschg. **19 b**, 763—765 [1964]; eingegangen am 8. April 1964)

After fixation with a solution of OsO₄ the volume of chloroplasts from *Elodea densa* decreases considerably during dehydration and embedding in methacrylate. In contrast to this, KMnO₄ fixation causes a great increase in volume. In both cases changes of volume are anisotropic. Attempts to prevent the increase of volume following KMnO₄ fixation were unsuccessful, although osmotic effects participate in the swelling of the chloroplasts.

Wenn man grüne Gewebe, die mit Osmiumtetroxyd fixiert wurden, entwässert und in Methacrylat einbettet, nimmt das Volumen der Chloroplasten ab¹. Bei *Elodea densa* betrug die Verkleinerung des Chloroplasten-Volumens 49 Prozent. Diese Volumenabnahme war anisotrop. Während die Dicke der Chloroplasten um 43% abnahm, betrug die Verkleinerung ihres Durchmessers nur 7 Prozent. Die Volumenabnahme der Chloroplasten erfolgte nicht beim Fixieren und Wässern, sondern beim Entwässern und Einbetten.

Wenn man demgegenüber nach LUFT² mit 2% Kaliumpermanganat in dest. Wasser fixiert, tritt eine Vergrößerung des Chloroplasten-Volumens ein. Bei *Elodea densa* nahm bei der Fixierung die Dicke der Chloroplasten im Mittel um 32 bis 48%, der

Durchmesser um 12 bis 24% zu. Die entsprechende Vergrößerung des Volumens betrug 69 bis 125 Prozent. Beim anschließenden Wässern und Entwässern³ der fixierten Blättchen nahm das Chloroplasten-Volumen etwas ab. Beim Einbetten in Methacrylat erfolgte wieder eine mehr oder weniger starke Volumenzunahme. Nach dem Erstarren des Methacrylats hatte die Chloroplastendicke um 32 bis 67%, der Chloroplasten-Durchmesser um 8 bis 21% und das Chloroplasten-Volumen um 57 bis 140% gegenüber den Chloroplasten lebender Zellen zugenommen. Auch nach Fixierung mit Kaliumpermanganat ist die Volumenänderung der Chloroplasten also anisotrop; während die mit Osmiumtetroxyd fixierten Chloroplasten aber kleiner sind als die Chloroplasten in lebenden Zellen, sind die Chloro-

¹ W. MENKE, Z. Naturforschg. **12 b**, 654 [1957].

² J. A. LUFT, J. biophysic. biochem. Cytol. **2**, 799 [1956].

³ Das Wässern, Entwässern und Einbetten wurde entsprechend den früheren Angaben¹ vorgenommen. Die Zeiten wurden wie bei der Herstellung elektronenmikroskopischer Präparate gewählt: Fixieren 2 Stdn., Wässern 6 Stdn., Ent-

wässern über Nacht. Die Messungen wurden an Zeichnungen vorgenommen, die mit Hilfe eines A b b e schen Zeichenapparates hergestellt worden waren; und zwar wurde die Dicke von Chloroplasten in Profilstellung und ihre Fläche in Frontalstellung bestimmt. Untersucht wurden Chloroplasten in Zellen der mittleren Region der Blattunterseite.

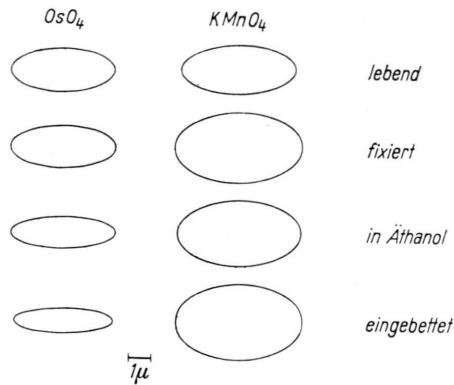


Abb. 1. Größenänderungen von Chloroplasten in Profilstellung bei Fixierung mit 1-proz. Osmiumtetroxyd- und 2-proz. Kaliumpermanganat-Lösung. Einbettung in Methacrylat.

plasten in Geweben, die mit Kaliumpermanganat fixiert wurden, beträchtlich größer als im Leben (Abb. 1). Diese Größenänderungen sind bei der Beurteilung elektronenmikroskopischer Aufnahmen zu beachten. Eine Berücksichtigung der Volumeneffekte wird jedoch dadurch erschwert, daß zwischen einzelnen Versuchsreihen in quantitativer Hinsicht beträchtliche Unterschiede bestehen. Tab. 1 enthält Meßergebnisse von drei Versuchsreihen. Die mittlere Chloroplastengröße in den Blättern, die zu diesen Versuchen verwendet wurden, war recht verschieden. Die Messungen von Versuchsreihe 1 wurden im Frühjahr, von Reihe 2 im Sommer und von Reihe 3 im Herbst vorgenommen. Die Chloroplasten waren im Frühjahr kleiner als im Sommer und im Sommer kleiner als im Herbst. Es ist merkwürdig, daß das Chloroplasten-Volumen relativ um so mehr zunahm, je kleiner die Chloroplasten waren.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Blätter in 5-proz. Kaliumpermanganat-Lösung fixiert. Die Größenzunahme war innerhalb der Fehlergrenzen dieselbe wie bei der Kontrolle, die mit 2-proz. Lösung fixiert wurde. Auch bei Verwendung einer 2-proz. Lösung in Veranolacetatpuffer vom pH -Wert 7,2 wurde die Größenzunahme nicht beeinflusst. Fixierte man jedoch mit isotonischer ⁴ Kaliumpermanganat-Lösung, so war die Volumenzunahme bei der Fixierung nur etwa halb so groß wie bei Fixierung in der hypotonischen Lösung. Durch den Salzzusatz wird nur die Dickenzunahme, nicht aber die Vergrößerung des Durchmessers beeinflusst. Beim Einbetten in Methacrylat erfolgte jedoch in Blättern, die in iso-

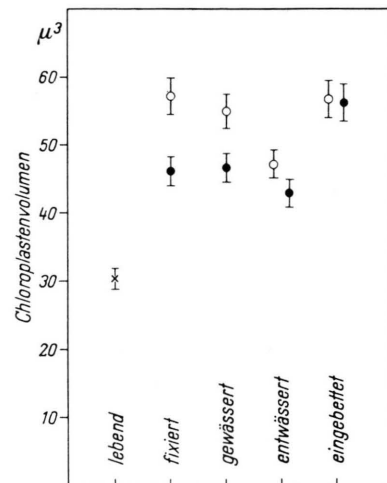


Abb. 2. Änderungen des Chloroplasten-Volumens bei Fixierung und Einbettung. Angegeben sind die Mittelwerte mit ihren dreifachen Streuungen. O fixiert in 2-proz. $KMnO_4$ -Lösung ohne Salzzusatz, ● mit Salzzusatz.

	Nr.	n	lebend	fixiert in 2-proz. $KMnO_4$	gewässert	entwässert in 100-proz. Äthanol	eingebettet in Methacrylat
Dicke [μ]	1	150	$1,94 \pm 0,02$	$2,85 \pm 0,03$	$2,94 \pm 0,03$	$2,83 \pm 0,03$	$3,24 \pm 0,03$
	2	300	$2,13 \pm 0,02$	$3,15 \pm 0,02$	$3,11 \pm 0,02$	$2,86 \pm 0,02$	$3,34 \pm 0,02$
	3	300	$2,23 \pm 0,01$	$2,95 \pm 0,02$	$2,94 \pm 0,02$	$2,89 \pm 0,02$	$2,94 \pm 0,02$
Durchmesser [μ]	1	90	$3,84 \pm 0,04$	$4,76 \pm 0,06$	$4,52 \pm 0,06$	$4,42 \pm 0,06$	$4,63 \pm 0,06$
	2	300	$5,19 \pm 0,04$	$5,89 \pm 0,04$	$5,81 \pm 0,04$	$5,59 \pm 0,04$	$5,68 \pm 0,04$
	3	300	$6,01 \pm 0,05$	$6,75 \pm 0,05$	$6,61 \pm 0,05$	$6,52 \pm 0,05$	$6,49 \pm 0,05$
Volumen [μ^3]	1		$15,0 \pm 0,4$	$33,8 \pm 0,9$	$31,5 \pm 0,9$	$29,0 \pm 0,9$	36 ± 1
	2		$30,0 \pm 0,5$	$57,1 \pm 0,9$	$54,9 \pm 0,8$	$46,9 \pm 0,7$	$56,6 \pm 0,9$
	3		$42,1 \pm 0,7$	71 ± 1	67 ± 1	64 ± 1	66 ± 1

Tab. 1. Größenänderungen von *Elodea*-Chloroplasten bei Fixierung und Einbettung. n = Zahl der gemessenen Chloroplasten. Die Angaben sind Mittelwerte mit ihren einfachen Streuungen. Die mittleren Durchmesser wurden aus den Flächen berechnet.

⁴ E. H. MERCER u. M. S. C. BIRBECK, Electron Microscopy, Oxford 1961, S. 53.

tonischer Lösung fixiert wurden, eine stärkere Volumenzunahme als nach Fixierung in hypotonischer Lösung, so daß nach Erstarren des Methacrylats kein Einfluß des Salzzusatzes mehr festzustellen war (Abb. 2).

Wenn man Blättchen von *Elodea densa* eine bestimmte Anzahl von Sek. in 2-proz. Kaliumpermanganat-Lösung eintauchte, sie anschließend sofort mit dest. Wasser abspülte und mikroskopierte, so beobachtete man als erste Wirkung des Kaliumpermanganats eine Sistierung der Plasmaströmung. Nach einer Fixierung von 20 Sek. waren die Zellen nicht mehr mit Rohrzuckerlösung zu plasmolysieren. Die Chloroplasten zeigten noch keine Volumenvergrößerung. Nach 25 Sek. konnte auch keine Tonoplastenplasmolyse mehr erreicht werden. Zu diesem Zeitpunkt waren die Chloroplasten schon beträchtlich angeschwollen. Diese Schwellung konnte jedoch durch Zusatz von Rohrzuckerlösung wieder rückgängig gemacht werden. Nach 30 Sek. begann die Verfärbung des Zellinhaltes; die Semipermeabilität der Chloroplasten war aufgehoben. Nach 40 Sek. waren die Chloroplasten braun gefärbt und die schnelle Zunahme des Chloroplasten-Volumens war beendet. Im weiteren Verlauf der Fixierung nahm die Chloroplastengröße nur noch langsam zu. Die schnelle Vo-

lumentzunahme konnte bei Fixierung mit isotonischer Kaliumpermanganat-Lösung nicht beobachtet werden. Wie die quantitativen Messungen jedoch ergaben (Abb. 2), ist nach zweistündiger Fixierung eine deutliche Volumenzunahme eingetreten.

Durch diese Versuche wurde also gezeigt, daß osmotische Effekte zwar bei der Volumenzunahme der Chloroplasten eine Rolle spielen, daß sie aber nicht zur Erklärung der Volumenzunahme ausreichen. Ferner ist zu beachten, daß schon vor der eigentlichen Fixierung eine Volumenzunahme eintritt, die zu Veränderungen der Chloroplastenstruktur führen kann. So sind früher beschriebene Unterbrechungen der Plastidenmembran⁵ wahrscheinlich auf Zerreißen infolge der Volumenzunahme zurückzuführen. Leider läßt sich durch lichtmikroskopische Untersuchungen nicht feststellen, in welchem Ausmaß die Volumenänderungen der Chloroplasten auf Veränderungen des Lamellarsystems und der Matrix zurückzuführen sind.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeiten.

⁵ W. MENKE, Z. Naturforschg. **15b**, 479 [1960].