

(Aus dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung der Universität Berlin.)

Untersuchungen über die Möglichkeit der Erzeugung polyploider Kulturpflanzen durch Colchicinbehandlung.

Von G. Werner.

Auf Anregung von Herrn Prof. Dr. KAPPERT werden am hiesigen Institut Untersuchungen durchgeführt, die zum Ziele haben, durch geeignete Mittel und Methoden die Erzeugung eupolyploider Kulturpflanzen in die Hand zu bekommen. Bisher waren wohl schon verschiedene Methoden zur Herstellung solcher Formen bekannt, doch blieb es mehr oder weniger ein Glücksfall, ob der Experimentator die gewünschte Form in einer mehr oder weniger großen Menge behandelter Individuen fand. Da erschienen im Winter 1937/38 Arbeiten von BLAKESLEE und AVERY (1) und von NEBEL und RUTTLE (18), in denen über die spezifische zellphysiologische Wirkung des Colchicins berichtet und worin auf die große Bedeutung, welches dieses Mittel für die Erzeugung polyploider Pflanzen erlangen könne, hingewiesen wurde. Es lag deshalb nahe, als die Durchführung der geplanten Untersuchungen durch die Reichsforschungsgemeinschaft, der für ihre Unterstützung bestens gedankt sei, gewährleistet war, nicht nach neuen Mitteln und Methoden zu suchen, sondern diese Arbeit zunächst auf Untersuchungen über die Wirkungsweise dieser Droge zu konzentrieren.

Es erschien zweckmäßig, zunächst einmal die makroskopisch sichtbaren, morphologischen Effekte der Colchicinbehandlung an verschiedenen Objekten eingehend zu studieren, um sich dann den cytologischen Untersuchungen zuzuwenden. Wie mir scheint, rechtfertigen die bisherigen Ergebnisse diese Art des Vorgehens, da sie uns Hinweise geben, wo die cytologischen Untersuchungen anzusetzen haben, und weil sie bei der Ausarbeitung möglichst wirksamer Behandlungsmethoden nützlich waren und auch weiterhin sein werden.

A priori war eine verschiedene, artspezifische Wirkung zu erwarten, was die Prüfung verschiedener Pflanzenarten verlangt. Aus naheliegenden Gründen wurden hierfür solche Kulturpflanzen gewählt, von denen anzunehmen ist, daß sie diploid sind. Es war aber auch zu erwarten, daß verschiedene Behandlungsdosen,

bei einer Art graduell verschieden wirken würden, die Wirkung demnach von der Konzentration und der Behandlungsdauer abhängig sein würde, und deshalb beides bei jeder Art variiert werden müsse.

Aus den wenigen bisher veröffentlichten Ergebnissen cytologischer Untersuchungen ging klar hervor, daß die spezifische Wirkung des Colchicins darin zu sehen ist, daß es den normalen Ablauf der Zellteilung verhindert. Die Chromosomen weichen nach der Teilung nur sehr langsam auseinander, eine Zellwand wird nicht gebildet, und der verdoppelte Chromosomensatz wird zu einem Restitutionskern zusammengeschlossen. Das Wesentliche dabei ist also, daß das Colchicin nur auf solche Zellen wirkt, die gerade in Teilung begriffen sind. Daraus ergab sich die weitere Forderung, das Mittel auf Gewebe mit möglichst lebhafter Zellteilung einwirken zu lassen, wie sie etwa im keimenden Samen zu finden sind.

Versuchsmethodik und Resultate.

Die erste Art der Behandlung bestand im Einquellen von Samen in wässriger Colchicinlösung verschiedener Konzentration, eine Methode, wie sie schon von BLAKESLEE und AVERY (1) angewendet wurde.

Je 25 Samen von Erbsen (*Pisum sativum*), Spinat (*Spinacea oleracea*), Lein (*Linum usitatissimum*), Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) und Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongyloides*) wurden in 0,25—0,50—0,75 und 1% iger wässriger C-Lösung 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden eingequollen. Darauf wurden die Samen zur weiteren Entwicklung auf feuchten Sand in Petrischalen gebracht und dann jeder Samen, der einwandfrei gekeimt war, in geeignetes Erdgemisch auspikiert.

Schon in den Keimschalen ist bei der Sammentwicklung bei den verschiedenen Arten eine sehr verschiedene Wirkung der Behandlung ganz deutlich zu erkennen: Erbsen und Lein zeigten die größten Abweichungen von den Kontrollen. (Abb. 1 und 2). Bei beiden ist das Hypokotyl auffallend gestauch und verdickt; dafür waren die Wurzeln der Erbsen gar nicht, die des Leins kaum entwickelt. Es fiel dabei besonders auf, daß diese

abnorme Keimung im Vergleich mit der der Kontrollen eine hundertprozentige war, und daß graduelle, von der Behandlungsdosis abhängige Unterschiede der morphologischen Abweichungen weder bei der Erbse noch beim Lein zu beobachten waren. — Etwas weniger

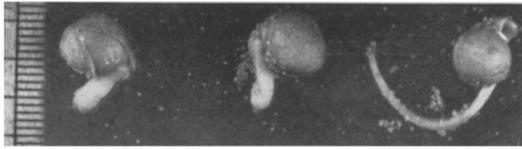


Abb. 1. Erbsenkeimlinge links aus zwei behandelten Samen, rechts Kontrolle.

deutlich, aber immerhin noch ganz charakteristisch waren diese Abweichungen von der normalen Keimung auch bei Bohnen, mit individuell größeren Unterschieden auch beim Spinat zu bemerken, während der Samen von Kohlrabi normal keimte.

Diese Unterschiede der verschiedenen Arten machten sich auch während der weiteren Ent-

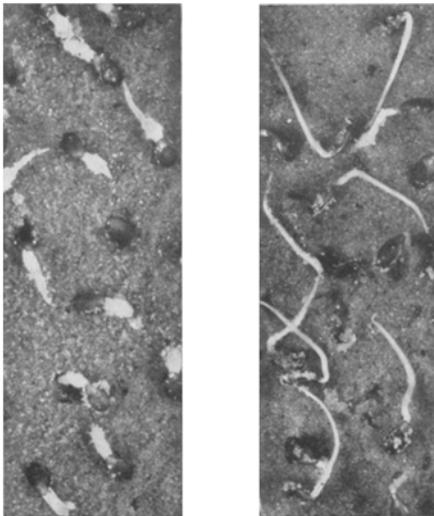


Abb. 2. Leinkeimlinge, links aus behandelten Samen, rechts Kontrolle.

wicklung in ganz charakteristischer Weise bemerkbar.

Bei den Erbsen stagniert die Entwicklung sehr bald vollkommen, was auf der vollständigen Sistierung des Wurzelwachstums zu beruhen schien. Nach und nach zersetzten sich die verdickten Hypokotyle, während der ebenfalls stark gestauchte und von der Norm auffällig abweichende kleine Sproß, der häufig kleine grüne Blättchen besaß, sehr lange ohne sichtbare Veränderungen erhalten blieb.

Kaum besser war die Entwicklung beim Lein, dessen Cotyledonen mit der Samenschale die Erde durchbrachen, und nachdem sie von der Samenschale, die sie nicht selbständig abstreifen konnten, befreit waren, ergrünten und assimilierten. Die Hypokotyle schwellen weiter zu fast kugeliger Gestalt an (Abb. 3), aber die Wurzeln entwickelten sich nicht weiter, sehr bald stagnierte auch hier das Wachstum vollkommen, und nach und nach starben alle Pflanzen ab.

Abweichend von dieser Entwicklung war die von Spinat und Kohlrabi, bei welchen die individuellen Unterschiede größer waren und der

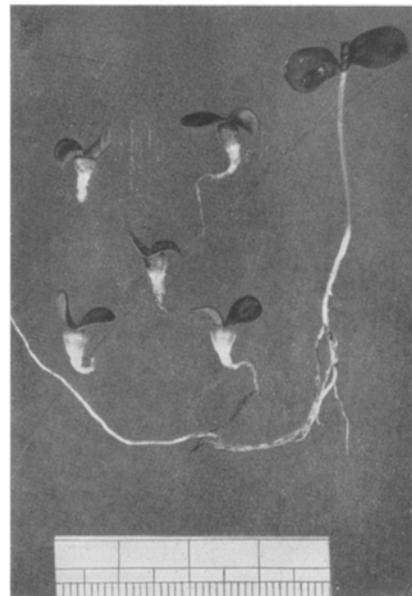


Abb. 3. Dieselben Keimlinge wie auf Abb. 2, einige Zeit später.

Grad der Abnormität zunächst von der Behandlungsdosis stark abhängig erschien. Beim genaueren Verfolg der Entwicklung der Pflanzen und einer wiederholten Beurteilung des Grades ihrer Abnormität, zeigte sich aber bald, daß eine solche Abhängigkeit nur im Hinblick auf die Entwicklungsgeschwindigkeit besteht. Stärkere Konzentrationen und besonders das längere Einwirken der Colchicinlösung machten sich in einer entsprechenden Entwicklungsverzögerung bemerkbar, die wiederum von einer mehr oder weniger starken Hemmung des Wurzelwachstums bedingt zu sein schien.

Eine zweite, nicht weniger bedeutsame Erscheinung bei diesen Pflanzen war die immer wieder beobachtete Zunahme normalen Gewebes im Entwicklungsprozeß jedes Individuums. Während die ersten Blätter der so be-

handelten Spinat- und Kohlrabipflanzen mehr oder weniger von der Norm abwichen, zerschissen, blasig verquollen oder merkwürdig formlos sind, weichen die folgenden immer weniger ab, bis nach dem 4.—6. Blatt nur noch normales Laub gebildet wurde (Abb. 4 u. 5). Die Blütenstände des Spinats erschienen vollkommen normal, und im Pollen konnten keine vergrößerten Körner gefunden werden. Nur eine weibliche Pflanze, die sich beziehungsweise sehr viel langsamer entwickelte, weicht im gesamten Habitus (Abb. 6) auffallend von ihren Geschwistern ab. Sie setzte nach wiederholtem Bestäuben mit Pollen normaler Pflanzen auch keinen Samen an; und es scheint möglich, daß diese Pflanze tetraploid war!

Sehr ähnlich, aber doch mit gewissen Besonderheiten, war das Verhalten von 3 mehr oder weniger stark abweichenden Bohnenpflan-



Abb. 4. Spinatpflanzen aus Samenbehandlung. Erste Blätter mehr oder weniger anormal, die jüngeren vollkommen normal. Links Kontrollpflanze.

zen. Sie waren gedrungener und besaßen dickere, eigenartig verzogene, steife und formlose Blätter. (Abb. 7). Bei ständiger Beobachtung gewann man unwillkürlich den Eindruck, daß sie aus einem verschiedenwertigen „Mischgewebe“ bestehen, bei dem die Überlegenheit der sich nach und nach bildenden normalen Teile nicht so groß war. Neben ganz normal ausgebildeten Blüten besaßen die Pflanzen auch solche, die mehr oder weniger von der Norm abwichen; deren schlecht ausgefärbte und reduzierte Blütenblätter keine typische Schmetterlingsblüte formten, so daß Narbe und Staubblätter frei standen (Abb. 8). In einigen Antheren solcher Blüten fand ich eine geringe Anzahl auffallend vergrößerter Pollenkörner, die im Gegensatz zu den normalen mit 3 Keimporen, ausnahmslos 4 Keimporen besaßen (Abb. 9). Man darf annehmen, daß diese Pflanzen partiell tetraploide Chimären waren.

Nach diesen ersten Ergebnissen schien es wichtig, auf irgendeine Weise das Wurzelwachs-

tum anzuregen. Versuche einer möglichst sorgfältigen Aufzucht der Lein- und Erbsensämlinge



Abb. 5. Kohlrabipflanzen aus eingequollenem Samen. Erste Blätter mehr oder weniger mißgestaltet, die jüngeren normal.

auf sterilisiertem, mit Nährlösung getränktem Sand, und auf Agarnährboden, brachten einen Mißerfolg. Die Sämlinge entwickelten sich auch hier nicht weiter und starben langsam ab! Auch der Versuch, durch längeres Wässern der Keimlinge nach der Colchicinbehandlung eine Nachwirkung zu verhindern, blieben erfolglos.

Diese Erfahrungen gaben schließlich Anlaß, nach einer Methode zu suchen, durch welche die Wurzeln von der Behandlung ausgeschlossen werden konnten. Auch hierbei mußte wieder, jetzt auch noch durch die ersten Versuchsergebnisse gestützt, die gleich zu Anfang gestellte Forderung erfüllt werden, möglichst viele



Abb. 6. Durch Colchicinbehandlung abgeänderte Spinatpflanze.

in Teilung begriffene Zellen eines Organismus zu treffen. Es erschien am günstigsten, Vegetationskegel möglichst junger, stark wachsender

Sämlinge zu behandeln, und dabei auch wieder die Behandlungsdosis und -dauer genau bestimmen zu können. — Mit Bedacht fiel hierfür die Wahl auf die Arten, welche im ersten Versuch extreme Ergebnisse gebracht hatten; denn bei der außerordentlichen Wirksamkeit, die sich bei Erbsen und Lein gezeigt hatte, war dann besonders auf Erfolg zu hoffen, wenn die bis-

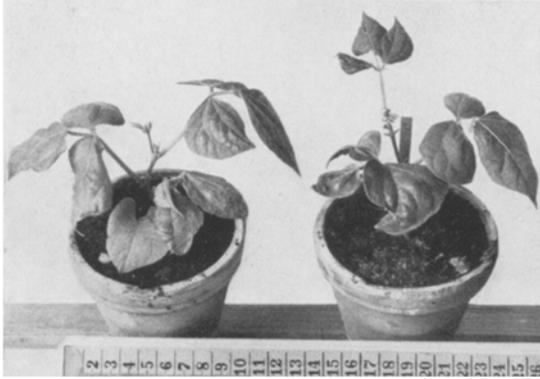


Abb. 7. Teilweise tetraploide Bohnenpflanzen.

herigen Mißerfolge im wesentlichen durch das gestörte Wurzelwachstum verursacht waren.

Andererseits erschien es auch wichtig, das Verhalten von Kohlrabi noch einmal unter anderen Versuchsbedingungen zu prüfen, um auch hierdurch eine weitere Bestätigung für die artspezifische Bedingtheit zu erhalten.

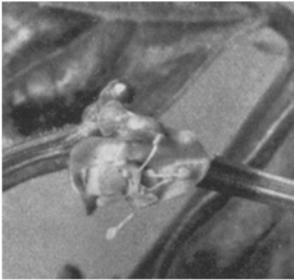


Abb. 8. Mißgestaltete Bohnenblüte der links stehenden Pflanze von Abb. 7.

Die von mir angewandte Methode besteht im wesentlichen darin, daß Sämlinge, die ganz normal auf Sand gekeimt sind, in Nährlösung (v. D. KRONE) mit 1% Agarzusatz gewissermaßen „pikiert“ werden. Selbst feinste Würzelchen dringen leicht in dieses Substrat ein, und die Pflänzchen entwickeln sich schnell und gut weiter! Da die kleinen Pflanzen rasch ergrünen und assimilieren, erübrigt sich ein Zusatz von Kohlehydraten, was mit dem Vorteil verbunden ist, daß die Entwicklung von Pilzen gehemmt wird. Algen, die nach einiger Zeit auftreten, wirkten nicht störend auf die Entwicklung ein. — Auf diese Weise kann eine große Anzahl gleichmäßig entwickelter Sämlinge mühelos in eine Colchicininlösung bestimmter Konzentration auf bestimmte Zeit getaucht werden. Nur bei den großsamigen Erbsen trat insofern eine Schwierigkeit auf, als die schweren, wasser- gesättigten Cotyledonen die Sämlinge aus dem Agar herauszogen. Sie wurde dadurch beseitigt,

daß ich feine Mullgaze über die Schalen zog und durch diese hindurch die Wurzeln in das Substrat schob. Auf diese Weise ging dann auch hier das Eintauchen leicht vor sich.

Erbsen-, Lein- und Kohlrabisämlinge wurden auf diese Weise 6 bzw. 12 Stunden in eine 0,5% ige Colchicininlösung getaucht. Nach der Behandlung wurden die Sämlinge, die sich leicht aus dem Agar herausziehen lassen, abgewaschen und in eine geeignete Erde ausgepflanzt.

Die Erbsensämlinge wurden in zwei Serien getaucht. Serie I bestand aus solchen Pflänzchen, deren Sprosse zur Zeit des Tauchens gut entwickelt waren und *mehr oder weniger tief* in die Lösung eintauchten.

Die Pflänzchen der Serie II dagegen, mit weniger weit entwickelten Sprossen, wurden bis über die hängenden Cotyledonen hinweg von der Lösung benetzt. Beim Auspflanzen (nach 6 Stunden) zeigten *alle* Pflanzen eine recht deut-

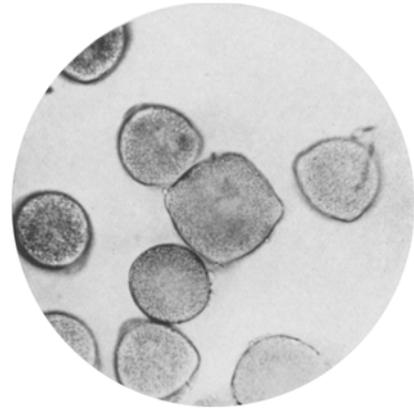


Abb. 9. Großes Pollenkorn der abgebildeten Blüte mit 4 Keimporen, ein Vergleich mit normalen zweiporigen aus derselben Anthere.

liche Stauchung der Sprosse, besaßen aber sehr gut entwickelte Wurzeln. Nur sehr langsam entwickelten sich die Sprosse weiter und sind ohne jede Ausnahme abnorm. Die Sprosse bleiben dick und gestaucht, wodurch die kleinen, dicken, fleischigen Blätter mit ihren auffallend kleinen Spreiten dicht aufeinander sitzen; so daß die Pflanzen in ihrem gesamten Habitus an Succulente erinnern (Abb. 10). Im Laufe der Zeit machen sich jedoch große Unterschiede in der Entwicklung der Pflanzen beider Serien bemerkbar.

Während sich die Sämlinge der Serie II kaum weiterentwickelten, bildeten sich bei den anderen ganz normale, tief inserierte Sprosse, wie das Abb. 11 und 12 sehr eindrucksvoll zeigen. Sie sind den abnormen Hauptsprossen im Wachstum weit überlegen, wie Abb. 12, die ein paar Tage später aufgenommen wurde, beweist. Die abnormen Hauptsprosse werden immer

mehr unterdrückt, schrumpfen ein, vergilben und gehen nach und nach zu Grunde.

Der Versuch, die abnormen Haupttriebe durch wiederholtes Entfernen der normalen Seitensprosse in der Entwicklung zu fördern, blieb erfolglos. Die Pflanzen erschöpften sich bei den immer wiederholten Versuchen, aus den normalen Gewebebezirken neue normale Sprosse zu bilden.

Die wichtigste Beobachtung bei diesen Versuchen ist die der außerordentlichen Unterschiede im Wachstum der normalen und abgeänderten Teile eines Organismus. Eine Erscheinung, die im Zusammenhang mit anderen Beobachtungen, auf die ich noch zu sprechen komme, von größter praktischer Bedeutung sein muß. Wie schon gesagt, kann von einer Weiterentwicklung der abnormen Pflänzchen kaum gesprochen werden. Es zeigte sich, daß die weitere



Abb. 10. Getauchte Erbsenkeimlinge, einige Tage nach der Behandlung.

Entwicklung ihrer Wurzeln ausgesprochen schlecht war und daß insbesondere keine Adventivwurzeln gebildet wurden; während die Pflanzen mit normalen sekundären Seitentrieben sehr gute Wurzeln hatten. Ganz augenscheinlich ist also das Wurzelwachstum sehr stark von der Konstitution und der Entwicklung der assimilierenden Teile abhängig. Es ist m. E. kaum anzunehmen, daß der Einfluß allein auf der starken Verringerung der Assimilationsfläche beruht, sondern daß hier tieferegreifende physiologische Differenzen zwischen normalen und abgeänderten Teilen die Entwicklung hemmen.

Auch die Leinsämlinge wurden in verschiedenen Serien getaucht. Die Pflänzchen der Serie I wurden 6 Stunden bis etwa zur Hälfte des Hypokotyls von der 0,5%igen Lösung benetzt. Die ungefähr 24 Stunden älteren Sämlinge der zweiten Serie wurden 6 und 12 Stunden bis zur Agarschicht in eine Lösung gleicher Konzentration eingetaucht.

Beim Auspflanzen zeigten die Pflanzen der Serie I eine recht deutliche Verdickung des eingetauchten Teils der Hypokotyle, die bei den Pflanzen der Serie II nicht zu bemerken war.

Bei diesen weicht auch das erste Blattpaar sehr viel weniger von der Norm ab, als die ersten beiden Blätter der Pflänzchen der Serie I. Diese



Abb. 11. Erbsenpflanzen mit normalen, aus unbehandeltem Gewebe regenerierten Sprossen.

Unterschiede lassen sich zwanglos durch das verschiedene Alter der Sämlinge zur Zeit des Behandlungsbeginns erklären. Auch bei der weiteren Entwicklung konnten Unterschiede beobachtet werden, die deshalb besonders bemerkenswert erscheinen, weil sie allein durch den verschiedenen Zeitpunkt des Tauchens, d. h. also durch die verschiedenen Entwicklungsstadien der Pflanze, verursacht sein können. Weitere Versuche brachten gleiche Ergebnisse, durch die auch die Beobachtung bestätigt wurde, daß längere Behandlung gleichaltriger Sämlinge



Abb. 12. Die gleichen Pflanzen wie auf Abb. 11, einige Tage später.

mit gleichen Lösungen einen größeren morphologischen Effekt hatte und sich in einer größeren Entwicklungsverzögerung auswirkte, als eine kürzere Behandlung.

Anfangs sind alle behandelten Pflänzchen ohne jede Ausnahme abnorm. Sie erinnern im Habitus sehr an kleine succulente Pflanzen, besitzen kleine fleischige Blättchen, für die eine



Abb. 13. Abnormer Sproß einer getauchten Leinpflanze.

gewisse „Formlosigkeit“ charakteristisch ist, und diese sitzen an dem Sproß dicht zusammen.

Späterhin wachsen die Pflänzchen der 24 Stunden später getauchten Keimlinge recht gut und



Abb. 14. Getauchte Leinsämlinge, aus deren unbehandeltem Teil des Hypokotyls normale Sprosse gebildet werden.

bilden einen charakteristischen abnormen Sproß, wie er auf Abb. 13 zu sehen ist. Das Wachstum der anderen Pflanzen dagegen ist schlecht, stagniert fast ganz, bis sich nach einiger Zeit unterhalb der verdickten Stelle der Hypokotyle

normale Seitensprosse bilden, die rasch heranwachsen. (Abb. 14).

Wir haben also auch beim Lein genau wie bei der Erbse die Erscheinung, daß aus unbehandelten Gewebeteilen normale Sprosse regeneriert werden. Und zwar wiederum aus solchen Bezirken, aus denen normalerweise keine Triebe hervorzugehen pflegen.

Sehr viel wichtiger ist aber die Tatsache, daß auch aus dem Bezirk der Cotyledonenansatzstelle, also aus *behandelten* Gewebeteilen, nach einiger Zeit normale diploide Sprosse hervorgehen, wie das auf Abb. 15 sehr gut zu sehen ist. Damit sind aber, wie sich nach einiger Zeit zeigte, die Möglichkeiten zur Bildung normaler Triebe noch nicht erschöpft. Denn aus der Spitze der langsam wachsenden, abnormen Hauptsprosse fast aller Pflanzen der Serie II gehen (fast gleichzeitig) normale Leittriebe hervor, welche die Verlängerung der anormalen Sprosse bilden (Abb. 16). Dichtgedrängt sitzen an der Übergangsstelle Blätter von verschiedener Form, Gestalt und Gewebestruktur, die in auffallendem Gegensatz zu den einheitlich abnormen Blättern der unteren, und den ebenso einheitlich typisch normalen Blättern der oberen Sproßteile stehen. Zweifellos sind das recht deutliche Anzeichen dafür, daß es sich hier um einen Bezirk verschiedenwertigen Gewebes handelt, wo sich normale und anormale Teile trennen.

Es kommt dann auch in all diesen Fällen wieder hinzu, daß die normalen Teile im Wachstum weit überlegen sind und das Abweichende immer mehr zurückdrängen. Der Versuch, durch sorgfältiges Entfernen der normalen Teile die Entwicklung der anormalen Teile zu fördern, schlug, wie bei den Erbsen, fehl. Beim ständigen Versuch, aus den normalen Gewebeteilen normale Triebe zu regenerieren, erschöpften sich die Pflanzen und gingen zugrunde.

Brachten so einerseits diese Versuche den Beweis eines *prinzipiell gleichen Verhaltens* der genannten untersuchten Arten, so bestätigen die Ergebnisse beim Kohlrabi andererseits die *graduell* verschiedene artspezifische Reaktion noch einmal. Wiederum ist der Anteil abweichenden Gewebes nur sehr gering und bleibt

auf die ersten Blätter oder auf Teile derselben beschränkt, während das Normale im Laufe der individuellen Entwicklung wieder rasch zunimmt. Wie beim Lein fällt es auch hier wieder besonders auf, daß die Reaktion der Pflanzen,

d. h. der Grad der morphologischen Abweichungen und ihre weitere Entwicklung viel mehr von dem Entwicklungsstadium zur Zeit des Tauchens, als von der Konzentration der Colchicininlösung abhängig ist. So zeigen Sämlinge, die im Alter von 24 Stunden (nach dem Pikieren in das Agarsubstrat) 6 Stunden lang in 0,5%ige Colchicininlösung getaucht wurden, nur ganz geringe Anomalien und sehr gutes Wachstum, während andere, die nach 48 Stunden in derselben Weise behandelt wurden, größere Abweichungen und schlechteres Wachstum zeigten. Endlich machen Pflänzchen, die nach 72 Stunden 24 Stunden lang in diese Lösung getaucht wurden, den Eindruck fast normaler Individuen, die sich trotz der langen Behandlung auch sehr gut entwickelten.

Schließlich müssen auch noch 2 Pflanzen aus Samenbehandlung erwähnt werden, die nach langer Zeit stagnierenden Wachstums aus dem Hypokotyl normale Sprosse regenerierten, worauf die darüber stehenden Teile des Hypokotyls mit den Cotyledonen rasch abstarben (Abb. 17).

Endlich fanden wir auch diese ausgesprochene Tendenz zur besseren Entwicklung der normalen Teile bei Pflanzen von *Antirrhinum majus*, deren Sproßspitzen 5 Stunden in eine 0,5%ige Lösung getaucht wurden. Nach der Behandlung stockte das Wachstum der Sproßspitzen, die etwas gestaucht erscheinen, und kleinere dicke Blätter besitzen, und während die Kontrollpflanzen blühten, trieben die behandelten Pflanzen aus den Blattachsen unbehandelte Sproßteile normale Seitentriebe (Abb. 18).

Besprechung der Ergebnisse.

Was zunächst bei den Versuchen ins Auge fällt, ist die graduell sehr verschiedene Wirkung des Colchicins auf die verschiedenen Arten, die auch BLAKESLEE und AVERY (1), NEBEL und RUTTLE (18) und andere beobachteten, so daß wir mit Recht von einer *artspezifischen Reaktion* sprechen können. Ganz allgemein macht sich die Wirkung rein morphologisch durch eine auffallende Stauchung und Verdickung des Hypokotyls der Sämlinge aus behandeltem Samen bemerkbar (Abb. 1 u. 2). In engstem Zusammenhang damit steht eine mehr oder weniger starke Hemmung des Wurzelwachstums, das um so schlechter erscheint, je größer die Deformierung

der Hypokotyle ist. BLAKESLEE und AVERY (1), NEBEL und RUTTLE (18) und MORRISON (16) machten die gleichen Beobachtungen an einer Menge verschiedener Pflanzen. — In unseren Versuchen bilden auf der einen Seite die Erbse

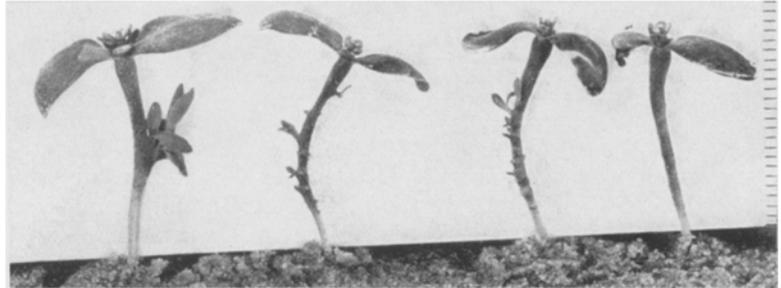


Abb. 15. Getauchte Leinsämlinge, aus deren Keimblattachsen normale Sprosse gebildet werden.

mit ihren auffallend von der Norm abweichenden Keimlingen (Abb. 1) und vollständig sistiertem Wurzelwachstum und auf der anderen Seite Kohlrabi, der nicht diese morphologischen Änderungen zeigte, die beiden Extreme. Es



Abb. 16. Getauchte Leinsämlinge, aus deren anormalem Sproß normale Triebe hervorgehen.

scheint mir sehr wahrscheinlich, daß die stärkere morphologische Abweichung dieser Teile bei Erbsen, Lein, Bohnen und auch bei Spinat primär dadurch bedingt ist, daß sie dank ihrer besseren Permeabilität größere Mengen der

Lösung aufnehmen können, als die anderen Teile des Organismus. Es liegt m. E. jedoch in der ganz spezifischen Wirkungsweise dieses

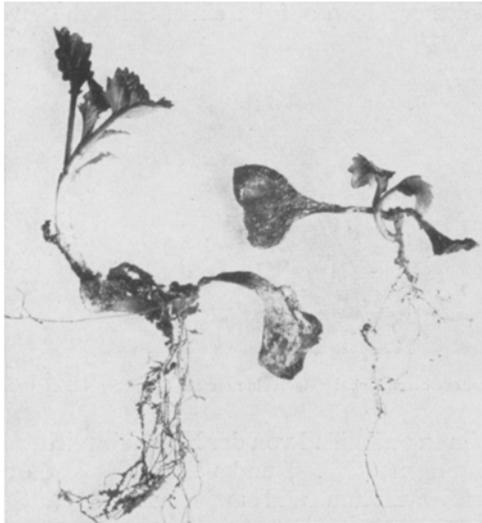


Abb. 17. Regeneration normaler Sprosse aus dem Hypokotyl zweier Kohlrabiplanzen (Samenbehandlung).

Mittels begründet, daß *der Zustand* des behandelten Gewebes, *seine Zellteilung* für die Verdopplung der Chromosomen ausschlaggebend



Abb. 18. *Antirrhinum majus*. Links getauchte, rechts unbehandelte Pflanze.

ist; denn wie schon eingangs erwähnt, findet eine Verdoppelung des Chromosomensatzes nur dann statt, wenn das Colchicin auf eine *sich teilende Zelle* einwirken kann. Die raschere Ent-

wicklung der Radicula, ihre sehr viel größere Zellteilungsrate während des Keimprozesses bietet erst die *Voraussetzung* für eine wirksame Beeinflussung, die in gleichem Ausmaß bei der sich viel langsamer entwickelnden Plumula nicht möglich ist. Das Entscheidende ist die Teilungsbereitschaft der Zellen. Auf diese Weise werden, je nach der Anzahl der anormalen Chromosomenteilungen *einer Zelle*, „C-Mitosen“, wie sie LEVAN (14) nennt, Zellen mit sehr verschiedener Chromosomenzahl gebildet.

Bei Stichproben fand ich im Gewebe des Hypokotyls behandelter Erbsensamen zahlreiche Zellen mit verschiedenem, vervielfachtem Chromosomensatz (Abb. 19). Die auffallend dicken, kurzen Chromosomen liegen ziemlich regellos und dicht gedrängt während der Metaphase zusammen. Diese Metaphasen scheinen unter dem Einfluß des Colchicins gewissermaßen *blockiert*, und nie konnten weiter fortgeschrittene Teilungsstadien, Telophasen wie in normalen Wurzeln (Abb. 20) gefunden werden. Der Vergleich beider Bilder zeigt deutlich ganz charakteristische Unterschiede der Zellvolumen und der Chromosomenform.

Die Blockierung der Metaphasen, das Verharren der Zellen in diesem Zustand, bedingt natürlich eine Häufung gleicher metaphaseähnlicher Teilungsstadien und täuscht m. E. eine größere Teilungsgeschwindigkeit vor, womit nicht gesagt sein soll, daß bestimmte Dosen zunächst nicht auch stimulierend auf die Teilung einwirken können. Diese sehr charakteristische Art des Reagierens ist auch von LEVAN (14) an Wurzelzellen von *Allium* und von NEBEL und RUTTLE (18) an solchen der Haare von *Tradescantia* beobachtet worden. Und gleiche Feststellungen haben EIGSTI (5), WALKER (23) und DERMEN (4) an verschiedenen anderen Pflanzen gemacht, wobei die Teilungsanomalien allgemein auf mangelnde Spindelbildung zurückgeführt werden. Von einer „Fixierung“ der Metaphasen in den Zellen tierischen Gewebes berichtet u. a. MANUS (15).

Es ist also so, um es mit anderen Worten noch einmal zu wiederholen, daß in einer teilungsbereiten Zelle unter dem Einfluß des Colchicins eine Teilung der Chromosomen mehrmals erfolgen kann, die Zellteilung jedoch unterbleibt.

Dadurch wird die jeweilige Chromosomenzahl verdoppelt und polyploide Zellen gebildet. Auf die Bildung zahlreicher solcher, verschieden polyploider Zellen ist wohl hauptsächlich die auffallende Verdickung des Hypokotyls zurückzuführen. Umgekehrt ist natürlich auch die schnellere und vollständigere Reaktion dieser Teile ein Beweis dafür, daß nur der Chromosomensatz sich teilender Zellen durch die Wirkung des Colchicins verdoppelt werden kann.

Als weitere Bestätigung für die Abhängigkeit der Wirkung von der Zellteilung, kann wohl auch der größere Effekt einer längeren Behandlung mit gleicher Konzentration, den wir bei getauchten Leinpflanzen beobachten konnten, dienen; und die Feststellung WALKERs (23), die nach einer längeren Behandlung mit niedriger Konzentration mehr Zellen mit verdoppeltem Chromosomensatz fand als nach kürzerer Behandlung mit höherer Konzentration, liegt in derselben Richtung. M. E. ist es aber auch berechtigt, anzunehmen, daß die verschiedene Wertigkeit der Zellen eines solchen Mischgewebes, auf die wir noch ausführlich zu sprechen kommen werden, dessen weitere Entwicklung stark beeinträchtigen kann. Damit wäre wenigstens z. T. die schlechte Entwicklung erklärt. Vorerst erscheint es aber auch angebracht, die Möglichkeit einer vergiftenden, toxischen Wirkung des Colchicins in Rechnung zu stellen. Diese toxische Wirkung wird von den Autoren meist darin gesehen, daß sie den Beginn normaler Teilungen nach der Behandlung hinauszögert oder überhaupt verhindert. Es kommt noch hinzu, daß auch die Bildung mehrkerniger Zellen beobachtet werden konnte (KOSTOFF 12, 13, EIGSTI 5, WALKER 23), deren Entstehung möglicherweise von Konzentration und Behandlungsdauer abhängig ist, und welche mit ihren Teilungsanomalien ebenfalls entwicklungshemmend wirken können. — Auf eine solche toxische Wirkung lassen auch unsere Versuche mit Kohlrabi schließen, bei dem lange Behandlungsdauer sich in einer auffallenden Entwicklungsverzögerung bemerkbar machte. Es muß aber betont werden, daß trotzdem *normales* Gewebe gebildet wurde, der Anteil abnormen Gewebes bei verschiedener Behandlungsdosis und -dauer kaum verschieden war. Auch das kann nur dadurch erklärt werden, daß die Wirkung auf die sich teilenden Zellen beschränkt ist.

Die gleiche Wirkung beobachtete LEVAN (14) bei *Allium*, wo nach extrem langer Behandlung der Wurzeln, das Wachstum vollständig aufhörte. — Es fragt sich aber, ob nicht auch indirekte Einflüsse, wie der lange währende Luft-

abschluß und dadurch ausgelöste chemisch-physiologische Prozesse, die weitere Entwicklung ungünstig beeinflussen können.

Wenn sich die abnorme Sprosse der getauchten Leinsämlinge im Gegensatz zu den gleich behandelten Pflanzen aus eingequollenen Samen

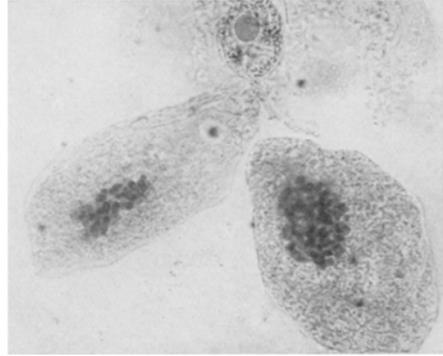


Abb. 19. Abnorme Teilung unter dem Einfluß des Colchicins, im Gewebe des Hypokotyls der Erbse (Vergr. 640).

weiter entwickelten, so kann das einmal auf einer geringeren Diffusion durch die Zellen des Sprosses beruhen, durch welche nur geringere Mengen zur Wirkung gelangen. Es ist aber auch möglich, daß die Wirkung der Chromosomenvermehrung in den verschiedenen Teilen eines Organismus

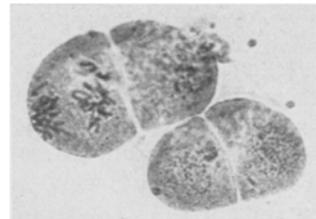


Abb. 20. Normale Zellteilung im Gewebe aus der Wurzelspitze einer Erbse (Vergr. 640).

verschieden stark ist (vgl. S. 69). Die unterschiedlichen Resultate sind jedenfalls ein Beweis dafür, von welcher Bedeutung der Zustand des behandelten Organismus für den Erfolg ist.

Naturgemäß beeinträchtigt das Einquellen der Samen in einer Colchicinlösung den Keimvorgang selbst weit weniger als die weitere Entwicklung der Sämlinge. Je größer die Anzahl der Zellen mit abgeänderter Chromosomenzahl durch die Wirkung des Colchicins während des Einquellens wird, um so größer muß auch der von ihnen ausgehende entwicklungsstörende Einfluß werden. So keimen wohl die Samen von Erbsen und Lein mit den typischen Abweichungen gleich gut wie die Kontrollen, ent-

wickeln sich dann aber immer schlechter weiter. Während so die Entwicklung der extrem reagierenden Erbsen sehr bald vollkommen stagniert, setzt der Lein das „Wachstum“ für kurze Zeit fort. Es scheint mir aber sehr wahrscheinlich, daß dieses Wachstum, das sich in diesem Falle auf Cotyledonen und Hypokotyle beschränkt, zum größten Teil auf einer *Zellstreckung* beruht. Immerhin ist die normale Entwicklung der Keimblätter und ihre volle Funktionstüchtigkeit sehr beachtenswert und weist darauf hin, daß nur ganz bestimmte Funktionen der Zellen durch das Colchicin gestört werden. — Eine normale Assimilation kann auch die weitere auffallende Dickenzunahme der Hypokotyle zu fast kugeligem Gestalt (Abb. 3) und das „Fleischigwerden“ der Keimblätter selbst, durch den Anstau der Assimilate in diesen Teilen erklären. Darauf läßt auch die schleimig-wässrige Beschaffenheit dieser Gewebeteile schließen. Eine sekundäre Verdickung der Hypokotyle ist auch an älteren Leinpflanzen zu beobachten, deren Wurzeln durch Pilzbefall (*Phoma*) stark reduziert wurden (KRÜGER, mündl. Mitteilung). Primär wird demnach die Verdickung auf der Bildung polyploider Zellen beruhen, auf die eine sekundäre Zunahme durch den Assimilantenanstau folgt. Auf den gleichen Ursachen wird auch das geringe weitere Wachstum, die Stauchung und das Anschwellen aller Teile der getauchten, anormalen Erbsensämlinge beruhen (Abb. 10).

Auf Grund all dieser Beobachtungen ergibt sich die Forderung, für die verschiedenen Arten nach „*optimalen*“ Konzentrationen und Behandlungsdauern zu suchen, durch welche einerseits die toxische Wirkung vermieden, andererseits aber die Chromosomenverdoppelung einer möglichst großen Anzahl von Zellen eines Organismus erreicht werden kann. Ganz eindeutig weisen diese Ergebnisse aber auch darauf hin, daß andere im Organismus selbst gegebene Faktoren eine große Rolle spielen. Es war das auffallendste im Verhalten der Spinat- und Kohlrabipflanzen, daß der Anteil abgeänderten Gewebes sich als mehr oder weniger unabhängig von der Konzentration und Behandlungsdauer erwies. Dann aber ist die Beobachtung nicht minder wichtig, daß im Laufe der Entwicklung jedes Individuums das „Normale“ nach und nach zunahm.

Die erste wichtige Feststellung ist also die, daß trotz intensivster Behandlung eines Organismus, von diesem normales Gewebe gebildet werden kann. — Diese Erscheinung läßt sich leicht auf die spezifische Wirkungsweise des Colchicins zurückführen; sie findet ihre zwang-

lose Erklärung darin, daß nur der Chromosomensatz *sich teilender Zellen* verdoppelt wird. Alle Zellen, welche während des Einwirkens der Colchicininlösung im Ruhezustand verharren, bleiben normal diploid. Aus ihnen geht dann, wenn sie nach bestimmter Zeit zur Teilung gelangen, das normale Gewebe hervor. Daß dem so ist, hat zuerst LEVAN (14) in seinen schönen, eingehenden cytologischen Untersuchungen über die Wirkung des Colchicins auf die Wurzeln von *Allium* feststellen können. Aber es bleiben nicht nur diploide Zellen in dem Mischgewebe erhalten, sondern sie kommen auch nach beendeter Behandlung — wie zu erwarten — eher wieder zur Teilung und haben eine größere Teilungsrate als die polyploiden Zellen.

Damit findet auch die zweite wichtige Beobachtung, nämlich die Zunahme normalen Gewebes von der cytologischen Seite her ihre einfache und überzeugende Erklärung. Eine wertvolle Bestätigung geben auch die Ergebnisse von WALKER (23), die fand, daß die Wurzeln von *Tradescantiastecklingen*, die nach der Colchicininwirkung mit Beta-Indolylessigsäure behandelt wurden, alle normal diploid waren.

Die Übereinstimmung zwischen unseren und WALKERs rein morphologischen Beobachtungen mit den cytologischen Feststellungen LEVANs (14), berechtigt zu der Annahme, daß hiermit zwei der entscheidenden Punkte, die bei der Erzeugung polyploider Pflanzen im allgemeinen, und bei der Anwendung von Colchicin im besonderen, eine bedeutende Rolle spielen, gekennzeichnet sind. Sie erhalten aber auch noch eine wesentliche Stütze durch weitere eigene Versuchsergebnisse und aus der Fülle bekannter Tatsachen aus der Polyploidenforschung.

Die weit bessere Entwicklung diploider Sprosse, die bei Erbsen und Lein nach der Anwendung des Tauchverfahrens aus *unbehandelten* Gewebeteilen regenerierten, zeigt, daß sich auch diese Arten prinzipiell gleich verhalten (Abb. 11 u. 14). — Besonders interessant ist die Bildung normaler Triebe aus den Hypokotylen des Leins (Abb. 14), da eine Regeneration aus diesen Teilen auch nach Dekapitierung erfolgt. Hier hat also die Abänderung der Zellen des Vegetationspunktes denselben Effekt wie ihre vollständige Entfernung. — Beim Lein werden aber nicht nur aus unbehandelten Teilen, sondern auch aus *behandelten* Zellkomplexen, wie den Cotyledonenansatzstellen und den Sproßspitzen abnormer, langsam wachsender Pflanzen normale diploide Triebe gebildet (Abb. 15 u. 16). Ganz zweifellos gehen auch diese aus normalen

diploiden Zellen hervor. Sei es, daß diese Zellen durch ungenügende Diffusion der Colchicininlösung im diploiden Zustand erhalten blieben, oder daß sie während der Zeit des Einwirkens aus *inneren* Gründen im Ruhezustand verharrten. — Auf die Erhaltung ruhender, diploider Zellen selbst innerhalb intensiv behandelten Gewebes, die schon LEVAN (14) feststellte, weisen auch unsere Ergebnisse bei Kohlrabi hin, wo trotz der optimalen Diffusionsmöglichkeit durch die Wurzeln normales Gewebe gebildet wurde und selbst aus dem Hypokotyl zweier Pflanzen, die aus eingequollenen Samen hervorgegangen waren, normale Sprosse hervorgingen (Abb. 17).

Besondere Beachtung verdient auch die Bildung eines normalen Haupttriebes aus der Spitze der abnormen, langsam wachsenden Leinpflanzen (Abb. 16). Aus ihrem Verhalten gewinnt man den Eindruck, daß der abnorme Sproßteil aus mehr oder weniger Schichten abgeänderten Gewebes besteht, der eine mehr oder weniger regelmäßige Periklinalchimäre bildet; wobei der diploide Gewebekern, dank seines besseren Wachstums, nach einiger Zeit die langsam wachsenden, äußeren polyploiden Gewebehüllen sprengt. Eine Bestätigung dieser Vermutung kann natürlich erst die eingehende cytologische Untersuchung bringen. Sie wird aber auch durch ähnliche Beobachtungen gestützt, die E. STEIN (mündl. Mitteilung) bei *Antirrhinum* machte. Sie fand bei Pflanzen des Gartenlöwenmauls, die aus radiumbestrahlten Samen hervorgingen, Chimären, bei denen die äußeren, abweichenden Schichten, deren Kernvergrößerung genisch bedingt war, nach einiger Zeit durch den zentralen Kern normaler Zellen gesprengt wurden. — Was ferner noch bei diesen Versuchen auffiel, war die *verschiedene* Entwicklung der Sämlinge bei völlig *gleicher* Behandlung, die nur durch ihr um 24 Stunden verschiedenes Alter beim Beginn des Tauchens bedingt sein konnte. Neue Versuche bestätigen diesen Einfluß vollkommen, und zwar ist die Entwicklung der Sämlinge mit abnormem Sproß um so besser, je später in gewissen Grenzen (48 Stunden) das Tauchen erfolgte. Die Ursache dieser Erscheinung wird wohl in der verschiedenen Größe, der mehr oder weniger fortgeschrittenen Entwicklung und Differenzierung der Vegetationskegel zu suchen sein. Dadurch wird, je nachdem wie weit die Colchicininlösung eindringen konnte, eine verschiedene Anzahl von Zellen und Schichten abgeändert werden und ein mehr oder weniger großer, diploider Kern erhalten bleiben. — Das Wachstum der

abgeänderten äußeren Schichten muß besonders hervorgehoben werden, denn es kann nur auf einer Teilung der abgeänderten Zellen beruhen. Es scheint zunächst nicht ganz verständlich, warum eine solche in diesem Fall erfolgen kann, bei den ganz gleichbehandelten, jedoch früher getauchten Sämlingen aber nicht stattfindet. Auf einer unterschiedlichen toxischen Wirkung kann die Hemmung wohl kaum beruhen. Sie muß eher auf eine verschiedene Wertigkeit der Zellen durch eine verschiedene Teilungszahl der Ausgangszellen während der Behandlungszeit zurückgeführt werden. — Möglicherweise spielt auch der diploide Kern bei der weiteren Entwicklung eine Rolle, nimmt gewissermaßen den äußeren abgeänderten Gewebemantel mit; denn nur solche Sämlinge entwickelten sich weiter, bei denen später ein normaler diploider Sproß aus der Spitze des abnormen Triebes gebildet wurde (Abb. 16). Es erscheint sehr wohl möglich, daß auch der Anordnung, dem Verhältnis der abgeänderten Schichten untereinander und mit dem diploiden Kern, im Verein mit den normalen Wurzeln einige Bedeutung zukommt, und daß ein gewisser „Gleichgewichtszustand“ dieser Teile eine Entwicklung der Chimären bis zur Blühreife ermöglicht. Wie dem auch sei, mit aller Deutlichkeit zeigen diese Ergebnisse noch einmal, wie sehr eine optimale Wirkung im praktischen Sinne vom jeweiligen *Zustand des Organismus* abhängig ist.

Die mehr oder weniger ausgesprochene Überlegenheit der normalen diploiden Zellen und Gewebeteile kann nicht überraschen. Sie geht auf die größere Teilungsrates dieser Zellen zurück, die zuerst v. WETTSTEIN (23, 24, 28) bei Moosen nachgewiesen hat, und die ja auch LEVAN (14) bei *Allium* feststellen konnte. — Bei vielen der bekannten natürlichen und künstlich hergestellten polyploiden Arten, macht sie sich allgemein in einer *Entwicklungsverzögerung* bemerkbar (MÜNTZING, 17). Sie steht in direktem Zusammenhang mit der Vergrößerung des Zellvolumens, die bei den verschiedenen Arten sehr verschieden ist. Die Zellteilungsrate ist dabei um so kleiner, je größer die Anzahl der Chromosomen und das Zellvolumen sind. Oberhalb einer für die Art charakteristischen Zahl ist die Teilungsgeschwindigkeit so gering, daß sie für eine normale Entwicklung nicht genügt. Hand in Hand damit geht eine chemisch-physiologische Verschiedenheit der verschiedenwertigen Zellen, wie z. B. Änderungen des osmotischen Wertes, die BECKER (3) bei Moosen, SCHLÖSSER (21, 22) bei Tomaten und Winterrüben nachweisen konnten. Es ist meine Über-

zeugung, daß im Mischgewebe diese Unterschiede zwischen den Zellen, die eine direkte Folge der Chromosomenvermehrung sind, tiefgreifende Disharmonien in diesem verursachen können, die seine Entwicklung mehr oder weniger störend beeinflussen. Sie erklären auch ohne weiteres die mehr oder weniger schnelle Zunahme des Normalen bei allen Mixochimären, wie wir vielleicht am besten solche Formen bezeichnen, die außer in unseren Versuchen auch bei BLAKESLEE und AVERY (1), NEBEL und RUTTLE (18) nach Behandlung mit Colchicin häufig auftraten. Den chimärenartigen Charakter betont auch KORTOFF (13) in seinem Referat über die Wirkung des Colchicins ganz besonders.

Man darf auch annehmen, daß diese zellphysiologischen Unterschiede — wie bei den Moosen — bei den verschiedenen Arten verschieden groß sind. Durch solche artspezifische Differenzen läßt sich das verschiedene Verhalten der bisher untersuchten Arten verstehen. Je größer die Unterschiede der Zellen mit verschiedener Chromosomenzahl im Hinblick auf die Größe der Zellteilungsrate und die chemisch-physiologischen Differenzen sind, um so rascher und vollständiger werden die normalen Teile überwiegen. Kleine Differenzen dagegen werden die Bildung eines Mischgewebes ermöglichen, wie wir es z. B. bei Bohnen fanden. Eine Trennung verschiedenwertiger Zellen und Gewebeteile in reinlich getrennte, verschiedenwertige Teile eines Organismus wird in diesem von der Lage der verschiedenen Zellen abhängig sein. — Aus einem solchen Mischgewebe können dann auch Gameten mit der gewünschten diploiden Chromosomenzahl hervorgehen. Es ist wahrscheinlich, daß die auffallend größeren Pollenkörner bei Bohnen, die überdies regelmäßig eine Keimpore mehr als die sehr viel kleineren normalen Pollen besaßen, die doppelte Chromosomenzahl besitzen. Über die Konstitution der polyploid erscheinenden weiblichen Spinatpflanze werden die cytologischen Untersuchungen Aufschluß geben. Ihre vollständige Sterilität bei der Kreuzung mit normalen Männchen ist jedenfalls eine bei Polyploiden häufig zu beobachtende Erscheinung, die darauf beruht, daß der normale Pollen nicht zur Befruchtung gelangen kann. Sei es, daß er vermöge seines abweichenden osmotischen Wertes, wie z. B. SCHLÖSSER bei der Tomate zeigen konnte, nicht keimen kann, oder auch daß andere Differenzen die Befruchtung oder die normale Entwicklung der Embryonen verhindern.

In diesem Zusammenhang muß noch auf die

anderen Verhältnisse bei Artbastarden hingewiesen werden. Denn wie v. WETTSTEIN (27) zeigen konnte, ist die Wirkung einer Vervielfachung verschiedener Genome eine wenigstens graduell andere. Das Zellvolumen bei Artbastarden nimmt nicht in demselben Maße wie nach einer Verdoppelung desselben Genoms zu, die Teilungsrate wird weniger verändert, und damit dürfte auch die Differenz der verschiedenwertigen Zellen eine kleinere sein. In dieser Hinsicht unterscheiden sich *Autopolyploide* und *Allopolyploide* nicht unwesentlich voneinander und scheinen deshalb und durch andere Besonderheiten, auf die ich noch zu sprechen komme, günstigere Voraussetzungen zu bieten.

Es wurde schon gesagt, daß Entwicklungsstörungen und -verzögerungen auch auf einer toxischen Wirkung des Colchicins beruhen werden, Einflüsse, die wir durch Variierung der Konzentration und Behandlungsdauer ausschließen müssen.

Viel wichtiger als das sind m. E. die *physiologischen Unterschiede der verschiedenwertigen Zellen, die mit dem Polyploidwerden zwangsläufig verbunden sind*. — Ihre Wirkung können wir, im Gegensatz zu der toxischen Wirkung des Colchicins, nicht ausschalten und deshalb werden letzten Endes diese Unterschiede bei der Erzeugung polyploider Pflanzen das Entscheidende sein.

Es fehlt auch nicht an eingehend analysierten Beispielen dafür, wie verschiedene Chromosomenzahl der Zellen entwicklungsstörend wirken können. Sehr häufig ist die Beobachtung gemacht worden, daß Embryonen, die aus der Vereinigung von Keimzellen mit verschiedener Chromosomenzahl hervorgegangen waren, mehr oder weniger ausgeprägte Entwicklungsstörungen zeigten. Sie werden meist auf physiologische Differenzen zwischen mütterlichem Gewebe, Embryo und Endosperm zurückgeführt, die auf der Abänderung des normalen Verhältnisses der Chromosomenzahlen dieser Teile von 2:2:3 beruht. Erst neuerdings hat FREISLEBEN (6) die schlechte Entwicklung tetraploider Gerstenembryonen im diploiden mütterlichen Gewebe, die er durch Hitzebehandlung erhielt, auf diese Weise erklärt. Solche Entwicklungsstörungen sind besonders dann zu berücksichtigen, wenn man versuchen will, mit Hilfe polyploider Keimzellen zu Individuen mit vervielfachtem Chromosomensatz zu kommen.

Sehr bemerkenswert ist aber auch die Feststellung FREISLEBENS, daß sich die lebensfähigen tetraploiden Gerstenpflanzen nur sehr schlecht entwickeln und sich besonders durch

schlechtes Wurzelwachstum auszeichnen. Damit ergibt sich eine gewisse Übereinstimmung mit unseren zuerst gemachten Beobachtungen extrem schlechter Wurzelentwicklung durch den Einfluß des Colchicins. Während wir diese aber — und sicher mit Recht — mit der guten Wirkungsmöglichkeit durch hohe Permeabilität und Zellteilungsrate dieser Teile erklärten, kann sie in jedem Falle *nur* der direkten Wirkung der Tetraploidie auf die Wurzeln zugeschrieben werden. Eine solche Auswirkung der Polyploidie in den Wurzeln würde im Verein mit den anderen Faktoren, die eine Chromosomenvermehrung begünstigen, die extreme Wirkung auf das Wurzelwachstum weitgehend erklären.

Die Kombination diploider Wurzeln und abgeänderter Sprosse, die durch geeignete Versuchsanordnung erhalten wurden, bringt möglicherweise unerwünschte Einflüsse mit sich. — Es ist verständlich, wenn durch ein harmonisches Zusammenwirken der normalen Wurzeln mit den diploiden Zellen des Sprosses, die Entwicklung der normalen Teile begünstigt und die der abgeänderten Teile beeinträchtigt wird. Denken wir nur an die Unterschiede der Zellteilungsrate und der osmotischen Werte, die Änderungen des Diffusionsgefälles zur Folge haben müssen, so wird auch hierdurch manche der gemachten Beobachtungen erklärt werden können.

Aus allen bisherigen Versuchsergebnissen geht, so spärlich sie auch sein mögen, ganz eindeutig hervor, daß uns mit dem Colchicin ein Mittel in die Hand gegeben wurde, mit dessen Hilfe mühelos eine Vervielfachung des Chromosomensatzes in den Zellen zu erzielen ist. Es beruht auf seiner ganz spezifischen Wirkung, daß hierfür der Zustand der Zelle, ihre Aktivität, das Entscheidende ist; denn nur der Chromosomensatz sich teilender Zellen wird verdoppelt, indem sich wohl die Chromosomen teilen, die Zellteilung jedoch nicht zustande kommt. Diese Feststellung ist das Entscheidende, von ihr allein haben alle Überlegungen über die „wirksamste und günstigste Behandlung“ auszugehen. Erst in zweiter Linie kommt die Frage nach der Konzentration, denn sie kann sich nur darnach richten, ob der gewünschte Effekt, nämlich die Systierung einer im Gang befindlichen Zellteilung, möglich ist. Da eine toxische Wirkung des Colchicins anzunehmen ist, wird man die Konzentration der Lösung so niedrig wie möglich wählen müssen, also gerade so, daß die erwünschte Wirkung noch erfolgt. Tritt dabei noch eine Giftwirkung ein, so muß man sie in Kauf nehmen. Eine optimale Lösung wird aber

nicht allein von Art zu Art, von Individuum zu Individuum, sondern auch zwischen den verschiedenen Teilen eines Organismus und von Zelle zu Zelle verschieden sein. Die unterschiedliche Reaktion verschiedener Arten und die besonders starke Wirkung auf die Wurzeln ist allgemein festgestellt worden. Letztere beruht zweifellos auf der leichten Diffusion in ein Gewebe, dessen Zellen in reger Teilung begriffen sind. Auf der herabgesetzten Zellteilungsrate polyploider Zellen und der hinzutretenden toxischen Wirkung des Colchicins wird zum größten Teil ihre auffallend starke Entwicklungsstörung beruhen.

Von der Permeabilität der Zellen und der Größe der Diffusion wird demnach die Wirkung stark abhängig sein. Naturgemäß ist sie damit in den Zellen des Sprosses kleiner, und für die einzelnen Zellen verschieden und wird in erster Linie von ihrer Lage und anderen Faktoren bedingt werden.

Alle diese Schwierigkeiten bedürften nun keiner weiteren Erörterung, wenn die Entwicklung *aller Zellen gleich wäre*. In diesem Fall würde es genügen, wenn eine bestimmte Anzahl von Zellen, etwa die äußeren Schichten eines Vegetationskegels, abgeändert würden. Aus ihnen könnte sich dann ein abgeänderter polyploider Sproß oder auch ein Trieb, dessen äußere Schichten polyploid wären, eine Päraklimachimäre entwickeln. Mit der Bildung polyploider Keimzellen aus der subepidermalen Schicht wäre das erstrebte Ziel, die Erzeugung rein polyploider Embryonen und schließlich auch Individuen erreicht. — *Die Entwicklung verschiedenwertiger Zellen ist aber nicht gleich*. Mit der Vervielfachung des Chromosomensatzes und der Volumenzunahme der Zellen ist eine mehr oder weniger große Herabsetzung der Teilungsrate der Zellen und eine Änderung chemisch-physiologischer Natur *zwangsläufig* verbunden. Erscheinungen, die die Entwicklungsgeschwindigkeit polyploider Zellen mehr oder weniger stark herabsetzen. Dadurch entsteht innerhalb eines Gewebes verschiedenwertiger Zellen eine *Konkurrenz* mit mehr oder weniger ausgeprägter Überlegenheit der diploiden Zellen und einer entsprechenden Entwicklungshemmung der abgeänderten Teile. Diese Unterschiede werden von Art zu Art, von Sorte zu Sorte und von Individuum zu Individuum verschieden sein, da sie nicht allein von der *Zahl der Chromosomen*, sondern auch vom *gesamten Genbestand* abhängig sind. Die anderen Verhältnisse bei einer Verdopplung verschiedener Genome, also bei Artbastarden, sollen in diesem Zusammenhang er-

wähnt werden, da sie die Erfolgsaussichten günstiger erscheinen lassen.

Die verschiedene Entwicklung verschiedenwertiger Zellen, die wir als gegeben hinnehmen müssen, ist im Verein mit der spezifischen Wirkung des Colchicins, die nur eine Verdoppelung des Chromosomensatzes sich teilender Zellen bewirkt, das Entscheidende bei der künstlichen Erzeugung polyploider Formen.

Die Kenntnis beider Punkte schließt die Forderung in sich, die Chromosomenzahl möglichst vieler Zellen eines Organismus zu verdoppeln, um diese Konkurrenz auszuschließen.

Da diese Verdopplung, wie wir sehen, nur in sich teilenden Zellen erfolgen kann, die Aktivität der einzelnen Zellen jedoch eine verschiedene ist, so wird dabei die Dauer des Einwirkens auf die Anzahl abgeänderter Zellen von Einfluß sein. Aus diesem Grunde muß man eine Ausdehnung der Behandlungszeit fordern, ohne dabei aber zu vergessen, daß eine solche auch schädliche Folgen, durch die direkte toxische Wirkung des Colchicins, den Luftabschluß u. a., mit sich bringen kann. Man muß auch berücksichtigen, daß bei längerem Einwirken aus Zellen, welche sich während dieser Zeit mehrere Male teilen, solche mit unerwünscht hohem, da die Entwicklung stark hemmenden Chromosomensatz entstehen. Das könnte man vielleicht in Kauf nehmen, wenn es gelänge, in dieser Zeit die Chromosomen aller Zellen zu verdoppeln. Doch das scheint nach den bisherigen Erfahrungen kaum möglich zu sein, da immer diploide Zellen im Ruhezustand erhalten blieben.

Am aussichtsreichsten erscheint deshalb zur Zeit eine intermettierende Behandlung mit möglichst niedrig konzentrierten Lösungen, bei der schrittweise die Chromosomen der verschiedenen Zellen verdoppelt werden. Als Ziel muß dabei auch gelten, zu polyploiden Wurzeln zu gelangen, da es m. E. sehr wohl möglich ist, daß Störungen auf dem Zusammenwirken normaler Wurzeln und abgeänderter Sproßteile beruhen.

Die Seltenheit künstlich erzeugter polyploider Pflanzen bringt es mit sich, daß wir heute noch sehr wenig über den wirtschaftlichen Wert solcher Formen voraussagen können. Die Bedeutung der autopolyploiden Pflanzen wird von der Praxis ganz allgemein in der Vergrößerung des Zellvolumens, das mit der Chromosomenvermehrung einhergeht, gesehen und davon eine Vergrößerung des ganzen Organismus erwartet. Das trifft aber nur dann zu, wenn die Zahl der Zellen nicht zu stark reduziert wird. Die Herabsetzung der Zellteilungsrate bedingt aber zwangsläufig eine langsamere Entwicklung, die nicht

nur den Effekt der Zellvergrößerung ausgleichen, sondern auch zur Bildung hochpolyploider Kümmerformen führen kann. Die praktisch beste Wirkung wird demnach bei der Verdopplung des diploiden Chromosomensatzes zu erwarten sein.

Von direkter oder indirekter Bedeutung ist auch die mehr oder weniger herabgesetzte Fertilität der autopolyploiden Pflanzen. Sie erklärt sich aus Anomalien der Reduktionsteilung, die durch die Vermehrung der homologen Chromosomen, die eine regelmäßige Bivalentenbildung verhindert, verursacht wird. Hierdurch wird die Zahl der gewünschten diploiden, funktionstüchtigen Keimzellen mehr oder weniger stark herabgesetzt und die Zahl der gebildeten Samen entsprechend verringert. Alle diese Eigenschaften sind aber nicht nur von der Anzahl der Chromosomen abhängig, sondern in hohem Maße *genisch* bedingt, und werden sich deshalb bei den verschiedenen Sorten und Individuen mit der gleichen Chromosomenzahl mehr oder weniger stark unterscheiden. Diese *genisch* bedingten Unterschiede bieten auch bei den Autopolyploiden die Möglichkeit zur Selektion, und erst die Möglichkeit, innerhalb eines reichen Ausgangsmaterials wählen zu können, kann nach und nach zur Schaffung wirtschaftlich wertvoller Formen führen. — Bei Artbastarden sind es nicht nur die geschilderten Besonderheiten zellphysiologischer Natur, sondern auch die ganz anderen Verhältnisse in Hinblick auf die Fertilität, welche die Schaffung amphidiploider Bastarde erleichtern könnten. Erst durch die Verdopplung nicht homologer Genome werden bei diesen Bastarden homologe Partner gebildet, die eine normale Reduktionsteilung und Keimzellenbildung ermöglichen. Gute Möglichkeiten werden vielleicht auch Bastarde solcher Arten bieten, deren Genome strukturell soweit ähnlich sind, daß eine normale Reduktionsteilung und Keimzellenbildung des diploiden Bastardes stattfindet, die sich aber doch so weit unterscheiden, daß nach einer Verdoppelung der Genome eine bevorzugte Paarung der homologen Partner derselben Genome stattfindet. Ähnlich werden m. E. die Verhältnisse in sehr vielen Fällen liegen, die nach der heute geltenden Terminologie unter die Gruppe der Autopolyploiden fallen.

Zum Schluß soll noch auf die neuesten Ergebnisse von v. WETTSTEIN (29) aufmerksam gemacht werden, die zeigen, daß das Kernzellvolumenverhältnis nicht absolut konstant sein muß. Nach und nach trat nämlich in einem seiner Moosstämme eine Herabregulierung

der Kerngröße und des Zellvolumens ein, so daß die polyploiden Rassen habituell den Ausgangsformen wieder ähnlicher wurden.

Damit kann einerseits natürlich ein Verlust wertvoller Eigenschaften verbunden sein, andererseits ist es aber auch möglich, daß diese Formen neue wertvolle physiologische Eigenschaften besitzen, wie sie bei vielen natürlichen polyploiden Rassen beobachtet werden konnte, deren andere geographische Verteilung z. T. darauf zurückgeführt wird.

Auch diese Beobachtungen zeigen noch einmal mit aller Deutlichkeit, wie wichtig die Möglichkeit einer Selektion für den praktischen Erfolg sein muß, und wie wichtig es deshalb ist, in der Erzeugung solcher Formen nicht wie bisher vom Zufall mehr oder weniger abhängig zu sein, sondern sie durch geeignete Methoden in die Hand zu bekommen.

Literatur.

1. BLAKESLEE, F., and A. G. AVERY: Methods of inducing doubling chromosomes in plants. *J. Hered.* **28**, 393—411 (1937).
2. BLAKESLEE, F.: Cytologie vegetale. Dédoublément du nombre des chromosomes chez les plantes par traitement chimique. *Ectr. Cpt. rend. Acad. Sci.* **205**, 476 (1937).
3. BECKER, G.: Experimentelle Analyse der Genom- und Plasmonwirkung bei Moosen III. Osmotischer Wert heteroploider Pflanzen. *Z. I. A. V.* **60**, 17—38 (1931).
4. DERMEN, H.: A cytological analysis of polyploidy induced by colchicine and by extremes of temperature. *J. Hered.* **20**, 210—229 (1938).
5. EIGSTI, O. J.: A cytological study of colchicine effects in the induction of polyploidy in plants. *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.* **24**, 56—63 (1938).
6. FREISLEBEN, R.: Cytogenetik und Pflanzenzüchtung. *Kühn-Archiv* **50**, 315—338 (1938).
7. GIÖRRFFY, S.: Durch Colchicinbehandlung erzeugte polyploide Pflanzen. *Naturwiss.* **33**, 547 (1938).
8. HAGERUP, O.: Über Polyploidie in Beziehung zu Klima, Ökologie und Phylogenie. *Hereditas* (Lund) **16**, 1—40 (1932).
9. HAVAS, L.: Effects of colchicine and of *Viscum album* preparations upon germination of seeds and growth of seedlings. *Nature* **139**, 371 (1938).
10. HEILBORN: Reduction division pollen — lethality and polyploidy in apples. *Acta Horti Bergiani* **11**, 129—184 (1935).
11. JØRGENSEN, C. A.: The experimental formation of tetraploid plants in the genus *Solanum*. *J. Genet.* **19**, 133.
12. KOSTOFF, D.: Irregularities in the mitosis and polyploidy induced by colchicine and acenaphthene. *C. r. Acad. Sci. URSS.* **9**, 197—199 (1938).
13. KOSTOFF, D.: Induction of somatic chromosome duplication and production of polyploid chromosome chimeras by acenaphthene and colchicine. *Ref. V. Zellforscherkongreß Zürich* 1938.
14. LEVAN, A.: The effect of colchicine on root mitosis in *allium*. *Hereditas* (Lund) **24**, 471—487 (1938).
15. MANUS, M. B. C.: Die Wirkung von männlichen Hormonen und x-Stoffen bei Nagetieren und Primaten. *Diss. Amsterdam* 1938.
16. MORRISON: A tetraploid *Zinnia*. *J. Hered.* **29**, 187—188 (1938).
17. MÜNTZING, A.: The evolutionary significance of autopolyploidy. *Hereditas* (Lund) **21**, 263—378 (1936). Dort auch weitere Literatur!
18. NEBEL, B. R., and M. L. RUTTLE: The cytological and genetical significance of colchicine. *J. Hered.* **29**, 3—9 (1938).
19. NEBEL, B. R.: Cytological observations on colchicine. *Biol. Bull.* **73**, 351 (1938).
20. NILSSON-EHLE, H.: Darstellung tetraploider Äpfel und ihre Bedeutung für die praktische Apfelzüchtung Schwedens. *Hereditas* (Lund) **24**, 195 bis 209 (1938).
21. SCHLÖSSER, L. A.: Frosthärte und Polyploidie. *Züchter* **8**, 75—80 (1936).
22. SCHLÖSSER, L. A.: Befruchtungsschwierigkeiten bei Autopolyploiden und ihre Überwindung. *Züchter* **8**, 295—301 (1936).
23. WALKER, R. J.: The effect of colchicine on microspore mother cell and microspores of *Tradescantia paludosa*. *Amer. J. Bot.* **25**, 280—285 (1938).
24. WETTSTEIN, F. VON: Kreuzungsversuche mit multiploiden Moosrassen II. *Biol. Zbl.* **44**, 145 bis 168 (1924).
25. WETTSTEIN, F. VON: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. I. *Z. J. A. V.* **33**, 1—236 (1924).
26. WETTSTEIN, F. VON: Die Erscheinung der Heteroploidie besonders im Pflanzenreich. *Erg. Biol.* **2**, 311—356 (1927).
27. WETTSTEIN, F. VON: Bastardpolyploidie als Artbildungsvorgang bei Pflanzen. *Naturwiss.* **1932**, 981—984.
28. WETTSTEIN, F. VON: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage II. *Bibl. genetica* **10**, 1—216 (1928).
29. WETTSTEIN, F. VON: Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. *Z. I. A. V.* **74**, 34—53 (1937).
30. WINKLER, H.: Über die Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen. *Z. Bot.* **8**, 417—531 (1916).
31. WINKLER, H.: Über die Entstehung von genotypischen Verschiedenheiten innerhalb einer reinen Linie. *Z. I. A. V.* **27**, 244—245 (1922).