Uber alloplasmatische Roggen.

(Roggen mit Weizenplasma.) 1

Von Alfred Lein. Mit 5 Textabbildungen.

I. Einleitung.

In einer eigenen Arbeit "Über Rückkreuzungsversuche eines amphidiploiden Weizen X Roggen-Bastards mit Roggen" (7) wurde berichtet, daß die Rückkreuzung des russischen amphidiploiden Triticale von MEISTER ($2n = 56^2$) mit Roggen relativ leicht gelingt und etwa 25% der bestäubten Blüten Ansatz ergeben. Die aus diesen Kreuzungen entstehenden Pflanzen $F_1 M_56 \times R$ enthalten also die drei Genome des Weizens und das Roggengenom in doppelter Auflage.

Sie besitzen die Genomformel $\frac{ABDS}{S}$, 2n = 35. In

der Meiosis dieser Bastarde bleiben die Weizenchromosomen univalent. Es wäre zu erwarten, daß die Roggengenome 7 Bivalente bilden. Wie in der genannten Arbeit gezeigt wurde, wird diese Zahl infolge der Labilität des Roggengenoms häufig nicht erreicht, zumal ganz allgemein die Chiasmenfrequenz und damit die Bindung paarungsfähiger Chromosomen durch die gleichzeitige Anwesenheit univalenter Chromosome herabgesetzt zu sein scheint. Trotzdem kommen in nicht allzu seltenen Fällen vollständige Genome des Roggens in die Geschlechtszellen, während die Weizenchromosomen völlig zufallsgemäß verteilt werden. Erwartungsgemäß ist die Fertilität dieser $F_1 M_56 \times R$ gering. Sie ist allerdings besser als bei den primären Weizen \times Roggen-Bastarden ABDS, 2n = 28. Gelegentlich zeigen die Pflanzen sogar platzende Antheren als Zeichen für eine ausreichende Produktion lebensfähiger Pollenmassen.

Die in den von Riebesel-Salzmünde eingeleiteten Versuchen erhaltene $F_2 M 56 \times R$ war außerordentlich verschiedenartig zusammengesetzt. Die eigenen zytologischen Untersuchungen des Materials ergaben Chromosomenzahlen zwischen 2n = 20 und 2n = 42mit einem Maximum bei den Zahlen 2n = 35-38. Die Bindungsverhältnisse der Chromosomen in der Meiosis, wie auch die Morphologie der Bastarde wiesen daraufhin, daß es sich um Pflanzen handelte, bei denen mehr oder weniger zufällig günstige Chromosomenkombinationen in der Zygote zusammengetroffen waren. Zum Teil scheinen ein oder zwei Genome komplett, ergänzt nur durch wenige univalente Chromosomen. Meist handelte es sich jedoch um ausgesprochen aneuploide Kombinationen. Diese Bastardabkömmlinge hatten eine außerordentlich geringe Fertilität. So wurden z. B. im Jahre 1939 aus 26 F2 M56 × R-Klonen mit insgesamt 4713 Ähren nur 31 Korn geerntet, d.h. ein Korn auf 152 Ähren. Einzelne Pflanzen, deren Fertilität etwas über dem Durchschnitt lag, hatten relativ niedrige Chromosomenzahlen. Morphologisch traten bei ihnen die Roggencharaktere stärker hervor. Gerade in diesen Pflanzen zeigte sich offenbar eine gewisse Neigung zur Elimination der Weizenchromosomen. Eine vollständige Elimination der Weizenchromosomen, nach der

bezeichnet.

gens in dem Sinne, in dem von Tschermack (13) die weizenähnlichen bzw. weizengleichen Abkömmlinge aus W × R-Bastardierungen beschrieben und benannt wurden, konnte auf diesem Wege infolge der geringen Fertilität und des dafür noch zu geringen Versuchsumfanges nicht erreicht werden. Hierbei muß berücksichtigt werden, daß der Roggen als obligater Fremdbefruchter bei Selbstung bekanntlich Selbststerilität und Inzuchtdepression erwarten läßt. Wie am Schluß der zitierten Arbeit jedoch bereits in Aussicht gestellt werden konnte, wurde dieses Ziel eines "bastardpassierten" Roggens auf dem Wege über eine wiederholte Rückkreuzung mit Roggen erreicht. Hierüber soll in der vorliegenden Arbeit berichtet werden. Es muß jedoch bereits an dieser Stelle darauf hinge-

schließlich nur noch Roggenchromosomen übrig bleiben sollten, d. h. eine "Bastardpassage" des Rog-

wiesen werden, daß bei diesem Fall einer Bastardpassage besondere Verhältnisse vorliegen, die bei den bisherigen Arbeiten, die sich um das Problem der Weizen × Roggen-Bastardierung drehten, etwas vernachlässigt worden sind. Bei den rein passierten Weizen × Roggen-Bastarden, d.h. bei den weizengleichen Bastardabkömmlingen, für die zahlreiche Beispiele bekannt sind, diente als mütterlicher Elter der primären Bastarde stets der Weizen. Nach erreichter Elimination der Roggenchromosomen waren also die Weizengenome wieder in Weizenplasma eingelagert. Beispiele, bei denen die Bastardpassage des Weizens über sog. Secalotrica, d.h. über primäre Bastarde mit Roggen als mütterlicher Elter, gegangen ist, und bei denen dann die Weizengenome in Roggenplasma eingelagert wurden, sind meines Wissens nicht bekannt geworden. Das vorliegende Material geht auf Triticale M56 als mütterlicher Elter zurück. Nach Meister (9) stammt der später von Lewitzki und Benetzkaja (8) untersuchte amphidiploide Bastard mütterlicherseits von der Weizensorte erythrospermum Nr. 648 aus Saratow ab. Nachdem es nunmehr durch wiederholte Rückkreuzung mit Roggen gelungen ist, die Weizenchromosomen zu eliminieren, sind die übriggebliebenen Roggengenome in ein Weizenplasma eingelagert. Bemerkenswert und für den Verlauf des Versuches von entscheidender Bedeutung ist die Tatsache, daß nach allen bisher vorliegenden zytologischen Untersuchungen zwischen den Genomen des Weizens und des Roggens keinerlei Paarungen stattfinden. Es ist also anzunehmen, daß das Genom rein und unvermischt in das Plasma des Weizens überführt werden konnte. Für diesen Typ von Bastardabkömmlingen wird die Benennung alloplasmatischer (alloplasmonischer) Roggen vorgeschlagen.

II. Zytologie, Blüh- und Ansatzverhältnisse des Versuchsmaterials.

a) Ausgangsmaterial 1941/42.

Das Material, das der vorliegenden Untersuchung, die in ihrer Art und Bedeutung einleitend kurz um-

Eingegangen am 8.4. 1948.
 Im folgenden wie in der älteren Arbeit, als M56

rissen wurde, zugrunde liegt, geht auf zwei Pflanzen zurück, die bereits in der voraufgehenden Arbeit (7) besprochen wurden. Beide Pflanzen entstammen einer erneuten Rückkreuzung der F_1 M 56 \times R mit Roggen.

Die Pflanze 169 (7, S. 233, Übersicht 7 und Abb. 2), also eine F₁ (F₁ M56 × R) × R, hatte somatisch 20 Chromosomen. Die Untersuchung der Meiosis ergab, daß neben einem kompletten Genompaar (7¹¹) weitere 6 Univalente vorhanden waren. Nach der morphologischen Erscheinung konnte es sich bei den gepaarten Genomen nur um Roggengenome handeln. Das gleiche galt für Pflanze 167 (7, S. 233, Übersicht 7 und Abb. 2, 7). Neben dem Roggengenompaar (7¹¹) enthielt diese Pflanze weitere 7 Univalente, möglicherweise ein komplettes Genom des Weizens¹.

Die beiden genannten Pflanzen waren gut entwickelt und bestockt, in ihren längsten Halmen etwa 90 cm hoch. Die Blätter waren normal entwickelt, ohne Einrollung, wie es bei aneuploiden Pflanzen häufig zu beobachten ist. Der morphologische Charakter, besonders der Ähren war sehr roggenähnlich. Fruchtknoten und Antheren schienen bei oberflächlicher Beobachtung normal ausgebildet. Bei der Blüte wurden jedoch die Spelzen nicht gespreizt. Die Antheren wurden nicht aus den Spelzen herausgeschoben und platzten nicht spontan. Der innere Druck des gebildeten Pollens reichte offenbar zum Sprengen der Antherenwände nicht aus. Bei leichtem Anstoß der

Antheren wurden aber reichliche Pollenmassen entlassen. Die Pollenfertilität betrug bei Bestimmung in Karmingly-cerin bei beiden Pflanzen etwa 50%.

Bei der geschilderten Blühweise schien ein Kornansatz nur wenig gesichert. Zum Teil wurde deshalb versucht, eine Bestäubung durch Zerzupfen der Antheren herbeizuführen. Die Mehrzahl der "frei" entstandenen Körner (Tab. 1) dürfte auf 'diese Weise durch "Selbstung" entstanden sein. Zwei Ähren der Pflz. 167 wurden kastriert und mit Petkuser Roggen bestäubt. Eine dritte kastrierte Ähre wurde mit Pollen der Pflz. 169 belegt. Außerdem wurden drei Ähren der Sommerweizenlinie ,,Chinese 466", die sich durch leichte Kreuzbarkeit mit Roggen auszeichnet (5), mit der Pflz. 167 gekreuzt.

Der Kornansatz ist bezogen auf die Zahl der Blüten recht gering, hatten doch die Ähren durchschnittlich 50—60 Blüten. Auch die Keimung der Körner mit etwa 40% war mäßig. Der Ausfall an

Tabelle 1. Ansatzverhältnisse und Nachkommenschaft der Pflanzen 167 und 169 (1941/42).

1 100000000 10 1 0000		Σ \Δ.	77-17-	, •	
	Ährenzahl	Kornzahl	Zahl gekeimter Körner	Pflanzen beim Schossen	Pflanzen mit Ansatz
Pflz. 167 ,,frei" Pflz. 167 × Roggen Pflz. 167 × Pflz. 169 Pflz. 169 ,,frei"	12 2 1 6	40 15 2 7	14 10 1	11 8 1	7 3 0 1
	21	64	26	21	11
Chin 466 \times Pflz. r67	3	21	10	8	I

Pflanzen nach der Keimung hielt sich jedoch in normalen Grenzen. Beim Schossen waren noch 21 Pflanzen als Nachkommen der Pflanzen 167 und 169 vorhanden, wozu noch 8 Bastarde aus der Kreuzung Chin 466 × Pflz. 167 kamen.

b) Das Material 1942/43.

Die Pflanzen der Vegetation 1942/43 wurden in Töpfen gezogen und überwintert. Während sich die Bastarde aus Chin 466 im Vergleich zu anderen Ba-

Tabelle 2. Zytologie und Fertilitätsverhältnisse der Nachkommenschaft der Pflanzen 167 und 169 (1942/43).

		D: 1 1 ::14	Pollenfertilität	Ko	rnansat			
Pflanzen- nummer	Chromosomen- zahl	Bindungsverhält- nisse	in %	mit Roggen	Antheren zerzupft	,,frei''		
I. Nachko 6898 6899a 6915a 6915 b	ommen von 14 14 ? — 14 ?	Pflanze 167, 7 ^{II} (z. T. 2 ^I)	frei": 98 43 5 72	4 0 0		0 0 0		
6915 c 6915 d 6916 a 6916 b 6917 6920 6921	14 ? 14 ? 14 14 ? 14 ? 14 14	7 ^{II} eng	87 94 42 50 96 96 95	9+3 3+0 6+6 13+0	5 —	0 5 1 0 1 3		
	•	Pflz. 167 × R 7 ^{II} eng 7 ^{II} eng	oggen: 97 84 5 87 —	3 + 2 - 5 + 5 2 + 3 -		0 0 0 0 1 0		
III. Nachko 6933	ommen von	Pflanze 169 ,	,frei": —	4	_	11		
IV. Nachko 6889	ommen von 15	Pflz. 167 × Pf	lz. 169: —	0+0	-	0		
V. Nachko 5948a 5948c 6901a 6903b 6903b 6903c	mmen aus 28 29 29 28 28 28 28 28 28	Chinese 466 > I—3 ^H locker I ^H eng 2—4 ^H eng	<u> </u>	0 0 0 0 0 0		0 0 0 0 0		

¹ Kornansatz mit Roggen und mit zerzupften Antheren: für Einzelähren an gegeben. "Freier" Ansatz: Summe aus mehreren Ähren.

¹ Anmerkung: Für die Überlassung dieser Pflanzen bin ich Herrn G. Riebesel, Saatzuchtdirektor der Saatzuchtanstalt, Salzmünde zu besonderem Dank verpflichtet.

starden Chin 466 mit Roggen normal entwickelten, waren die direkten Nachkommen der Pflanzen 167 und 169 im Vergleich zu normalen eingetopften Roggen trotz guter Pflege nur mäßig entwickelt. Da die Pflanzen aus "freier" Bestäubung zum großen Teil auf Selbstung zurückgehen können, wäre es naheliegend, dabei an eine Inzuchtwirkung zu denken. Aber auch die Pflanzen aus den Bestäubungen mit Roggen entwickelten sich nicht wesentlich besser. Die Chromosomenzahlen der Pflanzen, die Bindungsverhältnisse in der Meiose und die Pollenfertilität sind, soweit die Bestimmungen durchgeführt werden konnten aus der vorhergehenden Tabelle ersichtlich.



Abb. r.
Links: 6915d (2n = 14,7^{II}),
volle Blühreife, geschlossen
blühend. Rechts: normale
Roggenähre im Blühbeginn.

Die zytologischen Untersuchungen wurden mittels der Karminessig-Quetschmethode durchgeführt, Es ließ sich leider nicht vermeiden, daß einige der gepflückten Ähren keine Stadien enthielten. Zur Schonung des Materials wurde dann aber darauf verzichtet, weitere Ähren zu entnehmen. In mehreren Pflanzen wurde jedoch auch beobachtet, daß die Ausbildung des sporogenen Gewebes mehr oder weniger reduziert war. Überhaupt zeigten sich bei genauerer Untersuchung an allen Pflanzen gewisse Veränderungen im inneren Bau der Blüten, auf die noch im besonderen einzugehen ist. Im allgemeinen ergab die zytologische Untersuchung das nicht weiter überraschende Ergebnis, daß die in den Ausgangspflanzen noch enthaltenen univalenten Chromosomen fast völlig

eliminiert waren. Die Mehrzahl der Pflanzen enthielt offenbar nur mehr zwei volle Genome. Bei 5 Pflanzen (6898, 6915d, 6920, 5953e, 6887a) konnte eine normale Paarung mit 7¹¹ festgestellt werden. Der Morphologie der Pflanze entsprechend, kann es sich nur um das komplette Roggengenompaar handeln. Nur bei 4 Pflanzen konnten mit Sicherheit noch überzählige univalente Chromosomen beobachtet werden (6889 2n = 15, 5953d = 16, 6887c = 16, 6933 = 15). Aus den Testkreuzungen mit Weizen ergab sich, daß in 3 von 7 Fällen der Pollen der Pflanze 167 neben 7 Roggenchromosomen noch überzählige Weizenchromosomen enthalten haben muß. Die Pflanzen 5948c und 6901a hatten je 27 Univalente und ein eng gepaartes Bivalent. Bei Pflanze 6903c waren 2-4 eng gepaarte Bivalente vorhanden. Es sei dabei erwähnt, daß auch locker gepaarte Bivalente gelegentlich zu beobachten waren. Derartige end-to-end-Paarungen traten auch in den zur Kontrolle untersuchten Chin 466 × Roggen auf. Aus zahlreichen Arbeiten über primäre W X R-Bastarde, wie aus Untersuchungen haploider Weizen (3) ist bekannt, daß 1—3 derartiger lockerer Bindungen auf schwache Homologiebeziehungen zwischen den Weizengenomen hinweisen. Aus dem hier festgestellten Befund, daß sich die lockere Paarung von einer echten Bivalentbildung klar unterscheiden läßt, ist zu schließen, daß es sich dabei nicht um echte Homologiebeziehungen handeln kann.

Die Pollenfertilität wurde mittels Karminglycerin fast an allen Pflanzen bestimmt. Es zeigten sich sehr starke Unterschiede von normaler Fertilität bis zu

völliger Sterilität. So hatten die Pflanzen 6898, 6915c und d, 6917, 6920, 5953a und c und 6887a normal ausgebildete Pollen. Auch in reinem Roggen ist stets eine gewisse Pollensterilität anzutreffen. Alle die eben genannten Pflanzen besaßen 14 Chromosomen und bei den meisten von ihnen wurde ein normaler Verlauf der Meiose mit 7" festgestellt. Trotzdem unterschieden sich auch diese Pflanzen in der Blühweise auffallend von normalem Roggen. Wie

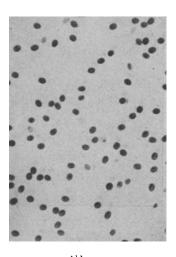


Abb. 2. 6915d (2n = 14,7H) normale Pollenfertilität 94%.

bereits im Vorjahr bei den Pflanzen 167 und 169 selbst beobachtet, wurden die Spelzen nicht gespreizt. Die Filamente der Antheren wurden nicht gestreckt und

die Antheren platzten in der Regel nicht spontan. Bei einigen Pflanzen, so bei 6889, 5953 b und e, 6887 b und c und 6933, war die bei der Besprechung der Meiose bereits erwähnte Umbildung der Antheren so stark, daß überhaupt kein Pollen gebildet wurde. Die in diesem Jahre erstmalig genauer untersuchten Veränderungen im Blütenbau erstreckten sich auf den Bau und die Funktion der Lodiculae. In allen Pflanzen ohne Ausnahme waren an Stelle der Schwellkörperchen spelzenartige Blättchen vorhanden. Erklärlicherweise geht mit dieser morphologischen Veränderung ein Verlust der Funktion parallel, so daß dadurch die geschlossene Blühweise der Pflanzen ihre Erklärung findet. Die zweite auffallende Veränderung, die



Abb. 3.

Unten: normale Roggenblüte.
Mitte: 6975d (2n = 14,7¶),
verbildete Antheren, ,Stiefelknecht" Narbe, spelzenartige
Lodiculae. Oben: 6889 (2n = 15)
starke Degeneration der Antheren, spelzenartige Lodiculae.

sich auf die Antheren erstreckt, war jedoch in dieser, wie auch in den folgenden Generationen sehr variabel in ihrer Ausprägung. In schwacher Ausprägung sind die Filamente der Antheren verkürzt, verdickt und verkrümmt. Die Pollenfächer selbst sind am unteren Ende etwas zugespitzt, nicht abgerundet wie bei normalem Roggen und an der Spitze der Antheren finden

sich papillenartige Büschel. Bei stärkerer Ausprägung fehlen die Filamente, an der Antherenbasis entwickeln sich häutige Seitenlappen und die Papillenbüschel an der Spitze werden auch mit bloßem Auge sichtbar. Der Anteil des sporogenen Gewebes nimmt deutlich ab.



Abb. 4. Von links nach rechts:

- r. Normale Roggenanthere. 2. 6915 d $(2n=14,7^{II})$, schwache Ausprägung der Antherenverbildung, Filament noch vorhanden.
- 1. Hamment noch vorhanden.
 3. 6920 (2n = 14,7^H) ohne Filament, häutchenartige Seitenlappen, Rückbildung des sporogenen Gewebes.
 4. 6887a (2n = 14,7^H), drei Antheren mit deutlichen Papillenbüscheln.
 5. 688g (2n = 15), vollkommene Degeneration der Antheren zu carpellartigen Gebilden.

Im Extremfall finden sich an Stelle der Antheren drei carpellartige Gebilde, die aber in keinem beobachteten Falle eine Samenanlage enthielten. Auch eine Ausbildung mehrerer Körner in einer Blüte wurde nie beobachtet. Am Fruchtknoten selbst ist auffallend, daß die

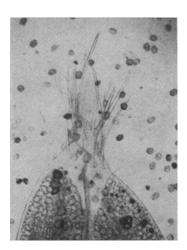


Abb. 5. 6915a (2n = 14, starke Pollen-sterilität). Antherenspitze mit schwachem Papillenbüschel.

Narben parallel aufrecht stehen und befiedert schwächer sind.

Um bei der geschlossenen Blühweise den Ansatz zu sichern. wurden möglichst zahlreiche Ähren mit Roggen bestäubt, allerdings ohne die Ähren zu kastrieren. Zu dieser erneuten Einkreuzung mit Roggen zwang vor allem auch die bei weiterer Selbstung in verstärktem Maße zu erwartende Inzuchtwirkung. Bei

drei Ähren wurden die Antheren zerzupft und mit dem frei werdenden Pollen die eigenen Narben belegt. Aus den mit Roggen bestäubten 21 Ähren wurden insgesamt 76 Korn geerntet. Der durchschnittliche Ansatz mit 3,6 Korn je Ähre (maximal 13 K/Å) ist außerordentlich gering. Aus den zur Selbstung gezwungenen Ähren wurden 7 Korn geerntet (2,3 K/Ä). Schließlich blühten weitere 20 Ähren frei ab, in denen noch 22 Korn entstanden. Dazu ist zu bemerken, daß kein Roggen in der Nähe der Pflanzen blühte, daß aber alle Pflanzen nahe beieinander standen und auch die Bestäubungen mit Roggenpollen am Standort vorgenommen wurden. Die spontan entstandenen Körner können also sowohl durch Selbstung, als auch durch Geschwisterbestäubung oder auch durch Pollen, der bei den Bestäubungen mit Roggen durch Luftzug weggetragen wurde, gebildet sein.

Ein Vergleich der Ansatzverhältnisse mit den zytologischen Befunden ergibt kein klares Bild. Im Durchschnitt haben die Pflanzen mit anormalen Chromosomenzahlen bzw. mit herabgesetzter Pollenfertilität keinen oder nur geringen Ansatz ergeben. Andrerseits hat aber z. B. auch die Pflanze 6915d mit 2 n = 14 und 711 und 94% Pollenfertilität nur ein Korn ergeben, während die Pflanze 6916a mit nur 42% Pollenfertilität den höchsten Ansatz einer Einzelpflanze mit 22 Korn hatte. Auffallend ist weiter, daß der Ansatz bei den Bestäubungen mit Roggen nur wenig höher liegt als der spontane Ansatz. Die Tatsache, daß gerade bei Roggen die Einzelährchen und Blüten einer Ähre relativ weit auseinandergezogene Blühtermine haben, so daß die Bestäubungen nur zum Teil im optimalen Augenblick durchgeführt werden konnten, reicht zur vollen Erklärung m. E. nicht aus.

Aus den Kreuzungen mit Chinese 466 × Pflz. 167 wurden 8 Ähren der völlig pollensterilen Pflanzen mit Roggen bestäubt, ohne Ansatz zu erzielen. Lediglich ein Korn entstand spontan an einer Ähre, das aber später nicht keimte.

Das Material 1943/44.

Insgesamt wurden aus den direkten Nachkommen der Pflanzen 167 und 169 105 Korn geerntet, die noch im August ausgelegt wurden. Von Pflz. 6933 (aus Pflz. 169,,frei") keimte nicht eines der 15 Körner, die aus freier Bestäubung bzw. aus Bestäubung mit Roggen entstanden waren, womit die Linie aus Pflz. 169 ausstarb.

Über die Nachkommenschaft der Gruppen I und II (Tabelle 2), die auf die Pflanze 167 zurückgehen, unterrichtet Tabelle 3.

Tabelle 3. Übersicht über das Material der Vegetation 1943/44.

	Kornzahl	Zahl gekeimter Körner	Pflanzen beim Schossen	Pflanzen mit Ansatz
I. Aus Nachkommen von Pflz. 167 "frei": bestäubt mit Roggen	52 6 10	1 <i>7</i> 5 5	9 4 5	4 3 3
II. Aus Nachkommen von Pflz. 167 × Roggen: bestäubt mit Roggen geselbstet ,,frei"	20 I I	5 0 0	3	3

Die Keimung war mit rund 30% wiederum sehr schlecht. Irgendwelche Beziehungen zwischen Keimung und Bestäubungsart sind nicht ersichtlich. Über Winter gingen 11 Pflanzen ein, so daß nur 21 Pflanzen übrig blieben. Sie waren im Frühjahr besser bestockt als im vorhergehenden Jahr. Um das Material zu schonen und auf eine breiterer Gundlage zu stellen, wurde in diesem Jahr von zytologischen Untersuchungen abgesehen. Die Beobachtung der Blühweise und des Blütenbaues zeigte im wesentlichen das gleiche Bild wie im Vorjahr.

Von den 21 zur Blüte gelangten Pflanzen brachten nur 13 Pflanzen Ansatz, der zum Teil aus Bestäubungen mit Roggen, zum Teil "frei" entstand. Die Steigerung des Ansatzes durch die Bestäubung mit Roggen war in diesem Jahr deutlich. Von 24 mit Roggen bemosomale Unregelmäßigkeiten bestand. Allerdings konnten von einer Anzahl von untersuchungswürdigen Pflanzen keine Antheren entnommen werden, da die Abwandlungen im Blütenbau auch in diesem Jahr bei vielen Pflanzen wiederum sehr stark waren. Es wurden in allen Fällen die gleichen Beobachtungen wie aus den Vorjahren bestätigt. In keinem Falle konnte ein normaler Bau und eine normale Funktion der Lodiculae beobachtet werden. Trotz des allgemein geschlossenen Abblühens waren aber in diesem Jahre einige Pflanzen darunter, bei denen die Antheren zur Blüte aus den Spelzen herausgeschoben wurden und z. T. sogar kippten und Pollen entließen. Nochmal erwähnenswert ist die starke Variabilität in der Abänderung des Antherenbaues, selbst innerhalb einer Pflanze, ja sogar innerhalb einer Ähre. In einigen Fällen, in denen ein

Tabelle 4. Übersicht über das Material der Vegetation 1944/45.

N. 11.				1944 b	estäubt mi	t Roggen			1944	944 ,,frei" bestäubt			
Nachkommen- schafts-Nr. 1944/45	aus Pflanze 1943/44	aus Pflanze ¹ 1942/43	Ähren- zahl	Korn- zahl-	Zahl gekeimter Körner	Pflanzen zahl beim Schossen	Pflanzen mit Ansatz	Ähren- zahl	Kornzahl	Zahl gekeimter Körner	Pflanzen zahl beim Schossen	Pflanzen mit Ansatz	
I. Aus Pflz. 167 "frei":													
Z 1 Z 2 Z 3 Z 4 Z 12 Z 5 Z 6 Z 11 Z 7 Z 13 Z 8 Z 14 Z 19 Z 15	Z 2 Z 5a Z 5b Z 6c Z 6c Z 6d Z 8 Z 3a Z 11a Z 12a Z 13a Z 13d Z 13d	6915 d (S) 6916a (S) 6916a (S) 6916a (fr) 6916a (fr) 6916a (fr) 6916a (R) 6920 (R) 6920 (R) 6921 (R) 6921 (R) 6921 (R)	3 1 3 1 3 1 4	29 3 69 3 1 4 50 29	25 1 58 2 1 0 	24 1 58 2 1 38 21 33	24 1 54 2 1 — 36 — 20 — 2	9 6 9 4	18 	16 	15 	15 0 5	
II. Aus Pfl Z 16 Z 17 Z 10 Z 18	Z. 167 × Ro Z 17a Z 17c Z 18 Z 18	ggen: 5953e (R) 5953e (R) 5953e (R) 5953e (R)					<u>-</u> 4	7 4 7	23 27 — 31	15 18 —	13	8 12 -	

S = Selbstung.

stäubten Ähren konnten 204 Korn geerntet werden, d. h. 8,5 Korn/Ähre. Dagegen brachten 112 "frei" bestäubte Ähren nur 150 Korn, d. h. 1,3 Korn/Ähre.

d) Das Material 1944/45.

Wie die Ansatzverhältnisse, so waren auch die Keimungsverhältnisse günstiger als im Vorjahr. Die Körner aus Bestäubungen mit Roggen keimten zu 77,4% und diejenigen aus "freier" Bestäubung zu 63,3%. Der Ausfall an Pflanzen bis zum Schossen war nur unwesentlich, so daß in diesem Jahr ein umfangreicheres Material von 241 Pflanzen zur Verfügung stand. Einen Überblick gibt Tabelle 4, aus der auch die verwandtschaftlichen Beziehungen innerhalb des Materials ersichtlich sind.

Leider mußte die Untersuchung dieses Materials äußerer Umstände wegen vorzeitig abgebrochen werden. Von etwa 12 Pflanzen konnten die Chromosomenzahlen kontrolliert werden. In allen Fällen waren regelmäßig 711 festzustellen, obwohl besonders Pflanzen ausgewählt wurden, bei denen ein Verdacht auf chro-

ganz normaler Chromosomenbestand mit 711 ermittelt wurde, fanden sich neben Blüten mit fast normalen Antheren auch Blüten mit stark degenerieten Antheren. Diese Erscheinung dürfte also sicherlich nicht chromosomal bedingt sein. Die Pollenfertilität war in allen geprüften Pflanzen normal.

Morphologisch war das Material recht einheitlich. Stärkere Unterschiede bestanden im Hinblick auf die Vitalität (Bestockung, Halmlänge). Die aus "freier" Bestäubung stammende Nachkommenschaftsgruppe Z11—18 hatte im großen Durchschnitt stärkere Wuchshemmungen als die aus Bestäubungen mit Roggen stammende Gruppe Z 1—10. Es war also zweifellos eine gewisse Inzuchtwirkung in der ersteren Gruppe festzustellen, die als Hinweis dafür gelten muß, daß unter den "frei" abgeblühten Pflanzen eine Selbstung nicht allzu selten sein kann. Trotzdem hatte aber z.B. die Nachkommenschaft Z 10, in der nachweisbar in fünf aufeinander folgenden Generationen stets ein fremdes Roggengenom eingekreuzt worden war, keineswegs eine normale, ungehemmte Entwicklung.

R = Bestäubung mit Roggen. fr = spontaner Ansatz.

Tabelle 5. Abstammung der Nachkommenschaft Z 10/45.

1940 $\underbrace{\frac{M}{56 \times R}}_{1941} \underbrace{\frac{F_1 \times R}{F_1 \times R}}_{167 \times R}$

$$\begin{array}{ccc}
1942 & 107 \times R \\
1943 & 5953e \times R \\
1944 & Z 18 \times R \\
1945 & Z 10
\end{array}$$

Die Pflanzen standen vergleichbar neben normalem Inzuchtroggen (I₁—I₃). Selbst die kräftigsten Pflanzen des alloplasmatischen Roggens waren schwächer entwickelt als der Durchschnitt des Inzuchtmaterials, was sich besonders in der Halmlänge, weniger vielleicht in der Bestockung bemerkbar machte.

Dadurch, daß das Versuchsmaterial in einen größeren Komplex von Inzuchtroggen hineingestellt wurde, sollte einmal der Ansatz durch spontane Bestäubung gesichert werden und zum anderen sollte dadurch versucht werden, eine Anreicherung an Selbstfertilitätsallelen in dem geschlossen blühenden, alloplasmatischen Roggen zu erzielen.

die Weizenchromosomen restlos zu eliminieren. Bei den so auf dem Wege der "Bastardpassage" erhaltenen Roggen liegen insofern besondere Verhältnisse vor, als die Roggengenome nunmehr in ein Plasmon eingelagert sind, das von dem Weizenelter stammt, der als Ursprungsform des russischen *Triticale* verwendet wurde. Diese alloplasmatischen Roggen konnten in zwei weiteren Generationen beobachtet werden.

Nach den dargestellten Befunden ist es unter Berücksichtigung der sonstigen Kenntnisse über die Zytologie von Weizen × Roggen-Bastarden sicher, daß die in den Chromosomen und damit im Zellkern lokalisierte Erbsubstanz restlos vom Roggen stammt, und daß keine Reste der Weizengenome mehr vorhanden sind.

Es ist also erwiesen, daß Pflanzen mit dieser Kombination der Erbsubstanz — Roggengenom im Weizenplasmon — lebensfähig sind, daß die Gene des Roggens nicht nur im arteigenen Plasma, sondern auch im artfremden Plasma des Weizens, ihre Funktion der Entwicklungssteuerung annähernd normal und harmonisch

Tabelle 6. Ansatz der alloplasmatischen Roggen, Ernte 1945.

				Variabilität der Kornzahl je Pflanze											
Nachkommen- schafts-Nr. 1944/45	Pflanzenzahl	Gesamt- kornzahl	Korn je Pflanze	0	r—ro	11—20	21-30	31—40	41-50	51—60	0Z—I9	7180	8190	91—100	прег 100
I. Nachkommenschaften aus Bestäubungen mit Roggen:															
Z 1 Z 3 Z 7 * Z 8 ** Z 10 ***	24 58 38 21 5	757 1926 1301 900 83	31 31 37 41 17	0 4 6 1	3 11 6 8 1	3 12 8 1	6 8 2 2	5 5 1 1	5 8 3 —	1 2 2 2	1 2 2 —	1 - 1			2 3 4
•	146	4967	34 ¹	12	29	25	19	17	16	7	5	2	3	2	9
		II. Nachko	mmensch a	iten	aus	,,ire	er	Desi	aupı	ing:					
Z 12 Z 13 * Z 14 ** Z 16 Z 17 Z 18 ***	15 8 22 13 17	298 61 272 271 142 168	20 8 12 21 8 14	0 3 3 5 5 2	7 3 9 3 8 5	4 1 7 — 3	1 1 3 1		2 - 2 1		2 				
•	87	1212	14	18	35	15	7	2	5	I	3			I	

^{*, **, ***:} Nachkommenschaften aus gleichem Elter.

Leider wurde der Ansatz in dieser Ernte sehr unvollkommen bestimmt. Es sind lediglich die Gesamtkornzahlen je Pflanze bekannt, in denen neben dem Ansatz gleichzeitig die Bestockung der Pflanze mit zum Ausdruck kommt. Aber auch aus diesen Zahlen läßt sich vermuten, daß eine Inzucht in der zweiten Nachkommenschaftsgruppe wirksam geworden ist. Es ist eindeutig, daß die zumindest in der letzten Generation mit Roggen bestäubten Nachkommenschaften besseren Ansatz aufweisen als die aus Selbstung oder aus Geschwisterbefruchtung hervorgegangenen Pflanzen.

Bedauerlicherweise wurde dieses umfangreiche Material im Herbst 1945 nicht ausgelegt. Bei der Aussaat im Herbst 1946 hatte die Keimfähigkeit bereits stark gelitten. Weitere Beobachtungen konnten von mir nicht angestellt werden.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Durch wiederholte Einkreuzung von Roggen in den amphidiploiden Weizen × Roggen-Bastard von MEISTER gelang es, innerhalb von drei Generationen erfüllen können. Diese Tatsache brauchte nicht zu überraschen, da die Kreuzbarkeit der beiden Gattungen genetisch bedingt ist und dabei ausdrücklich kein Einfluß des Plasmas beobachtet wurde (5). Auch bei den primären F₁ W × R ist das Luxurieren der Bastarde in gleicher Ausprägung zu beobachten, gleichgültig, welche der Arten als mütterlicher Elter verwendet wurde (6, 10, 12). Ob die Lebensfähigkeit dieser Genom-Plasmon-Kombination von der Zusammensetzung des Genoms bzw. des Plasmons an Erbeinheiten abhängig ist, bleibt jedoch noch ungeklärt. Das hier vorgestellte Material geht auf eine einzige Pflanze und auf ein ganz bestimmtes Weizenplasmon zurück. Die Ergebnisse bedürfen also in dieser Hinsicht unbedingt der Bestätigung unter Verwendung anderen Ausgangsmaterials. In Bezug auf die genetische Zusammensetzung des Roggengenoms ist dagegen eine große Mannigfaltigkeit gesichert. In diesem Zusammenhang ist die geringe Fertilität der Pflanzen nicht nur in den ersten Generationen, sondern auch in den späteren Generationen, in denen noch chromosomale

¹ mittlerer Ansatz im Korn je Pflanze.

Störungen eine Rolle spielen können, auffallend. Die Fertilität ist m. E. geringer als man erwarten sollte, selbst wenn man das geschlossene Abblühen, die Abänderungen im Blütenbau und eine evtl. Inzuchtwirkung in Rechnung setzt. Es wäre also möglich, daß gewisse Genkombinationen des Roggens innerhalb des Weizenplasmas nicht lebensfähig sind und bereits als Zygoten ausfallen. Auch die schlechte Keimfähigkeit mahnt zur Vorsicht in der allgemeinen Beurteilung der Lebensfähigkeit alloplasmatischer Roggen. An der etwas besseren Fertilität und Keimfähigkeit in der letzten Generation, die an sich auf bessere Bestäubungsverhältnisse zurückgeführt wurde, kann auch die Wirkung einer Selektion geeigneter Genkombinationen beteiligt sein.

Selbst wenn aber alle Genom-Plasmon-Kombinationen lebensfähig sein sollten, so ist jedenfalls weiterhin erwiesen, daß das Zusammenspiel zwischen Roggengenom und Weizenplasmon nicht völlig normal funktioniert. Dies äußert sich, wie in den meisten bisher bekannten Fällen einer Plasmavererbung, in erster Linie als Vitalitätsschwächung bzw. als Wuchshemmung. Sie ist hier dem Typ der Gramineen entsprechend besonders in der Bestockungsneigung und in der Halmlänge feststellbar. Erwähnenswert ist an dieser Stelle, daß die durch eine Inzuchtwirkung bedingte Wuchshemmung offenbar unabhängig davon ist und zusätzlich in Erscheinung treten kann. Dies kann als Hinweis dafür gewertet werden, daß die eigentliche Inzuchtwirkung beim Roggen im wesentlichen durch im Kern lokalisierte Erbfaktoren und im Gegensatz zu der Hypothese H. Nilssons (II) nicht plasmatisch bedingt ist.

Auffallend, aber ebenfalls nicht aus dem Rahmen der bisher bekannten Erscheinungen fallend, ist weiterhin die Wirkung auf die generativen Organe, die offenbar für die Störungen des genetischen Gleichgewichtes — genetisch im weitesten Sinne verstanden — besonders empfindlich sind. Die Rückbildung der Antheren geht in einigen Fällen soweit, daß rein weibliche Pflanzen entstehen. Andererseits ist gerade in dieser Erscheinung die Variabilität besonders stark. Das Material hätte in dieser Hinsicht unbedingt einer weiteren Untersuchung bedurft. Zunächst bleibt also ungeklärt, inwieweit die Variabilität dieser Wirkung modifikativ beeinflußt ist und inwieweit sie vom Genbestand selbst abhängig ist. Für eine eventuelle züchterische Nutzung der alloplasmatischen Roggen wäre diese Frage besonders wesentlich.

Ähnliche Erscheinungen sind übrigens bereits früher an normalem Weizen, an Roggen und an Weizen × Roggen-Bastarden beobachtet worden. Lеіснту und Sando (4) beobachteten unter Gewächshausbedingungen an Weizen und an Weizen X Roggen-Bastarden eine Entartung der Antheren zu carpellartigen Gebilden, was sie als "pistillody" bezeichneten. Es wurden hierbei keine zusätzlichen Samenanlagen gebildet. Die Abänderung erwies sich als nicht erblich. Einen etwas andersartigen Fall beobachtete BLEDSOE (1) an Inzuchtroggen und an Weizen \times Roggen-Bastarden. Bei normaler Ausbildung der Antheren wurden innerhalb einer Blüte durch Spaltung der Carpelle mehrere fertile Samenanlagen gebildet, so daß mehrere Körner innerhalb der Blüte entstanden. Diese Abwandlung im Blütenbau erwies sich als erblich. Erwähnt sei noch in diesem Zusammenhang, daß auch bei eigenen Mutationsversuchen mit Röntgenbestrahlung bei Gerste (2) mehrfach Mutationen gefunden wurden, bei denen die Antheren in gleicher Weise wie bei den alloplasmatischen Roggen degenerierten, so daß rein weibliche Pflanzen entstanden.

Unter den Abänderungen im Blütenbau ist schließlich die funktionelle Degeneration der Lodiculae bemerkenswert. Die Umbildung zu spelzenartigen Blättchen kann als Nachweis für die Hypothese der Systematik gelten, daß die Lodiculae morphologisch dem inneren Perianthkreis zugehören. Blühbiologisch und damit auch züchterisch ist dieser Verlust der Funktion der Lodiculae recht bedeutsam. Es wäre auf diesem Wege ein kleistogamer Roggen erhalten und damit ein Ziel erreicht worden, das schon mehrfach auf dem Wege der Selektion angestrebt worden ist. Wenn es gelingen sollte, weiterhin einen solchen kleistogamen Roggen mit Selbstfertilitätsallelen anzureichern bzw. die Selbststerilitätsallele aus ihm zu eliminieren, so könnte dies für die züchterische Bearbeitung des Roggens eine große Bedeutung haben. Selbst wenn die Wuchshemmung der alloplasmatischen Roggen nicht zu beseitigen wäre und dadurch die Leistungsfähigkeit der normalen Roggen nicht erreicht werden könnte, so behielten diese Formen züchtungsmethodisch für die Isolierung rezessiver Allele eine nicht zu unterschätzende Bedeutung. Eine unmittelbare praktische Nutzung käme auch nur dann in Frage, wenn die Inzuchtwirkung, soweit sie genisch bedingt ist, außerdem beseitigt werden könnte.

Zusammenfassung.

Auf Rückkreuzungsversuche eines amphidiploiden Weizen × Roggen-Bastards aufbauend, gelang es, durch mehrfache Einkreuzung von Roggen, die Weizenchromosomen restlos zu eliminieren und auf dem Wege der Bastardpassage wiederum 14 chromosomige Roggen zu erzielen. Bei den so erhaltenen Pflanzen handelt es sich um alloplasmatische Roggen, da die Roggengenome in das Plasmon des Weizens eingelagert sind, das von dem mütterlichen Elter des verwendeten russischen *Triticale* Meister stammt.

Diese alloplasmatischen Roggen unterscheiden sich von normalem Roggen durch Wuchshemmungen, die sich in der Bestockungsfähigkeit und in der Halmlänge auswirken. Eine Inzuchtwirkung ist unabhängig von der durch das Zusammenspiel des Roggengenoms mit dem artfremden Plasma bedingter Wuchshemmung. Sie kann zusätzlich wirksam werden.

Die stärkste Wirkung ist in Abwandlungen des Blütenbaues festzustellen. Die Antheren können zu carpellartigen Gebilden degenerieren. Die Ausprägung dieser Erscheinung ist jedoch sehr variabel. Es ist ungeklärt, inwieweit diese Variabilität modifikativ oder durch den Genbestand des Roggens bedingt ist. Außerdem degenerieren die Lodiculae zu spelzenartigen Blättchen. Da sie damit ihre Funktion verlieren, blühen die alloplasmatischen Roggen geschlossen.

Es erscheint möglich, in Verbindung mit einer Selektion von Selbstfertilitätsallelen zu einem praktisch autogamen Roggen zu gelangen, der für die Züchtungsmethodik des Roggens zur Isolierung rezessiver Allele bedeutsam sein könnte. Eine unmittelbare Nutzung des alloplasmatischen Roggens ist als wenig aussichtsreich zu beurteilen, da dies eine Beseitigung der genisch bedingten Inzuchtwirkung voraussetzen würde.

Literatur.

1. Bledsoe, R. P.: Multiple kernels in wheat-rye hybrids. J. Hered. 20, 137—142 (1929). — 2. Freisleben, R. u. A. Lein: Röntgeninduzierte Mutationen bei Gerste. Züchter 16, 49—64 (1944). — 3. Isenbeck, K. u. K. v. Rosenstiel: Weizen in: R demer Rudorf, Handb. d. Pflanzenzüchtung, Bd. II. (Manuskript) — 4. Leighty, C. E. u. W. J. Sando: Pistillody in wheat flowers. J. Hered. 15, 263—268 (1924). — 5. Lein, A.: Die genetische Grundlage der Kreuzbarkeit zwischen Weizen und Roggen Z. f. ind. A. u. V. 81, 28—61 (1943). — 6. Lein, A: Die Wirksamkeit von Kreuzbarkeitsgenen des Weizens in Kreuzungen von Roggen mit Weizen. Züchter 15, 1—2 (1943). — 7. Lein, A.: ÜberRückkreuzungsversuche eines amphidiploiden Weizen × Roggen-Bastards mit Roggen.

Kühn-Archiv 60, 226—237 (1943). — 8. Lewitzki, G. A. u. G. K. Benetzkaja: Cytology of the wheat-rye amphidiploids. Bull. appl. Bot. 27, 241—264 (1932). — 9. Meister, G. K.: Das Problem der Speziesbastardierung im Lichte der experimentellen Methode. Z. f. ind. A. u. V. Suppl. Bd. II, S. 1094—1117 (1928). — 10. Meister, N. u. N. A. Tjumjakoff: Rye-wheat hybrids from reciprocal crosses. J. Genet. 20, 233—244 (1928). — 11. Nilsson, H.: Eine Prüfung der Wege und Theorien der Inzucht. Hereditas 23, 236—256 (1937). — 12. Rosenstiel, K. v. u. L. Mittelstenscheid: Über die Erzeugung amphidiploider Roggen-Weizen-Bastarde (Secalotrica). Züchter 15, 173—183 (1943). —13. Tschermack, E. v.: Beiträge zur züchterischen und zytologischen Beurteilung der Weizenroggen- und Weizen-Quecken-Bastarde. Z. f. Züchtg. A. 22, 397—416 (1938).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg.)

Bestimmung des Wuchsstoff= und Hemmstoffgehaltes von Pflanzenextrakten.

Von Franz Moewus.
Mit I Textabbildung.

I. Probleme der Wuchsstofforschung.

Folgende Wuchsstoffe sind bisher aus Pflanzenmaterialien isoliert worden: I. die Auxine a und b von Kögl, Erxleben und Haagen-Smit (1934) aus Malz und Maisöl, 2. β-Indolylessigsäure (Heteroauxin) von Haagen-Smit, Leech und Bergren (1941), Berger und Avery (1944) und Dandliker (1945, zitiert bei Bonner und Wildman 1947) aus Maiskörnern. Neuerdings ist Heteroauxin in Spinatblättern (Bonner und Wildman 1947, Wildman und Bonner 1947) und in Avena-Koleoptilen (Bonner, nach brieflicher Mitteilung) nachgewiesen worden. Über die chemische Natur der Wuchsstoffe in anderen Pflanzen ist mit Sicherheit nichts bekannt.

Um Wuchsstoff-Wirkungen nachzuweisen, gibt es verschiedene biologische Testverfahren (z. B. Avena-Koleoptil-Teste mit Agarwürfeln oder Lanolinpasten, Avena-Koleoptilzylinder-Test, Erbsen-Test). Soll die Wirksamkeit einer Lösung, deren Wuchsstoffgehalt unbekannt ist, festgestellt werden, dann ist es notwendig, deren Wirkung mit einer Standard-Wirkungskurve eines bekannten Wuchsstoffes (z. B. Heteroauxin) zu vergleichen. Die bisher üblichen Testverfahren erlauben es jedoch nicht, eine für längere Zeit gültige Standard-Kurve zu erhalten, weil die Schwankungen an verschiedenen Versuchstagen außerordentlich groß sind (vgl. Kögl, Haagen-Smit und van Hulssen 1936, LINSER 1938, SÖDING und FUNKE 1941). So geben Kögl und Mitarbeiter an, daß man nicht genau entscheiden kann, ob I Avena-Einheit die Wirkung von I/10 oder I/120 my Auxin a hat. Im Mittel entfaltet I g Auxin a die Wirkung von 50 Milliarden Avena-Einheiten (Streuungen bei den Bestimmungen zwischen 10 und 120 Milliarden Avena-Einheiten). Um dieser Unsicherheit abzuhelfen, muß man, wenn die Wirkung einer Lösung von unbekanntem Wuchsstoffgehalt festgestellt werden soll, gleichzeitig eine Versuchsserie mit Auxin bzw. Heteroauxin laufen lassen. Unterwirft man jedoch das erhaltene Zahlenmaterial einer Varianzanalyse, dann findet man, daß es inhomogen ist, d. h. die Streuungen sind allzu groß (vgl. Linser 1938). Es ist offensichtlich, daß ein derartiger quantitativer Test für genauere Bestimmungen nicht geeignet ist, besonders dann nicht, wenn man vergleichende Untersuchungen über längere Zeit durchführen will. Um dem Fehlen eines genaueren quantitativen Testes abzuhelfen, sind seit 1939 Versuche an Kresse-Wurzeln durchgeführt worden, die nach langen Vorarbeiten im Jahre 1947 zu dem gewünschten Ergebnis geführt haben. Über die Methodik des neuen Kressewurzel-Testes (Moewus 1948 a, b, c) soll in Abschnitt II berichtet werden. Mit Hilfe dieses Testes konnten die Streuungen von ± 100%, wie sie bei den bisher üblichen Testen bei ungleichzeitigen Bestimmungen möglich waren, auf + 4% reduziert werden. Gleichzeitig war die Prüfung auf Homogenität befriedigend. Es konnte eine über längere Zeit gültige Standard-Wirkungskurve für Heteroauxin erhalten werden.

Nur ein befriedigendes Extraktionsverfahren vermag über den Wuchsstoffgehalt von Pflanzenmaterialien Aufschluß zu geben. LINSER (1939) gibt eine Übersicht über die verschiedenen Möglichkeiten (Äther, Chloroform, Alkohol), auf die verwiesen sei. Ein Jahr später wurde bei Versuchen mit Lemna minor festgestellt, daß nach der Einwirkung von proteolytischen Fermenten (Trypsin, Chymotrypsin) die Ausbeuten wesentlich erhöht werden können (Skoog und Thimann 1940, Thimann und Skoog 1940). Die weitere Untersuchung von Thimann, Skoog und Byer (1942) ergab, daß die Extraktion mit peroxydfreiem Äther trotzdem auf über 500 Tage ausgedehnt werden muß, um zu maximalen Ausbeuten zu gelangen. Während dieser Zeit wird aber ein Teil des extrahierten Wuchsstoffes bereits wieder zerstört, da seine Beständigkeit begrenzt ist. Man wird also auf diesem Wege nicht zu genauen quantitativen Angaben gelangen können. Auch für spezielle physiologische Fragestellungen, bei denen man nach kurzer Zeit über den Wuchsstoffgehalt Bescheid wissen möchte, kommt diese Methode nicht in Frage.

Diese Feststellungen haben aber zu der Erkenntnis geführt, daß ein Teil des in der Pflanze vorhandenen Wuchsstoffes in gebundener Form vorliegt. Durch die proteolytischen Fermente wird seine Bindung an Proteine gelöst. Auch durch alkalische Hydrolyse