

Teilen eines Chromosoms verschiedene Erbfaktoren enthalten sind, exakt bewiesen worden.

Insofern als die Koppelung eine häufige Art des Vererbungsmodus zweier oder mehrerer Faktoren ist und ihre Erforschung zu so weittragenden Anschauungen geführt hat, gehört die



Abb. 7. Ein Bruchstück des Y-Chromosoms von *Drosophila melanogaster*. Links ein normales Y-Chromosom, rechts das Y'-Bruchstück. Der dem Bruchstück fehlende Teil enthält einen Faktor (oder einen Faktorenkomplex), der für die Fertilität eines Männchens notwendig ist. Schematisch nach STERN.

Kenntnis dieser Art von Vererbung zu dem notwendigen Rüstzeug des theoretischen und praktischen Vererbungsforschers.

Von den vielen anderen Ergebnissen sei als vom züchterischen Standpunkt besonders wichtig die Erforschung der Letalfaktoren erwähnt. Es handelt sich, wie man jetzt weiß, um Faktoren, die im Prinzip nicht von anderen Erb-

faktoren verschieden sind, die aber eine so tiefgehende Veränderung der normalen Entwicklung des Individuums bedingen, daß es vor Beendigung der Entwicklung zugrunde geht. Solche Letalfaktoren sind bei *Drosophila* außerordentlich häufig, was insofern nicht sehr überraschend ist, als eben die meisten Veränderungen der Entwicklung eines so fein abgestimmten Systems, wie es ein Organismus darstellt, schädlich oder gar letal wirken müssen. Letalfaktoren spielen sowohl bei Pflanzen als auch

besonders bei Tieren eine sehr große Rolle; es sei hier nur auf die wichtigen Untersuchungen von MOHR und WRIEDT am Rinde verwiesen.

Schließlich sei noch die Erforschung des Mutationsprozesses erwähnt, die in der von MULLER erzielten künstlichen Erzeugung von Mutationen durch Bestrahlung der Zellen mit Röntgenstrahlen bei *Drosophila* einen großen Antrieb gewann. Wie schon von STUBBE in dieser Zeitschrift ausgeführt wurde, erwachsen gerade aus der Anwendung dieser Methode auf züchterisch wichtige Organismen neue Möglichkeiten.

Wenn hier die Entwicklung vieler Probleme der allgemeinen Genetik gerade an der *Drosophila*-Genetik demonstriert wurde, so sollen damit die Untersuchungen an anderen Organismen nicht zu gering eingeschätzt werden. Oft sind wichtigste Fragen der Genetik schon bei der Untersuchung anderer Tiere und Pflanzen aufgerollt worden, die aber dann erst durch *Drosophila*-Untersuchungen geklärt werden konnten, oft sind Fragen, die bei *Drosophila* nur begrenzt zu bearbeiten waren, an anderen Lebewesen einer Lösung zugeführt worden. Gerade die Anwendungen der theoretischen Genetik gehen wohl kaum auf direktem Wege aus der *Drosophila*-Forschung hervor, sondern bedürfen eines vermittelnden Gliedes zwischen der einseitigen Auffassung, die die eingehende Erforschung eines einzelnen Organismus notwendigerweise ergibt und dem oft ebenso speziellen Erfordernis, das ein anderer Organismus, eine Zuchtpflanze oder ein Haustier an den Züchter stellt.

Zwei einfache Methoden zur Untersuchung pflanzlicher Chromosomen.

Von **Lothar Geitler**, Wien.

Genetik und Cytologie bildeten anfänglich getrennte Disziplinen. Die Sachlage veränderte sich aber, als in den ersten Jahren nach 1900 versucht wurde, die Mendelspaltung der Merkmalspaare mit den chromosomalen Vorgängen der Reduktionsteilung zu verknüpfen. Seither sind zahlreiche Beweise für die Richtigkeit dieser Annahme erbracht worden, und es hat sich gezeigt, daß bis in alle Einzelheiten eine weitgehende Parallelität zwischen genetischem und cytologischem Geschehen herrscht. Die Zusammenfassung dieser wissenschaftlichen Teilgebiete ist nicht nur *theoretisch* bedeutungsvoll. An einigen willkürlich herausgegriffenen Beispielen sei die Bedeutung cytologischer Untersuchung auch für den praktischen Genetiker gezeigt.

Bereits die bloße Feststellung der Chromo-

somenzahl kann in vielen Fällen wertvoll sein. Abgesehen davon, daß sie in diagnostischer Hinsicht bei morphologisch schwer unterscheidbaren Rassen herangezogen werden kann, ist z. B. das Erkennen von gigas- (tetraploiden) oder semigigas- (triploiden) Formen, wie sie gerade unter den Kulturpflanzen oft entstanden sind und dauernd weiter entstehen, von Wichtigkeit. Solche Typen (das gilt namentlich von den semigigas-Pflanzen) sind rein morphologisch von extremen Plusabweichern oft nicht zu unterscheiden. Die Feststellung der Chromosomenzahl kann andererseits in Fällen, wo es sich um äußerlich nicht in Erscheinung tretende Defekte handelt (Ausfall von Chromosomen), unnütze Züchtungsarbeit ersparen.

Von besonderer Bedeutung ist die Kenntnis

der Chromosomenverhältnisse bei Kreuzungen. So kann beispielsweise in der Folge einer Bastardierung eine Verdoppelung des diploiden Chromosomensatzes eintreten, wodurch tetraploide, nicht spaltende Bastarde entstehen. Für das Verständnis des Verhaltens vieler Bastardgenerationen ist — namentlich bei weiter Verwandtschaft der Eltern — die Kenntnis der chromosomalen Vorgänge während der Reduktionsteilung oft wesentlich förderlich; häufig treten unklare

zuheben, so liegt dieser darin, daß diese Methoden nicht bei allen Objekten oder doch nicht in allen Organen eines Objektes gleich gut anwendbar sind. Daraus ergibt sich in bestimmten Fällen die Notwendigkeit, die alte Methode weiter anzuwenden. *Keinen* Nachteil besitzen die Schnellmethoden jedoch in der Güte der Chromosomenfixierung. Sie halten in dieser Hinsicht jeden Vergleich mit der üblichen Präparationstechnik aus. Die Pollenausstrichmethode

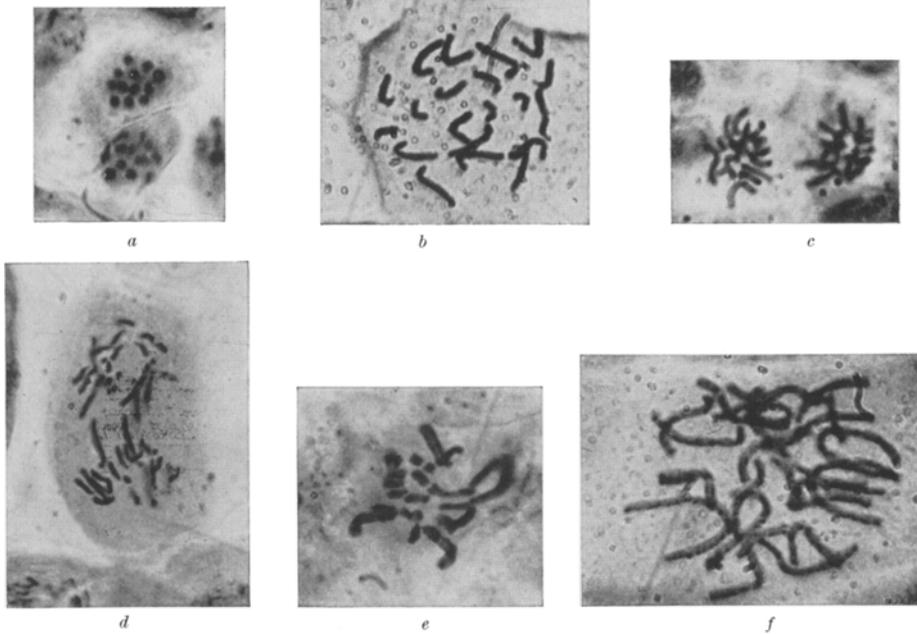


Abb. 1. *a* *Melandrium album* ♂, heterotypische Metaphase in Polansicht, 12 Chromosomenpaare; *b* *Ornithogalum libanoticum*, späte Anaphase aus einer Wurzel, beide Hälften in dieselbe Ebene gedrückt, 10 Chromosomen; *c* *Ornithogalum narbonense*, Telephase aus einer Wurzel, 14 Chromosomen; *d*, *e* *Urginea maritima*, *d* späte Anaphase (Chromosomen auseinandergedrückt) aus einer Wurzel in Seitenansicht, *e* Metaphase aus einer Wurzel in Polansicht, 12 längsgespaltene Chromosomen; *f* *Galanthus nivalis*, Metaphase aus einer Wurzel, 24 Chromosomen. — Alle Präparate nach der Methode von HEITZ behandelt. Vergr. etwa 1000fach (nach HEITZ 1926).

Mendelspaltungen auf, welche die verschiedensten cytologischen Ursachen haben können¹. Die Beispiele ließen sich beliebig vermehren.

Die üblichen Methoden der Chromosomen-darstellung sind umständlich; sie laufen darauf hinaus, daß man das Objekt fixiert, entwässert, in Paraffin oder Zelloidin einbettet, hierauf mit dem Mikrotom schneidet, die Schnitte färbt und endlich in das definitive Einschlußmedium überträgt. Von diesen wenig erfreulichen Manipulationen kann man aber in vielen Fällen die Mikrotomararbeit ausfallen lassen und dadurch das ganze Verfahren wesentlich abkürzen. Dies — und noch mehr — ist in der unten angegebenen Weise zu erreichen. Um aber gleich den Nachteil der beiden zu schildernden Methoden hervor-

hat zudem den Vorteil einer besseren Fixierbarkeit.

Das zunächst zu schildernde Verfahren beruht auf der schon lange bekannten und auch gelegentlich (z. B. von BELLING) geübten Schnellfärbung der Chromosomen mittels Essigkarmin. In neuerer Zeit hat HEITZ¹ diese Methode weiter ausgebaut und ihre Brauchbarkeit für eine große Zahl von Fällen dargetan. Man verfährt nach HEITZ in folgender Weise:

Das Objekt wird zunächst in heißem Alkohol-Eisessig (zwei Teile Alkohol, ein Teil konz. Essigsäure) fixiert, hierauf in Essigkarminlösung auf einem Objektträger (oder Deckglas) zerzupft und gekocht. Die Essigkarminlösung stellt man sich in der Weise her, daß man in 45 % iger kochen-

¹ Vgl. hierzu den Aufsatz von K. BĚLAŘ, „Züchtung und Cytologie“ in Heft 1 dieser Zeitschrift.

¹ HEITZ, E.: Der Nachweis der Chromosomen. Vergleichende Studien über ihre Zahl, Größe und Form im Pflanzenreich, I. Z. Bot. 18 (1926).

der Essigsäure Karmin bis zur Sättigung löst und die abgekühlte Lösung filtriert. Die Färbungsdauer schwankt je nach dem Objekt. Häufig genügt einmalige Erhitzung bis zur Dampfbildung; manchmal muß man längere Zeit erhitzen (dabei ist die verdampfte Flüssigkeitsmenge durch frische Lösung zu ersetzen). Unter Umständen kann die Erhitzung überhaupt unterbleiben. Die Färbung ist beendet, wenn das Objekt bei Betrachtung mit freiem Auge rot gefärbt erscheint. Man legt dann ein Deckglas auf und drückt es je nach dem Objekt \pm stark nieder, wodurch die infolge der bisherigen Behandlung bereits mazerierten Zellen sich ausbreiten und die in ihnen ablaufenden Kernteilungen dem Beobachter ebenso gut zugänglich werden wie in einem Mikrotomschnitt. Bei der Ausübung des Druckes ist streng darauf zu achten, daß er genau senkrecht erfolgt; seitliche Verschiebungen müssen unbedingt vermieden werden, da sie ein Auseinanderziehen der Chromosomen zur Folge hätten.

Die mikroskopische Untersuchung kann sofort an dem in der Karminessigsäure liegenden Objekt erfolgen. Die während der Beobachtung verdunstende Flüssigkeit ersetzt man durch Wasser. Will man Dauerpräparate haben, so entwässert man in Alkohol und führt das Objekt über Xylol in Kanadabalsam. Nach HEITZ kann man die Präparate auch herbarmäßig weiterbehandeln, also austrocknen lassen, trocken aufbewahren und bei späterer Untersuchung von neuem aufkochen; die in Abb. 1 dargestellten Objekte (außer *Galanthus nivalis*) wurden in dieser Weise behandelt.

Diese außerordentlich roh anmutenden und tatsächlich wenig schonenden Prozeduren liefern Resultate, wie sie durch Abb. 1 illustriert werden. Die Chromosomen sind nicht weitgehender verändert als bei Anwendung vieler anderer „kunstgerechter“ Fixierungsmittel. HEITZ hat gezeigt, daß sich auch der feinere Bau der Chromosomen an solchen Präparaten studieren läßt. Dies erklärt sich aus dem Umstand, daß gerade die Chromosomen zu den resistentesten Zellbestandteilen gehören und weit mehr Mißhandlungen ohne Schaden vertragen, als man meistens annimmt. Das Cytoplasma und seine Einschlüsse werden allerdings weitgehend verändert, ebenso die frühen Prophase- und Telophasestadien sowie die Ruhekerne. Auf eine adäquate Erhaltung dieser Teile kann aber in den hier supponierten Fällen verzichtet werden.

Bei geglückter Färbung sind die Chromosomen dunkelrot gefärbt und heben sich von dem meist blaßrosa gefärbten Cytoplasma deutlich ab. Die Nucleolen färben sich niemals, da sie

verquellen; dieses bedeutet auch einen gewissen Vorteil.

Am brauchbarsten sind für die Essigkarmin-Quetschmethode die Meristeme der Sprosse, seien es vegetative oder Vegetationspunkte aus Blütenknospen. Die sonst so beliebten Wurzelspitzen empfehlen sich deshalb weniger, weil die Teilungen in ihnen vorwiegend parallel zur Längsachse der Wurzel stehen, und man beim Druck auf das Deckglas hauptsächlich Seitenansichten der Mitosen erhält, die bei den meisten Objekten für eine Chromosomenzählung unbrauchbar sind. Liegen allerdings dickere Wurzeln vor, so lassen sich Handschnitte anfertigen und diese weiter behandeln¹.

Die Karminessigsäurefärbung läßt sich mit der folgenden, keineswegs neuen, aber in weiteren Kreisen wenig bekannten und angewendeten Methode des Pollenausstriches kombinieren, welche dem Studium der Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen dient.

Man legt eine Anthere (bei entsprechender Übung mehrere) des richtigen Altersstadiums auf ein Deckglas oder einen Objektträger, schneidet mit einem *scharfen* Rasiermesser oder einer Rasierklinge quer durch und streicht die minimale austretende Flüssigkeitsmenge, welche die Pollenmutterzellen enthält, mit einem „Schwung“ aber ohne Druck aus, indem man die Antherenfragmente über das Glas hinzieht. Dann läßt man Deckglas oder Objektträger in die Fixierungsflüssigkeit fallen. Größte Schnelligkeit der Manipulation ist unerlässlich, da ein Austrocknen der Objekte vor der Fixierung unbedingt vermieden werden muß. Es ist ferner darauf zu achten, daß man den Ausstrich nicht über die Fixierungsflüssigkeit hält, sondern ihn blitzartig in dieselbe hineinbringt. Im gegenteiligen Fall erzeugen die Dämpfe des Fixierungsmittels schon vor der Fixierung Artefakte.

Kommt es nur auf „gewöhnliche gute“ Fixierung namentlich der Metaphasechromosomen an und ist Schnelligkeit erwünscht, so benützt man zum Fixieren Alkohol-Eisessig und behandelt mit Essigkarmin weiter, wie oben angegeben. Der Druck auf das Deckglas bleibt selbstverständlich weg, da die Pollenmutterzellen eo ipso isoliert liegen. Legt man aber Gewicht auf in jeder Beziehung brauchbare Präparate, so empfiehlt sich die Benützung der Fixierungs-

¹ Bei dieser Gelegenheit sei darauf hingewiesen, daß es für das Antreffen der gewünschten Zahl von Kernteilungen nicht bedeutungslos ist, in welchem Zustand sich die Pflanze während der Fixierung befindet. Abgesehen von dem Einfluß der Tages- bzw. Nachtzeit soll die Pflanze *mehrere* Stunden vor der Fixierung *kräftig gegossen* werden.

flüssigkeit nach FLEMMING-BENDA, auf deren Vorteile neuerdings BĚLAŘ hingewiesen hat¹. Gegenüber der gebräuchlichen Flemming-Mischung enthält sie nur sehr wenig Essigsäure (4 ccm 2%iges Osmiumtetroxyd = „Osmiumsäure“, 15 ccm 1%ige Chromsäure, 2—3 Tropfen konz. Essigsäure). Man fixiert in dieser Lösung zwölf Stunden lang, wäscht in Wasser aus, bleicht in Wasserstoffsuperoxyd und färbt in beliebiger

und 3 zeigen einige Pollenmutterzellen einer *Aloë* aus Präparaten, die auf diese Weise hergestellt wurden. Die Bilder erlauben nicht nur eine Beurteilung des Erhaltungszustandes der Chromosomen (Spiralbau, Zwischenkeligkeit), sondern zeigen auch die völlig schrumpfungslöse und gerinnselfreie Fixierung des Protoplasten.

Der Vorteil der Pollenausstrichmethode liegt, wie erwähnt, nicht nur in einer Ersparnis an Zeit,

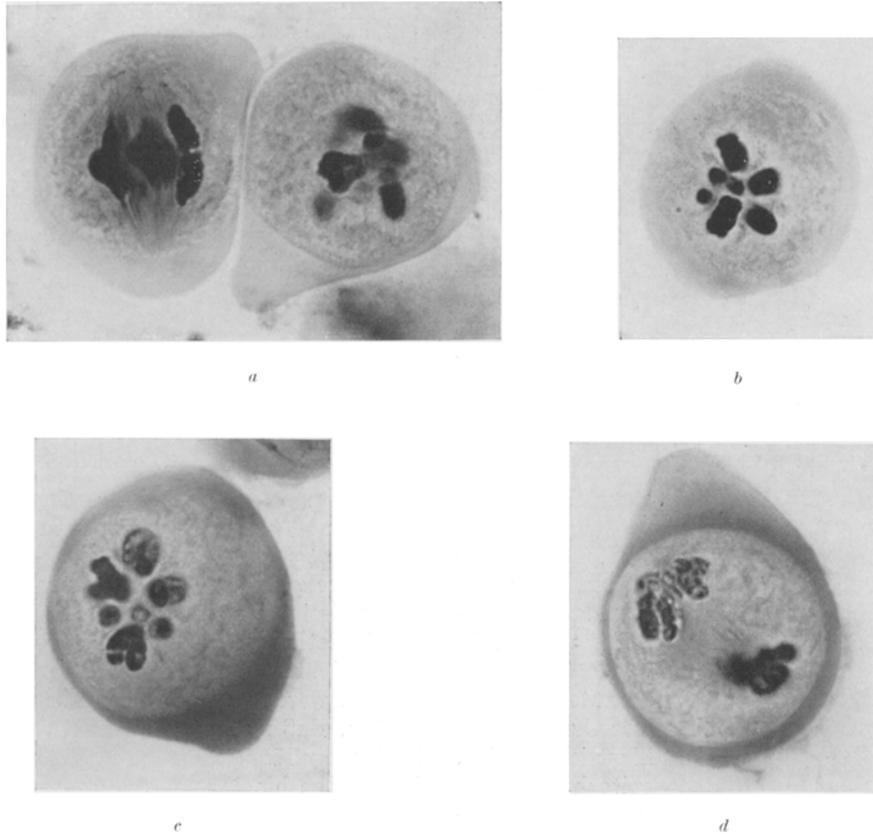


Abb. 2. *Aloë* sp., heterotypische Teilung in den Pollenmutterzellen. *a* Profilsicht und schiefe Seitenansicht der Metaphase, das rechte Chromosomenpaar der linken Zelle zeigt Spiralbau; *b*, *c* Metaphasen in Polansicht, 3 kleine, 4 große Chromosomenpaare; *d* Telophase in schiefer Seitenansicht, Spiralbau der Chromosomen deutlich. — Ausstrich, fixiert mit *Flemming-Benda*, gefärbt mit Safranin-Lichtgrün, Kanadabalsam. *a* und *b* wurden mit Grünfilter, *c*, *d* mit Rotfilter photographiert; Chromosomen in *a* und *b* daher undurchsichtig schwarz, in *c* und *d* transparent abgebildet, die grüngefärbten Zellmembranen in *c* und *d* deutlicher sichtbar als in *a* und *b*. — Etwa 1000fach.

Weise. Am besten wirkt meist Safranin in konz. wässriger Lösung mit Gegenfärbung in Lichtgrün-Alkohol. Eisenalaun-Hämatoxylin gibt gerade nach dieser Fixierung oft weniger distinkte Färbungen. Nach dem Färben kann meist ohne Einschaltung von Zwischenstufen (Osmiumtetroxyd härtet ausgezeichnet) in absolutem Alkohol entwässert und über Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Abb. 2

¹ Vgl. BĚLAŘ, K.: Die Technik der deskriptiven Cytologie, in: Methodik der wissenschaftlichen Biologie. Bd I. Berlin 1928.

sondern auch in der leichteren und fehlerfreieren Beobachtung der Mitosefiguren in ganzen, unverletzten Zellen. Bei Mikrotomschnitten werden bekanntlich häufig Chromosomen herausgerissen. Außerdem läßt sich infolge der unmittelbaren Berührung der Pollenmutterzellen mit der Fixierungsflüssigkeit eine *bessere* Fixierung erzielen, als es bei in toto-Fixierung von Antherenteilen möglich ist. Die Anwendbarkeit ist aber auf Objekte beschränkt, die genügend große Antheren und eine entsprechende Menge von Antherenflüssigkeit besitzen. In manchen Fällen

kann man durch einen richtig dosierten Druck auf die Antherenwand nachhelfen. Doch vertragen keineswegs alle Objekte diese Behandlungsweise. Besteht keine Möglichkeit, einen Ausstrich zu erhalten, so kann man die Methode von HEITZ modifiziert anwenden (Zerschneiden der Antheren in kleine Stücke, Fixieren, Zerzupfen und Färben; die Pollenmutterzellen werden beim Zerzupfen frei); andernfalls muß man beim Verfahren der Mikrotomtechnik bleiben.

Auch in diesem Fall aber ist eine Erleichterung möglich: statt eine große Zahl von Blütenknospen des ungefähr richtigen Stadiums zu fixieren, kann man durch Zerzupfen einzelner Antheren vor der Fixierung, sei es im Feld oder im Laboratorium, eine engere Auswahl der in Betracht kommenden Blütenknospen treffen; dadurch wird spätere unnütze Schneidearbeit erspart. Mit einiger Übung lassen sich die gewünschten Stadien bereits im Leben bei mittelstarker Ver-

größerung erkennen; erleichtert wird das Suchen durch Zusatz irgend einer koagulierenden Flüssigkeit (z. B. Alkohol oder Alkohol-Eisessig), wobei

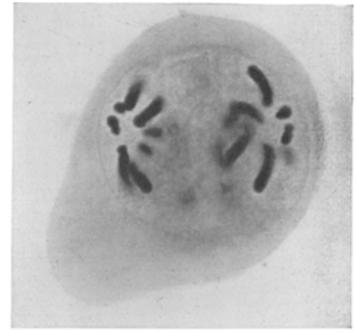


Abb. 3. *Aloë* sp., homöotypische Teilung n den Pollenmutterzellen. a Metaphase in Polansicht, Chromosomenspalthälften auseinanderspreizend; im Zentrum der Platte die drei kurzen Chromosomen. b späte Anaphase in Polansicht; die korrespondierenden, in einer tieferen Einstellebene liegenden Chromosomenplatten bilden sich als verschwommene dunkle Flecken ab. — Behandlung wie bei Abb. 2, Grünfilter. — Etwa 1000fach.

die Chromosomen infolge ihrer stärkeren Lichtbrechung gut erkennbar werden, wenn man nicht überhaupt die Karminessigmethode anwendet.

Domänenrat Meyer zum 70. Geburtstage.

Von K. Westermeier, Friedrichswerth i. Thür.

Am 13. November beging Herr Domänenrat Dr. h. c. EDUARD MEYER-Friedrichswerth seinen siebenzigsten Geburtstag. An diesem Tage seiner besonders zu gedenken, wird für einen jeden Landwirt, besonders

Pflanzenzüchter, eine Selbstverständlichkeit sein, denn seinem Geist und seiner Arbeitskraft verdankt die Pflanzenzucht und mit ihr die deutsche Landwirtschaft viele wertvolle Leistungen und Anregungen.

Herr Domänenrat E. MEYER, am 13. November 1859 in Hannover geboren, pachtete schon mit 26 Jahren, kaum daß er seine praktische Ausbildung als abgeschlossen betrachtete, die gothaischen Domänen Friedrichswerth und Neufrankenroda und legte da-



— Domänenrat Meyer —

mit den Grundstein, auf dem sich sein Lebenswerk aufbauen sollte.

Obwohl Domänenrat MEYER nicht nur ein weit-sichtiger Pflanzenzüchter, sondern auch ein weit über den Durchschnitt herausragender Ackerbauer und Tierzüchter war, sei an dieser Stelle seiner doch vor allem als Pflanzenzüchter gedacht. Sein Streben bei dem Ausbau dieses Spezialfaches war anfangs nicht so sehr auf sofortigen Beginn züchterischer Arbeiten gerichtet, als vielmehr auf die Ergründung, welche Sorten sich für seine Wirtschaften am besten eignen. Umfangreiche Sortenversuche bildeten die Grundlage dazu, sich über die Ergiebigkeit der einzelnen Zuchten zu unterricht-