Natur und Ursachen der Mutationen. I. Das Verhalten und die Zytologie der Pflanzen, die aus infolge Alterns mutierten Keimen stammen

von

M. Nawaschin und Helene Gerassimowa

Timiriazew-Institut für Biologie, Moskau, Direktor Prof. B. P. TOKIN,
Laboratorium für Zytogenetik, Leiter Prof. M. NAWASCHIN

Eingegangen am 7. Juli 1935

Inhalt	Seite
I. Einleitung	324
II. Material und Methode.	327
III. Das Keimen von alten Samen und das Verhalten der Keimlinge.	328
IV. Verhalten und Zytologie von erwachsenen Pflanzen, die aus alten Samen entstanden sind	346
V. Verhalten und Zytologie der Nachkommenschaft von aus alten Samen entstandenen Pflanzen	358
VI. Zusammenfassung.	359

I. Einleitung

Die Frage nach der Natur und Herkunft der Mutationen—eine der Hauptfragen der Biologie—ist noch bis jetzt weit entfernt von einer experimentellen Lösung. Bis zuletzt wollte man in der Mutation einen Ausdruck für die innere „Fähigkeit“ des Organismus sich erblich zu verändern erblicken, wobei diese Fähigkeit völlig unabhängig von äußeren Einflüssen sein sollte. Die glänzenden Arbeiten von MULLER, BLAKESLEE, STADLER und ihrer zahlreichen Nachfolger führten jedoch zu dem einwandfreien Ergebnis, daß Mutationen in beliebiger Anzahl auf künstlichem Wege, durch Einwirkung äußerer Faktoren, vor allem kurzweiliger Strahlen, erhalten werden können. Diese Entdeckung führte zu einem schnellen Stimmungswechsel: es entstand eine Auffassung der Mutationen, nach der diese das Produkt eines spezifischen Faktors darstellen sollten. Jedoch gelang es nicht, einen solchen spezifischen Faktor, durch dessen Wirkung die Entstehung der in verschiedenen Organismen ständig auftretenden Mutationen erklärt werden könnte, in der Natur ausfindig zu machen. Die kurzweiligen Strahlen, denen man auf Grund von Laboratoriumsversuchen die Rolle von Mutationserregern zuschreiben wollte, waren in der Natur, wie sich herausstellte, in so niedrigen Konzentrationen vorhanden, daß auf ihre Wirkung nur ein verschwindender Bruchteil der zur Beobachtung gelangenden Mutationen zurückgeführt werden konnte.

Nichtsdestoweniger warten noch die meisten Genetiker auf die Entdeckung eines spezifischen äußeren Faktors, der für die Entstehung von Mutationen in der Natur verantwortlich wäre. Es werden Meinungen laut über den spezifischen Einfluß der kosmischen Strahlung, die Existenz von Mutationenherden in den Stellen der Erdoberfläche, die reich an radio-aktiven Stoffen sind, die Wirkung des Ultravioletts im Gebirge u.s.w.

Wir hielten schon seit langem diesen Standpunkt für einen recht unglücklichen und das aus folgenden Gründen: Es ist durchaus falsch, jedes spezifische Merkmal des Organismus, welches das Ergebnis der historischen, organischen Entwicklung darstellt, nur als Produkt der Wirkung von äußeren Milieueinflüssen aufzufassen. Wäre die Mutation nur das Resultat einer Beeinflussung des Vererbungsapparates durch äußere Faktoren, so bliebe sie dem Organismus fremd, so wäre es unmöglich, den Zusammenhang und die Koordination zwischen dem Mutationsprozeß und den übrigen Lebenserscheinungen zu verstehen, ja, was vielleicht noch wichtiger ist, die Entstehung im Laufe der Evolution eines Vererbungsapparates, welcher selbst zweifellos das Produkt von unzähligen Mutationen darstellt, bliebe ein unlösbares Rätsel. Von unserem Standpunkt kommen die Schwierigkeiten, auf die man stößt, wenn man die Mutationen als Produkt von nur äußeren Einflüssen deuten will, nicht nur nicht unerwartet, sondern diese konnten vielmehr vorausgesehen werden.

In unseren Arbeiten gingen wir davon aus, daß die Mutationen ein physiologischer Vorgang sind, dessen Ablauf natürlich untrennbar an das Milieu gebunden ist. Die Richtigkeit unserer Auffassung hat bereits in den vorläufigen Ergebnissen unserer Untersuchungen, sowie in den Arbeiten anderer Autoren eine Bestätigung gefunden.

Die Grundlage für unsere Arbeiten bildete folgende Überlegung: stellt die Mutation eine Besonderheit der physiologischen Prozesse in der Zelle dar, so muß es einen solchen physiologischen Zustand geben, bei dem auch ohne jede spezifische Einwirkungen von außen mehr Mutationen als gewöhnlich entstehen. Bei der Suche nach diesem Zustand lenkten wir sofort unsere Aufmerksamkeit auf die ruhenden trockenen Pflanzensamen, ein Objekt, das bis dahin wegen seiner Resistenz gegen Röntgenstrahlen als zum Mutieren besonders wenig geneigt galt. Diese Wahl wurde aus folgenden zwei Gründen getroffen:

1. Der Keim eines ruhenden trockenen Samens unterscheidet sich scharf von allen übrigen Stadien der Pflanzenentwicklung durch die tiefgehende Eigenart seines physiologischen Zustandes, und, was besonders wichtig ist, seines Vererbungsapparates: da er sich im

anabiotischen Zustand befindet, ist für ihn das Dominieren von Zerfalls über Aufbauprozesse charakteristisch, seine Zellen teilen sich gar nicht, d.h. es findet in ihnen keine Selbsterneuerung der Erbsubstanz statt im Gegensatz zu allen anderen Lebensepochen; dadurch wird der trockene Same vom Standpunkt des Genetikers in eine ganz ungewöhnliche Lage versetzt. Deshalb dürfte man erwarten, daß eine abnorme Verlängerung der Ruhezeit zu einer Abänderung des Mutationsprozesses führen würde.

2. Es waren schon seit langem Fälle bekannt, aus denen die Zunahme der Mutantenzahl bei verlängerter Aufbewahrungsdauer der Samen unmittelbar hervorging; jedoch wurden diese Fälle von den Genetikern nicht in dem Maß berücksichtigt, wie sie es verdienten. So haben wir im Laufe unserer Arbeiten mehrmals beobachtet, daß Pflanzen, die aus längere Zeit unter normalen Bedingungen aufbewahrten Samen hervorgingen, Merkmale aufwiesen, wie sie für die Nachkommen von mit Röntgenstrahlen behandelten Samen, wo also im Embryo zweifellos zahlreiche Mutationen auftraten, charakteristisch sind. In der Literatur finden wir Angaben, daß auch alte Samen von *Oenotheren* öfters sehr viele Mutanten ergeben; DE VRIES, der diese Erscheinung beobachtete, empfiehlt direkt in seinem bekannten WERK (1901) die Verwendung von alten Samen zum Erhalten der Mutationen. Er selbst jedoch und HERIBERT NILSSON (1931), welcher diese Frage neuerdings wieder behandelt hat, geben dafür eine völlig falsche Erklärung: sie meinen, daß die Erhöhung der Mutationsrate unter den aus alten Samen hervorgegangenen Pflanzen nicht dadurch zustande kommt, daß in den Zellen des ruhenden Keimes Mutationen auftreten, sondern auf dem Aussterben der nicht mutierten Individuen beruhe, wodurch die anfangs seltenen Mutanten eine relative Majorität erlangen.

Wir haben bereits früher in verschiedenen Arbeiten (NAWASCHIN, 1933 a, b, c) Tatsachen mitgeteilt, die unseren Standpunkt völlig bestätigen. Gleich die ersten Untersuchungen an Pflanzen, welche aus unter gewöhnlichen Bedingungen lange Zeit aufbewahrten Samen hervorgegangen waren, zeigten, daß die Anzahl der Chromosomenmutanten kolossal gestiegen war. So finden wir zum Beispiel in Pflanzen von *Crepis tectorum*, wenn sie aus frischen Samen entstehen, nur 0,1 % struktureller Chromosomenmutationen (Translokationen u.s.w.), sind aber die Samen 7 Jahre alt, so kann die Kultur bis zu 80 % solcher Mutationen enthalten. Die Mutationsrate kann also allein dadurch, daß wir die Ruhezeit des Keims verlängern, auf das 800fache gesteigert werden!

Durch diese wichtige Beobachtung war sofort bewiesen, daß es in der lebenden Zelle unter gewissen Bedingungen (hier bei lang-

dauernder Anabiose) auch ohne „spezifische“ Einflüsse von außen tatsächlich zu einer intensiven Mutationstätigkeit kommt.

Die große theoretische und praktische Bedeutung dieser Befunde veranlaßte uns zum weiteren Ausbau unserer Untersuchungen. Vor allem mußten noch andere Formen herangezogen werden; wenn man auch annehmen durfte, daß sich diese Erscheinungen nicht nur auf eine Pflanzenform beschränken werden, so war doch von vorn herein zu erwarten, daß bei verschiedenen Arten auch der Ablauf des Mutationsprozesses ein verschiedener sein würde. Weiter mußte der Zusammenhang zwischen dem Prozentsatz der Mutanten und dem Alter der Samen einerseits, sowie zwischen letzterem und der Keimungs- und Lebensfähigkeit der Keimlinge andererseits genauer bestimmt werden. Als dritte wichtige Aufgabe stand uns bevor, den Zeitpunkt, in dem die mutative Veränderung auftritt, sowie die Verteilung der mutierten Zellen und Gewebe im Pflanzenkörper festzustellen. Die vierte Frage bezog sich auf die Natur der Veränderungen des Karyotyps. Schließlich entstand noch die fünfte Frage nach dem Grad und Charakter der Vererbung von Mutationen, welche mit dem Altern der Zelle auftreten.

Alle diese Fragen sollen in der vorliegenden Arbeit zur Erörterung kommen. Eine tiefere Analyse des hier mitgeteilten Tatsachenmaterials wird in der nächsten Arbeit gegeben.

Die Verfasser möchten auch an dieser Stelle zahlreichen Persönlichkeiten und Instituten, die ihnen bei ihrer Arbeit durch Zusendung von verschieden lange aufbewahrten Samen geholfen haben, ihren herzlichsten Dank zum Ausdruck bringen. Vor allem gebührt unser Dank den Mitarbeiter des Instituts für Metrologie (Labor. für Maßenmessungen) in Leningrad, Prof. A. N. DOBROCHOTOW und Dr. N. A. ČISTOWIČ, die uns einen Raum mit konstanter Temperatur im Erdgeschoß dieses Instituts zur Verfügung stellten und dort systematische Bestimmungen der Temperatur, der Feuchtigkeit, des Luftdruckes und der Luftionisation vornahmen.

Die vorliegende Arbeit ist von Dr. A. M. LUNTZ ins Deutsche übertragen worden; die Verfasser sprechen ihm ihren besten Dank aus. Die Arbeit ist im Timirjaseff-Institut für Biologie in Moskau am 3. Februar 1934, sowie im Genetischen und im Botanischen Institut der Akademie der Wissenschaften der U.S.S.R. in Leningrad (Februar 1934) vorgetragen worden.

II. Material und Methode

Als Material dienten uns verschiedene *Crepis*-Arten, nämlich, *Cr. capillaris* (L.) Wall, *Cr. tectorum* L., *Cr. dioscoridis* L., und Roggen (*Secale cereale* L.). Untersucht wurden sowohl junge Keim-

linge als auch erwachsene Pflanzen aus Samen von verschiedenem Alter und verschiedener Herkunft. Die zytologische Methode war die übliche: fixiert wurde mit dem Gemisch von S. NAWASCHIN (1% Chromsäure–10 ccm, 40% käuflichen Formalin–4 ccm, Eisessig–1 ccm), gefärbt mit Gentiana violett nach GRAM–NEWTON (junge Keimlinge) oder Eisen-Haematoxylin nach HEIDENHAIN (erwachsene Pflanzen).

Die Untersuchung zerfällt naturgemäß in 3 Phasen:

1. Die Untersuchung von jungen Keimlingen;
2. Die Untersuchung von erwachsenen Pflanzen;
3. Die Untersuchung der Nachkommenschaft von Pflanzen, die aus alten Samen entstanden waren, und als Material für die ersten Beobachtungen, aus denen die Erhöhung der Mutationsrate beim Altern der Samen hervorging, gedient hatten.

Für die Untersuchung der jungen Keimlinge wurden die Samen auf feuchtem Fließpapier in PETRI-Schalen zum Auskeimen gebracht und die Embryonen sofort nach der Keimung fixiert (beim Roggen wurden sie zuerst noch vom Endosperm abgetrennt). Die Pflanzen wurden in der üblichen Weise kultiviert; die jungen Sämlinge kamen zuerst in Kästen und dann in Töpfe. Wurzeln zum Fixieren wurden 2–3 Monate alten Pflanzen entnommen. In der Blütezeit wurden auch Blumenknospen verwendet.

Die blühenden Pflanzen wurden nicht isoliert und die Samen durch freie Bestäubung erhalten; der Grund dafür bestand in der Befürchtung irgendwelche Mutationen zu verlieren, da bei den Pflanzen öfters Selbststerilität vorkommt.

III. Das Keimen von alten Samen und das Verhalten der Keimlinge

Die Bedeutung des Samenalters für die Keimung und das weitere Schicksal der sich entwickelnden Pflanzen erwies sich bei allen unseren Objekten in den Hauptzügen als eine so gleichartige, daß keine Notwendigkeit besteht, das Verhalten dieser Objekte getrennt zu erörtern. Außerdem wurde das Bild manchmal dadurch stark verdunkelt, daß innerhalb einer Art Unterschiede auftraten, welche wohl auf Rasseeigentümlichkeiten und den Aufbewahrungsbedingungen der Samen beruhten und die Feststellung von spezifischen Artmerkmalen im Verhalten unserer Objekte nicht zuließen.

In Tabelle 1 finden wir einige Angaben über die Keimfähigkeit von Samen verschiedenen Alters und verschiedener Herkunft für drei *Crepis*-Arten. Wir ersehen daraus, daß der Prozentsatz der keimfähigen Samen mit zunehmendem Alter sinkt; aber innerhalb der gleichen Altersgruppen treten sehr starke Schwankungen auf. So ergeben 8-jährige (Ernte von 1925) Samen von *Crepis tectorum*

Tabelle 1. Keimfähigkeit von Samen verschiedenen Alters und Herkunft bei drei *Crepis*-Arten (Aussaat in Erde).

Art	Nr. der Kultur	Alter der Samen (Ernte-jahr)	Herkunftsort	Aufbewahrungsort	Zahl der ausgesäten Samen	Zahl der Keimlinge	% der Keimfähigkeit
<i>Cr. tectorum</i>	33.501	1925	Kopenhagen	Moskau	2.000	24	1.2
" "	33.539	1925	Kopenhagen	Moskau	10.000	148	1.5
" "	33.540	1925	Sibirien-Biisk	Moskau	500	0	0.0
" "	33.541	1926	Kopenhagen	Moskau	10.000	38	0.4
" "	33.502	1927	Kopenhagen	Moskau	500	31	6.2
" "	33.556	1927	Kalifornien	Kalifornien	2.000	65	3.2
" "	33.557	1927	Berkeley	dto.	200	6	3.0
" "	33.558	1927	dto.	dto.	1.576	120	7.6
" "	33.559	1927	dto.	dto.	1.720	196	11.4
" "	33.560*	1927	Moskau	Moskau	419	42	10.0
" "	33.561*	1927	Moskau	Moskau	335	59	17.6
" "	33.562*	1927	Moskau	Moskau	558	126	22.6
" "	33.569	1928	Saratow	Moskau	390	3	0.8
" "	33.573	1928	Orlewsk	Moskau	1.000	28	2.8
" "	33.575	1928	Gorky	Moskau	377	55	13.3
" "	33.577	1928	Woronesh	Moskau	1.000	38	3.8
" "	33.581	1929	Orlowsk	Moskau	500	3	0.6
" "	33.582	1929	Gorky	Moskau	500	202	40.4
" "	33.583	1929	Poltawa	Moskau	500	21	4.2
" "	33.584	1929	Oslo	Moskau	500	59	11.8
" "	33.514	1930	Unbekannt	Moskau	200	165	82.5
<i>Cr. capillaris</i>	33.628	1921	Kaliforn.	Kaliforn.	500	21	4.2
" "	33.627	1925	Berkeley	Berkeley	500	119	23.8
<i>Cr. dioscoridis</i>	33.592	1925	Kopenhagen	Moskau	522	2	0.4
" "	33.600	1926	Marburg	Moskau	738	2	0.3
" "	33.605	1926	Leningrad	Moskau	553	42	7.8
" "	33.607	1926	Unbekannt	Moskau	560	30	6.5
" "	33.608	1926	Kopenhagen	Moskau	600	7	1.2
" "	33.609	1926	Kopenhagen	Moskau	600	27	4.5
" "	33.590	1927	Kopenhagen	Moskau	400	21	5.3
" "	33.599	1930	Paris	Moskau	100	79	79.0
" "	33.601	1930	Lissabon	Moskau	100	81	81.0
" "	33.606	1930	Leningrad	Moskau	100	54	54.0

* Diese Samenportionen von *Cr. tectorum* entstammen von triploiden Pflanzen.

nur 0,0 bis 0,15% Keimlinge, 7-jährige (1926) 0,4%, 6-jährige (1927) 3,0–22,6%, 5-jährige (1928) 0,8–13,3%, 4-jährige (1929) 0,6–40,4%, 3-jährige (1930) 82,5%.

12-jährige Samen von *Cr. capillaris* (1921) ergaben 4,2% Keimlinge, 8-jährige-23,8%.

Aus diesen Zahlen läßt sich nur der ganz allgemeine Schluß ziehen, daß zwischen der Lebensfähigkeit der Embryonen in den Samen und dem Alter der letzteren ein Zusammenhang besteht. Bei *Cr. tectorum* und *Cr. dioscoridis* finden wir einen sehr raschen Abfall der Keimfähigkeit vom 4 Jahre ab, bei *Cr. capillaris* setzt diese Erscheinung erst merklich später ein. Während im Moskauer Klima 8 Jahre die Grenze für die Lebensfähigkeit der Samen der ersten beiden Arten bilden, bleibt bei *Cr. capillaris* fast einem Viertel der Embryonen die Lebensfähigkeit nach dieser Zeit erhalten. Die

genauere Bestimmung der Bedeutung des Samenalters für die Lebensfähigkeit der Keime bedarf noch spezieller Untersuchungen an genetisch einheitlichem Material, welches unter völlig gleichen und konstanten Bedingungen reifte und gehalten wurde. Davon soll in der nächsten Mitteilung noch die Rede sein.

Die angeführten Zahlen beziehen sich auf Keime, die in Erde

gepflanzt wurden; wenn die Keimfähigkeit in der üblichen Weise, d.h. durch Aussaat in PETRI-Schalen, festgestellt wird, so erhält man in der Regel höhere Werte. So ergaben dieselben Samen von *Cr. capillaris*, für welche in Tab. 1 der Wert von 23,8 % angeführt wird, in PETRI-Schalen 28,3 %; 7-jährige Samen von *Cr. dioscoridis* ergaben 30 % statt 7,8 %, 6-jährige 80 % statt 5,3 % u.s.w. Dieser manchmal erstaunliche Unterschied findet seine Erklärung im Absterben der Keimlinge in den allerersten Stadien ihrer Entwicklung.

Fig. 1. *Crepis capillaris* (L) Wall. Junge Keimlinge aus 9-jährigen Samen mit Entwicklungsanomalien, absterbendem Meristem der Wurzelspitze u.s.w. Die Mehrzahl solcher Keimlinge ist zur weiteren Entwicklung nicht mehr befähigt und stirbt ab auf dem Stadium der Kotyledonen. Photogr. vergrößert.

Auf dieses Absterben der jungen Keimlinge werden wir an einer anderen Stelle noch näher eingehen.

Fig. 2. *Crepis capillaris* (L) Wall. Überlebende Keimlinge aus 9-jährigen Samen mit weiteren Anomalien: a) Absterben der Wurzel, Krüppelhafte Blattanlagen u.s.w.; charakteristische Krümmung der Wurzel nach oben; b) ähnliche Erscheinungen bei weiter entwickelten Keimlingen. Photogr.

Fig. 1 (s. auch Fig. 6), auf der sehr junge Keimlinge aus 9-jährigen Samen von *Cr. capillaris* dargestellt sind, gibt uns eine Vorstellung von dem Verhalten solcher Keimlinge, die bereits in sehr hohem Grade der Wirkung des Alterns ausgesetzt worden waren. In der Regel pflügen Keimlinge, die diesen Zustand erreicht haben, nicht weiter entwicklungsfähig zu sein, trotzdem sie noch längere Zeit nach dem Auskeimen am Leben bleiben können. Die Kotyledonen verhalten sich, wenn man von einigen, durch das abnorme Heraus-

treten aus den Fruchthüllen bedingten Deformationen absieht, mehr oder weniger normal; sie wachsen, grünen und sehen öfters wie völlig gesunde aus. Die Unfähigkeit zur weiteren Entwicklung ist, wie man aus der Photographie ohne weiteres ersieht, durch den Zustand des häufig absterbenden Meristems bedingt. Aber selbst diese Keimlinge verlieren nicht sofort ihre Lebensfähigkeit: pflanzt man sie in die Erde, so werden ihre Kotyledonen stark vergrößert, entfalten sich normal und sehen auch in der ersten Zeit völlig normal aus. Im weiteren Verlauf aber kommen bald tiefgreifende Abnormi-

Fig. 3. *Crepis capillaris* (L.) Wall. Weitere Erscheinungen bei der Entwicklung von Keimlingen aus 9-jährigen Samen. Regeneration der Wurzeln, abnorme Blätterentwicklung, fehlender Vegetationspunkt u.s.w. a) Oben — Entstehung von Adventivwurzeln aus den Kotyledonewinkeln; unten — verschiedene Fälle der Bildung von Seitenwurzeln durch die

Hauptwurzel, deren Spitze abgestorben ist. b) Weitere Fälle; man beachte den dritten Keimling der oberen Reihe, der zwar Blätter bilden, aber keine Wurzeln erzeugen kann. Photogr.

täten zum Vorschein; entweder es entstehen überhaupt keine Blätter und die Keimlinge verbleiben auf dem Kotyledonenstadium, oder aber sind die Blätter krüppelhaft und sehr klein. Ein solcher Keimling bildet fast niemals Wurzeln, selbst wenn eine Entwicklung der Blätter einsetzt; er geht unabwendbar zu Grunde, wenn sich nur

Fig. 4. *Crepis capillaris* (L.) Wall. Weitere Entwicklung von jungen Pflanzen aus 9-jährigen Samen. Man beachte die Anomalien der Blätter: Spaltung, Asymmetrie, Bildung von Adventivwurzeln u.s.w. Photogr.

kleine Seitenwurzel anstelle der abgestorbenen Hauptwurzel bildet (Fig. 2, 3). Besonders hervorgehoben werden muß der Umstand, daß in der Wurzelspitze die Veränderungen häufig stärker in Erscheinung treten, als im Vegetationskegel; das führt dazu, daß Keimlinge, die die Fähigkeit ein Wurzelsystem zu bilden völlig verloren haben und dem Untergang geweiht sind, nicht selten Blattanlagen erzeugen. Auf Fig. 7 sehen wir keimende alte Roggensamen photographiert (unten); hier ist die Hemmung der Wurzelentwicklung und die Verkrüppelung der Plumulae sehr deutlich zu sehen, was durch den Vergleich mit einem gleichalterigen, aber aus einem frischen Samen hervorgegangenen Keimling (oben) noch besonders hervorgehoben wird.

Dieses Verhalten, das in den Hauptzügen bei den verschiedensten Pflanzen das gleiche bleibt, stellt einen Fall von extremer Anomalie dar, welche Samen kennzeichnet, die

sich an der Grenze ihrer Lebensfähigkeit befinden (in Moskau tritt dieser Zustand für Samen von *Cr. tectorum* nach 8-9, für Roggen

häufig schon nach 2–3 Jahren ein). Je frischer die Samen sind, um so schwächer treten an ihren Keimlingen die Anomalien in Erscheinung und um so größer ist die Zahl der Keimlinge, die sich weiter entwickeln können. Ist erst der kritische Zeitpunkt—Anlage der Seitenwurzeln und der Blätter—überstanden, so bleiben die jungen Pflanzen meist auch weiter am Leben; dies bedeutet aber keineswegs, daß ihre weitere Entwicklung nun stets normal verläuft.

Von Bedeutung ist dabei, daß Keimlinge aus scheinbar völlig identischen Samen ein gänzlich verschiedenes Verhalten aufweisen; häufig kommt es vor, daß während viele, oder sogar die meisten jungen Pflanzen auf dem Kotyledonen-Stadium eingehen, vereinzelte Exemplare die Fähigkeit besitzen, sich relativ normal zu entwickeln, wobei auch Übergänge zwischen den beiden Extremen auftreten (Fig. 5). Das

Fig. 5. *Crepis capillaris* (L.) Wall. Habitus von verschiedenen Keimlingen aus 9-jährigen Samen; die Kultur variiert von normaler Entwicklung (oben) bis zu jungen Pflanzen, die auf dem Kotyledonenstadium absterben. Photogr. verkleinert.

Fig. 6. *Crepis rubra* L. Auskeimen von 7-jährigen Samen. a) Abnormes Austreten der Keimlinge; b) dieselben Keimlinge, von den Samenhüllen befreit; man sieht die absterbenden Wurzelspitzen und die Entwicklungsanomalien. Photogr. vergrößert.

Fig. 7. Winterroggen, Sorte „Avantgarde“ (*Secale cereale* L.). Unten — Keimlinge aus 2 1/2-jährigen Samen, die fast keine Wurzeln bilden und Abnormitäten der Plumula-Entwicklung aufweisen; oben — Keimling aus einem gleichzeitig gesäten Samen der vorjährigen Ernte. Photogr.

erinnert stark an die Erscheinungen, die wir in Kulturen aus intensiv mit RÖNTGENSTRahlen behandelten Samen beobachten, wo nämlich neben einer Mehrzahl von jungen Pflanzen, die auf frühen Entwicklungsstadien zugrunde gehen, fast immer auch solche auftreten, die völlig gesund sind und sich energisch entwickeln, als ob sie unter der Wirkung der RÖNTGENstrahlen überhaupt nicht zu leiden gehabt hätten. Diese Erscheinung soll in einer späteren Arbeit erörtert werden.

Die bei jungen Pflanzen auftretenden Anomalien beschränken sich nicht nur auf die Entwicklungsgeschwindigkeit, sondern äußern sich auch in Abweichungen der Organisation, vor allem der Blattstruktur. Auf Fig. 3 und 4 sehen wir Photographien von jungen *Cr. capillaris*, die aus 9-jährigen Samen hervorgegangen sind. Wir finden bei ihnen Blatt-Asymmetrien und Verdoppelungen, überzählige Blätter u.s.w. Erscheinungen, die bei aus frischen Samen entstandenen

Pflanzen kaum jemals vorkommen.

Genau ebenso sehen Pflanzen aus, die aus intensiv mit RÖNTGENstrahlen behandelten oder längere Zeit erwärmten Samen gezogen wurden (NAWASCHIN und SCHKWARNIKOW, 1933). Das allgemeine Aussehen der Kulturen aus alten Samen bei zwei *Crepis*-Arten finden wir auf Fig. 8 und 9. Hier sehen wir deutlich sowohl das Absterben eines Teils der jungen Pflanzen, als auch ihre uneinheitliche Entwicklung. Im Laufe der weiteren Entwicklung gehen bei einem Teil der Pflanzen die Anomalien zurück, dank dem energischen Wachstum der normalen Teile; bei den anderen Pflanzen bleiben aber die Anomalien bis zum Lebensende erhalten und diese entwickeln auch weiter abnorme Blätter u.s.w. Auf Fig. 10 ist eine solche Pflanze von *Cr. capillaris* dargestellt.

Fig. 8. *Crepis capillaris* (L) Wall. Kultur aus 8-jährigen Samen. Oben—25 Tage alte Pflanzen, die bereits merkliche Unterschiede in der Entwicklung und den Beginn des Absterbens aufweisen; unten—dieselbe Kultur nach weiteren 26 Tagen. Ein bedeutender Teil der Pflanzen ist zu Grunde gegangen, viele sind kaum gewachsen, während ein Teil sich stark entwickelt hat. Photogr., verkleinert.

Fig. 9. *Crepis tectorum* L. Oben—25 Tage alte Kultur aus 8-jährigen Samen; unten—dieselbe Kultur nach weiteren 26 Tagen, starkes Absterben und überaus uneinheitliche Entwicklung. Photogr., verkleinert.

Solche Erscheinungen sind, wie gesagt, sehr selten bei Pflanzen, die aus frischen Samen hervorwachsen; meist fehlen sie dort überhaupt. Beim Ausführen der vorliegenden Arbeit haben wir in weitestem Maß Kulturen aus alten Samen mit Kulturen auf frischen, gleichzeitig gesäten Samen derselben Arten und Rassen verglichen. Fig. 11 zeigt den allgemeinen Habitus aller Kulturen (1933); mit größter Deutlichkeit tritt hier die Differenz in der Entwicklung aus alten und frischen Samen zu Tage; auch die abnehmende Lebensfähigkeit und Wachstumsenergie der Pflanzen mit zunehmendem Alter der Samen, aus denen diese hervorgegangen sind, ist gut zu sehen. Betrachtet man die zarten, schwachen und unregelmäßig entwickelten jungen Pflanzen auf der unteren Bildhälfte, so kann man nur mit Mühe daran glauben, daß sie aus Samen derselben Rassen und Arten entstanden sind, wie die üppig wachsenden Pflanzen auf der oberen Bildhälfte, die bereits so stark gewachsen sind, daß man die sie enthaltenden Kästen nicht mehr sehen kann. Der ganze

Unterschied besteht aber nur darin, daß die einen aus alten, die anderen dagegen aus frischen Samen entstanden sind.

Was ist nun der Grund für diese Unterschiede im Verhalten der aus alten Samen gezogenen Pflanzen? Wie wir das bereits beschrieben haben (NAWASCHIN, 1933 a, b, c) beruhen sie auf tiefgreifenden Veränderungen im Chromosomenapparat, die in den Meristemzellen der Keime bei deren Altern auftreten. Wir wollen nur zur näheren Betrachtung dieser Veränderungen übergehen.

Auf Fig. 12 sehen wir die Mikrophotographie eines Querschnittes durch die primäre Wurzel eines sehr jungen Keimlings von *Cr. tectorum*, der aus 8-jährigen Samen entstanden ist. Das sofort auffallende Hauptmerkmal dieser Wurzel besteht in den Chromatinkügelchen von verschiedener Größe, die im Protoplasma zerstreut liegen (sie dürfen nicht mit den dunkel gefärbten, in den Kernen liegenden Nukleolen verwechselt werden). Solche Kügelchen, die fast niemals im Meristem von Keimlingen aus frischen Samen an-

Fig. 10. *Crepis capillaris* (L) Wall. 1 Monat alte Pflanzen aus 9-jährigen Samen. Anomalien und Unterschiede in der Entwicklungsgeschwindigkeit. Photogr., verkleinert.

zutreffen sind, bilden ein höchst charakteristisches Merkmal derjenigen Keimlinge, die aus alten Samen entstanden sind; manchmal sind die Gewebe geradezu vollgepfropft mit ihnen.

Fig. 11 A

Fig. 11 B

Fig. 11. Verschiedene Arten von *Crepis*. Allgemeiner Habitus von Kulturen aus alten Samen (unten) und von gleichalterigen Kulturen aus frischen Samen derselben Arten und Rassen (oben). Die spärlichen, schwachen und ungleichmäßig entwickelten Pflanzen aus alten Samen unterscheiden sich auffallend von den dichten, starken und einheitlichen Pflanzen aus frischen Samen. Die Kästen mit Kulturen aus den ältesten Samen (8-12 Jahre) stehen dem Beobachter am nächsten; die am weitesten entfernten enthalten Kulturen aus den frischesten Samen (4-5 Jahre). Auffallend ist der enge Zusammenhang zwischen dem Charakter der Entwicklung der Pflanzen und dem Alter der Samen, aus denen sie entstanden sind. Photogr., verkleinert.

Die Herkunft dieser Kügelchen geht ohne weiteres aus den weiteren Abbildungen (13–18) hervor; sie sind zweifellos Chromosomenfragmente, die bei der Teilung nicht in die Tochterkerne übernommen wurden und im Plasma degenerieren, wie das stets an Material zu beobachten ist, welches mit RÖNTGENstrahlen, Chroralhydrat u.s.w. behandelt wurde. Ganz ähnliche Bilder bringt schon die Arbeit von SAKAMURA (1916; Fig. 4). Unsere Abbildungen zeigen verschiedene Stadien und Formen des Chromosomzerfalls bei *Cr. capillaris* und *Secale cereale*. Auf Fig. 13a sehen wir den Zerfall eines A-Chromosoms in drei Fragmente während der Metaphase in einer Wurzel eines *capillaris*-Keimlings; einen ähnlichen, mit einer Translokation verbundenen Fall sehen wir auf 13b; 13c–e zeigen andere Fälle von Fragmentation und Translokation; auf 13f–i sehen wir das Herausstossen der Fragmente in der Ana- und Telophase, sowie die Verschmelzung der Chromosomen, durch welche ihre normale Teilung gehemmt wird. Fig. 13k und 13l stellen ruhende Zellen dar, in deren Plasma Fragmente von der uns bereits bekannten kugelförmigen Gestalt, oder sogar in Form von kleinen Nebenkernen liegen. Manchmal sind solche Mikrokerne in der Lage, in die Prophase der nächsten Teilung einzutreten (Fig. 13m). Aus Fig. 14 ersehen wir, daß auch in den Wurzeln von Roggenkeimlingen identische Vorgänge sich abspielen.

Fig. 12. *Crepis tectorum* L. Oben—Querschnitt durch die Wurzel eines sehr jungen (1–2 Tage) Keimlings aus 6-jährigen Samen (schwach vergröß.); unten—rechter oberer Bezirk desselben Schnittes bei stärker Vergrößerung. Man beachte die extranuclearen, intensiv gefärbten (Gentiana-Violett) kleinen Kugeln, die in den Wurzelzellen zerstreut liegen. Mikrophotogr.

Fig. 13. *Crepis capillaris* (L) Wall. Bilder aus dem Wurzelmeristem von sehr jungen (1-2-tägigen) Keimlingen aus 8-jährigen Samen. a) Metaphase einer Teilung mit im Plasma liegenden Fragmenten, in die eines der A-Chromosomen zerfallen ist (normale Garnitur, s. Fig. 23a). b) und c) Ähnliche Erscheinungen mit Translokation. d) und e) Andere Fälle von Fragmentierung und Translokation. f) und g) Telophasen mit Fragmenten, die in den vorangehenden Stadien abgetrennt wurden und mit einer „Chromatinbrücke“, die durch Verschmelzung von zwei Chromosomen entstanden ist. h) Beispiel einer extremen Veränderung des Chromosomenapparates in der Telophase. i) und j) Telophasen mit „Chromatinbrücke“ und kleinen Fragmenten, die in der Äquatorialebene der Teilungsfigur aufgehalten wurden. k) Ruhende Zelle mit Chromatinkugeln, die in der vorangehenden Teilung ausgestossene und in Plasma degenerierende Chromosomenfragmente darstellen. l) und m) Accessorische Kerne, die aus sehr großen, in der vorangehenden Teilung ausgestossenen und selbst zur Teilung befähigten Bestandteilen des Chromosomenapparates entstanden sind.

Derartige Erscheinungen beobachten wir nicht nur in Wurzeln, sondern auch in oberirdischen Teilen von Keimlingen, die aus alten Samen gezogen werden. Deutliche Belege dafür finden wir auf

Fig. 14. Roggen (*Secale cereale* L.), Sorte „Avanguard“ Bilder aus den Wurzeln sehr junger Keimlinge (aus 2 1/2-jährigen Samen): vergl. analoge Erscheinungen bei *Crepis* Fig. 13 und 15. a) Telophase mit zurückbleibenden Fragmenten. b) Telophase mit ausgestossenen Fragmenten und einer „Chromatinbrücke“, die durch Verschmelzung der Chromosomen entstanden ist. c) Telophase mit ausgestoßenem sehr großem Fragment. d) Soeben geteilte Schwesterzellen, mit einander entgegenverlaufenden Kernfortsätze, die aus einer durch Chromosomenverschmelzung gebildeten „Chromatinbrücke“ entstanden (vergl. b und c). e) und f) Ruhende Zellen mit Chromatinkügelchen und accessorischen Kernen.

Fig. 15, 16, 17, wo der Vegetationskegel und die Blätter solcher Keimlinge von *Cr. capillaris* und *S. cereale* dargestellt sind. Von besonderer Bedeutung ist der Umstand, daß wir die gleichen zytologischen Bilder in allen Geweben, inclusive subepidermale Schicht und Vegetationspunkt, finden (Fig. 15a).

Obwohl, wie soeben ausgeführt wurde, diese Erscheinungen ausnahmslos in allen Teilen des Meristems, vom Dermatogen an und bis zu den zentralen Pleromzellen der Wurzel, auftreten und in allen Zellen der oberirdischen Teile der Keimlinge verstreut sind, so sehen wir doch, daß nicht alle Teile der Keimlinge von diesen

Fig. 15. *Crepis capillaris* (L.) Wall. Bilder aus oberirdischen Teilen der Keimlinge zur Zeit der Anlage der Blätter. a) b) d) e) und f) aus 8-jährigen c) g) und h) aus 12-jährigen Samen. a) Teil des Vegetationskegels, in dessen Zellen, die durch Ausstoßen der Fragmente in der vorangehenden Teilung entstandenen Chromatinkugeln liegen; neben anderen Geweben findet man sie auch in der subepidermalen Schicht. b) und c) Fragmentation und Chromosomenverschmelzung in den Zellen des Vegetationskegels. d) e) und f) Ruhende Zellen aus dem Vegetationskegel mit Kugeln und accessorischen Kernen. g) und h) Ähnliche Bilder aus den Blattanlagen.

Fig. 16. Roggen (*Secale cereale* L), Sorte „Avandgarde“. Stengel und Vegetationskegel von Keimlingen aus 2 1/2-jährigen Samen; man sieht das gleiche Bild, wie auf den vorangegangenen Abbildungen. a) Zelle aus dem Stengel des Keimlings in der Metaphase; großes ins Plasma ausgestoßenes Chromosomenfragment. b) und c) Anaphase und Telo- phase mit Fragmenten aus dem Vegetationskegel.

Veränderungen gleich häufig betroffen werden: es fällt auf, daß im Vegetationskegel Chromosomenanomalien in der Regel viel seltener auftreten, als in der Wurzel.

Die beschriebenen Abnormitäten werden jedoch—und das ist sehr wichtig,—nur in den Zellen von ganz jungen Keimlingen beobachtet; in der Regel finden wir sie nur in solchem Material, das in den allerersten Entwicklungsstadien fixiert wurde. Für

die Wurzeln entspricht das dem Zeitpunkt, wo sie zuerst aus dem Samen erscheinen, für die oberirdischen Organe—dem Beginn der Teilung in den Meristemzellen. Die Untersuchung von späteren Stadien, z.B. von Wurzeln, die bereits eine ansehnliche Länge erlangt haben, zeigt uns dagegen niemals, oder doch fast niemals, solche Chromo-

Fig. 17. Die gleichen Erscheinungen in Blättern von jungen Roggenkeimlingen („Avangarde“) aus 2 1/2-jährigen Samen. a) b) und c) Fragmente und Brücken in Telophasen. d) und e) Besonders große aus der Teilungsfigur herausgestoßene Fragment. f) Zelle mit 2 Kernen, die durch eine Störung des Chromosomenapparates in der vorangehenden Teilung entstanden sind.

somenfragmente. Zweifellos liegt der Grund dafür darin, daß die ins Protoplasma gelangenden Fragmente nicht in alle Tochterzellen kommen, und daß sie außerdem bald resorbiert werden; hauptsächlich aber darin, daß sie nur bei den allerersten Keimteilungen entstehen, und dann nicht mehr; am ehesten erscheinen sie alle in den (oder sogar der) ersten Teilungen des aus dem Ruhezustand erwachten Meristems und treten manchmal in großen Mengen auf, wogegen die später aus den Initialen hervorgehenden Generationen von Meristemzellen keine Fragmente mehr enthalten.

Das Herauswerfen von Chromosomenfragmenten ins Plasma führt zum Untergang größerer oder kleinerer Teile der Erbsubstanz; es leuchtet ein, daß viele Zellen, die einen wesentlichen Teil

ihres Genotyps eingebüßt haben, darunter zu leiden bekommen oder sogar absterben können. Das bildet zweifellos den Hauptgrund für

Fig. 18. Ähnliche Erscheinungen in den Blättern von Roggenkeimlingen („Avangarde“) aus 21/2-jährigen Samen. Mikrophotogr.

die beschriebenen Störungen in der Entwicklung von aus alten Samen hervorgegangenen Keimlingen. Das Absterben einzelner Zellen oder sogar ganzer Bezirke des Meristems gehört tatsächlich zu den keineswegs seltenen Erscheinungen; auf Fig. 19 sehen wir einige Beispiele dafür am Roggen. In den schwersten Fällen endet dieser Vorgang mit dem Untergang des gesamten Meristems, wie das bereits oben auf zahlreichen Abbildungen gesehen haben.

Weshalb der Tod eines ruhenden Keimes, d.h. der Verlust der Keimfähigkeit, eintritt, kann auf Grund dieser Tatsachen natürlich

noch nicht bestimmt werden; es ist durchaus möglich, daß er auch durch Veränderungen herbeigeführt wird, die in keiner direkten Verbindung mit den beschriebenen Umwandlungen des Chromosomenapparates stehen.

Hierbei fällt besonders auf, daß die Gewebe der Kotyledonen überaus widerstandsfähig sind und viel länger als das Meristem ihre normalen Funktionen behalten. Das gleiche sehen wir bei der Behandlung der Keime mit RÖNTGENstrahlen; die Kotyledonen behalten ihre normalen Eigenschaften selbst wenn mit solchen Dosen bestrahlt wird, die das Meristem völlig zerstören. Somit äußert sich der Einfluß des Alterns in erster Linie in der embryonalen Geweben, wie das auch für RÖNTGENstrahlen der Fall ist.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß bei weitem nicht alle Keimlinge aus einundderselben Samenportion die beschriebenen Chromosomenabnormalitäten in gleichem Grade aufweisen. Vielmehr unterscheiden sich die einzelnen Exemplare in der Regel sehr stark voneinander hinsichtlich der in ihren Meristemzellen auftretenden Chromosomenabnormalitäten. Das stimmt völlig mit den Unterschieden überein, die in der Entwicklung der Keimlinge auftreten und

dazu führen, daß wir bei letzteren alle Übergänge von den auf dem Kotyledonenstadium absterbenden und bis zu gut entwickelten jungen Pflanzen finden.

Was nun das Verhältnis zwischen dem Grad der Chromosomenabnormitäten und dem Alter der Samen betrifft, so konnte eine genauere Bestimmung desselben wegen der großen Variabilität der Erscheinungen vorläufig nicht ausgeführt werden. Außerdem kann die kurze Dauer der Phase, in der Chromosomenfragmente u.s.w. auftreten, schon bei der geringsten Verspätung der Fixierung leicht

Fig. 19. Roggen („Avanguard“) Keimlinge aus 21/2-jährigen Samen. Mikrophotogr. a) Allgemeiner Habitus eines Keimlings mit absterbenden Wurzeln und Blättern. b) Absterben kleiner Teile der Wurzel, bedingt durch die beim Altern entstehenden Veränderungen. c) Dasselbe weiter fortgeschritten. d) und e) Dasselbe in den ersten Blättern.

zu Irrtümern führen. Wie wir weiter sehen werden, sind für die Lösung dieser Frage erwachsene Pflanzen viel eher geeignet. Wir wollen nun zur Beschreibung dieser letzteren übergehen.

IV. Verhalten und Zytologie von erwachsenen Pflanzen, die aus alten Samen entstanden sind

Nach der Periode der Hemmung, die durch die beschriebenen Störungen des Chromosomenapparates bedingt ist und bei verschiedenen Pflanzen und Samenportionen verschieden lange dauert, fängt ein 'größerer' oder 'kleinerer' Teil der jungen Pflanzen an, sich mit zunehmender Geschwindigkeit zu entwickeln. Nach den ersten verkrüppelten Blättern beginnen völlig normale aufzutreten; auch das Wurzelsystem fängt an, sich zu entwickeln. Das ist auch verständlich, wenn wir uns daran erinnern, daß Chromosomenabnormalitäten von dem Typus, welcher die Existenz der Meristemzellen bedroht, nur in den allerersten Momenten der Entwicklung auftreten und bald eliminiert werden. Kommt es nicht zum Tode, so sind die aus neuen Generationen der Meristemzellen hervorgehenden Organe völlig frei von ihnen.

Bis zum Beginn der Blütezeit sind an den Pflanzen häufig keine Besonderheiten zu erkennen, abgesehen von der gewöhnlich herabgesetzten Entwicklung, die wahrscheinlich durch die ungünstigen, durch die anfängliche Wachstumshemmung herbeigeführten Bedingungen bewirkt wird.

In anderen Fällen beobachten wir unregelmäßiges Wachstum, welches wiederum stark an das mit RÖNTGENSTRahlen behandelte Material erinnert. Das wird durch Fig. 10 veranschaulicht, wo wir Photographien von abnormen, erwachsenen Pflanzen aus alten Samen finden.

Wenn jedoch die Blüte- und Fruchtbildungszeit eintritt, so weisen die aus alten Samen gezogenen Pflanzen wieder starke Abweichungen auf. Ein ansehnlicher Teil von ihnen (in manchen Kulturen die Mehrzahl) ist in verschiedenem Grade steril. In einigen Fällen beobachtet man einen erstaunlichen Kontrast zwischen der vegetativen Entwicklung und der Fertilität der Pflanzen; gut entwickelte Exemplare, z.B., die sich fast oder gar nicht von den (aus frischen Samen gezogenen) Kontrollen unterscheiden, erweisen sich als in höchstem Grade steril.

Wie auch zu erwarten war, verhalten sich die meisten Pflanzen, die Abnormalitäten aufweisen, wie Chimären; die auf Fig. 20 dargestellte Pflanze bildet ein schönes Beispiel dafür. Genau das gleiche zeigt uns auch, wie wir gleich sehen werden, die zytologische Unter-

suchung. Doch müssen die bei verschiedenen Sprossen einundderselben Pflanze auftretenden Unterschiede in der Fertilität besonders hervorgehoben werden; sie können natürlich nur durch den chimärenartigen Bau des Individuums, welches in einigen seiner Teile zum Absterben der Keimzellen führende Veränderungen erlitten hatte, erklärt werden.

Durch die zytologische Untersuchung wird, wie wir bereits früher mitteilten (NAWASCHIN, 1933 a, b, c,) das Wesen dieser Phase des Vorgang geklärt. Viele (manchmal die meisten) Pflanzen, die

Fig. 20. *Crepis capillaris* (L) Wall. Erwachsene Pflanzen, gezüchtet aus 9-jährigen Samen. Chimäre, die aus einem äußerlich normalen Hauptteil und Seitensprossen mit auffallenden morphologischen Besonderheiten und Verkrüppelungen besteht; a) allgemeiner Habitus, b-e) Detailbilder der abnormen Teile. Photograph.

aus alten Samen gezogen wurden, erweisen sich als Sektorialchimären, in welchen neben normalen Geweben auch solche mit abgeänderten Chromosomen zu finden sind; diese Abänderungen gehören meist zu dem Typus der Translokationen, d.h. zu solchen Chromosomenmutationen, welche bekanntlich fast oder gar nicht die Lebensfähigkeit der sie enthaltenden Zellen beeinträchtigen. Die weiter unten angeführten Resultate bestätigen völlig die anfangs erhaltenen Ergebnisse; das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Material ist viel umfangreicher und reichhaltiger, besonders was *Cr. capillaris* betrifft.

Tabelle 2. % der Chromosomenmutanten in 2-3 Monaten alten Kulturen aus Samen verschiedenen Alters und Herkunft (vergleiche Tabelle 1).

Art	Nr. der Kultur	Ernte-jahr	Herkunft	Aufbewahrungsort	Zahl der untersuchten Pflanzen	Darunter Mutanten	% der Mutanten
<i>Cr. tectorum</i>	33.539	1925	Kopenhagen	Moskau	22	9	41
" "	33.541	1926	Kopenhagen	Moskau	3	1	33
" "	33.502	1927	Kopenhagen	Moskau	10	4	40
" "	33.556	1927	Kalifornien Berkeley	Kaliforn. Berkeley	49	3	6
" "	33.557						
" "	33.558						
" "	33.559	1927	Kalifornien Berkeley	Kaliforn. Berkeley	23	3	13
" "	33.573	1928	Orel	Moskau	8	3	37
<i>Cr. capillaris</i>	33.627	1925	Kopenhagen	Moskau	73	32	44
<i>Cr. dioscoridis</i>	33.607	1926	Unbekannt	Moskau	22	3	14
" "	33.609	1926	Unbekannt	Moskau	20	1	5
" "	33.509	1927	Kopenhagen	Moskau	12	2	17

Tabelle 2 gibt eine allgemeine Übersicht über die Untersuchungen an 8 Kulturen von *Cr. tectorum* (aus Samen von 1925, 1926, 1927 und 1928), einer Kultur von *Cr. capillaris* (aus Samen von 1925) und 3 Kulturen von *Cr. dioscoridis* (aus Samen von 1926 und 1927). Aus der Tabelle ersehen wir vor allem, daß der % der Mutanten sehr stark variiert und selbst innerhalb einer Altersgruppe Schwankungen unterworfen ist. So finden wir z.B. in verschiedenen Kulturen von *Cr. tectorum* aus Samen von 1927, daß die Mutanten 6 bis 40% ausmachen. Besonders auffallend ist der Umstand, daß bei Pflanzen, die aus denselben Samen entstanden sind, der % der Mutanten verschieden ist; so sehen wir z.B., daß die Kultur Nr. 33.539, welche 1933 aus Samen von 1925 gezogen wurde, einmal in den ursprünglichen Untersuchungen von 1933 81% Mutanten ergab, jetzt aber nur 41%, d.h. um die Hälfte weniger. Diese Tatsachen beweisen, daß der Zusammenhang zwischen dem Alter der Samen und dem % der Mutanten unter den aus diesen Samen entstehenden Pflanzen kein einfacher sein kann. Es muß Faktoren geben, die in der Lage sind, dieses Verhältnis in der einen oder der anderen Richtung stark zu verschieben. Auf diese Frage wollen wir hier nicht mehr eingehen.

Vorläufig genügt es darauf hinzuweisen, daß der % der Mutanten durch das Absterben der am stärksten mutierten Keimlinge stark verändert werden kann; dieses Absterben steht aber seinerseits in engen Beziehungen zu den Kulturbedingungen.

Jedoch, wie variabel der % der Mutanten auch sein möge, so ist er doch außerordentlich hoch gegenüber dem von Kulturen aus frischen Samen. Für *Cr. tectorum*, wo Mutanten mit veränderten Chromosomenstrukturen sonst in einem Fall von 1.000 (0,1%) auftreten, ist dieser Wert in der betreffende Beobachtungsserie um das 60–410fache gesteigert; bei *Cr. capillaris*, wo wir unter 2.000 Pflanzen keinen einzigen Chromosomenmutanten finden konnten, (NAWASCHIN 1926), finden wir nach 8-jähriger Aufbewahrung der Samen 43,8% Mutanten (bei einer Keimfähigkeit von 23,8%, s. Tab. 1). Eine solche Steigerung der Mutationsrate fanden wir bis jetzt nur in Kulturen, die aus mit RÖNTGENstrahlen sehr intensiv behandelten Samen gezogen worden waren.

Wenn wir die Beziehungen zwischen dem % der Mutanten und der Keimfähigkeit der Samen, aus denen die diese Mutanten enthaltenden Kulturen gezogen wurden, betrachten, so haben wir wieder eine starke Variabilität vor uns (vergl. Tab. 1. und 2.). So ergab Kultur Nr. 33.539, welche 41% Mutanten enthielt, 1,5% Keimlinge; die Kulturen Nr. 33.556–8, in denen nur 6% Mutanten auftraten, waren aus Samen entstanden, deren Keimfähigkeit in der Nähe der angeführten lag (3,2–1,6%). Samen mit einer Keimfähigkeit von 11,4% ergaben eine Kultur (Nr. 33.559), die 14% Mutanten enthielt. Kultur Nr. 33.627 mit 43,8% Mutanten war, wie wir soeben gesehen haben, aus Samen mit einer Keimfähigkeit von 23,8% entstanden. Aus diesen Zahlen geht ohne weiteres hervor, daß der Zusammenhang zwischen dem % der Mutanten und dem Alter der Samen nichts mit einer umgekehrten Proportionalität zu tun hat.

Diese und die nachfolgenden Angaben beziehen sich fast ausschließlich auf die Wurzeln der Pflanzen; die oberirdischen Organe sind wenigen geeignet für die Untersuchung der Abänderungen in der Chromosomenstruktur. Ob diese vorhanden sind, läßt sich aber, wie wir weiter sehen werden, auf indirektem Wege leicht ermitteln.

Wie wir bereits erwähnt haben, waren die Mutanten Sektorialchimeren; außer seltenen Ausnahmen war nur ein Teil des Wurzelsystems mutiert; die übrigen Teile bestanden gewöhnlich aus karyologisch völlig normalen Geweben. So fanden wir unter 345 Wurzeln von 73 *capillaris*-Pflanzen (Kultur Nr. 33.627) 88, d.h. 23,2% Mutanten, die übrigen waren hinsichtlich ihrer Chromosomen völlig normal. Wenn wir aber nur die mutierten Pflanzen berücksichtigen,

so finden wir naturgemäß einen viel höheren % von mutierten Wurzeln, nämlich 58,7% (88 von 150). In den meisten Fällen war nur eine Sorte von mutierten Gewebe vorhanden; manchmal bestand die Chimäre, außer den normalen Geweben, aus zwei oder mehr Sorten von mutierten Geweben. Manchmal bestand, wie erwähnt, das ganze Wurzelsystem nur aus mutierten Geweben und zwar einundderselben Sorte.

Wir wollen nun dazu übergehen, die gefundenen Chromosomenmutationen näher zu schildern.

Wie erwähnt, bestanden sie zum größten Teil aus Translokationen, und nur die Minderheit mußte den Inversionen zugerechnet werden. Das stimmt völlig mit den Ergebnissen der ursprünglichen Untersuchungen an *Cr. tectorum* überein. So waren von 162 untersuchten Mutationen bei *Cr. capillaris* 150 Translokationen und nur 12 Inversionen dargestellt. Übrigens muß bemerkt werden, daß Inversionen nur in seltenen, günstigen Fällen mit dem Mikroskop entdeckt werden können; deshalb muß die wirkliche Frequenz der Inversionen eine größere sein.

Eine eingehende Analyse jedes dieser Fälle finden wir in den Erklärungen zu Fig. 21–26; hier begnügen wir uns mit folgenden Feststellungen:

1) In keinem Falle—wie kompliziert die Chromosomenveränderungen auch sein mögen—kommt es zu einer Abänderung der Chromosomenzahl, welche für *Cr. capillaris* stets 6, für *Cr. tectorum* stets 8 beträgt.

2) Fast in keinem Falle kommt es zum Zerfall der Chromosomen an der Anheftungsstelle der Spindelfasern; das Fragment löst sich ab stets in einiger, wenn auch noch so geringer Entfernung von diesem Ort;

3) Das translocierte Segment bildet ein völlig kontinuierliches Ganzes mit dem Chromosom, an das es sich anheftet;

4) Niemals entstehen lebensfähige Chromosomen mit zwei Anheftungsstellen der Spindelfasern (durch Vereinigung von zwei ganzen Chromosomen oder von Fragmenten, die diese Anheftungsstellen enthalten);

5) Die Anheftungsstelle der Spindelfasern wird niemals neu gebildet oder resorbiert;

6) Lebensfähige defekte Chromosomengarnituren (solche, die mit dem Mikroskop feststellbare Chromatinverluste erlitten haben), sind nur äußerst selten zu beobachten;

7) Trotzdem man fast immer mit Sicherheit feststellen kann, welche Chromosomen an der Translokation teilnehmen, ist die mikroskopische Untersuchung an und für sich nur selten imstande, uns

darüber aufzuklären, ob die Translokation eine einfache oder gegenseitige ist, da die Enden der an der Translokation beteiligten Chromosomen gewöhnlich keine kennzeichnenden Merkmale aufweisen, an denen man sie an ihrem neuen Ort erkennen könnte. Die einzige Ausnahme hiervon wird von dem Chromosom D gebildet, welches

Fig. 21. Chromosomenveränderungen in den Wurzelzellen erwachsener Pflanzen von *Crepis tectorum* (2 Monate alte Pflanzen aus 7-jährigen Samen). Kultur Nr. 32,593. Mikrophotogr. a) b) und c) Translokationen zwischen zwei Chromosomen. d) Komplizierter Fall einer Translokation, die kein einziges homologes Chromosomenpaar übrig läßt.

einen Satellit mit Faden besitzt; es leuchtet ein, daß bei einer gegenseitigen Translokation zwischen diesem Ende des D-Chromosoms und irgend einer Stelle eines anderen, das keinen Satellit besitzt, wir den Wechsel leicht feststellen werden können. Einen solchen Fall, der den direkten Beweis für die Existenz von gegenseitigen Transloka-

tionen zwischen nicht homologen Chromosomen darstellt, finden wir auf Fig. 22d u. 24f (s. die Erklärungen).

Die geschilderten Beobachtungen stimmen völlig mit den Schlüssen überein, zu denen einer von uns (NAWASCHIN, 1931) bereits früher,

auf Grund seiner Untersuchungen an durch RÖNTGENbestrahlung erhaltenen Translokationen gelangt war. Die genaue Analyse der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Chromosomenveränderungen zeigt uns zum ersten mal an einem pflanzlichen Objekt verschiedene andere wichtige Gesetzmäßigkeiten, die in direkten Beziehungen zu dem eigentlichen Mechanismus der Chromosomenmutationen stehen. Tabelle 3, 4, und 5; wo wir Angaben über die Frequenz von verschiedenen Arten dieser Chromosomenveränderungen finden, klären uns über diese Gesetzmäßigkeiten auf. Die Schlüsse darüber, wie oft ein Chromosom als „Spender“ (Donor) oder „Empfänger“ (Rezipient) auftritt, dürfen wir natürlich nur *cum grano salis* annehmen, wie das aus dem vorhergesagten (7. Punkt) hervorgeht. Unter dem „Spender“-Chromosom haben wir vorläufig das sich verkürzende, unter dem „Empfänger“ das sich verlängernde Chromosom zu verstehen (wäre jede Translokation eine gegenseitige, dann müßte auch jedes an ihr beteiligte Chromosom gleichzeitig Spender und Empfänger sein).

Fig. 22. Das gleiche bei *Crepis capillaris*. Pflanzen, gezogen aus 8-jährigen Samen. Mikrophotogr. a) Translokation zwischen den Chromosomen A und D (vergl. Fig. 23k). b) dasselbe, aber das Stück des D-Chromosoms ist kleiner, (vergl. Fig. 23i). c) Translokation zwischen den C- und D-Chromosomen (vergl. Fig. 23o). d) Gegenseitige Translokation zwischen den Chromosomen C und D (vergl. Fig. 24f und das Schema Fig. 27a).

Aus Tab. 3 ersehen wir, daß jedes der 3 Chromosomen einer haploide Garnitur von *Cr. capillaris* mit ziemlich konstanter Frequenz in die Translokationen einbezogen wird: so nahm in 300 untersuchten

Fig. 23. Verschiedene Fälle von Translokation in den Wurzeln von 2 Monate alten, aus 8-jährigen Samen gezogenen Pflanzen (Kultur Nr. 33.627). Mit schwarzer Farbe sind die an den Translokationen beteiligten Chromosomenbezirke bezeichnet (z.B. auf c—der Rest des A-chromosoms und das auf das C-Chromosom übertragene Fragment), a) normale, somatische Chromosomengarnitur von *Crepis capillaris*. A, C und D bezeichnen drei Chromosomentypen. b) Translokationen eines Teiles des langen Schenkels des A-Chromosoms auf den kurzen Schenkel eines anderen A-Chromosoms (Pflanze 33.627-14). c) Translokation eines Teils des langen Schenkels des A-Chromosoms auf den langen Schenkel des C-Chromosoms (Pflanze 33.627-69). d) Translokation eines Teils des langen Schenkels des A-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des C-Chromosoms (Pflanze 33.627-19). e) Translokation desselben Stückes auf den langen Schenkel des D-Chromosoms (Pflanze 33.627-10). f) Translokation eines Teils des langen Schenkels des A-Chromosoms auf den langen Schenkel des A-Chromosoms (Pflanze 33.627-7). g) Translokation eines Teils des langen Schenkels des C-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des A-Chromosoms (Pflanze 33.627-60). h) Translokation eines Teils des langen Schenkels des C-Chromosoms auf den langen Schenkel des anderen (Pflanze 33.627-66). i) Translokation eines Teils des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des A-Chromosoms (Pflanze 33.627-57). j) Translokation eines etwas größeren Teils des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des A-Chromosoms (Pflanze 33.627-69). k) Translokation eines noch größeren Teils des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des A-Chromosoms (Pflanze 33.627-55). l) Translokation eines Teils des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den langen Schenkel des C-Chromosoms (Pflanze 33.627-25). m) Dasselbe wie l, aber in die Translokation ist der größere Teil des Chromosoms einbezogen (Pflanze 33.627-33). n) Dasselbe wie l, aber in die Translokation ist ein noch größere Teil des Chromosoms einbezogen (Pflanze 33.627-3). o) Translokation eines Teils des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des C-Chromosoms (Pflanze 33.627-20).

Fig. 24. Komplizierte Veränderungen des Chromosomenstruktur in den Wurzeln von 2 Monate alten Pflanzen aus alten Samen. a-l) *Crepis capillaris* (L.) Wall. 8-jährige Samen (Kulutr Nr. 33.627). m-o) *Crepis tectorum* L. 6-jährige Samen (Kultur Nr. 33.502). a) Translokation eines Teils des langen Schenkels eines der A-Chromosomen auf den kurzen Schenkel des anderen und eines Teils des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den langen Schenkel des C-Chromosoms (Pflanzen 33.627-3). b) Translokation von Teilen der langen Schenkel der A- und D-Chromosomen auf die langen Schenkel der beiden C-Chromosomen (Pflanze 33.627-2). c) Translokation von Teilen der langen Schenkel der beiden D-Chromosomen auf beide Schenkel eines A-Chromosoms (Pflanze 33.627-55). d) Translokation eines Teiles des langen Schenkels eines D-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des A- und den langen des C-Chromosoms (Pflanze 33.627-37). e) Besonders wichtiger Fall einer Translokation eines kleinen Chromatinstückes (wahrscheinlich aus dem kurzen Schenkel eines A-Chromosoms) auf den Satelliten des D-Chromosoms und einer dadurch entstandenen Kernasymmetrie. Außerdem Translokation eines Teiles des langen Schenkels des einen C-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des anderen (Pflanze 33.627-26). f) Zweifellose gegenseitige Translokation: ein Teil des langen Schenkel des C-Chromosoms wurde übertragen an Stelle des Stelliten des D-Chromosoms und der Satellit mit einem Stück seines Fadens an Stelle dieses Teiles des C-Chromosoms; s. auch Photogr. 22d (Pflanze 33.627-14). g) Zweifellose Inversion im D-Chromosom, wodurch die Anheftungsstelle der Spindelfasern in den kleineren Teil des Chromosoms geriet und der größere Teil zum Satelliten wurde (Pflanze 33.627-49). h) Inversion in einem der Anheftungsstelle der Spindelfasern anliegenden Teil des D-Chromosoms, wodurch eine Vergrößerung des „Kopfs“ zustande kam (Pflanze 33.627-29). i) Trans-

Fällen das A-Chromosom an 116, das C-Chromosom an 100, das D-Chromosom an 84 Translokationen teil.

Tabelle 3. Häufigkeit, mit der verschiedene Chromosomen von *Cr. capillaris* an Translokationen teilnehmen

Chromosom	Gesamtzahl der Fälle	Davon			
		Als Spender		Als Empfänger	
		Zahl	%	Zahl	%
A	116	68	58,6	48	41,4
C	100	24	24,0	76	76,0
D	84	58	69,0	26	31,0

Tabelle 4. Häufigkeit, mit der Chromosomenschenkel an Translokationen teilnehmen

Chromosom u. Schenkel	Gesamtzahl der Fälle	Davon			
		Als Spender		Als Empfänger	
		Zahl	%	Zahl	%
A Kurz.Schenkel	42	3	7	39	93
A Lang. „	74	65	88	9	12
C Kurz. „	21	1	5	20	95
C Lang. „	79	23	29	56	71
D Satellit	13	5	39	8	61
D Lang.Schenkel	71	53	75	18	25

Das verkürzte Chromosom wird als Spender, das verlängerte als Empfänger betrachtet.

Ein ganz anderes Bild erhalten wir, wenn wir den Charakter der Beteiligung an den Translokationen bei verschiedenen Chromosomen untersuchen. Hier zeigt sich, daß während das A-Chromosom nur 1,5 öfter als Spender (58,6%) denn als Empfänger (41,4%) auftritt, das C-Chromosom nur in einem Viertel der Fälle (24%) den Spender, in allen übrigen dagegen den Empfänger darstellt. Was das D-Chromosom betrifft, so ist sein Verhalten dem des C-Chromosoms gerade entgegengesetzt, denn es tritt in 69% der Fälle als Spender und nur in 31% als Empfänger auf.

Ein nicht weniger interessantes Bild zeigt Tab. 4, aus der ebensolche spezifische Unterschiede im Verhalten der einzelnen Chromosomenteile, nämlich des langen und kurzen Schenkels der Chromosomen und des Satelliten zu ersehen sind. So nimmt im A-Chromosom der lange Schenkel etwa $11\frac{1}{2}$ mal öfter an Translokationen teil, als der kurze (74 und 42 Fälle). Beim C-Chromosom kommt die Beteiligung des langen Schenkels 3,8 mal öfter vor, als die des kurzen;

lokation oder einfacher Verlust des ganzen kurzen Schenkels eines C-Chromosoms bis zur Anheftungsstelle der Spindelfasern (rechts unten): außerdem sind an der Translokation auch A- und D-Chromosom beteiligt (Pflanze 33.627-13). j) Translokation eines Teiles des langen Schenkels eines A-Chromosoms auf den langen Schenkel des C-Chromosoms, die mit einem Substanzenverlust im A-Chromosom einhergeht (Pflanze 33.627-31). k) Inversion in einem der A-Chromosomen (Pflanze 33.627-26). l) Sehr komplizierte Translokation, an der 5 Chromosomen von 6 beteiligt sind (Pflanze 33.627-10). m) Translokation zwischen beiden D-Chromosomen von *Cr. tectorum*; Entstehung eines kleinen Chromosoms mit 2 Satelliten (aus dem kurzen Schenkel—dem „Kopf“—des einen Chromosoms und beiden Satelliten mit ihren Fäden) und eines V-förmigen Chromosoms aus dem langen Schenkel des einen und dem seines Satelliten beraubten anderen D-Chromosom (Pflanze 33.502-12). n) Verdoppelung des Satelliten („Tandem“) durch Inversion eines Teils des Satelliten mit Faden und Translokation eines Teiles des langen Schenkels des D-Chromosoms auf den kurzen Schenkel des A-Chromosoms (*Cr. tectorum*, Pflanze 33.502-2). o) Einzelne Chromosomen mit Tandem-Satelliten aus 3 Platten derselben Pflanze.

schließlich beim D-Chromosom nimmt der kurze Schenkel nur in 1/6 der Fälle an Translokationen teil, und die überwiegende Mehrzahl entfällt auf den langen Chromosomenarm. Wenn wir uns nun den Charakter der Beteiligung an Translokationen der beiden Chromosomenarme zuwenden, so finden wir noch interessantere Verhältnisse. So tritt der kurze Schenkel des A-Chromosoms nur in 7% der Fälle als Spender auf, bildet also fast immer den Empfänger; demgegenüber weist der lange Schenkel desselben Chromosoms das entgegengesetzte Verhalten auf: er stellt den Spender in 88%, den Empfänger aber nur in 12% der Fälle dar. Beim C-Chromosom war der kurze Schenkel nur ein mal der Spender, also fast ausschließlich der Empfänger, der lange Schenkel dagegen war Spender etwa 2,5 öfter als Empfänger. Beim D-Chromosom schließlich stellte der Satellit den Spender etwa 1,5 mal seltener dar, als den Empfänger, während der lange Schenkel als Spender etwa 3 mal öfter auftritt, denn als Empfänger.

Besonderes Interesse beanspruchen schließlich die in Tab. 5 zusammengestellten Beobachtungen.

Tabelle 5. Häufigkeit, mit der bestimmte Chromosomen als Partner bei Translokationen auftreten.

Chromosomen	A und C	A und D	C und D	A und A	C und C	D und D
Zahl der Fälle	43	37	39	17	10	4
%	28,6	24,7	26,0	11,3	6,7	2,7

Fig. 25. Sehr komplizierte Dislokation bei *Cr. capillaris*, an der alle (-oder fast alle) Chromosomen beteiligt sind (Pflanze 33.627-46)

Wir ersehen aus ihr vor allem, daß nicht homologe Chromosomen um einige mal öfter die Partner bei einer Translokation abgeben, als die homologen; dabei treten die drei möglichen Kombinationen dieser Translokationen fast mit gleicher Häufigkeit auf; in einer folgenden Arbeit sollen diese Tatsachen ausführlicher erörtert werden.

Damit wollen wir die Analyse der von uns gefundenen Chromosomenmutationen abschließen, wir noch auf ihre große Mannigfaltigkeit hinweisen möchten. Als Beispiel des

tiefgreifendsten Umbaus des Chromosomenapparates kann uns die auf Fig. 25 abgebildete Kernplatte von *Cr. capillaris* dienen; hier ist kein einziges Chromosom unverändert geblieben. Besonders hingewiesen sei auf einen Fall einer kleinen Translokation auf den Satelliten (Fig. 24e), was zur Entstehung eines heteromorphen Chromosomenpaares, wo sich die Chromosomen durch die Größe der Satelliten voneinander unterscheiden („Kernasymmetrie“), führte. Großes Interesse beanspruchen die Mutationen, die auf Fig. 24g. (Inversion im D-Chromosom) und Fig. 24n, o (Bildung eines „Tandem“-Satelliten) abgebildet sind, und die Fälle von visuell festgestellten Inversionen darstellen.

Auch die auf Fig. 26 abgebildeten Fälle verdienen besonders hervorgehoben zu werden, da sie wertvoll für die Nachprüfung der „Dis-

Fig. 26. Dislokationen bei *Cr. tectorum*, die die Existenz von Rekonstruktionen, wie sie von der Dislokationshypothese der Evolution der Chromosomengrundzahl postuliert werden beweisen (Wurzeln von 2 Monate alten Pflanzen). a) und b) Eines der C-Chromosomen hat seinen kurzen Schenkel bis zur Anheftungsstelle der Spindelfasern eingebüßt, wodurch das kinetische Körperchen am Ende des Chromosoms zu liegen kommt (Pflanze 33.559–63). c) und d) Eliminierung fast der ganzen Substanz des überzähligen Chromosoms eines Trisomikers, von dem Chromosom bleibt nur ein kleines Fragment übrig, das jedoch das kinetische Körperchen enthält. In c) ein Fragment, in d) zwei Fragmente, anscheinend durch somatisches Nichtauseinanderweichen entstanden (Pflanze 33.539–12), s. S. 358.

Tabelle 6. Fertilität von Pflanzen aus alten Samen
(*Cr. tectorum*, Kulturen Nr. 33.559 und 33.539)

Grad der Fertilität	Nr. der Kultur und Zahl der Pflanzen	33.559		33.539	
		Zahl der Pflanzen	%	Zahl der Pflanzen	%
Volle Fertilität		49	59,8	14	20,0
Teilweise Sterilität		26 ¹⁾	31,7	33 ³⁾	47,2
Hochgradige Sterilität		2 ²⁾	2,4	12	17,1
Steril		1	1,2	3	4,3
Die „Krüppel“ (starben ohne Samen gegeben zu haben)		4	4,9	8	11,4
Summe		82	100%	70	100%

1) Darunter 5 Chimären

2) „ 1 „

3) „ 2 „

lokationshypothese“ der Evolution von Chromosomen-Grundzahlen sind. Fig. 26a und b stellt zwei mutierte Platten von *Cr. tectorum* dar, in denen eines der C-Chromosomen seinen kurzen Schenkel bis zur Anheftungsstelle der Spindelfasern eingebüßt hat. Auf Fig. 26c, d sehen wir bemerkenswerte Fälle, wo fast das gesamte

überzählige Chromosom eines einfachen Trisomikers eliminiert wird; von diesem Chromosom bleibt nur ein kleines Fragment übrig, welches wahrscheinlich die Anheftungsstelle der Spindelfasern enthält, in der Mitose aber etwas abnorm funktioniert.

Wie erwähnt, beziehen sich diese Angaben auf Wurzeln. Untersuchungen an den oberirdischen Teilen waren nur wenig zahlreich und betrafen hauptsächlich den Pollen. In vielen Fällen wurden abortive Pollenkörner gefunden; sie waren bei einigen Pflanzen in der Mehrzahl und bei einigen Sprossen waren alle Pollenkörner abortiv; solche Sprosse waren naturgemäß fast oder völlig steril. Die Entwicklung des weiblichen Gametophyten haben wir bis jetzt nicht untersucht. Der Umstand aber, daß die sich frei bestäubenden Pflanzen häufig eine hohe oder sogar völlige Sterilität aufwiesen, zeigt, daß auch in den weiblichen Geschlechtsteilen Anomalien vorhanden waren. Angaben über die Fertilität von einigen Kulturen bei freier Bestäubung sind in Tab. 6 zusammengestellt.

V. Verhalten und Zytologie der Nachkommenschaft von aus alten Samen entstandenen Pflanzen

Die häufige Sterilität der aus alten Samen entstehenden Pflanzen weist natürlich darauf hin, daß die Chromosomenmutationen, die mit einer Veränderung der Eigenschaften einzelner Chromosomen einhergehen, nach ihrer Entstehung im Meristem des Vegetationspunktes durch die subepidermale Schicht auch auf Teile des weiblichen oder männlichen Archespor übertragen werden können. Nur durch direkte Versuche läßt sich aber die Frage klären, in welchem Grade diese Mutationen auf die Nachkommen vererbt werden. Gleich die ersten Untersuchungen über die Fertilität der Nachkommen von aus alten Samen gezogenen Pflanzen ließen keine Zweifel

darüber, daß Mutationen, welche in den Geweben der Eltern entstanden waren, auf die von diesen gebildeten Teile übertragen werden. Unter den Nachkommen der aus alten Samen gezogenen Pflanzen trat verschiedengradige Sterilität auf, was auf Chromosomenmutation, Genmutationen oder Unregelmäßigkeiten der Reduktionsteilung, unabhängig von Mutationen, beruhen kann.

Die von HELENE GERASSIMOWA durchgeführte zytologische Untersuchung zeigte einwandfrei, daß ein Teil der in den Keimen entstehenden Chromosomenmutationen tatsächlich durch die Keimzellen auf die Nachkommen der aus diesen Keimen entstehenden Pflanzen übertragen wird.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind bereits von HELENE GERASSIMOWA (1935) veröffentlicht geworden. An dieser Stelle begnügen wir uns damit, auf diese Resultate hinzuweisen, als Beweis für die Vererbung von Chromosomenmutationen, die in alternden Keimen entstehen.

VI. Zusammenfassung

1. Die vorliegende Arbeit bestätigt, ebenso wie alle vorangegangenen Untersuchungen, den früher gemachten Schluß, daß in den Meristemzellen des ruhenden Keimes im Samen mit der Zeit, ohne jeglichen „spezifischen“ Einfluß von außen, Chromosomenmutationen entstehen, die dem Dislokationstypus angehören (Fragmentation, Translokation, Inversion u.s.w.).

2. Ausgangsmaterial dieser Arbeit waren Samen verschiedener Rassen von *Crepis capillaris*, *C. tectorum*, *C. dioscoridis* und einer Sorte Roggen (*Secale cereale*), die verschiedene Zeitlang aufbewahrt wurden.

Zur Untersuchung gelangten Embryonen von Samen, deren Keimung nur eben begann, daraus erhaltene Keimlinge, erwachsene Pflanzen und die Nachkommenschaft dieser letzten.

3. Der Effekt des Alterns der Samen kommt schon in den ersten Stadien der Keimung zur Geltung; er zeigt sich, außer der Herabsetzung des % der Keimfähigkeit, in verschiedenen Unregelmäßigkeiten der Entwicklung der Keimlinge; diese Unregelmäßigkeiten sind im allgemeinen desto schärfer ausgesprochen, je älter die Samen waren; sie bestehen in Wachstumshemmung, asymmetrischer Entwicklung und Missbildungen der Keimlinge. Alle diese Unregelmäßigkeiten sind die Folge der gestörten Tätigkeit der apikalen Meristeme; bei dem äußersten Grade dieser Störung kommt es zu frühem Stillstand der Zellteilungen, der zum Untergange des Keimlings führt, falls es nicht zur Bildung neuer Vegetationspunkte durch Regeneration von älteren Geweben kommt. Ganz anders verhalten

sich die Kotyledonen, deren Lebensfähigkeit selbst bei solchen Keimlingen erhalten bleibt, deren Meristem schon völlig vernichtet ist. Das ganze Bild zeigt also vollständige Ähnlichkeit mit dem Bilde nach stärksten Dosen von RÖNTGENstrahlen.

4. Die zytologische Untersuchung ergab für alle Fälle ohne Ausnahme, daß die vorstehend angeführten Erscheinungen durch tiefgreifende Veränderung des Chromosomenapparates hervorgerufen werden; die Mehrzahl dieser Veränderungen bestand in Fragmentation, die zur Eliminierung von Chromosomenteilen führte, welche sich bei der Mitose in Form von Chromatinkügelchen auf das ganze Zytoplasma der Zellen verteilten. Zellen, die solche Veränderungen erlitten haben, verlieren ihre Teilungsfähigkeit oder sterben ab; dies bedingt die Wachstumsunregelmäßigkeiten und führt selbst zum Absterben des ganzen Meristems und somit nicht selten auch des ganzen Keimlings. Diese Erscheinungen lassen sich aber erst in den frühesten Stadien der Keimung beobachten; im weiteren findet man in den Geweben des Keimlings, falls es nicht zur Zerstörung und zum Absterben kommt, entweder normale Chromosomen oder solche, die Veränderungen erlitten haben, die dem normalen Verlaufe der Zellteilung nicht hinderlich sind, nämlich Translokationen und Inversionen. Die Veränderungen der Chromosomen erfolgen sowohl im Meristem des Würzelchens als auch im Vegetationskegel; in ersterer entwickeln sie sich leichter als im letzteren.

5. Aus den am Leben gebliebenen Keimlingen entwickeln sich Pflanzen, die Anomalien von diesem oder jenem Grade aufweisen: Asymmetrien der Blätter, abnorme Verzweigung usw. In äußersten Fällen entwickeln sich statt Blätter schmale rankenähnliche Gebilde, der Apex erinnert in solchen Fällen an Callus; solche Pflanzen gehen früh oder spät zugrunde.

Nach einer gewissen Periode von Wachstumshemmung und unregelmäßiger Entwicklung beginnt ein beträchtlicher Teil der Pflanzen sich normal zu entwickeln und kann dem Aussehen nach gar keine Unterschiede von den Kontrollpflanzen bieten. Beim Eintreten der Blütezeit zeigen aber selbst solche Pflanzen Unterschiede von der Norm, denn sie weisen diesen oder jenen Grad von Sterilität auf.

6. Die zytologische Untersuchung der erwachsenen Pflanzen zeigte, daß es sich selbst bei ganz normalem äußerem Habitus um Chimären handelt (Sektoren mit mutanten Chromosomen). Diese Mutationsveränderungen bestehen in der Mehrzahl der Fälle in Translokationen verschiedener Art, seltener in Inversionen. Die mutanten Pflanzen bestanden in der Mehrzahl der Fälle aus 2 Sorten von Geweben (aus normalem und mutantem Gewebe); es wurden aber auch solche gefunden, die eine größere Anzahl von im Bezug auf

Chromosomenstruktur verschiedenen Geweben aufwiesen.

7. Der Prozentsatz der mutanten Pflanzen war verschieden, zeigte aber doch im allgemeinen eine Abhängigkeit von dem Alter der Samen; sehr hoch war dieser Prozentsatz (bis zu 50%) in Kulturen aus genügend lange aufbewahrten Samen.

Der Mutationseffekt des Alterns von Embryonen zeigt also qualitativ und quantitativ eine große Ähnlichkeit mit dem Wirkungseffekt starker Gaben von RÖNTGENSTRAHLEN.

8. Bei eingehendem Studium der gefundenen Veränderungen der Chromosomen wurde folgendes festgestellt:

a) Alle Chromosomen des Satzes beteiligen sich annähernd gleich häufig an der Translokation, was auf den zufälligen Charakter dieser Erscheinung hinweist. Der Umstand, daß an der Translokation viel häufiger nicht homologe Chromosomen beteiligt sind, als homologe, spricht ebenfalls zugunsten dieser Schlußfolgerung.

b) Kurze Chromosomen erweisen sich häufiger als „Rezeptoren“, d.h. sie erleiden häufiger einen Zuwachs, als eine Verkürzung; längere Chromosomen verhalten sich umgekehrt. Dasselbe gilt auch für die einzelnen Schenkel der Chromosomen.

c) Die Untersuchungsergebnisse machen es sehr wahrscheinlich, daß die Translokation stets (oder mindestens häufig) eine gegenseitige ist; in allen Fällen, wo eine visuelle Bestimmung möglich war, war die Translokation in der Tat eine gegenseitige.

d) Unter den 162 eingehend untersuchten verschiedenen Dislokationen (150 Translokationen und 12 Inversionen) hatten wir keinen einzigen Fall mit Veränderung der Chromosomenanzahl; dies zeigt nochmals, daß allein durch Fragmentation oder Verschmelzung von Chromosomen ein lebensfähiger Kern mit vergrößerter oder verminderter Chromosomenanzahl nicht entstehen kann, denn dazu wäre eine Vergrößerung oder Verminderung der Anzahl der kinetischen Körper erforderlich, letztere Veränderungen fanden sich aber im Gefolge der untersuchten Dislokationen kein einziges Mal.

e) Lebensfähige Kerne mit derart beträchtlichem Defekt im Chromosomenmaterial, daß man diesen Defekt durch einfache visuelle Beobachtung nachweisen könnte, ließen sich nicht antreffen.

f) In einigen wenigen Fällen fanden wir Dislokationsveränderungen von dem von der Dislokationshypothese (der Veränderung der Grundzahl der Chromosomen) postulierten Typus.

9. Die Untersuchung der Nachkommenschaft der aus alten Samen erzogenen Pflanzen zeigte, daß die sich beim Altern des Keimes entwickelnden Mutationsveränderungen der Chromosomen seiner Zellen sich mit den Geschlechtszellen auf die Nachkommenschaft übertragen können.

Literaturverzeichnis

- Gerassimova, Helen**, 1935. The Nature and Causes of Mutations. II. Transmission of mutations arising in aged seeds; occurrence of "homozygous" dislocants among progeny of plants raised of aged seeds. Biol. Journ. (USSR), Vol. 4 (Russisch).
- Nawaschin (Navashin), M.**, 1926. Variabilität des Zellkerns bei *Crepis*-Arten in Bezug auf die Artbildung. Zs. Zellf. u. mikr. Anat. Bd. 4.
- 1931. A Preliminary Report on Some Chromosome Alterations by X-rays in *Crepis*. Amer. Nat. Vol. 65.
- 1933a. Origin of Spontaneous Mutations. Nature, Vol. 131.
- 1933b. Altern der Samen als Ursache der Mutationen. Planta, Bd. 20.
- 1933c. New Data on the Origin of Spontaneous Mutations. Biol. Journ. (USSR), Vol. 2 (Russisch).
- and **Shkvarnikov, P.**, 1933. Process of Mutation in Resting Seeds Accelerated by Increased Temperature. Nature, Vol. 132.
- Nilsson, Heribert N.**, 1931. Sind die induzierten Mutanten nur selektive Erscheinungen? Hereditas, Bd. 15.
- Sakamura, T.**, 1916. Über die Beeinflussung der Zell- und Kernteilung durch die Chloralisierung mit besonderer Rücksicht auf das Verhalten der Chromosomen. Botan. Mag. (Tokyo), Vol. 30.
- de Vries, Hugo**, 1901. Die Mutationstheorie. Bd. 1, p. 183.
-