

Zur Darstellung des Leitbündelverlaufes im Wurzel-Stengel-Übergang von *Pisum sativum* und *Beta vulgaris*

Von

PETER HAGEMANN

Aus dem Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich

Bei dikotylen Pflanzen gehört es zu den auffälligsten Unterschieden zwischen Wurzel und Stengel, dass das Leitgewebe in diesem einen peripheren Kranz kollateraler Bündel mit endarchem Xylem bildet, in jener einen zentralen, radiär gegliederten Strang mit exarchem Xylem. In zahlreichen Arbeiten wurde die Frage nach der anatomischen Gestaltung des Übergangs zwischen Wurzel- und Stengelanzordnung behandelt. Leider existieren kaum anschauliche Darstellungen dieser Verhältnisse. In Lehrbüchern trifft man oft schematische Abbildungen von Schnitten in verschiedener Höhe, die einen vielfältigen Reigen von Xylem- und Phloemsträngen zeigen, aber die tatsächlichen Verhältnisse allzu ungenau wiedergeben. Vor allem kommt die meist enge Verknüpfung des Leitbündelüberganges mit dem Abzweigen von Blattspuren, seien es der Keim- oder der Primärblätter, zu wenig zur Geltung. Im folgenden soll an zwei Beispielen illustriert werden, was ein neues Hilfsmittel zur zeichnerischen Darstellung dreidimensionaler Strukturen in diesem Zusammenhang zu leisten vermag.

Material und Methode

Zur Untersuchung gelangten Keimpflanzen der hypogäisch keimenden Art *Pisum sativum* L. ssp. *sativum* «Petit Provençal» und der epigäisch keimenden Art *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *conditiva* ALEF. «Feuerkugel». Die Pflanzen wurden im Gewächshaus bei 25° C im Tageslicht herangezogen.

Der «Perspektomat» wurde von FORSTER für das Erstellen von Blockbildern anhand von Höhenkurven konstruiert. Für die Verwendung in der Biologie sind folgende Grundlagen wesentlich: Betrachtet man einen stehenden Zylinder senkrecht von oben, so sieht man einen Kreis. Betrachtet man den Körper schräg von oben, so wird der Kreis in der Betrachtungsrichtung zur Ellipse verkürzt. Bei einem Betrachtungswinkel α gegenüber der Horizontalen beträgt die kurze Achse der Ellipse

$b^* = b \sin \alpha$. Ebenso erscheint die Höhe des Zylinders verkürzt, und zwar ist $h^* = h \cos \alpha$. Auf Grund dieser Gesetzmässigkeit lassen sich Körper affin in der Ebene abbilden. Der Perspektomat ist in der Lage, beliebig geformte Ebenen unter einem Betrachtungswinkel zwischen $9-60^\circ$ parallelperspektivisch richtig umzuzeichnen. Eine Serie paralleler, ebener Schnitte durch ein Objekt erlaubt so eine genaue zeichnerische Rekonstruktion, indem die Bilder mit Hilfe des Apparates verzerrt und übereinander kopiert werden. FORSTER beschreibt eingehend die theoretischen Grundlagen und die Konstruktion seines Apparates; im folgenden soll nun anhand des gewählten Beispiels das praktische Vorgehen erläutert werden:

1. Das frische Gewebe wird unfixiert in $120 \mu\text{m}$ dicke Gefrierschnitte zerlegt. Die Schnitte werden ungefärbt in 50% Glycerin eingeschlossen.
2. Man beginnt unten mit dem Durchmustern der Schnitte und zeichnet den obersten Schnitt, der noch eine eindeutige Wurzelanatomie aufweist. Die vorliegende Arbeit wurde mit Hilfe eines Zeiss-Zeichenapparates ausgeführt. Zeichnen bietet den Vorteil, dass gleich zu Anfang die relevanten Strukturen ausgelesen werden (Abb. 1). Gleichzeitig erleichtern Zeichnungen das Problem der Schnitorientierung. Die Grösse der Vorlagen darf $40 \times 40 \text{ cm}$ nicht übersteigen.
3. Man belässt nun die erste Zeichnung fixiert unter dem Zeichenapparat und durchmustert weiter, bis man auf einen signifikant verschiedenen Schnitt stösst. Die vertikale Distanz bis zur nächsten Zeichnung richtet sich ganz nach der Struktur des Objekts: Bei drastischen Änderungen des Leitbündelverlaufes wird jeder 2. oder 3. Schnitt gezeichnet, bleibt der Verlauf konstant, nur ca. jeder 20.
4. Orientierung: Die erste Zeichnung wurde mittels zweier Nocken unter dem Zeichenapparat fixiert. Nun wird der nächste Schnitt unter dem Mikroskop so verschoben, dass seine Strukturen optimal dem vorhergehenden Schnitt kongruent sind. Ohne etwas zu verschieben wird nun ein neues Blatt unter dem Zeichenapparat montiert und der Schnitt gezeichnet. Der vertikale Abstand vom nächstunteren Schnitt wird am besten auf dem Blatt notiert. Sollte diese Methode der Orientierung bei vielfältig gegliederten Objekten unzureichend sein, so bettet man das Objekt in Paraffin ein und versieht den Block mit Richtlinien, wie das in der anatomischen Rekonstruktionstechnik gebräuchlich ist (ROMEIS). Dasselbe gilt auch für Objekte, die uneingebettet zerfallen würden (Knospen etc.) oder falls Färbungen angewendet werden müssen, die in Glycerin nicht haltbar sind. Dabei ist stets die bei Paraffinschnitten unvermeidliche Schrumpfung zu berücksichtigen und anhand von Vergleichsmessungen zu korrigieren.
5. Nachdem in gleicher Weise alle Schnitte im interessierenden Bereich gezeichnet worden sind, wird der gewünschte Betrachtungswinkel gewählt und am Gerät eingestellt. Ein steiler Betrachtungswinkel ergibt geringe Verzerrungen auf der Schnittfläche, dafür wird die vertikale Ausdehnung stark komprimiert. Bei den bisherigen Untersuchungen haben sich eher flache Winkel von $25-35^\circ$ am besten bewährt.
6. Nun wird die oberste Zeichnung auf der Vorlagenfläche orientiert, so dass die gewünschte Seite vorne zu liegen kommt und mit den bereits beim Zeichnen ver-

wendeten Nocken fixiert. Mit Klebestreifen wird auf dem Gummituch des Zeichenbrettes ein Streifen Zeichenpapier befestigt. Während man nun mit dem Fahrstift der Vorlage entlang fährt, wird sie durch den Zeichenstift in entsprechender Verzerrung wiedergegeben. Am besten zeichnet man mit farbigen Kugelschreibern, jede Ebene in einer anderen Farbe, damit man sie auseinanderhalten kann.

7. Nach der ersten Zeichnung dreht man das Zeichenbrett mittels einer Rastvorrichtung um den vertikalen Abstand bis zum nächsten Schnitt weiter. Dieser Abstand ist gleich dem Abstand der Schnitte in μm mal Vergrößerung auf der Zeichnung mal \cos Betrachtungswinkel, z. B. bei *Pisum*:
 $720 \mu\text{m} \times 31,5 \times 0,866 = 19,6 \text{ mm}$. Überhöhung, wie sie in der Geographie üblich ist, kann bei biologischen Objekten zu falschen Interpretationen führen und ist zu vermeiden.
8. Zum Schluss verbindet man die einzelnen Querschnitte durch vertikale Konturen (Abb. 2), paust die Darstellung auf Transparentpapier durch und überarbeitet sie (z. B. Schattierung). In der vorliegenden Arbeit wurde das Organ schon mit dem Gerät nicht als Ganzes, sondern in einzelne Blöcke zerlegt gezeichnet, um immer wieder das Querschnittsbild demonstrieren zu können (Abb. 4, 5).

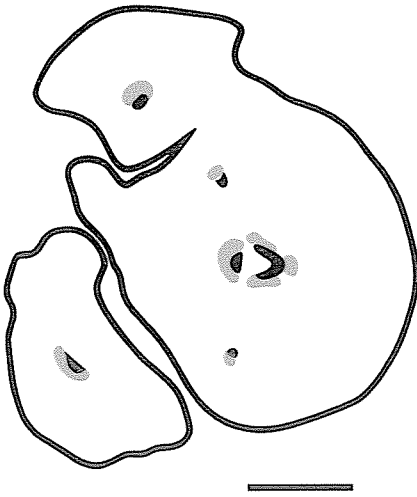


Abb. 1.

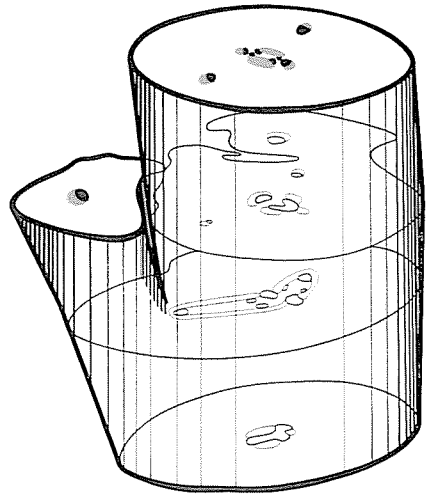


Abb. 2.

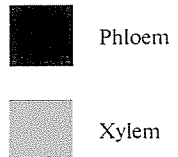


Abb. 1. *Pisum*. Herausgezeichneter Schnitt auf der Höhe des Kotyledonarknotens. Massstrich = 1 mm.

Abb. 2. *Pisum*. Perspektivische Darstellung des Kotyledonarknotens. Ausschnitt gemäss Abb. 3. Diese Darstellung bringt vor allem die äussere Gestalt des Organs zur Geltung. Projektionswinkel: 30° .

Resultate

Bei *Pisum* ist die Stele am Übergang Wurzel-Hypokotyl triarch, mit exarchem Xylem, und marklos. Mit dem Eintritt ins Hypokotyl wird die Xylemdifferenzierung allmählich mesarch und schliesslich endarch, ohne dass sich in der Lagebeziehung Xylem-Phloem zunächst etwas ändert. Die beiden seitlichen Xylemflügel werden die Kotyledonen versorgen, der dritte Flügel das Primärblatt, während die zentralen Gefässe, die ohnehin schon kollateral zum Phloem angeordnet sind, ins Epikotyl eintreten werden. Im Hypokotyl weichen die beiden Kotyledonarspurstränge brück auseinander und lassen im Zentrum den prospektiven Primärblattspurstrang und – vis-à-vis von ihm – ihren zentralen Anteil zurück. Diese beiden zentralen Xylemstränge gliedern je zwei dünne Bündel ab, die sie seitlich begleiten. Mit dem Auseinanderweichen aller Xylemstränge bildet sich kelchartig ein im Querschnitt ovaler Markraum (Abb. 4, unterster Block). Die beiden Kotyledonarspuren ziehen beidseits einen Phloemschleier mit sich, der sich noch vor der Abtrennung der Kotyledonarstiele abaxial um das Xylem herumschiebt und so zu kollateralen Leitbündeln führt (Abb. 4, mittlerer Block). Im Zentrum der Achse zeigen die 4 dünnen Xylemstränge infolge ihrer Entstehung durch tangentielle Differenzierung von Anfang an kollaterale Anordnung. Dasselbe gilt für den kotyledonarseitigen Hauptstrang. An das Xylem des prospektiven Primärblattstranges schliessen beidseits die entsprechenden Phloempartien der radiären Wurzelstiele an, die jenes bald durch tangentielle Differenzierung aussen überwallen. Von den vier kleinen zentralen Strängen weichen im Kotyledonarknoten die beiden von den Keimblättern abgewendeten auseinander und bilden die corticalen fibro-vasculären Bündel im Epikotyl. Elemente davon versorgen die Achselknospen der Kotyledonen. Die beiden kotyledonarseitigen Bündel zeigen einen äusserst variablen Verlauf (MULLER); im vorliegenden Fall fusionieren sie bald mit den Spursträngen der Kotyledonen. Die Stele des unteren Epikotyls besteht somit aus zwei kollateralen Strängen: Dem prospektiven Spurstrang des Primärblattes und dem ehemaligen zentralen Teil des triarchen Wurzeleitbündels. Sie stehen einander in der Blattlücke der Kotyledonen senkrecht zu deren Ebene gegenüber (Abb. 4, mittlerer Block). Im Epikotyl wird der Primärblattstrang durch tangentielle Differenzierung V-förmig; die Spitze des V setzt sich als eigentlicher Primärblattstrang von den beiden Schenkeln ab. Etwa in der Mitte des Epikotyls beginnen sich dann die beiden Schenkel in je zwei Stränge aufzuspalten, um in der Folge die Blattlücke des Primärblattes zu schliessen (Abb. 3, oberster Block).

Ein Querschnitt im oberen Drittel des Hypokotyls von *Beta* zeigt folgende Struktur des Zentralzylinders: Ein diarches Leitbündel, das von wenigen Reihen kleiner Zellen umgeben ist. Das Leitbündel ist im Querschnitt rechteckig, wobei die beiden

Abb. 3. *Pisum*. Versuchspflanze mit dem in Abb. 2 dargestellten Ausschnitt. Massstab: 1 Teilstrich = 1 mm.

Abb. 4. *Pisum*. Derselbe Ausschnitt wie Abb. 2, aber in Blöcke zerlegt. Die Darstellung zeigt vor allem die inneren Verhältnisse.

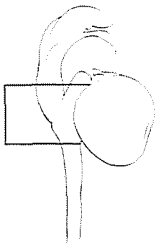
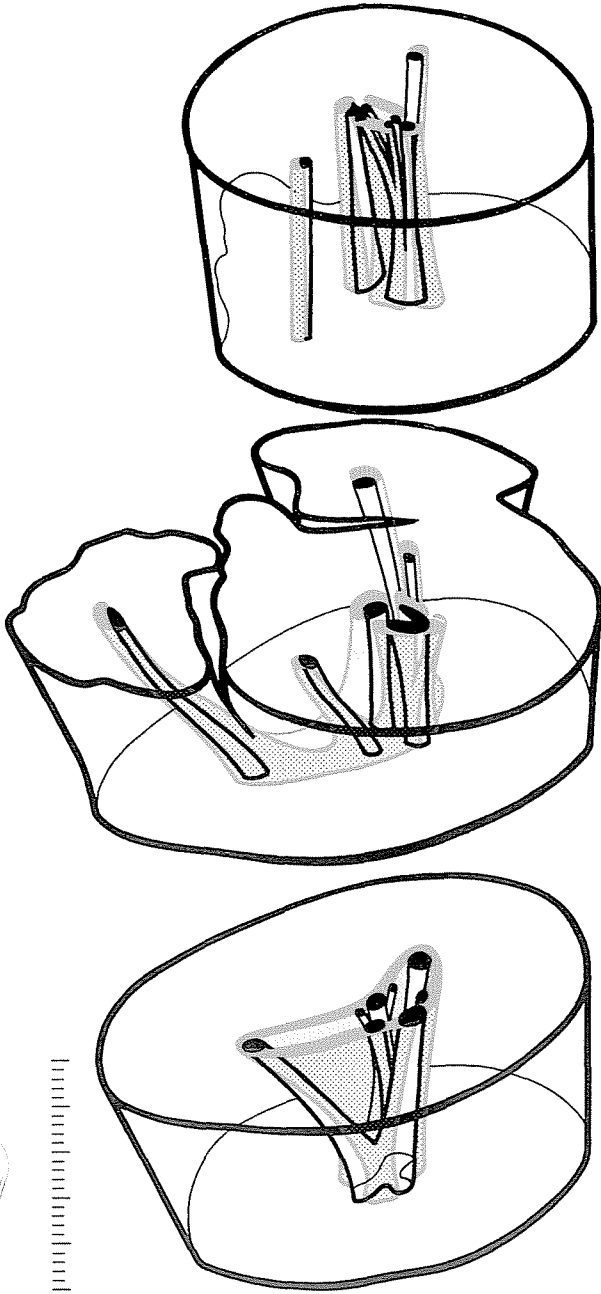
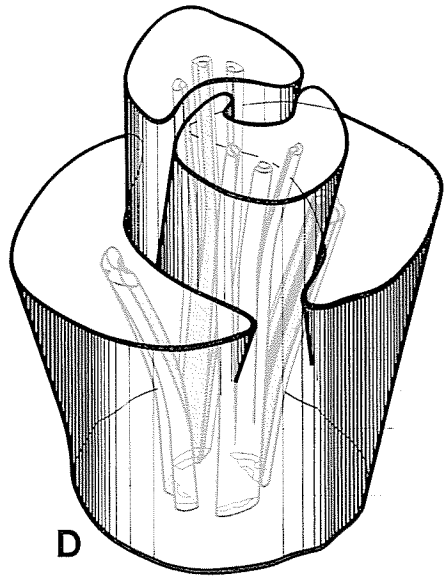
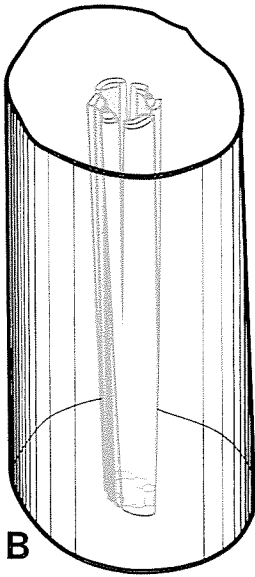


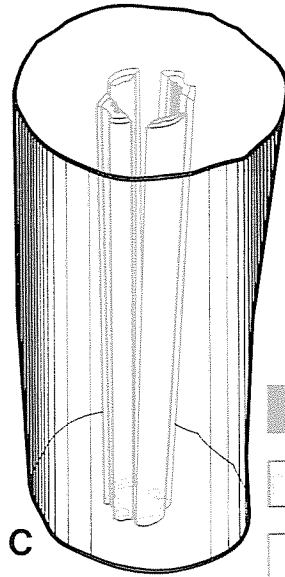
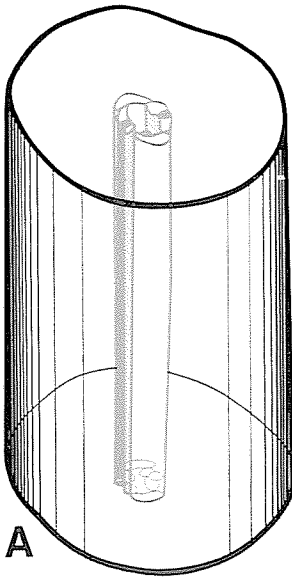
Abb. 3.

Abb. 4.






B

D



A

C

-  Protoxylem
-  Metaxylem
-  Phloem

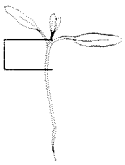


Abb. 6.

Abb. 5.

– exarchen – Xylemplatten die Längsseiten einnehmen. Zentral und teilweise lateral vom Protoxylem liegen die Gefässe des Metaxylems in je zwei nahezu getrennten Strängen (Abb. 5, A). Zwischen den Xylemplatten liegen 2–3 Schichten von Markzellen. Die Schmalseiten des Leitbündelprismas werden von zwei Phloemplatten gebildet. Wurde bis zu diesem Niveau Metaxylem vor allem zentripetal des Protoxylems angelegt, so teilt sich nun die Richtung der Xylemdifferenzierung in zwei Achsen, die allmählich auf die Flanken des Protoxylems schwenken. Jeder dieser vier Metaxylemflügel gliedert nun an seinem Aussenrand einen Teilstrang ab. Beidseits vereinigen sich je zwei solcher Teilstränge unter dem zentralen Teil der ursprünglichen Phloemplatten und bilden so zwei kollaterale Leitbündel, die in das Epikotyl eintreten (Abb. 5, B). Gleichzeitig weichen die lateralen Partien dieser ursprünglichen Phloemplatten auseinander und treten seitlich-aussen an die ursprünglichen Metaxylemflügel heran. Im Zusammenhang mit diesen Umlagerungen und infolge einer allmählichen zentrifugalen Verlagerung des Leitgewebes erweitert sich der zentrale Markraum (Abb. 5, C).

Im Kotyledonarknoten biegen nun die beiden Metaxylemplatten der ursprünglichen Wurzelstele abrupt nach aussen ab und treten in die Blattstiele der Kotyledonen ein. Auf der Höhe der Abzweigung dieser Stiele stehen die je zwei Phloemstränge immer noch lateral vom Xylem. Sie werden sich noch im Blattstiel abaxial um das Xylem herumschieben und sich miteinander vereinigen (Abb. 5, D).

Die beiden im Zentrum verbliebenen kollateralen Platten spalten sich im Kotyledonarknoten in je drei Stränge auf, die dann als Blattspuren in die Stiele der beiden Primärblätter eintreten (Abb. 5, D). Zuvor gliedern die Ränder der beiden Platten kollaterale Xylem- und Phloemelemente ab, die sich tangential in die Blattlücken der Keimblätter hinein differenzieren und in der Folge die Sprossspitze versorgen werden. Im gezeichneten Stadium steckt diese freilich noch tief zwischen den Basen der Primärblätter.

Diskussion

Zur Methode ist zu sagen, dass die ganze Prozedur Zeit und eine gewisse Übung erfordert, freilich von beidem bedeutend weniger als die Rekonstruktion mittels Wachsplatten (ROMEIS). Gegen alle anderen Methoden der Rekonstruktion heben sich die beiden genannten durch ihre grosse Genauigkeit ab. Nachteilig ist bei der zeichnerischen Methode, dass für jeden Betrachtungswinkel eine neue Darstellung angefertigt werden muss, während man ein Modell ohne weiteres aus beliebigen Richtungen betrachten kann. Andererseits lässt sich eine Zeichnung leicht reproduzieren und braucht kaum Platz. Weiterhin eignet sich die körperliche Rekonstruktion im wesentlichen nur zur Abbildung von Oberflächen; die zeichnerische erlaubt es

Abb. 5. *Beta*. Perspektivische Darstellung des Leitbündelverlaufes. Ausschnitt gemäss Abb. 6. Projektionswinkel: 30°.

Abb. 6. *Beta*. Versuchspflanze mit dem in Abb. 5 dargestellten Ausschnitt. Massstab: 1 Teilstrich = 1 mm.

darüber hinaus, verschiedene Schichten im Aufbau von Körpern darzustellen, wie hier den Verlauf der Leitbündel in der Tiefe des Organs. Die zeichnerische Darstellung muss von einem klaren Grundsatz ausgehen. Hier wurde das Leitgewebe als undurchsichtig betrachtet, alle übrigen Gewebe als durchsichtig. Behandelte man auch das Leitgewebe als durchsichtig, so würden die hinteren Stränge verwirrend wirken. In anderen Darstellungen (ESAU) wird alles Gewebe als undurchsichtig betrachtet und demnach der Verlauf der Leitbündel lediglich gestrichelt. Dabei wird gerade das Wesentliche unklar.

Für *Pisum* stimmen die Resultate im wesentlichen mit denen von COMPTON (überarbeitet in HAYWARD) überein. Freilich füllt in jenem Schema das Leitgewebe fast den ganzen Querschnitt und gibt so einen falschen Eindruck. Die corticalen fibrovasculären Bündel differenzieren sich bei COMPTON auf der Seite der Kotyledonen, hier wird die Auffassung von MULLER unterstützt, dass sie auf der gegenüberliegenden Seite entspringen. MULLER stellt im Gegensatz zu COMPTON fest, dass auf der Höhe der Abzweigung der Kotyledonen in deren Stielen durch tangentiale Differenzierung des Phloems bereits kollaterale Verhältnisse herrschen; dieser Sachverhalt kann bestätigt werden.

LYLE (unveröffentlichte Master's Thesis, wichtigste Resultate in HAYWARD) zeigt schöne zellgetreue Abbildungen von Querschnitten durch das Hypokotyl von *Beta*; ihre Beschreibung des Überganges Wurzel-Stengel ist indessen etwas summarisch. Für diese Pflanze kann der konzise Text von ESAU durchaus bestätigt werden. Vor allen Dingen betont ESAU, dass das wesentlichste Ereignis im Übergang Wurzel-Stengel in der teilweisen Änderung der Differenzierungsrichtung von radial nach tangential besteht, wodurch sich Phloem- und Xylemstränge seitlich übereinanderschieben und so in kollaterale Lage übergehen.

Die früheren Arbeiten konnten nur annähernd mit den vorliegenden Resultaten verglichen werden, da häufig die systematische Zugehörigkeit zu wenig genau angegeben wurde. Gerade bei Kulturpflanzen mit vielen Unterarten und Rassen, die sich in ihren Wuchsformen z. T. drastisch unterscheiden, ist grösste Genauigkeit geboten. Ähnliches gilt für das Alter der Versuchspflanzen; es ist nicht in chronologischen Einheiten anzugeben, sondern als morphologisch erreichter Differenzierungsgrad. Zu junge Keimpflanzen zeigen nur den Übergang Wurzel-Kotyledonarstiel, wie z. B. die Schemata von LYLE. Auch bei den Figuren von ESAU konnte der prospektive Ort der Epikotylleitbündel nur angedeutet werden, weil diese Gewebe eben noch zu wenig entwickelt waren. Ebenso ungeeignet sind zu alte Keimlinge, weil die Verhältnisse bald unübersichtlich werden. MULLER, der das Hauptgewicht seiner ausserordentlich gründlichen Studien auf die drei ersten Stengelknoten gelegt hat, schreibt selbst, dass seine Objekte zu alt waren, um den eigentlichen Übergang Wurzel-Stengel genau verfolgen zu können.

Ich danke meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. WANNER, für seine Unterstützung, sowie dem Zürcher Hochschulverein für seine Spende, die den Ankauf des Perspektomats ermöglicht hat. Herrn RENÉ SUTER verdanke ich die sorgfältige zeichnerische Überarbeitung der Vorlagen.

Literatur

- COMPTON, R. H.: An Investigation of the Seedling Structure in the Leguminosae. Linn. Jour. Bot. 41, 1–22 (1912).
- ESAU, K.: Plant Anatomy, 2nd ed. John Wiley & Sons Inc., New York/London/Sydney, 1965.
- FORSTER, F.: Perspektomat P-40, ein selbstzeichnender Apparat für Parallelperspektive. Mitt. Naturforsch. Ges. Schaffh. XXVIII, 251–274 (1963/67).
- HAYWARD, H. E.: The Structure of Economic Plants. Macmillan, New York 1938.
- MULLER, C.: La tige feuillée et les cotylédons des Viciées à germination hypogée. Cellule 46, 195–354 (1937).
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. R. Oldenbourg, München 1948.

