

Zusammenfassung.

1. Auf der Grundlage der BACKMANSchen Theorie über Wachstum und Entwicklung der Organismen wird vorerst für die Kiefer ein Wachstumstest entwickelt. Seine Voraussetzung ist die Annahme, daß spezifische Genmanifestationen, das Wachstum betreffend, schon im Keimlingszyklus vorliegen müßten.

2. Ein Rechenverfahren wird beschrieben, das Kennziffern für den Wachstumsrhythmus objektiv und einfach zu ermitteln erlaubt.

3. An Hand von Versuchen werden Einfluß und Richtung von Milieu- und Erbfaktoren für die Kiefer diskutiert.

4. Möglichkeiten zur Verbesserung und Vereinfachung der Versuchsanstellung und Auswertung sowie der Erzeugung des Ausgangsmaterials werden gezeigt.

Literatur.

1. BACKMAN, G.: Wachstum und organische Zeit. *Bios* 15, Leipzig 1943. — 2. BACKMAN, G.: Das Gewichtswachstum des Mannes. *Roux' Archiv* 1940, S. 285—319. — 3. BACKMAN, G.: Das Wachstum der Bäume. *Roux' Archiv* 1942, S. 455—499. — 4. BÜNNING, E.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie Bd. II u. III. Springer, Berlin 1948. — 5. DAEVES, K. und BECKEL, A.: Großzahlforschung und Häufigkeitsanalyse. Verlag Chemie G. m. b. H., Weinheim u. Berlin 1948. — 6. EDLEN, A.: Wachstum und Milieu bei *Daphnia magna*.

A. B. Glerupska Univ. Bokhdl. Lund 1943. — 7. GREGORY u. PURVIS: zitiert nach BÜNNING (4). — 8. v. GUTTENBERG, H.: Lehrbuch der allgemeinen Botanik. Akademie-Verlag, Berlin 1952. — 9. KARSCHON, R.: Untersuchungen über die physiologische Variabilität von Föhrenkeimlingen autochthoner Populationen. *Mitt. d. Schweiz. Anst. f. d. Forstl. Versuchswesen*. XXVII, S. 205—244, 1949. — 10. MARCET, E.: Pollenuntersuchungen an Föhren (*Pinus silv. L.*) verschiedener Provenienzen. *Mitt. XXVII*, 1951. — 11. ROHMEDER, E.: Beiträge zur Keimungsphysiologie der Forstpflanzen. *Bayrischer Landwirtschaftsverlag, München* 1951. — 12. SCHMIDT, W.: Jahresbericht d. Hauptausschusses f. Forstl. Saatgutenerkennung 1935. — 13. SCHRÖCK, O.: Beitrag zur Methodik der Leistungsprüfungen in der Forstpflanzenzüchtung. *Züchter* 21, S. 368—370, (1951). — 14. SCHRÖCK, O.: Individuelle Unterschiede in der Samenreife und Keimungsphysiologie der Kiefer (*Pinus silvestris L.*). *Züchter*. In Vorbereitung. — 15. SCHRÖCK, O. und STERN, K.: Untersuchungen zur Frühbeurteilung der Wuchsleistung unserer Waldbäume, zugleich ein Beitrag zur Pappelzüchtung. *Züchter* 22, S. 134—143, 1952. — 16. STADLER, L. I.: Gamete selection in Corn breeding (Abstract), *Journ. Amer. Soc. Agr.* 36, S. 988—989, (1944). — 17. STEFANSSON, E.: Preliminär sammanfatning av resultat vid klängning av tallkott vid Sundmo. Manuskript 1952. — 18. STERN, K.: Möglichkeiten zur Kennzeichnung von Differenzen in der Höhenverteilung bei Kiefernselektionsversuchen v. WETTSTEINS. *Züchter* 22, S. 180—189, (1952). — 19. STERN, K.: Methodik der Beurteilung von nach der Langparzellenmethode angelegten Einzelstammnackkommenschaften der Kiefer. *Züchter* 23, S. 1—16, 1952. — 20. v. WETTSTEIN, W.: Selektion von Kiefern nach 4 Jahren. *Züchter* 19, S. 205—206, 1949.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln.)

Eine Eintauchmethode zur Colchicinbehandlung.

Von KARL ESSER.

Mit 2 Textabbildungen.

Die Behandlung von Pflanzen nach den üblichen Colchicinierungsmethoden ist oft mit Nachteilen verbunden. Bei der Wattebauschmethode läßt sich ein Austreiben von diploiden Seitensprossen unterhalb des behandelten Vegetationspunktes nicht vermeiden. Die Samenbehandlung, die vorwiegend bei Gramineen angewandt wird, bewirkt einen großen Prozentsatz von letalen Pflanzen, da die Wurzeln durch das Alkaloid geschädigt werden. Um diese Nachteile zu vermeiden, haben wir nach einer Methode gesucht, den gesamten Sproß des jungen Keimlings möglichst vor der Entfaltung der Primärblätter so mit Colchicin zu behandeln, daß die Wurzeln von dem Alkaloid nicht in Mitleidenschaft gezogen werden.

1. Beschreibung der Methode und Beispiele zu ihrer Anwendung.

a) Dikotyle Pflanzen.

Ein flacher Blumentopf mit einem Durchmesser von etwa 20 cm wird bis zu 3 mm unterhalb des Randes mit fein gesiebter Mistbeeterde gefüllt. Mitten in den Topf drücken wir in die weiche Erde das Unterteil einer Petrischale (P) (Durchmesser ca. 7 cm) soweit ein, bis oberer Schalenrand und Erde auf gleicher Höhe abschließen. Dicht um den Rand der Petrischale säen wir im Abstand von 1 cm die Samen der zu behandelnden Pflanzen in einem Kreis aus. Nach vorsichtigem Anfeuchten des Keimbettes (kein Wasser in die Petrischale!) legt man eine Glasplatte (Pl) über

den Blumentopf, welche diesen ganz bedeckt (Abb. 1, links). Da zwischen Glasplatte und Erde nur ein Abstand von wenigen Millimetern vorhanden ist, werden im Verlauf der Keimung die Sproßspitzen der Pflanzen in horizontale Richtung gedrückt. Mit einer feinen Pinzette richtet man nach kurzem Abheben der bedeckenden Glasplatte die Keimspitzen so aus, daß sie

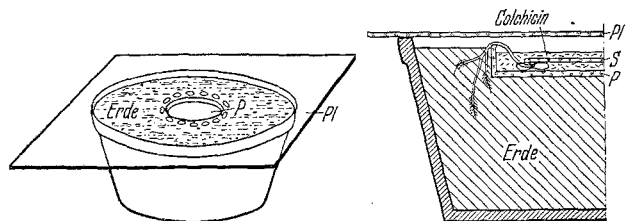


Abb. 1. Colchicinbehandlung von Dicotylen-Keimlingen. Links: Anordnung der Samen um die im Blumentopf versenkte Petrischale (P). Die Kultur ist mit einer Glasplatte (Pl) bedeckt. Rechts: Hälfte eines schematischen Schnittes durch Blumentopf und Petrischale (P). Durch eine Glasscheibe (S) wird der Vegetationspunkt des Keimlings unter dem Spiegel der Colchicinlösung gehalten. Die Glasplatte (Pl) bedeckt die Kultur.

in Richtung der Petrischalenmitte wachsen. Wenn die jungen Pflanzen etwa 2—3 cm lang und alle über die leere Petrischale gewachsen sind, werden sie vorsichtig mit einer runden 1—2 mm dicken Glasscheibe (S), deren Durchmesser um 2 cm geringer ist als der der Petrischale, belastet und so auf den Grund der Schale gedrückt (Abb. 1, rechts). Jetzt gießen wir soviel wässrige Colchicinlösung in die Petrischale bis die Glasscheibe und somit die Vegetationspunkte der

Keimlinge ganz von der Flüssigkeit bedeckt sind. Beim Zugeben der Colchicinlösung muß man darauf achten, daß der Blumentopf waagrecht steht, damit das Alkaloid nicht über den Rand der Schale tritt und die Wurzeln schädigt. Durch das Gewicht der Glasscheibe werden die Sproßspitzen auch bei mehrtägiger Behandlung stets unter dem Flüssigkeitsspiegel gehalten. Eine dauernde Einwirkung des Colchicins ist damit gewährleistet. Nach Abschluß der Behandlung entfernen wir mit einer Pinzette die runde Glasscheibe aus der Petrischale und heben die Spitze der Keimlinge soweit an, daß die Petrischale herausgehoben werden kann. Die Vertiefung, die durch die versenkte Schale in der Topfmitte entstanden ist, wird mit Mistbeeterde gefüllt. Die Pflanzen können nun normal weiter kultiviert werden. Die optimale Konzentration der Colchicinlösung und die Dauer der Behandlung ist für die einzelnen Pflanzengattungen verschieden. Diese Bedingungen ermittelt man zweckmäßig durch Vorversuche. Dazu werden beispielsweise 12 Blumentöpfe mit Keimlingen in der oben beschriebenen Weise herangezogen. Nach Herstellung von vier Colchicinlösungen verschiedener Konzentration (0,5, 0,2, 0,1 und 0,05%) werden je drei Petrischalen mit der gleichen Lösung gefüllt, die man 12, 24 bzw. 48 Stunden auf die Sproßspitzen der Keimlingen einwirken läßt. Durch Vergleich der Schließzellen der Spaltöffnungen und durch Vergleich der Pollenvolumina diploider und behandelter Pflanzen und Chromosomenzählungen (s. STRAUB 1950, S. 22 ff.) kann festgestellt werden, welche Konzentration und welche Zeit bei geringer Letalität der Keimlinge die Entstehung der meisten Polyploiden zur Folge hat. Der erfolgreichen Behandlung einer größeren Anzahl von Pflanzen steht nun nichts mehr im Wege.

Unsere Methode eignet sich besonders gut für diejenigen Dicotylen, deren Hypokotyl ziemlich lang werden kann, z. B. für die Arten der Gattungen *Aconitum*, *Brassica*, *Capsicum*, *Cheiranthus*, *Coffea*, *Coleus*, *Datura*, *Delphinium*, *Fagopyrum*, *Gossypium*, *Helianthus*, *Impatiens*, *Medicago*, *Phaseolus*, *Ricinus*, *Salvia* und *Tagetes*. Bei diesen Pflanzen kann die Behandlung schon sofort nach Abwurf der Samenschale und der Entfaltung der Keimblätter erfolgen. Das Colchicin kann auf das gesamte Epikotyl einwirken, wodurch das Austreiben von diploiden Seitensprossen unterbleibt. Bei anderen Dicotylen, die schon das erste oder zweite Blattpaar gebildet haben, wenn sie die Länge von 3 cm erreicht haben, muß man einige Zeit nach der Behandlung die in den Blattachsen der nicht eingetauchten Blätter entstehenden Seitensprosse entfernen. Günstig ist es noch, durch geringe Beleuchtung die Pflanzen zum Etiolieren zu bringen. Man erhält auf diese Weise längere Hypo- bzw. Epikotyle. Die Zahl der Blätter, die außerhalb der Colchicinlösung bleiben müssen, wird kleiner. Damit verringert sich auch die Entstehung von diploiden Seitensprossen.

Für Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* und *Fagopyrum tartaricum*) erwies sich eine 0,1proz. Colchicinlösung und eine Behandlungsdauer von 24—36 Std. als optimal. Nach kürzerer Einwirkung des Mitosehemmstoffes entstanden meist Mixoploide. Bleiben aber noch mehrere Zellen diploid, so vermögen diese das entstandene tetraploide Gewebe mit der Zeit zu überwuchern, denn diploide Zellen besitzen eine größere

Zellteilungsrate als polyploide (SINOTO und SATO 1940, KOSTOFF 1941, KÜSTER 1942, S. 39). Längere Behandlung (über 36 Stunden) hatte oft ein Absterben der Pflanzen zur Folge. Die überlebenden Pflanzen hatten zum Teil letale Pollen. Einige wiesen oktoploide Sektoren auf.

b) Gramineen.

Die geschilderte Methode kann mit einigen kleinen Abänderungen für Gramineen benutzt werden. Die Caryopsen werden nicht entlang dem äußeren Rand der versenkten Petrischale (P) in die Erde gesät, sondern in einem Abstand von 1 cm am inneren Rand der Schale entlang auf einen Wulst von feuchtem Zellstoff ausgelegt. Die Austrittsstellen der Coleorhizen zeigen in Richtung des Schalenrandes. Die Würzelchen können dann über den Schalenrand in die Erde wachsen (Abb. 2, links). Vereinzelte Wurzeln, die trotzdem in die Schale wachsen, bringt man mit Hilfe

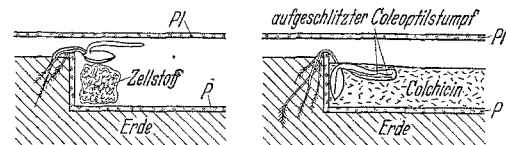


Abb. 2. Colchicinbehandlung von Gramineen-Keimlingen. (Ausschnitte aus schematischen Schnitten durch Blumentopf und Petrischale.) Links: Keimen der Caryopsen auf Zellstoffunterlage. Die Wurzeln wachsen über den Rand der Petrischale (P) in die Erde, die Coleoptile in Richtung der Petrischalenmitte. Rechts: Eintauchen der Caryopse mit dekaptierter und seitlich angrenzter Coleoptile in die Colchicinlösung. Die Glasplatte (PI) bedeckt die Kultur.

einer Pinzette in die richtige Lage. Kurz bevor das erste Blatt die Coleoptile durchbricht, beginnen wir mit der Colchicinierung, zu diesem Zeitpunkt sind die Wurzeln schon weit in das Erdreich außerhalb der Petrischale eingewachsen. Wir entfernen den Zellstoff und schneiden die Coleoptilen etwa 1,5 cm über dem Korn mit einer Rasierklinge ab und ritzen den verbleibenden Stumpf der Sproßscheide seitlich mit einer feinen Nadel auf, damit das Colchicin die Plumula besser erreichen kann. Die Keimlinge hängen jetzt an ihren Wurzeln am Innenrand der Petrischale herab. Wir geben soviel Colchicinlösung in die Schale, bis die Keimspitzen und damit die Caryopsen gerade, aber die Wurzeln noch nicht bedeckt sind (Abb. 2, rechts). In diesem Falle brauchen die Pflanzen nicht mit einer Glasplatte beschwert zu werden, denn durch das Gewicht der Körner werden die Vegetationspunkte in der Lösung gehalten. Testversuche auf Konzentration der optimalen Lösung und auf Behandlungszeit geschehen auf die gleiche Weise wie für dikotyle Pflanzen.

Bei einer raschwüchsigen mandschurischen Landform von *Secale cereale* war eine 24stündige Behandlung mit einer 0,05proz. Colchicinlösung günstig.

2. Vorteile der Eintauchmethode gegenüber anderen Methoden.

Jede Sproßspitzenbehandlung hat gegenüber der Samenbehandlung den Vorteil, daß die Wurzeln nicht durch die Alkaloidwirkung in Mitleidenschaft gezogen werden, was häufig zur Letalität der Pflanzen führt. Bei unserer Methode können die Wurzeln der eingetauchten Keimlinge ungehindert weiterwachsen. Vor allen Dingen ist diese Tatsache von Bedeutung für die Polyploidisierung von Gramineen, bei der man bisher (vgl. die zusammenfassenden Arbeiten von КРЫЖЕ

und WELLENSIEK 1942, AASE 1946 und STRAUB 1950) wegen der schwer zugänglichen Plumula fast nur auf Samenbehandlung angewiesen war. Aber die Colchicinbehandlung nach der Eintauchmethode ist auch günstiger als die anderen Arten der Sproßspitzenbehandlung, wie eigene Versuche mit der Wattebauschmethode (Sproßspitzenbehandlung mit einem mit Colchicin getränkten Wattebausch, nach GYÖRFFY 1938) ergaben. Buchweizenkeimlingen wurde vor der Entfaltung der Primärblätter das Alkaloid in 0,1%iger Lösung in einem Zeitraum von 2 und 4 Tagen täglich je einmal appliziert. Die zweimal behandelten Pflanzen waren fast alle diploid. Die Pflanzen der zweiten Versuchsreihe, die viermal behandelt wurden, gingen zu 80% ein. Der Rest war zum Teil mixoploid und blühte erst 70 Tage nach der Aussaat, während die nach der Eintauchmethode behandelten Pflanzen einen Letalitätsgrad von 15% (6% bei den unbehandelten Kontrollen) aufwiesen, normales Aussehen zeigten und als meist tetraploide Pflanzen schon nach 30 Tagen blühten (Tab. 1). Die Verwendung der Eintauch-

Tabelle 1. Letalität und Blühbeginn bei diploidem Buchweizen und bei Buchweizen nach Colchicinbehandlung.

	diploide Kontrollen	Sproßspitzenbehandlung mit Colchicin	
		Wattebauschmethode	Eintauchmethode
Letalität in %	5,5	80,2	15,1
Blühbeginn nach der Aussaat (in Tagen).	26—27	67—73	30—32

methode an Stelle der Wattebauschmethode ist anzuraten, weil bei dem schnellen Wachstum des Keimlings eine relativ kurze aber nicht fraktionierte Einwirkung des Mitosehemmstoffes keine diploiden Sektoren übrig läßt, und die Letalität kleiner ist als bei einer längeren Behandlung. Außerdem wird durch das Eintauchen des gesamten Sprosses das Austreiben von diploiden Seitensprossen meist unterdrückt. Die geringe Zahl der diploiden Seitentriebe bedeutet gleichfalls einen Vorteil gegenüber der „immersion-method“ von BLAKESLEE und AVERY (1937). Diese Autoren bogen Sprosse von ausgewachsenen Pflanzen um und steckten die Sproßspitzen in mit Colchicin gefüllte

Glasröhrchen. Pflanzen, die in dieser Weise behandelt werden, bilden in ihren unbehandelten Teilen reichlich diploide Seitensprosse, deren Entfernung viel Mühe bereitet. THOMPSON und KOSAR (1938) beschrieben eine weitere Eintauchmethode. Sie ließen *Lactuca*-Samen auf Filtrierpapier keimen, bis die Wurzeln fest im Fließpapier verankert waren. Dann wurden die Sproßspitzen umgekehrt in die Colchicinlösung getaucht. Die Wurzeln mit dem Filtrierpapier, die nicht mit der Lösung in Berührung kamen, mußten während der mehrtägigen Behandlung dauernd feucht gehalten werden. Nach Beendigung der Alkaloideinwirkung erfolgte eine Nachbehandlung mit Wuchsstoff, um das Wurzelwachstum anzuregen. Nach unserer Methode wird das Wurzelwachstum der Pflanzen nicht unterbrochen.

3. Zusammenfassung.

Es wird eine Eintauchmethode zur Colchicinbehandlung der Sproßspitzen von dicotylen Keimlingen beschrieben. Sie läßt sich auch bei Gramineen anwenden. Die Vorteile der technisch einfachen Methode bestehen darin, daß bei den colchicinierten Pflanzen eine Schädigung der Wurzeln durch das Alkaloid vermieden und ein Austreiben von diploiden Seitensprossen weitgehend verhindert wird.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. J. STRAUB, danke ich für das fördernde Interesse, das er für die Ausarbeitung der Methode gezeigt hat.

Literatur.

1. AASE, H. C.: Cytology of cereals II. Bot. Rev. 12, 255 (1946).
2. BLAKESLEE, A. F. u. B. T. AVERY: Methods of inducing doubling of chromosomes in plants by treatment with colchicine. J. Heredity 28, 392 (1937).
3. GYÖRFFY, B.: Durch Kolchizinbehandlung erzeugte polyloide Pflanzen. Naturwiss. 26, 547 (1938).
4. KOSTOFF, D.: Polyploidy and its role in evolution and plant breeding. Mitt. Central agricultural research Institute of Sofia, Bulgaria (bulg. mit deutscher Zusammenfassung.) (1941).
5. KÜSTER, E.: Ergebnis und Aufgaben der Zellmorphologie. Dresden-Leipzig (1942).
6. KRYPPE, J. M. u. S. C. WELLENSIEK: Five years of colchicine research. Bibl. Genetica 14, 1 (1942).
7. SINOTO, D. u. D. SATO: Polyploidie da colchicina in *Fagopyrum*. Scientia Genetica 1, 354 (1940).
8. STRAUB, J.: Wege zur Polyploidie. 2. Aufl. Berlin 1950.
9. THOMPSON, R. u. W. F. KOSAR: Polyploidy in lettuce by colchicine. Proc. Americ. Soc. Hort. Sci. 36, 641 (1938).

BUCHBESPRECHUNGEN.

J. T. BONNER, Morphogenesis. An Essay on Development. Princeton/New Jersey, Princeton University Press 1952. 296 Seiten mit 90 Abb. 9 Taf. Preis: Gebund. (Ganzleinen) 5,— \$.

Der durch seine gründlichen Studien über den Schleimpilz *Dictyostelium discoideum* bekannt gewordene Verfasser unternimmt hier den Versuch, einige Hauptprobleme biologischer Gestaltungsvorgänge zusammenfassend darzustellen. Dabei wird auf eine erschöpfende Behandlung des vorliegenden Tatsachenmaterials ebenso verzichtet wie auf eine Berücksichtigung des Gesamtumfanges entwicklungsphysiologischer Problematik. Es kommt dem Verfasser im wesentlichen darauf an, an Hand gut ausgewählter Beispiele sowohl aus dem Pflanzen-, als auch aus dem Tierreich zu zeigen, wie sich die Vielgestaltigkeit der Entwicklungsprozesse unter wenige Hauptprinzipien unterordnen läßt. Die Auswahl der Beispiele erfolgt nicht gleichmäßig aus allen Bereichen der belebten Natur. Recht eingehend sind die niederen

Pflanzen, besonders die Algen und Myxomyceten berücksichtigt, während aus dem Tierreich eine gleichmäßigere Auswahl der Beispiele getroffen wurde. In den einzelnen Kapiteln des Buches werden folgende Fragen behandelt: Körpergröße und ihre Grenzen — Chemie und Physik bei der Entwicklung — Wachstumserscheinungen — Morphogenetische Bewegungen (Materialumlagerung im Verlauf der Ontogenese) — Polarität und Symmetrie — Differenzierungsprozesse. Man wird es erfreulich empfinden, daß der Verfasser bestrebt ist, an die behandelten Fragen von einem strengen Kausalitätsstandpunkt heranzugehen trotz unserer noch allzu dürftigen Kenntnisse über die physikalisch-chemischen Grundlagen der Entwicklungsvorgänge. Interessant, wenngleich nicht ganz unbedenklich ist der Versuch, Gesetzmäßigkeiten der Kristallisation unbelebter Stoffe in den Gesichtskreis biologischer Entwicklungsforschung zu rücken. In einem kurzen Schlußkapitel werden Ansätze für eine „Analyse der Entwicklung“ gemacht; der Verfasser will den Ent-