

# Weitere cytogenetische Untersuchungen an natürlichen Populationen von *Paris quadrifolia*<sup>1)</sup>

Von

LOTHAR GEITLER, Wien

Mit 15 Textfiguren und 2 Tabellen

(Eingegangen am 14. Juli 1938)

I. Einleitung . . . . .	161
II. Methodik . . . . .	162
III. Material; Ökologie . . . . .	162
IV. Die Inversionsbilder bei der Pollenreifung . . . . .	166
1. Allgemeines . . . . .	166
2. Schilderung der einfachen Inversionsbilder . . . . .	170
3. Kompliziertere Inversionsbilder . . . . .	180
4. Häufigkeit und Verteilung der Inversionsbilder . . . . .	182
V. Das Paarungsverhalten . . . . .	182
1. Chiasmata . . . . .	182
2. Univalente . . . . .	183
3. Verhalten der Centromeren (Spindelansätze) . . . . .	185
4. Sterilität . . . . .	186
VI. Embryosackbildung; Samenansatz . . . . .	187
VII. Herkunft und Alter der Inversionen . . . . .	188
VIII. Zusammenfassung einiger Ergebnisse . . . . .	189

## I. Einleitung

In der ersten Mitteilung (1937) wurde gezeigt, daß die Chromosomen von *Paris quadrifolia* aus der Umgebung von Lunz (Nieder-Österreich) zahlreiche Inversionen enthalten, die sich bei Heterozygotie und crossing-over in der Inversion durch die Bildung von dizentrischen Chromatiden und Fragmenten in der I. meiotischen Anaphase verraten. Nach dem Auftreten in bestimmten Chromosomen und der Länge von Brücke und Fragment ließen sich 21 verschiedene Inversionen unterscheiden.

Nachdem ein allgemeiner Überblick erreicht war, schien es nun wünschenswert, an diesem Objekt, das bereits durch bloße morphologisch-cytologische Analyse einen gewissen Einblick in den genetischen Aufbau gestattet, eingehendere

<sup>1)</sup> Durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Untersuchungen vorzunehmen. Hierüber sei im folgenden berichtet. Die Schwierigkeiten, die sich aus der hohen Zahl der Inversionen, der schwankenden Paarungsintensität, dem beschränkten Material u. a. m. ergeben, verhindern allerdings noch ein endgültiges Verständnis aller Erscheinungen, im besonderen der Frage, in welchem Ausmaß die Inversionen rezent oder phylogenetisch alt sind. Im Hinblick auf das Problem der Artbildung stellen die folgenden Mitteilungen erst die Vorarbeit dar. Die Ausführlichkeit der Darstellung soll den Zweck haben, auch anderen Untersuchern die Grundlage für Beobachtungen an weiter entfernten Standorten zu geben.

## II. Methodik

Die cytologische Analyse der Inversionen wurde an der I. meiotischen Anaphase der Pollenmutterzellen durchgeführt. Am geeignetsten erwies sich die Untersuchung in kalter Karminessigsäure (KES); zu diesem Zweck werden die Antheren am einen Ende aufgeschnitten, der Inhalt wird schonend ausgedrückt und sofort in einem Tropfen KES verrührt, worauf ein Deckglas aufgelegt und durch Absaugen der KES soweit angedrückt wird, daß die Pollenmutterzellen leicht flachgedrückt erscheinen. Solche Präparate bleiben monatelang unverändert, wenn man sie mit dem im Handel befindlichen „KRONACHERSchen Glas-kitt“ umrahmt. In einigen Fällen wurden Präparate nach der üblichen Ausstrichmethode (Fixierung nach FLEMMING-BENDA und Färbung nach GRAM) angefertigt; bei Vorbehandlung leicht angetrockneter Ausstriche mit  $\text{NH}_3$ -Dampf treten die Großspiralen deutlich hervor; nach starker Differenzierung erscheinen die Spindelansätze als distinkte, dunkel gefärbte Körper.

Die für die Untersuchung der Embryosackbildung verwendeten Fruchtknoten wurden an beiden Enden aufgeschnitten und nach FLEMMING-BENDA fixiert, hierauf in  $30 \mu$  dicke Schnitte zerlegt und mit Safranin-Lichtgrün gefärbt.

Da für Analysen in größerem Maßstab nur die mittlere I. Anaphase (der Pollenmutterzellen) brauchbar ist, das Antreffen derselben in Freilandpflanzen aber zu sehr vom Zufall abhängt, und außerdem unter nicht optimalen Bedingungen die Pollenmutterzellen nicht genau gleichzeitig die Anaphase durchmachen, ist folgender Kunstgriff oft von Nutzen: man schneidet Blühsprosse, die im Stadium der I. Metaphase stehen (Probe durch Entnahme einer Anthere aus der Knospe), an der Basis ab und stellt sie unter einer Glasglocke in Wasser im geheizten Zimmer (bei  $16\text{--}20^\circ \text{C}$ ) auf<sup>1</sup>). Ungefähr nach zwei Stunden beginnt dann vorwiegend gleichzeitig die I. Anaphase. Allerdings gelingt die prompte Auslösung nur an Pflanzen, die im Freien klimatisch gehemmt waren; im Beobachtungsjahr war dies infolge später Schneefälle mehrmals eingetreten.

## III. Material; Ökologie

Die untersuchten Pflanzen stammen zum Teil aus der unmittelbaren Umgebung der Biologischen Station Lunz (nördliche Kalkalpen; Gau Niederdonau) aus 600 m Höhe, zum Teil aus der Umgebung des wenige km entfernten, aber 500 m höher gelegenen Obersees.

<sup>1</sup>) Die Meiose erfolgt bald nach der Schneeschmelze; vgl. unten.

Am erstgenannten Standort wächst *Paris* in großen, alten Beständen im lichten Auwald des Seebachs vor seiner Einmündung in den Untersee und außerdem unter Bäumen und in Gebüsch im Park des Schlosses Seehof. Dieser Park wurde im Jahre 1901 frisch angelegt, vorher befand sich hier Wiesen- und Ackerland. Es ist somit sicher, daß die Ansiedlung im Park nach 1901 und aus Samen erfolgte. Dementsprechend unterscheidet sich das Aussehen der Vorkommnisse im Park auffallend von den im Auwald (und in den Wäldern der Obersee-Umgebung): während im letztgenannten Fall die Sprosse über weite Areale verbreitet sind, aber nicht geschlossen stehen, sondern zwischen sie zahlreiche andere Pflanzen eingeschoben sind, tritt *Paris* im Park an eng umschriebenen Stellen in Gestalt von „Kolonien“ auf, die einen Durchmesser von  $1/2$  bis etwa 3 m haben und aus wenigen (5 bis 20) oder vielen (etwa bis 200) Blühsprossen bestehen; die Sprosse stehen in den älteren „Kolonien“ so dicht, daß nach der Blattentfaltung ein geschlossenes Blattmosaik zustande kommt. Es entsteht demnach der Eindruck, daß die Pflanzen einer Gruppe vegetativ auseinander entstanden sind und daß daher mit Recht von Kolonien im eigentlichen Sinn gesprochen werden kann. Tatsächlich besitzt *Paris* im Park auffallend reichliche Seitensproßbildung. Es scheint, daß die Besiedlung von Neuland durch *Paris* in gleicher Weise wie etwa bei *Elodea canadensis* durch ausgiebige vegetative Ausbreitung gekennzeichnet ist (es wurde schon im Vorjahr erwähnt, daß man an jungen Pflanzen nicht selten auf einer Wurzelstocklänge von 10 cm fünf Laubsprosse findet). Die Entstehung der Pflanzen einer Kolonie auf vegetativem Weg wird besonders in Fällen deutlich, wo alle Blüten mehr oder weniger staminodiale Antheren besitzen; in die gleiche Richtung weist das Auftreten oder Fehlen bestimmter Inversionen in einer Kolonie (vgl. Abschn. IV 4). — Andererseits sind fast in jeder größeren Kolonie Keimlinge und junge, noch nicht blühfähige Pflanzen anzutreffen, woraus folgt, daß auch Aussamung und Keimung an Ort und Stelle stattfindet; der Samenanatz ist auch immer reichlich (vgl. Abschn. VI).

Die Meiose erfolgt in den Pollenmutterzellen bald nach der Schneeschmelze, d. i. im Fall der Unterseepflanzen in der Zeit von Mitte März bis Anfang April. Während der I. Anaphase in den Pollenmutterzellen befindet sich die Makrosporenmutterzelle im Pachytänstadium. Zu diesem Zeitpunkt ist der Sproß bereits gestreckt und die Laubblätter stehen unmittelbar vor der Entfaltung.

Die Blüten einer Kolonie treten im allgemeinen fast gleichzeitig in die Reduktionsteilung ein; so befinden sich — von einzelnen Nachzüglern abgesehen — z. B. alle Blüten zwischen I. Metaphase und Interkinese, oder I. Telo- phase und II. Telophase, oder besitzen eben entstandene Mikrosporen usw. Dies gilt allerdings anscheinend nur unter optimalen Außenbedingungen, wie sie im Frühjahr 1937 gegeben waren, wo mildes, feuchtes Wetter herrschte. Im Frühjahr 1938 war der Ablauf unregelmäßiger, da verspätete Schneefälle mit Kälteeinbrüchen vorkamen. Die Überdeckung mit Schnee hat völligen Stillstand auf dem jeweiligen Stadium zur Folge (Beobachtungen an nacheinander untersuchten Antheren markierter Blüten). Verspätet von Schnee bedeckte Sprosse lassen schon äußerlich die Hemmung daran erkennen, daß die Laubblätter infolge

Infiltration der Interzellularen mit Wasser völlig oder fleckenweise durchsichtig geworden sind.

*Paris quadrifolia* gehört also nicht zu den Pflanzen, welche die Reduktions-  
teilung unter Schnee durchmachen. Späte Schneebedeckung und Frost bedeuten  
vielmehr eine zeitliche Hemmung. Eine wesentlichere Störung können sie ver-  
ursachen, wenn sie im Zeitpunkt der Chromosomenpaarung eintreten und die  
Physiologie der Meiose beeinflussen. Wie stark Außenbedingungen auf die  
Paarungsintensität einwirken, ergibt sich deutlich aus den Untersuchungen von

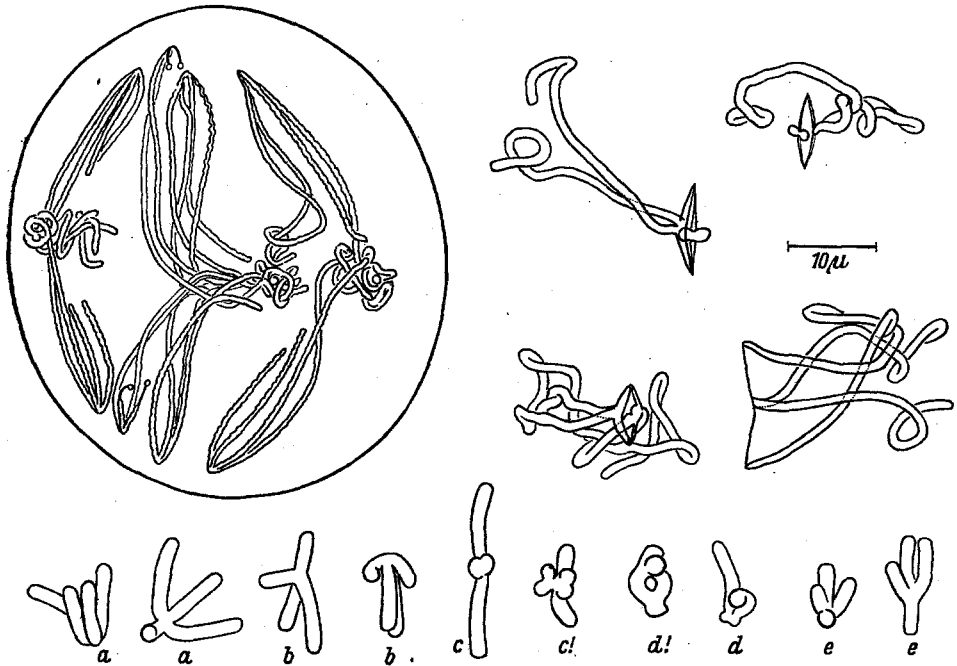


Fig. 1. Links: abnorme Pollenmutterzelle aus O/14 in I. Anaphase, die Chromatiden ohne  
Großspiralen; rechts: vier Chromosomenpaare aus O/15 mit abnormer Spiralisierung, die  
proximalen Chiasmata sind deutlich erkennbar (oben links das  $d_4$ -Paar, oben rechts das  
 $d_0$ -Paar). Unten: die 10 Chromosomenpaare aus einer Makrosporenmutterzelle (die beiden  
mit ! versehenen besitzen je ein interstitielles Chiasma, die anderen keines).

MATSUURA, OEHLKERS und Mitarbeitern. Für *Paris quadrifolia* treten im Unter-  
suchungsgebiet solche äußere Störungen nicht selten ein, und die auffallende,  
weiter unten geschilderte Univalentenbildung (Abschn. V 2) ist wohl durch sie  
mitverursacht.

Das gleiche gilt für das Auftreten einer von der Norm abweichenden  
lockeren Wicklung der Großspiralen in der I. Anaphase, die häufig in Pflanzen,  
die während der späten meiotischen Prophase unter Schnee waren, zu sehen ist.  
Während sonst die Chromatiden so kurz sind, daß sich ihre Enden in den mittleren  
Anaphasestadien nicht mehr berühren, werden bei Schneepflanzen die Groß-

spiralen so weit ausgezogen, daß die Enden der langen Arme bis zur späten Anaphase in Zusammenhang bleiben; die Ursache ist offenbar eine Veränderung der Viskosität.

Ganz andersartig ist die Erscheinung, daß in einzelnen Pollenmutterzellen die Großspiralisation unterbleibt, die Chromatiden also außerordentlich langfadenförmig sind. In manchen Zellen kann man, wenn auch nur undeutlich und mehr oder weniger verquollen, die Kleinspiralen erkennen (Fig. 1 links oben). Die abnorme Länge der Chromatiden hat zur Folge, daß die Trennung nicht normal durchgeführt werden kann: die Enden bleiben mehr oder weniger verknäuel und unentwirrbar im Äquator liegen; dazu kommt oft eine auffallende Brüchigkeit, die Querzerfall in kleine Stücke hervorruft. Derartige Zellen finden sich nur sehr vereinzelt in Pollensäcken mit sonst normalem Inhalt; die Beziehung zu den Außenbedingungen ist also nicht ohne weiteres klar. — Dies gilt auch für die ebenso seltene Erscheinungsform der Chromatiden, die in Fig. 1, rechts, dargestellt ist; das Aussehen ist etwa intermediär zwischen dem normalen und dem eben geschilderten, es sind zwar Großspiralen ausgebildet, die Windungszahl ist aber größer und die Windungsweite geringer als normal. Diese abnorm gewickelten Chromatiden lassen ausgezeichnet die proximalen Chiasmata erkennen<sup>1)</sup>.

Der Gleichzeitigkeit des Meioseablaufs in den Blüten einer Kolonie steht auffallend die Ungleichzeitigkeit in verschiedenen, oft dicht beisammen liegenden und scheinbar klimatisch gleich beeinflussten Kolonien gegenüber. In den beiden Beobachtungsjahren 1937 und 1938 war die Reihenfolge, in der die Kolonien in die Meiose (und später in die 1. Pollenkornmitose und in das Aufblühen) eintraten, die gleiche: so eilte Kolonie III um 8 Tage allen anderen Kolonien voraus, es folgte Kolonie VIII, dann V usw. Soweit für diese Unterschiede Außenbedingungen maßgebend sind, ist zu berücksichtigen, daß nicht nur die zur Zeit der Meiose herrschenden Faktoren (verschieden lange Schneebedeckung), sondern auch die in der Vegetationsperiode sich später auswirkenden Umstände maßgebend sind, so in erster Linie Beschattung durch sich belaubende Sträucher.

Im Gegensatz zu den üppigen Beständen in der Umgebung des Untersees machen die höher gelegenen Vorkommnisse in der Umgebung des Obersees (1100 m) einen kümmerlichen Eindruck. Meist stehen an einer Stelle nur wenige Pflanzen beisammen und nur einzelne von ihnen blühen. Oberhalb vom Obersee wurden bisher nach Feststellungen von H. GAMS, SEPP AIGNER und nach eigenen Beobachtungen überhaupt keine blühenden Sprosse gefunden (Lueg 1200—1300 m, Legsteinalm 1500 m, Ahornboden 1250 m, Handfeichten 1500 m, Dürrnstein-Hetzkogelplateau 1400—1600 m). Die Buchengrenze liegt hier (nach GAMS) bei 1450—1530 m. Zu berücksichtigen ist, daß das Oberseegebiet, besonders der Kessel, in dem der See eingebettet liegt, lokalklimatisch stark benachteiligt ist, was sich vor allem in einer langen Schneebedeckung ausdrückt. Dementsprechend blüht *Paris* hier um vier bis sechs Wochen später als in der Umgebung des Untersees.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu die Beobachtungen MATSURAS an *Trillium*.

In cytologischer Hinsicht ergeben sich nach der vorliegenden Statistik (Tabelle 1) keine auffallenden Unterschiede zwischen Untersee- und Oberseepflanzen (die Oberseepflanzen sind durch ein vorausgesetztes O gekennzeichnet; E bezeichnet eine Pflanze von einem etwas tiefer gelegenen Standort). Die Inversionen sind im allgemeinen die gleichen, und auch der Heterozygotiegrad und die Univalentenbildung bleiben sich gleich. Allerdings wurde eine Pflanze gefunden (O 2), die außergewöhnlich viele Univalente aufwies (auf 100 normale Pollenmutterzellen 73,5 Zellen mit 1, 2 oder 3 ungepaarten „Paaren“). Außerdem kamen zwei Oberseepflanzen im Stadium der 1. Pollenkornmitose zur Beobachtung, die außergewöhnlich viele mißgebildete, abnorm kleine und mehrere Nebenkerne

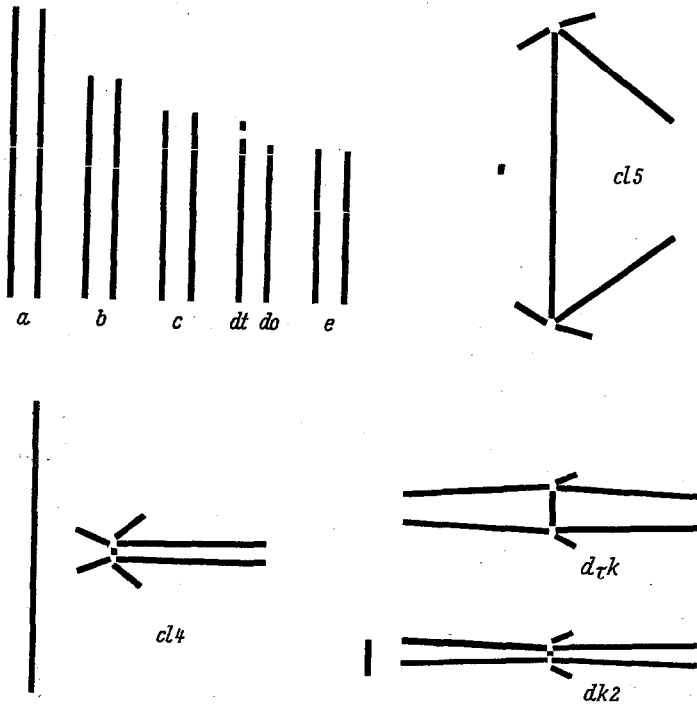


Fig. 2. Oben links: Schema des haploiden Chromosomensatzes. Rechts und unten: Schemata extremer Inversionsbilder.

enthaltende Pollenkörner besaß, was nicht allein durch Inversionen erklärt werden kann, sondern das Vorkommen von zahlreichen Univalenten anzeigt. Möglicherweise würde also eine größere Statistik zeigen, daß die Oberseepflanzen reicher an diesen Störungen als die Unterseepflanzen sind.

#### IV. Die Inversionsbilder bei der Pollenreife

##### 1. Allgemeines

Als „Inversionsbild“ sei das mikroskopische Aussehen eines Chromosomenpaares mit einer (oder mehreren) heterozygotischen Inversion bezeichnet, welches es in der I. meiotischen Anaphase bietet, wenn in der Inversion (oder den

Inversionen) allein oder außerdem proximal crossing-over eintritt, also dizentrische Chromatiden und Fragmente entstehen. Nicht jede Art von crossing-over in einer Inversion muß allerdings ein Inversionsbild ergeben: so liefern zwei reziproke crossing-over in der Inversion mit oder ohne weiteres proximales crossing-over zwei normale Chromatiden<sup>1)</sup>. Hieraus ergibt sich, daß die Statistik kein genaues Bild der in den Inversionen abgelaufenen crossing-over geben kann. Für die Feststellung des Sterilitätsgrades kommt es jedoch allein auf die Anzahl der Inversionsbilder an, da in den anderen Fällen Chromatiden entstehen, die sich weiterhin normal verhalten.

Auch aus anderen Gründen ergibt die Registrierung der Inversionsbilder nur ein unvollkommenes Bild des qualitativen und quantitativen Inversionsbestandes der untersuchten Pflanze. Homozygotisch vorhandene Inversionen lassen sich überhaupt nicht erkennen. Aber auch im Fall von Heterozygotie können Inversionsbilder nicht oder nur selten zur Beobachtung gelangen, wenn die Inversion so kurz ist, daß nur selten echte Paarung unter Schlingenbildung eintritt oder die Wahrscheinlichkeit gering ist, daß in sie ein Chiasma fällt. Diese Wahrscheinlichkeit hängt aber außer von der Länge auch von der Lage der Inversion auf dem Chromosomenarm ab, da *Paris* zum Teil lokalisierte Chiasmata besitzt.

Eine andersartige Schwierigkeit liegt in dem Erkennen einer Inversion aus dem Inversionsbild. *Paris quadrifolia* ist eine tetraploide Art und besitzt haploid 10 Chromosomen (Fig. 2), von denen je zwei einander gleich oder fast gleich sind; nur die Trabantenchromosomen ( $d_1$  und  $d_0$ ) lassen sich meist mit Sicherheit unterscheiden, während die Unterscheidung bei den c-Chromosomen nur gelegentlich möglich ist (vgl. die 1. Mittlg.). Es muß daher, abgesehen von den in den d-Chromosomen auftretenden Inversionsbildern, im allgemeinen unentschieden bleiben, ob sie auf einer einzigen Inversion in einem Chromosom oder auf zwei Inversionen in den homologen Paaren beruhen. Eine Entscheidung ist nur dann möglich, wenn in einer Pollenmutterzelle zwei gleiche Inversionsbilder auftreten („homologe“ Inversionsbilder), wie dies einmal tatsächlich gefunden wurde (Fig. 14a). Für die Inversionsbilder der a-Chromosomen läßt sich nicht einmal entscheiden, in welchem Arm die Inversion lokalisiert ist, da die Arme praktisch gleich lang sind.

Im besonderen haftet der Statistik dadurch ein Fehler an, daß verschiedene Inversionsbilder verschieden gut identifizierbar sind. Manche charakteristische Bilder sind noch in den späten Anaphasestadien sicher interpretierbar, während dies für andere nicht möglich ist (so sind bei Inversionsbildern mit langen Brücken infolge des fast ungehinderten Auseinanderweichens die Arme an den Polen von anderen Chromosomen meist verdeckt, ebenso lassen sich dann b- und e-Chromosomen oft nicht sicher unterscheiden).

Trotz diesen Schwierigkeiten, die einer qualitativen und quantitativen Auswertung der Inversionsbilder entgegenstehen, ist ihre Untersuchung doch von Interesse: denn kein anderer Organismus gestattet eine so weitgehende Inversionsanalyse, und ermöglicht einen derartigen, wenn auch nur beschränkten Einblick in das innere Gefüge einer natürlichen Art.

<sup>1)</sup> Vgl. die übersichtliche Darstellung bei DARLINGTON, S. 266 ff.

In der 1. Mittlg. wurde über Inversionsbilder berichtet, die sich auf 21 identifizierbare Inversionen zurückführen lassen<sup>1)</sup>. Die vorliegende Mittlg. erhöht die Anzahl der in den Lunzer Beständen auftretenden Inversionsbilder auf 43. Diesen Bildern liegen mindestens 45 Inversionen zugrunde, da cl4 und a5 (s. die 1. Mittlg.) in einer Pollenmutterzelle zweimal gefunden wurden. Sehr wahrscheinlich bedeutet auch a1 mehr als eine Inversion, da dieses Bild in der Pflanze VIII/12 in einer außergewöhnlich hohen Häufigkeit auftritt (Tab. 1); es bleibt allerdings unentschieden, ob zwei homologe Inversionen (in verschiedenen

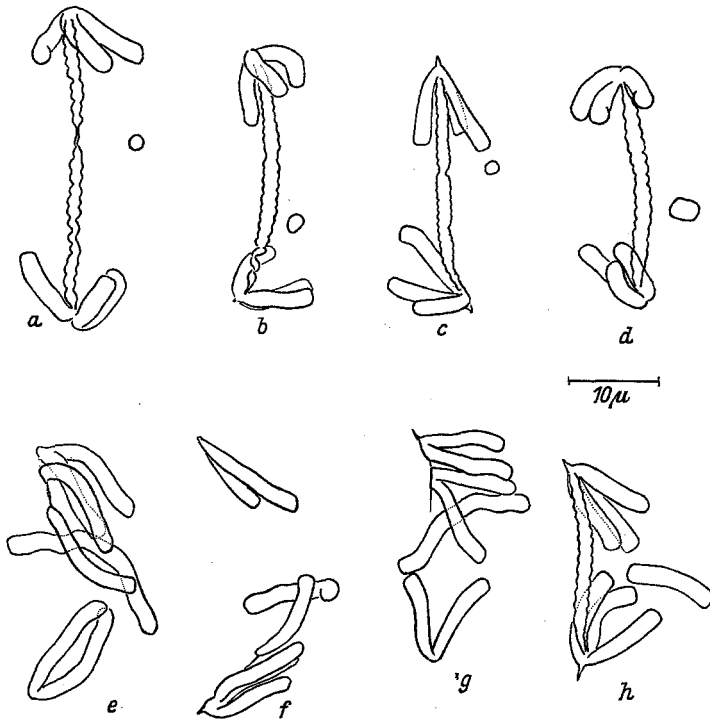


Fig. 3. Inversionsbilder in a. a—c a6, d a3, e—g a1, h a7. a aus VIII/12, b aus XVII/3, c aus O/14, d aus VIII/7, e aus I/4, f aus XVI/2, h aus O/14.

Paaren) oder zwei zufällig gleiche Inversionen in den Armen eines a-Chromosoms vorliegen.

Im Unterschied zu den Inversionsbildern des Vorjahrs, die nur aus einfachen Brücken- und Fragmentbildungen bestanden, fand sich nunmehr auch Bildung einer dizentrischen Schleifenchromatide plus ein Fragment (kann entstehen durch Bildung eines Chiasmas, das proximal von der Inversion liegt und

<sup>1)</sup> Die Inversionsbilder werden wie in der 1. Mittlg. folgenderweise benannt: der erste Buchstabe bezeichnet das Chromosom, der zweite den Arm (l = lang, k = kurz), die Ziffern sind willkürlich zur Unterscheidung der im gleichen Arm gelegenen Inversionsbilder verwendet.



in bezug auf ein Chiasma in der Inversion disparat ist) und — sehr selten — Bildung zweier Brücken und zweier Fragmente (zwei komplementäre Chiasmata in der Inversion). Fünfmal wurden Bilder beobachtet, die als reziproke oder einfache Translokationen von Inversionen deutbar sind (Fig. 14*d-f*).

Ohne die Translokationsfälle gerechnet, wurden 1427 identifizierbare Inversionsbilder beobachtet (Tab. 1, 2). Auf den Fig. 3—12 sind die wichtigsten mehrmals dargestellt, um das typische Aussehen in verschiedenen Zellen und

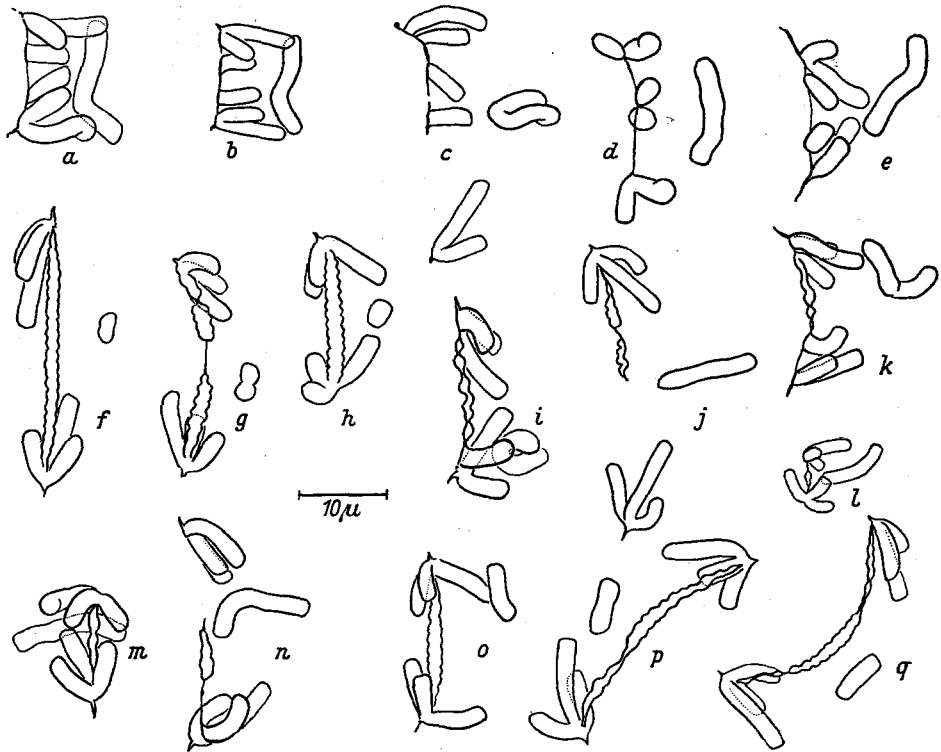


Fig. 4. Inversionsbilder in bl. *a-e* bl1 (*a* aus VIII/20, *b-c* aus O/14, *d* aus XVII/4, *e* aus V/3), *f-h* bl2 (*f* aus O/13, *g* aus XVI/2, *h* aus V/3), *i-j* bl3 (*i* aus XVII/7, *j* aus I/1), *k-n* bl4 (*k, m, n* aus O/14, *l* aus V/2 — Bendafixierung, daher kleiner! —), *o-q* bl5 (*o* aus x/30, *p, q* aus O/14).

Pflanzen und bei verschiedenem Habitus zu zeigen (der Habitus hängt hauptsächlich von der Fixierung — dem Quellungsgrad — und der Zerrung ab). Von der Sicherheit, mit der die Identifizierung in den meisten Fällen möglich ist, geben die Figuren allerdings nur eine ungefähre Vorstellung; denn bei der unmittelbaren Beobachtung können die optischen Verkürzungen, der Quellungs-zustand, die Windungszahl der Großspiralen, zufällige Zerrungen u. dgl. m. entsprechend berücksichtigt werden<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Daß einige Inversionsbilder falsch bestimmt wurden, ist natürlich nicht ganz ausgeschlossen; doch wäre dies für das Gesamtbild sicher unwesentlich.

## 2. Schilderung der einfachen Inversionsbilder

a-Chromosomen. (Fig. 3). Die Anzahl der verschiedenen Inversionsbilder (in beiden nicht unterscheidbaren Armen) beträgt 7 (a1—a7). Davon wurden a1—a5 schon im Vorjahr in anderen Pflanzen gefunden. Die Anzahl der Inversionen muß jedoch mindestens 8 betragen, da a5 in einer Pollenmutterzelle zweimal beobachtet wurde (l. Mittlg. Fig. 1*h*, *i*). Wie bereits erwähnt, deutet die hohe Frequenz in der Pflanze VIII/12 darauf hin, daß auch a1 zwei Inversionen entspricht.

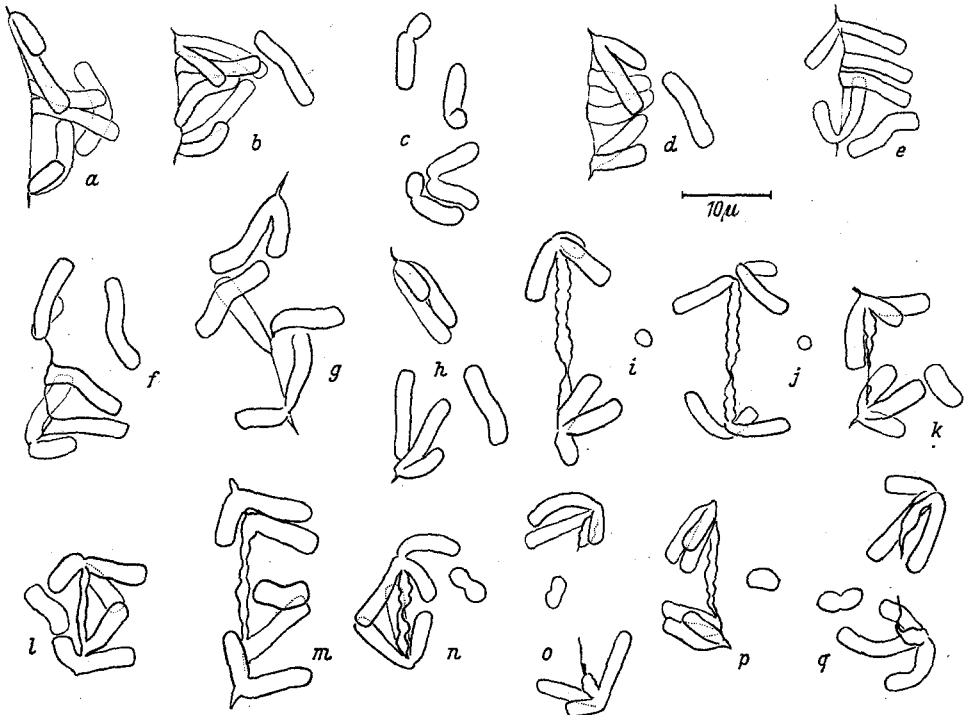


Fig. 5. Inversionsbilder in bk. a—h bk1 (a aus I/3, b, d—h aus O/14, c aus VIII/7), i, j bk2 aus XVII/4 und x/30, k—m bk3 (k aus VIII/7, l, m aus VIII/12), n—q bk4 (n aus O/13, o aus x/30, p, q aus O/14).

Jedenfalls liegt dem Inversionsbild a1 eine Inversion zugrunde, die sehr kurz sein und ganz proximal liegen muß. Denn das Fragment hat praktisch die doppelte Länge zweier Arme und die Brücke — das Verbindungsstück der Spindelansätze (Centromeren) der dizentrischen Chromatide — ist ein kurzer feiner Faden (Fig. 3e—g). Die Folge der Kürze der Brücke ist, daß in der Anaphase das betreffende Paar weit zurückbleibt und vielfach die Spindelansätze der normalen Chromatiden von denen der dizentrischen sich trennen. Ein endgültiges Sich-Trennen in der späten Anaphase ist allerdings selten; vielmehr erweist sich meist der Zusammenhalt der Schwester-Spindelansätze stärker,

wobei die Brücke zerreißt, oder der eine Zusammenhalt bleibt gewahrt, so daß die dizentrische Chromatide zu einem Pol wandert.

Derartige extrem proximale Inversionen mit gleichem Verhalten treten auch in den anderen Chromosomen und zwar in beiden Armen auf („analoge“ Inversionen, bl1, bk1, cl4 usw.). Das andere Extrem solcher analoger Inversionen stellen die distal gelagerten dar, welche ein sehr kleines Fragment und eine sehr lange Brücke liefern. Im Chromosom a ist dieser Fall durch a6 gegeben (Fig. 3a—c). — Die übrigen Inversionsbilder nehmen eine Mittelstellung ein.

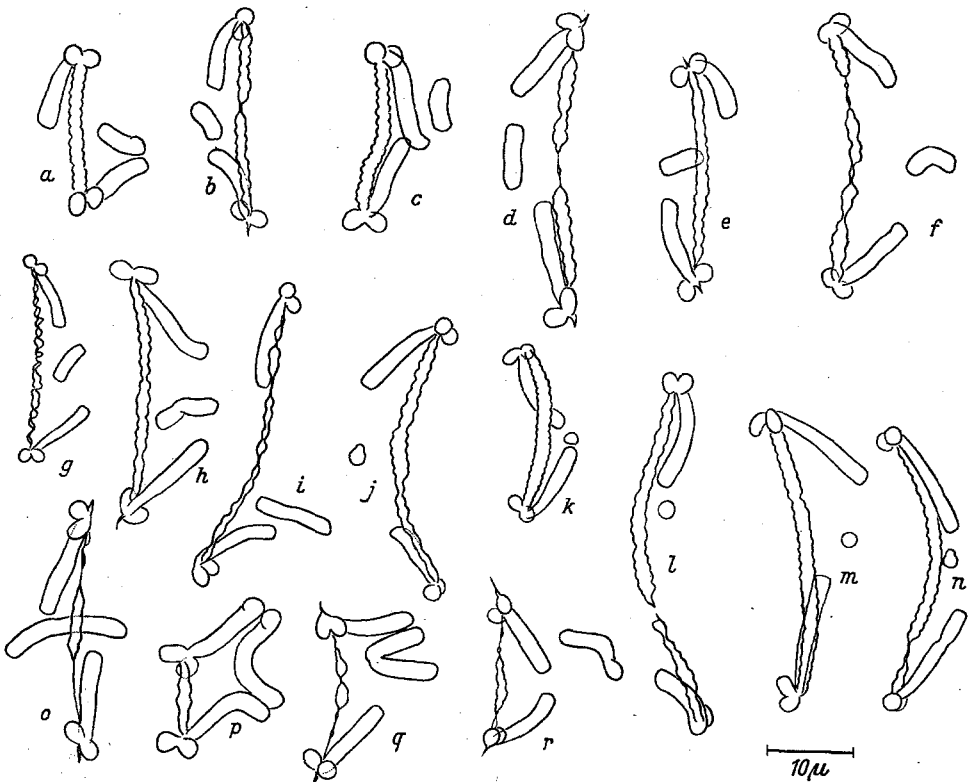


Fig. 6. Inversionsbilder in cl. a—h cl3, i cl2, j—n cl5, o—r cl1. a aus VIII/11, b aus VIII/9, c—e aus VIII/12, f aus VIII/10, g aus VIII/6, h aus O/14, i aus O/13, j aus VIII/10, k, m aus I/4, l aus I/2, n aus I/5, o aus O/13, p, q aus O/14, r aus V/3.

b-Chromosomen. (Fig. 4, 5.) Es wurden 9 Inversionsbilder, und zwar bl1—bl5 im langen, bk1—bk4 im kurzen Arm beobachtet (davon bl1, bk1, bk3 schon im Vorjahr bekannt). Die extrem proximalen Inversionen sind bl1 und bk1, die extrem distalen bl2 und bk2. Die auffallend hohe Frequenz von bk1 in der Pflanze O/14 deutet vielleicht darauf hin, daß die Inversion homolog (in beiden b-Paaren) vorhanden ist; doch ist der Schluß nicht zwingend, weil in der gleichen Pflanze dl4 in noch höherer Frequenz auftritt, aber sicher nur in einem Chromosom (in  $d_t$ ) liegt.

c-Chromosomen (Fig. 6—8, 14a). Die Anzahl der Inversionsbilder beträgt 8 (cl1—cl5 und ck1—ck3; cl1, cl2 und ck1 wurden auch im Vorjahr beobachtet). Die Bilder ck1 und ck3 sind allerdings sehr ähnlich, sie wurden zudem nur selten beobachtet, so daß es nicht ausgeschlossen ist, daß die Inversionen in Wirklichkeit identisch sind. Im übrigen ist die Anzahl der Inversionen sicher um eins höher

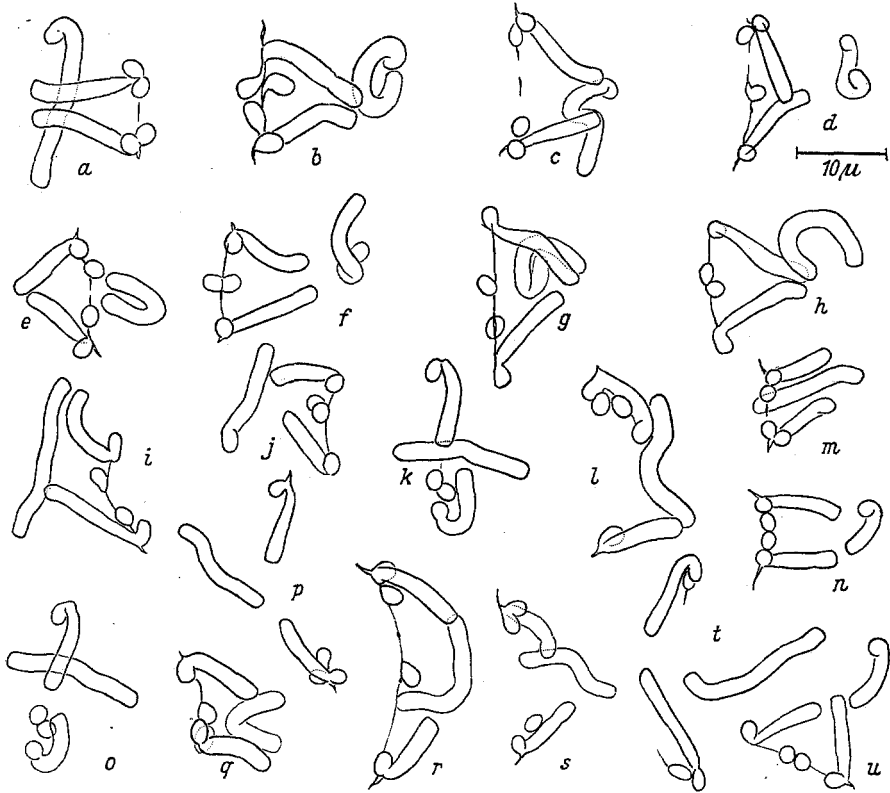


Fig. 7. Inversionsbild cl4. *a, b* aus I/1, *c, d* aus I/5, *e* aus I/2, *f, i* aus I/3, *g, h* aus I/4, *j* aus VIII/11, *k, l, o* aus VIII/12, *m* aus VIII/10, *n, s, u* aus V/3, *p* aus VIII/9, *q* aus VIII/20, *r* aus VIII/7, *t* aus O/14.

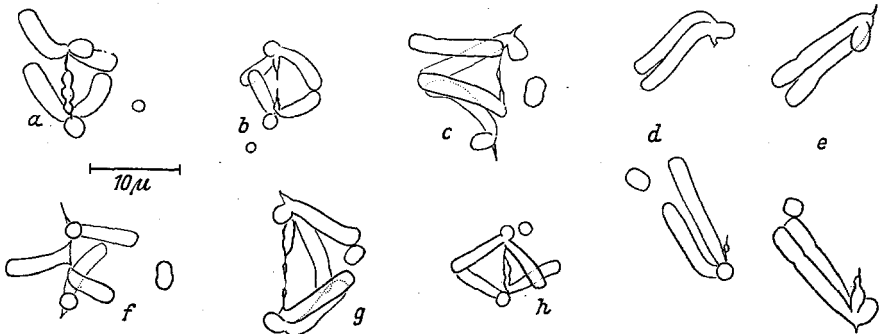


Fig. 8. Inversionsbilder in ck. *a, b* ck1 aus VIII/11 und VIII/4, *c, d, f* ck2 aus O/14 und (f) VIII/9, *e, g, h* ck3 aus O/14, VIII/12, VIII/5.

als die der Inversionsbilder, da cl4 in einer Pollenmutterzelle zweimal gesehen wurde (Fig. 14a). Es gibt also zwei homologe Inversionen cl4 und cl4'. Im Gegensatz zum Fall a5 und a5', wo die Lokalisation in einem Arm nicht möglich ist, ist die Homologie von cl4 und cl4' klar, zumal es sich um eine extrem proximale, sehr charakteristische und daher leicht identifizierbare Inversion handelt; besonders bezeichnend ist die Winzigkeit der Brücke, die ein häufiges Sichttrennen der dizentrischen Chromatide von den Schwesterchromatiden hervorruft (z. B. Fig. 7f).

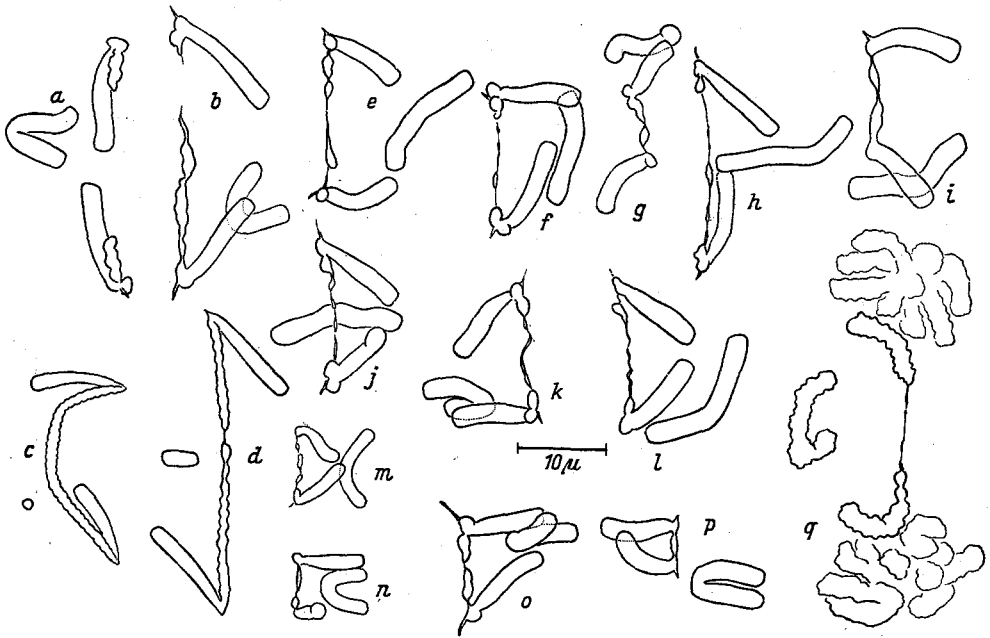


Fig. 9. Inversionsbilder in dl. a, b dl5 aus O/13 und O/14, c dl6 aus O/14, d dl2 aus O/14; l—q dl1 (beachte das verschiedene Aussehen der Brücke, das dadurch zustande kommt, daß die kurzen Arme der dizentrischen Chromatide in verschiedener Weise mitgezerrt werden und manchmal als Teil der Brücke erscheinen!), e—g, i aus VIII/7, h aus O/14, j, o aus VIII/12, k, l aus VIII/10, m, n aus VIII/4 (Bendafixierung!), p aus XVII/4, q aus VIII/11.

Die extrem proximale Inversion im kurzen Arm ist ek2, die extrem distalen im langen und kurzen Arm sind cl5 und ck1.

d-Chromosomen (Fig. 9—11). Es wurden 10 Inversionsbilder beobachtet (dl1—dl7 und d<sub>k</sub>k, dk2, dk3, davon dl1—dl4 und d<sub>k</sub>k schon im Vorjahr). dl6 und dl7 wurden allerdings nur je einmal gefunden; dl6 (Fig. 9c) ist selbst bei einmaliger Beobachtung eindeutig charakterisierbar, während dl7 ähnlich wie dl3 aussieht und vielleicht mit diesem identisch ist; wenig charakteristisch ist das zwischen dl3 und dl4 intermediäre dl5. Die extrem proximalen Inversionen sind dl1 und dk2, die extrem distalen dl6 und d<sub>k</sub>k<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> dl1 wurde in der 1. Mitteilung im Schema (Fig. 3) unrichtig abgebildet, d. h. teilweise mit dem nunmehr als dl4 bezeichneten Bild verwechselt.





Tabelle 2

Nr.	Normale PMZ	Mit Inv.bild.	%	Identifizierbare Inv.bild.
VIII 4	1290	66	4,8	80
5	122	5	4,0	4
6	675	72	9,7	52
7	1334	78	5,5	51
8	469	40	8,0	11
9	614	42	6,4	18
10	672	50	6,9	45
11	941	91	8,8	71
12	2532	303	10,6	217
20	610	20	3,1	10
I 1	1230	50	3,9	31
2	713	27	3,6	21
3	1004	51	4,8	87
4	1147	63	5,4	47
5	733	47	6,0	27
7	672	20	2,9	5
XVII 1	519	13	2,4	8
2	784	25	3,0	4
3	896	27	2,9	23
4	910	24	2,6	8
7	370	9	2,4	5
V 2	673	39	5,6	30
3	1085	52	4,6	45
4	378	11	2,8	3
5	283	19	6,3	4
XVI	415	22	5,0	13
x 30	582	15	2,5	10
31	1690	62	3,5	50
32	688	42	5,5	20
XVIII	260	13	4,9	2
·O 2	400	9	2,2	7
3	714	35	4,7	15
6	735	9	1,2	5
9	926	45	4,6	42
10	162	21	11,4	10
12	595	7	1,3	6
13	1160	100	7,9	64
14	2400	336	12,3	265
15	342	20	5,5	7
E	246	6	2,4	4
40				1427



Die d-Chromosomen sind in zweifacher Hinsicht von Interesse: erstens lassen sich die homologen Paare an der Größe des kurzen Trabantenarmes meist unterscheiden ( $d_t$  mit,  $d_o$  ohne Trabant; Fig. 2), zweitens ist das Auftreten von Chiasmata in den sehr kurzen Armen bemerkenswert.

In den langen Armen ließen sich trotz zum Teil großem Zahlenmaterial bisher keine homologen Inversionen beobachten. Vielmehr traten die Inversionsbilder — abgesehen von der unsicheren Ausnahme dl3 — immer in dem gleichen Chromosom auf, und zwar in folgender Verteilung:  $d_{t11}$ ,  $d_{o12}$ ,  $d_{t14}$ ,  $d_{t15}$ ,  $d_{o16}$ ,  $d_{t17}$ . Nur dl3 kommt anscheinend sowohl in  $d_o$  wie in  $d_t$  vor (Fig. 13g und l. Mitteilung); das Beobachtungsmaterial ist aber noch zu gering, um eine sichere Aussage zu ermöglichen.

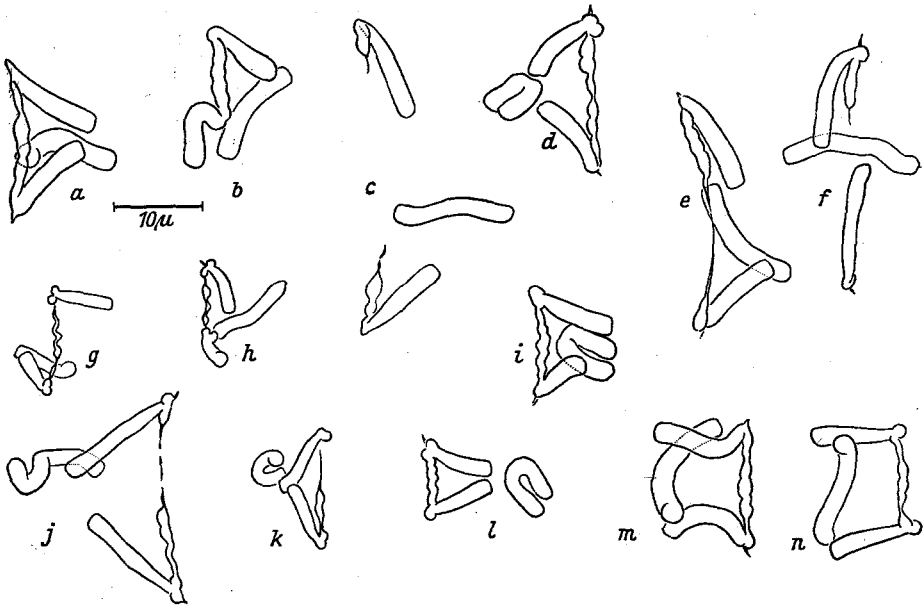


Fig. 10. dl4, a aus a, b aus VIII/7, c—e, i aus VIII/12, f, j aus O/14, g, h, k aus VIII/4 (Bendafixierung!), l aus V/3, m aus I/1, n aus O/10.

Besonders auffallend ist die hohe Frequenz von dl4 in der Pflanze O/14 (Tab. 1). Während die ebenfalls große Häufigkeit von dl1 und dl5 in der gleichen Pflanze und von dl1 in VIII/12 durch die proximale Lage der Inversion und die große Wahrscheinlichkeit des Hineinfallens eines hier lokalisierten Chiasmata erklärt werden könnte, versagt diese Vorstellung für dl4. Als Hilfsannahme könnte zur Erklärung dienen, daß die Inversion dl4 besonders lang ist und dadurch die Wahrscheinlichkeit der Bildung eines (oder mehrerer Chiasmata) in ihr besonders hoch ist, woraus sich auch die Häufigkeit der Schlingenbildung ergäbe (Fig. 13d, S. 180); doch ist dann nicht einzusehen, weshalb dl4 in anderen Pflanzen nicht in gleicher Häufigkeit auftritt; es läßt sich nur ad hoc annehmen, daß individuelle Unterschiede in verschiedenen Pflanzen die Häufigkeit und Lokalisation der Chiasmata mitbestimmen.

Im kurzen Arm des  $d_t$ -Chromosoms wurden im Vorjahr als  $d_k$  bezeichnete Inversionsbilder gefunden. Die genauere Analyse des vorliegenden Materials ergab, daß mehrere, zumindest zwei, wahrscheinlich aber drei, Inversionsbilder vorkommen.  $d_k$  im eigentlichen Sinn ist dadurch gekennzeichnet, daß die Brücke relativ groß, das Fragment winzig klein ist (Fig. 11a—f). Im Unterschied hierzu tritt, und zwar in  $d_0$ , ein Inversionsbild mit sehr kurzer Brücke — daher häufiger Trennung der Schwesterchromatiden (Fig. 11g—m) — und relativ großem Fragment auf. Im Gegensatz zu  $d_k$  muß  $dk_2$  extrem proximal liegen (vgl. auch Fig. 2). In zwei Fällen schien  $dk_2$  in  $d_t$  aufzutreten (Fig. 11i); es liegen also

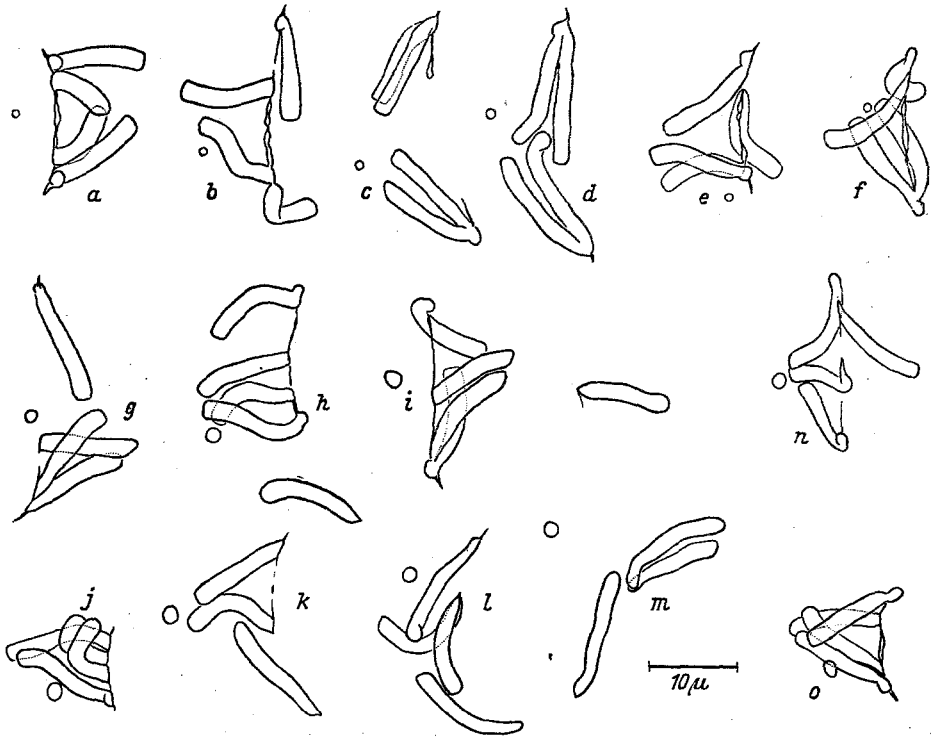


Fig. 11. Inversionsbilder in  $dk$ . a—f  $d_k$  (a in VIII/7, b—e in O/14, f in O/9), g—m  $dk_2$  (g—k, m in O/14, l in O/9), n, o  $dk_3$  aus O/13.

vielleicht zwei homologe Inversionen  $d_0k_2$  und  $d_kk_2$  vor, was sich aber infolge des geringen Materials und der Schwierigkeit der Beobachtungen besonders in den kurzen Armen nicht sichern läßt. In der Pflanze O/13 wurde noch ein ähnliches Inversionsbild in  $d_t$  beobachtet ( $dk_3$ , Fig. 11n, o), das durch eine größere Brücke gekennzeichnet ist; infolge der geringen Zahl der beobachteten Fälle ist dieses Inversionsbild etwas unsicher.

e-Chromosomen. Es kommen 9 Inversionsbilder vor (el1—el5, ek1—ek4; im Vorjahr el1, el2, ek1, ek2 beobachtet); die extrem proximalen sind el5 und ek3, eine extrem distale Inversion wurde nur im kurzen Arm (ek4) gefunden (Fig. 12). Homologe Inversionen wurden nicht beobachtet.

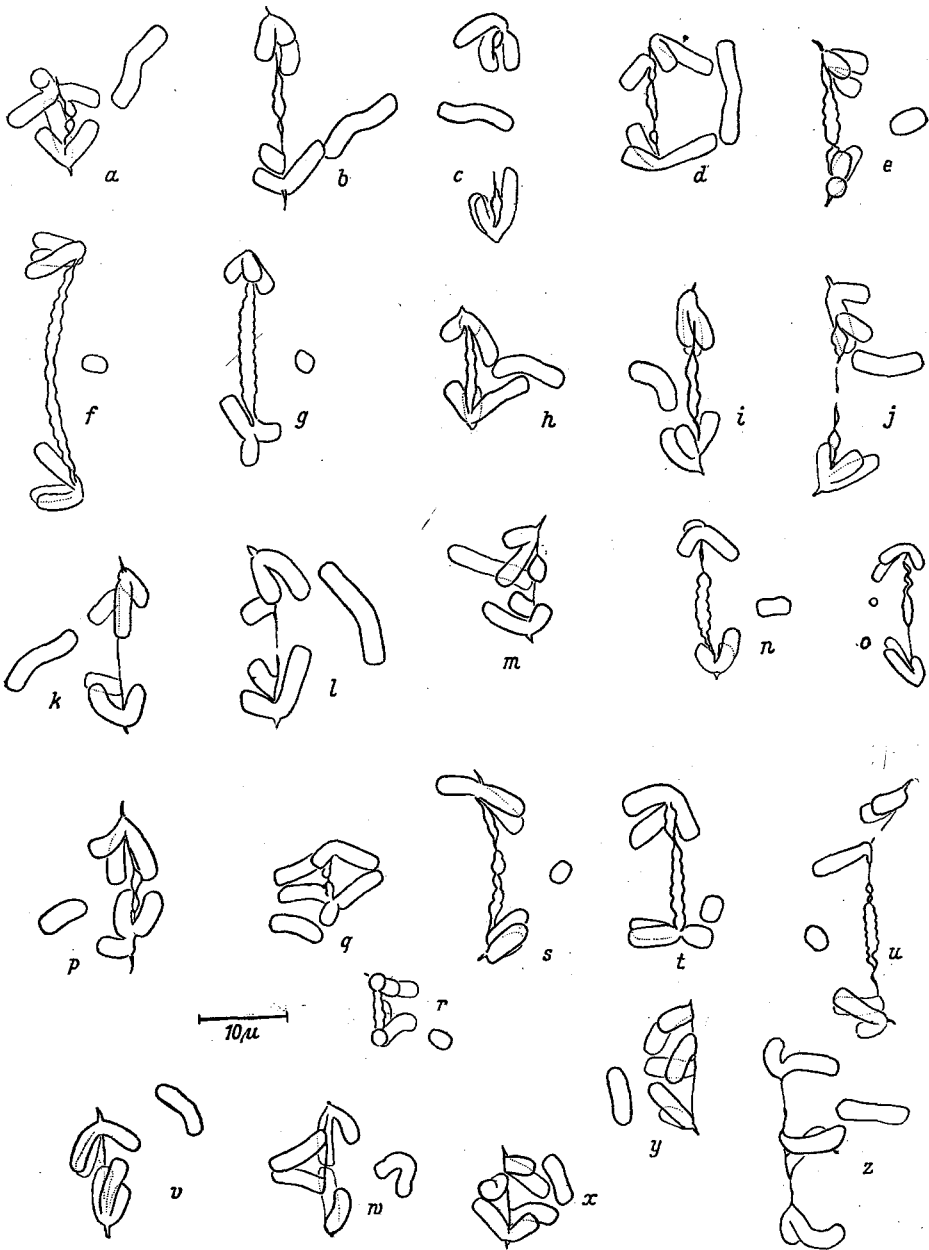


Fig. 12. Inversionsbilder in el und ek. a—d el1 aus O/14 und (c) O/10, e, n el2 aus XVII/3, f, g el3 aus VIII/7 und XVII/3, h—j el4 aus I/4, O/14 und O/6, k—m el5 aus VIII/12, x/31 und V/3; o ek4 aus VIII/4, p—q ek1 aus V/3 und I/3, r—u ek2 aus x/31, V/3, I/4 und O/14, v—z ek3 aus O/14, I/5, V/3, VIII/12 und I/4.

## 3. Kompliziertere Inversionsbilder

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle besteht das Inversionsbild in der I. Anaphase aus zwei zu verschiedenen Polen gehenden normalen Chromatiden, aus einer dizentrischen Chromatide und einem Fragment (Entstehung im einfachsten Fall durch ein einziges Chiasma in der Inversion). Die Wahrscheinlichkeit, daß in beiden Armen eines Chromosoms Inversionsbilder auftreten, ist sehr gering; es wurden nur zwei derartige Fälle gefunden (Fig. 14*b, c*).

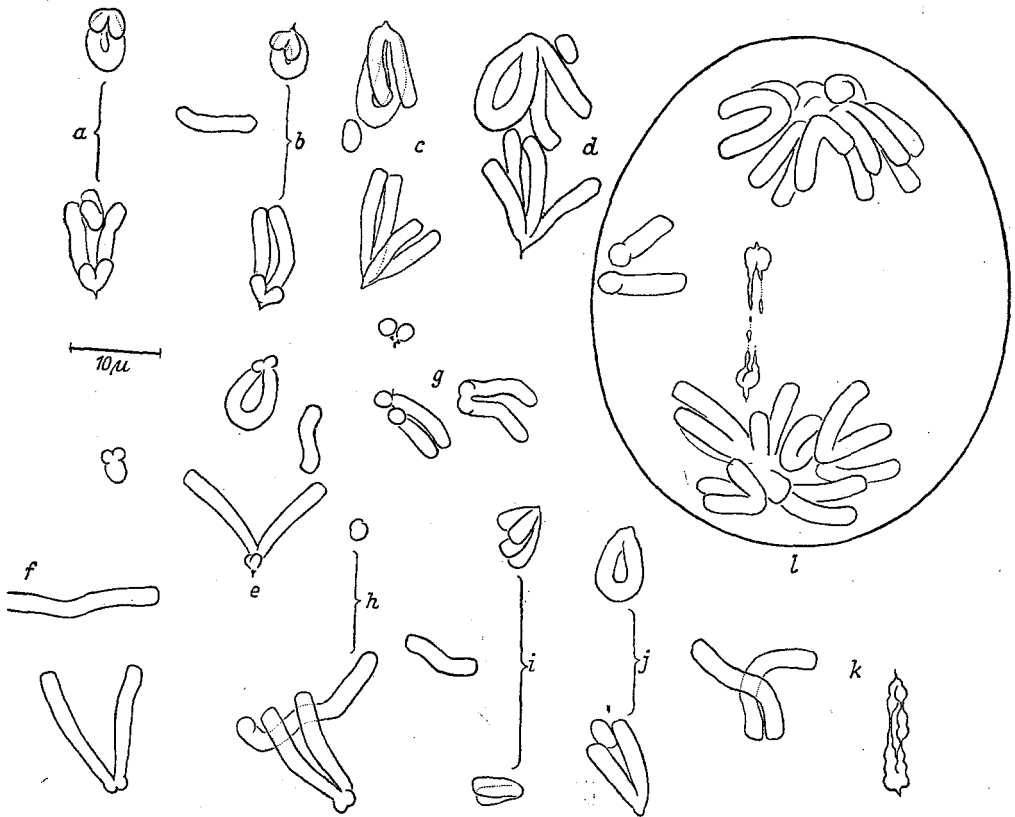


Fig. 13. Kompliziertere Inversionsbilder. *a—j* Bildung einer Schleifenchromatide und eines Fragments: *a* cl3 aus O/14, *b* cl2 aus O/14, *c* a3 aus XVII/1, *d* a3 aus O/14, *e* dl7 aus O/13, *f* dl4 aus O/14, *g* cl4 aus O/14, *h* dl1 aus O/14, *i* el5 aus O/14, *j* dl2 aus V/3; *k, l* Bildung zweier Brücken und zweier Fragmente: *k* dl4 aus O/14, *l* dl1 aus VIII/12.

Am nächsthäufigsten nach diesen „einfachen“ Inversionsbildern sind die Bilder, die aus zwei zum gleichen Pol gehenden normalen Chromatiden, einer Schlingenchromatide am anderen Pol und einem Fragment bestehen (Fig. 13*a—j*; Entstehung im einfachsten Fall durch ein proximales Chiasma, das in bezug auf ein Chiasma in der Inversion disparat ist). Dieses Verhalten wurde 30mal beobachtet und zwar an den Bildern a1, bk2, cl4, dl1, dl2, dl4, dl7, el1 je einmal, an a3, cl3, dl5 je zweimal, an dl4 16mal (15mal in O/14!). Das Vorkommen von

Schlingenchromatiden auch im Fall extrem proximaler, also sehr kurzer Inversionen, zeigt, daß auf engstem Raum Chiasmata beisammen liegen können. Solche Chiasmata unmittelbar zu sehen, ist praktisch ausgeschlossen, die Chiasmastatistik muß also zu niedrig ausfallen. Im übrigen erzeugen die extrem proximalen Inversionen eigenartige und zunächst unverständliche Bilder, da die Schlinge von der winzigen Brücke gebildet wird und daher meist gar nicht gesehen werden kann.

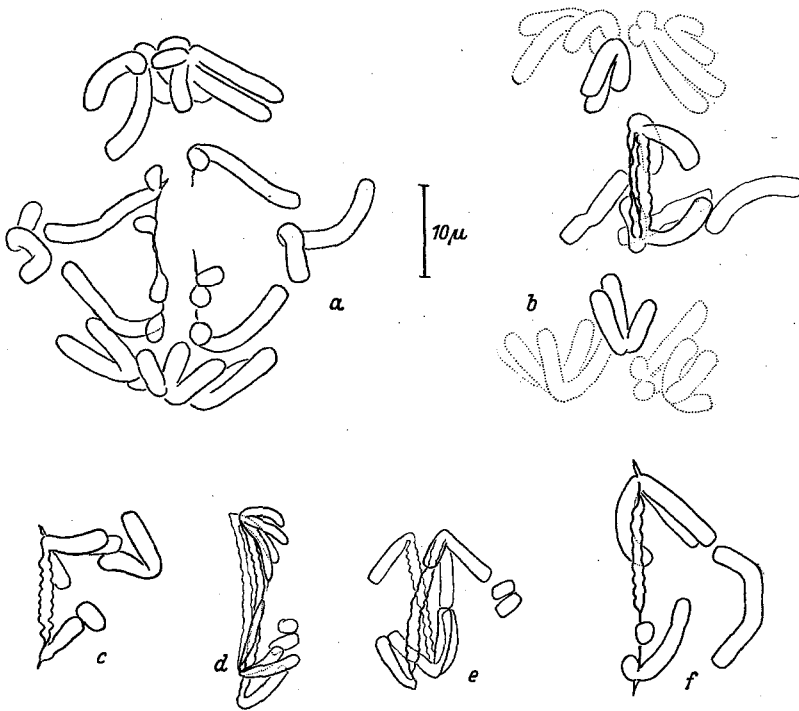


Fig. 14. *a* cl4 zweimal in einer Pollenmutterzelle; *b* drei einfache Inversionsbilder in einer Pollenmutterzelle: links Fragment von bk1, an den Polen die dazugehörigen Chromatiden, in der Mitte a5 und a2 in einem Paar, dazu die beiden Fragmente (a2 ganz rechts); *c* zwei Inversionsbilder in einem Paar: bk4 mit großer Brücke und kleinem Fragment (rechts unten), bl1 mit großem Fragment (rechts oben), die Brücke als — unsichtbare — Schleife ausgebildet, daher die beiden normalen Chromatiden am einen Pol (oben); *d*, *e* Inversionsbild, an dem zwei Chromosomenpaare (*a* und *d*) beteiligt sind, erklärbar durch reziproke Translokation (Bendafixierung); *f* Inversionsbild mit Beteiligung eines *a*- und eines *c*-Chromosoms.

Nur zweimal wurden Inversionsbilder gefunden, die aus zwei dizentrischen Chromatiden und zwei Fragmenten bestanden (Fig. 13*k*, *l*; Entstehung: zwei komplementäre Chiasmata in der Inversion).

Ein eigenartiges Inversionsbild mit Beteiligung zweier Chromosomenpaare (*a* und *d*) wurde je einmal in VIII/4, VIII/5 und x32 beobachtet (Fig. 14*d*, *e*). Es erklärt sich unter der Annahme, daß crossing-over in einer reziproken Trans-

lokation zweier Inversionen stattgefunden hat; es handelt sich offenbar um a3 und dl2. Da in der einen Pflanze a3 auch nicht transloziert vorhanden ist, muß angenommen werden, daß a3 zweimal vorkommt (entweder als homologe Inversion oder auf verschiedenen Armen bei zufällig gleichem Aussehen). — Einmal wurde ferner ein Inversionsbild beobachtet, an dessen Bildung ein a- und ein c-Chromosom beteiligt war (Fig. 14f) und einmal ein ähnliches Bild zwischen einem c- und e-Chromosom. Beide Fälle sind durch einfache Translokation einer Inversion erklärbar.

#### 4. Häufigkeit und Verteilung der Inversionsbilder

Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß die relative Häufigkeit der Inversionsbilder in verschiedenen Pflanzen oft sehr verschieden ist. In einigen Fällen genügenden Zahlenmaterials ist die Häufigkeit der proximalen Inversionen relativ hoch, wie es in Anbetracht des Überwiegens proximal lokalisierter Chiasmata zu erwarten ist (vgl. das nächste Kap.). Die hohe Frequenz von cl4 in I/3 erklärt sich daraus, daß zwei homologe Inversionen vorhanden sind; wahrscheinlich die gleiche Ursache liegt auch in einigen anderen Fällen vor. Die sehr hohe Frequenz von dl4 in O/14 bleibt dagegen wie erwähnt rätselhaft.

Die Verteilung der Inversionsbilder in den Pflanzen des Schloßparks läßt erkennen, daß vielfach die Ähnlichkeiten in der Zusammensetzung des Inversionsbestandes zwischen Pflanzen der gleichen Kolonie größer als zwischen denen verschiedener Kolonien sind. So kann das Fehlen von bk4 in I, V, VIII, XVII und aller ck-Inversionen in I, V, XVI, XVII kein Zufall sein. Dies spricht dafür, daß die Pflanzen einer Kolonie vorwiegend vegetativ auseinander entstanden sind (daß außerdem auch Samenkeimung vorkommt, wurde schon erwähnt).

Der Heterozygotiegrad ist im allgemeinen sehr hoch. Geringe Heterozygotie ist offenbar nur für die Pflanze O/12 anzunehmen, da nur 1,1 % Inversionsbilder auftreten, obwohl die Chiasmahäufigkeit normal ist und fast keine Univalentenbildung (vgl. nächstes Kap.) stattfand; die niedrige Frequenz der Inversionsbilder in einigen anderen Pflanzen — O/6 mit 1,2 %, O/2 mit 2,2 % usw. (s. Tab. 2) — ist dagegen hauptsächlich durch hohen Paarungsausfall bedingt.

### V. Das Paarungsverhalten

#### I. Chiasmata

Das auffallendste Kennzeichen der Chiasmabildung von *Paris quadrifolia* besteht in dem Auftreten proximal lokalisierter Chiasmata. In der Regel liegt zu beiden Seiten des Spindelansatzes je ein Chiasma (Fig. 1 rechts). Außerdem kommen in einigen Armen in wechselnder Anzahl interstitielle, manchmal auch stark distale Chiasmata vor. Allen Chiasmata ist gemeinsam, daß sie nicht terminalisieren.

Die Chiasmahäufigkeit ist sehr groß, wohl hauptsächlich durch Außenumstände bedingten individuellen Schwankungen unterworfen. Die höchste bisher beobachtete Frequenz (in den Pollenmutterzellen von VIII/12) betrug 20 prox. + 11 interst.; als Regel kann die Formel 20 prox. + 6, 7, oder 8 int.

gelten. Die Verteilung der interstitiellen Chiasmata über die Chromosomen des Satzes ist unregelmäßig; meist treten in zwei oder drei Chromosomen interstitielle Chiasmata auf, während sie in den anderen überhaupt fehlen. Die Maximalzahl der interstitiellen Chiasmata in einem Arm beträgt drei, meist sind nur eines oder zwei vorhanden. Oft ist die Gesamtzahl der interstitiellen Chiasmata auch niedriger, außerdem treten in allen Pflanzen Ausfälle von proximalen Chiasmata auf, wobei entweder beide in einem Chromosom gelegenen ausfallen, so daß zwei Univalente entstehen, oder nur ein proximales Chiasma ausfällt (vgl. weiter unten).

## 2. Univalente

Die geschilderten Verhältnisse zeigen, daß *Paris quadrifolia* unvollständige Paarung besitzt: annähernd regelmäßige Chiasmabildung erfolgt nur zu beiden Seiten des Spindelansatzes, während die zusätzliche Bildung interstitieller Chiasmata ganz unregelmäßig ist.

Diese konstitutionelle Unvollkommenheit der Paarung wird in manchen Pflanzen — anscheinend durch extreme Außenbedingungen — abnorm gesteigert. Während in Pflanzen mit normaler Chiasmafrequenz höchstens ein „Paar“ je Pollenmutterzelle ungepaart bleibt, und solche Pollenmutterzellen in der geringen Menge von 1,2—1,7 % auftreten, können in anderen Pflanzen zwei oder drei „Paare“ je Zelle als Univalente vorhanden sein, und der Prozentsatz der Pollenmutterzellen mit Univalenten kann sich bis auf 73,5 % erhöhen. Dieses Maximum der Bindungsausfälle fand sich in der Pflanze O/2. In ihr besaßen außerdem viele Chromosomen nur ein proximales Chiasma, und interstitielle Chiasmata waren meist je Zelle nur in der Einzahl vorhanden (Formeln z. B. 13 prox. + 1 int., 16 + 1,20 + 1). Univalente in höheren Mengen wurden außerdem festgestellt in den Oberseepflanzen O/6 (normale PMZ 168, PMZ mit Univalenten 26 = 13 %), O/12 (232 : 14 = 5,6 %), O/13 (118 : 5 = 4 %), O/14 (220 : 15 = 6,8 %) und in den Unterseepflanzen I/1 (1050 : 104 = 9 %), I/3 (336 : 64 = 16 %), XVII/1 (186 : 13 = 6,5 %), XVII/4 (530 : 107 = 16,7 %), XVII/7 (710 : 65 = 8,4 %). In niedrigeren Prozentsätzen treten, wie erwähnt, Univalente in allen Pflanzen auf.

Das Verhalten der Univalenten in der I. Anaphase ist wechselnd und hängt vom Verhalten vor der I. Metaphase ab (Fig. 15). Die Dyaden können bereits in der Prometaphase völlig getrennt sein, liegen dann aber in der Regel noch nahe beisammen; es besteht also von anfang an eine gewisse Anziehung, und ausnahmsweise kommen auch „Paare“ vor, die nicht durch Chiasmata verbunden sind (vgl. dazu MATSUURA). Die getrennten Dyaden wandern bis zur I. Metaphase entweder an verschiedene Spindelpole oder zeigen unregelmäßige Verteilung, indem beide nahe vom Äquator an beliebigen Stellen liegen oder die eine am Äquator, die andere am Pol sich befindet. Annähernd regelmäßig im Äquator eingeordnete Dyaden sind selten. In der Pflanze O/2 mit maximalem Bindungsausfall betrug das Verhältnis von an verschiedenen Polen liegenden zu anders liegenden Univalenten 35 : 43.

Die vor der I. Metaphase durchgeführte Wanderung der Dyaden an verschiedene Pole unterscheidet sich von einer echten Anaphasebewegung zunächst

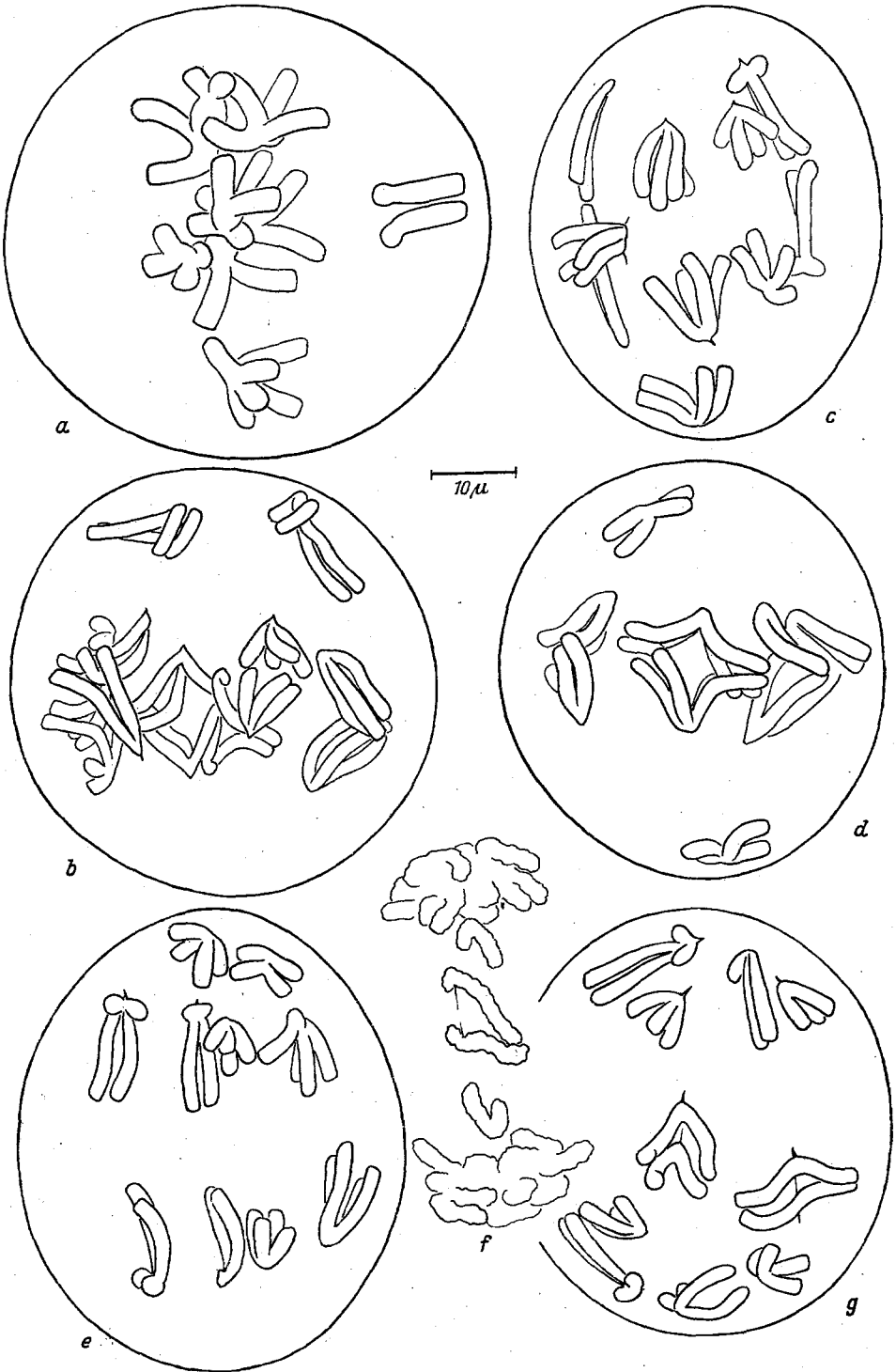


Fig. 15 (Erklärung nebenstehend)



durch ihre Unregelmäßigkeit; meist liegen die Dyaden nicht genau einander gegenüber (Fig. 15*d*). Außerdem spreizen die Chromatiden nicht auseinander und der Spindelansatz ist nicht in der typischen Weise ausgezogen. Die Dyaden zeigen somit das für die I. Metaphase bezeichnende Aussehen, das auch die übrigen Chromosomenpaare der Zelle besitzen. Dies ändert sich sofort, wenn die Anaphase einsetzt; gleichzeitig mit ihrem Beginn in den normalen Paaren wird in den Univalenten der Spalt zwischen den Chromatiden deutlich und die Chromatidenarme spreizen auseinander (vgl. Fig. 15*a* mit *b—e, g*).

Dyaden, die schon vor der Metaphase an die Pole — gleiche oder verschiedene — gelangt waren, bewegen sich in der Anaphase nicht, während die von den Polen weiter entfernten mehr oder weniger geregelt zu den Polen hinwandern. Bei beiderlei Dyaden bleiben die Chromatiden am Spindelansatz verbunden. Die im Äquator befindlichen Dyaden bleiben dagegen bis zur späten Anaphase unentschieden liegen; bei manchen erfolgt eine Spaltung des Spindelansatzes, wodurch sich die Schwesterchromatiden trennen und schließlich unter Nachhinken zu verschiedenen Polen gehen (Fig. 15*g*); bei anderen wird die Spaltung nicht zu Ende geführt und die ganze Dyade wandert schließlich doch zu einem Pol; wieder in anderen Fällen bleibt die Dyade im Äquator liegen (Fig. 15*f*) oder eine Chromatide wandert zum Pol, die andere bleibt zurück.

Die Zahl der in der Anaphase sich spaltenden, also während der Metaphase im Äquator liegenden Univalenten ist wesentlich geringer als die der anders verteilten Univalenten. In Pflanzen mit geringer Univalentenbildung sind sie meist zahlenmäßig nicht erfaßbar, während sie in Pflanzen mit hohem Bindungsausfall sehr auffallend werden; so betrug in O/2 das Verhältnis der gesamten Univalenten zu den sich spaltenden 73,5 % : 7,3 %, in O/6 13 % : 3,4 %.

### 3. Verhalten der Centromeren (Spindelansätze)

Die Spaltung der äquatorialen Univalenten ist ein unvollkommener Vorgang, der vielfach überhaupt nicht zu Ende geführt wird. Die Trennung der Schwestercentromeren zu jenem Zeitpunkt des Zellenlebens, wo eigentlich Trennung der Partnercentromeren erfolgen sollte, tritt anscheinend nur unter großen Schwierigkeiten ein. Nicht selten kann man in späten Anaphasen eine Dyade in Spaltung befindlich und ihre Chromatiden zu verschiedenen Polen wandern sehen, während die Partnerdyade ungespalten im Äquator liegt.

Im ganzen ergibt sich, daß das unterschiedliche Verhalten der Spindelansätze (Trennung oder Beisammenbleiben der Centromeren) von der Lage in

Fig. 15. Univalentenbildung. *a* I. Metaphase aus XVII/4: rechts am Spindelpol ein ungepaartes c-, „Paar“. *b* frühe I. Anaphase, an einem Pol zwei a-Univalente (aus I/1). *c* mittlere Anaphase, ein a-Univalent im Äquator, das andere an einem Pol; *d* frühe Anaphase, zwei a-Univalente an verschiedenen Polen, nicht genau in der Richtung der Spindelachse liegend; *e* mittlere Anaphase, zwei e-Univalente an einem Pol; *f* frühe Telophase, ein im Äquator zurückgebliebenes c-Univalent in Spaltung, die Chromatiden eines gespaltenen e-Univalents an den Polen angekommen; *g* späte Anaphase, zwei zurückgebliebene a-Univalente in Spaltung (*c—g* aus O/6).

der Spindel abhängt: bei äquatorialer Lage wird die Spaltung durchgeführt oder wenigstens versucht, im anderen Fall unterbleibt sie völlig (analoge Beobachtungen machte RIBBANDS an den Univalenten eines *Lilium*-Bastardes).

Es ergibt sich daraus, daß die Schwesterspindelansätze in den normalen Dyaden der I. Anaphase zwar wie ein einziger Spindelansatz sich verhalten, daß sie aber tatsächlich doppelt sind und bei Fehlen eines Partners und geeigneter (äquatorialer) Lage in der Spindel auch entsprechend funktionieren können. Der Doppelbau der Spindelansätze läßt sich bei *Paris* morphologisch nicht beweisen (für den Salamander *Amphiuma* ist dies dagegen SCHRADER gelungen).

Das Verhalten der Univalenten läßt erkennen, daß das Auseinanderspreizen der Chromatidenarme — das in dem seitlichen Auseinanderschieben der Großspiralen unter Aufgeben der gemeinsamen Matrix besteht — nicht etwa vom Verhalten des Spindelansatzes abhängt, sondern ein Vorgang für sich ist. Denn das Spreizen erfolgt auch an den polar liegenden Dyaden, deren Spindelansatz keine Spaltung erfährt. Dagegen besteht eine deutliche Abhängigkeit vom Zeitpunkt, d. h. von den Zuständen, die sich beim Eintritt in die Anaphase in der ganzen Spindel oder Zelle einstellen. Die Wirkung dieser Umstimmung ist auf die normalen Tetraden- und auf die Univalenten-Chromatiden gleich.

#### 4. Sterilität

Die teilweise Pollensterilität von *Paris quadrifolia* hat nach den obigen Mitteilungen grundsätzlich zwei Ursachen: 1. die Fragment- und Brückenbildung infolge heterozygotisch vorhandener Inversionen, 2. die Univalentenbildung infolge Störung des Paarungsverhaltens. Beide Ursachen sind zum Teil konstitutionell, zum Teil durch Außenumstände über den Weg der Beeinflussung der Chiasmabildung veränderbar.

Über den Grad der durch den erstgenannten Faktor hervorgerufenen Pollensterilität gibt Tab. 2 Auskunft. Die Zählung der Inversionsbilder gibt ein sicheres Maß für die funktionelle Sterilität  $\sigma$ ; denn Pflanzen mit defekten Chromosomen oder über- oder unterzähligem Chromosomensatz kommen niemals vor.

Schwieriger zu überblicken ist der durch die Univalentenbildung bedingte Sterilitätsgrad. Wandern die Dyaden ungespalten zu verschiedenen Polen, so tritt überhaupt kein Ausfall ein. Das gleiche gilt für den Fall, wenn sich beide Dyaden spalten und die Chromatiden richtig in die Kerne einbezogen werden (was aber nicht immer eintritt). Einen sicheren Ausfall bedeutet es dagegen, wenn beide Univalente zum gleichen Pol gehen; dieser Vorgang läßt sich aber nur eindeutig feststellen, wenn alle Dyaden in der Zelle distinkt wahrnehmbar sind.

In den meisten Pflanzen spielt die Störung durch die Univalentenbildung keine große Rolle, da die Häufigkeit der Univalenten zwischen 1 % und 2 % schwankt und nur ein Teil derselben durch „unrichtige“ Verteilung Ausfälle verursacht. In den Pflanzen mit abnorm hoher Frequenz verhält es sich allerdings anders. Im übrigen wirken Fragment- und Univalentenbildung in gewissem Sinn einander entgegen; denn die herabgesetzte Paarungsintensität, die die Ur-

sache der Univalentenbildung ist, setzt gleichzeitig die Wahrscheinlichkeit herab, daß ein Chiasma in einer Inversion entsteht. Zahlenmäßig lassen sich diese Beziehungen aber kaum klar erfassen; so besitzen z. B. die Pflanzen I/1 und I/3 3,9 % und 8,8 % Inversionsbilder, aber 9 % und 16 % Univalente.

## VI. Embryosackbildung; Samenansatz

Für die Beurteilung des Sterilitätsgrades ist die Kenntnis der Makrosporenbildung von Bedeutung. Infolge der großen technischen Schwierigkeiten und der sehr geringen Wahrscheinlichkeit, I. Anaphasen mit Inversionsbildern oder Univalenten anzutreffen, lassen sich allerdings nur einige allgemeine Anhaltspunkte gewinnen.

Die Embryosackbildung erfolgt nach dem *Scilla*-Typus, d. h. es tritt nach der I. meiotischen Teilung Wandbildung ein, die eine Tochterzelle entwickelt sich zum Embryosack, die andere degeneriert<sup>1</sup>). Der Embryosack entsteht also aus zwei Gonon; es kann somit im Falle von Fragment- und Brückenbildung keine gerichtete Reduktion unter Herstellung des Normalsatzes erfolgen. Es muß also Ausfall des betreffenden Embryosacks eintreten.

Von den untersuchten Fruchtknoten enthielten 47 Fruchtknoten 941 Samenanlagen mit Stadien zwischen I. Metaphase und II. Telophase. Anaphasen mit Inversionsbildern oder Univalenten waren nicht darunter. Doch enthielten 15 Samenanlagen Embryosackmutterzellen, die zwischen den Stadien der Interkinese und II. Telophase standen, frei im Plasma liegende „Mikrokerne“, die wahrscheinlich aus Fragmenten, vielleicht auch in einigen Fällen aus Univalenten entstanden waren. Im Gegensatz zu dem Verhalten in den Pollenmutterzellen sind diese Körper nicht von Eigenmembranen umgeben<sup>2</sup>).

Der Prozentsatz des Auftretens der Fragmente (oder zum Teil Univalenten) ( $941 : 15 = 1,6 \%$ ) ist auffallend niedrig im Vergleich zu den in den Pollenmutterzellen gefundenen Werten der Pflanzen der gleichen Kolonien (die untersuchten Fruchtknoten stammten aus den Kolonien V und VIII). Die wahrscheinlichste Erklärung ist, daß die Chiasmahäufigkeit bei der Makrosporenbildung niedriger ist als in den Pollenmutterzellen (ein solcher Unterschied wurde bereits durch STRAUB für *Campanula persicifolia* nachgewiesen). Die Untersuchung von 16 I. Metaphasen, die eine Zählung aller Chiasmata erlaubten, ergab, daß je Zelle 20 proximale und 2 bis 4 interstitielle Chiasmata ausgebildet waren (Fig. 1 unten). In den Pollenmutterzellen der gleichen Kolonien finden sich dagegen Frequenzen von  $20 + 6-10$ .

Der Samenansatz ist im allgemeinen reichlich. In 92 Fruchtknoten von Pflanzen aus 14 verschiedenen Kolonien wurden 2860 entwickelte Samen und 312 abortierte Samenanlagen gezählt; demnach beträgt der Ansatz durchschnittlich

<sup>1</sup>) Bereits von ERNST angegeben. Die degenerierende Zelle liegt fast immer mikropolarwärts; die II. meiotische Teilung kann in ihr noch annähernd normal ablaufen oder auch ganz unterdrückt sein.

<sup>2</sup>) Sie wurden schon von ERNST beschrieben und abgebildet, ohne daß ihre Natur damals verständlich gewesen wäre.

lich 90 %. Der Ausfall von 10 % ist immerhin höher als zu erwarten wäre, wenn er allein durch abortierte Embryosäcke bedingt wäre; offenbar spielt also auch das Ausbleiben der Befruchtung eine Rolle.

## VII. Herkunft und Alter der Inversionen

Das Vorkommen zahlreicher, über alle Chromosomenarme des Satzes verteilter Inversionen legt die Frage nahe, ob es sich um häufig neu entstehende, also in gewissem Sinn mehr zufällige Bildungen handelt, oder ob sie gewissermaßen ein „phylogenetisches Alter“ besitzen, also ein wesentliches Merkmal der Art darstellen. Die Frage läßt sich vorläufig nicht sicher entscheiden; doch sprechen mehrere Anzeichen zugunsten der zweiten Möglichkeit.

Gelegentlich kann Neubildung von Inversionen jedenfalls vorkommen. Dies hat HUSTED für englische Populationen von *Paris quadrifolia* (und *Pancretium*) durch die Beobachtungen von Knotenbildungen in der Prophase der ersten Pollenkornmitose gezeigt. Wie im Vorjahr berichtet wurde, konnte in 14 Antheren der Lunzer Pflanzen nur ein einziger, nicht sicher erkennbarer Knoten beobachtet werden. Im heurigen Jahr wurde in Pollenkornmitosen von vier Blüten tatsächlich eine Knotenbildung in der Prophase gefunden, womit das Vorkommen auch in den Lunzer Beständen bewiesen ist. Die Wahrscheinlichkeit der Entstehung neuer Pflanzen mit neuen Inversionen ist aber jedenfalls verschwindend klein.

Für ein großes Alter der Inversionen spricht neben dem hohen Heterozygotiegrad der Umstand, daß gleiche Inversionen in verschiedenen Kolonien und auch an verschiedenen Standorten (Unter- und Obersee) vorhanden sind.

Einer besonderen Erklärung bedarf das Auftreten der homologen Inversionen, das für cl4 gesichert, für einige andere Inversionen wahrscheinlich ist. Man wäre hier versucht anzunehmen, daß diese Inversionen vor der Entstehung der Tetraploidie, also vor der Entstehung der Art *quadrifolia* vorhanden gewesen und mitverdoppelt worden sind<sup>1)</sup>. Im Fall von *Paris* läßt sich die Annahme aber aus zwei Gründen nicht endgültig beweisen: 1. kann es sich trotz scheinbar gleichem Aussehen der beiden cl4-Bilder dennoch um zwei verschiedene Inversionen handeln, deren Unterschiede aber zu geringfügig sind, um sichtbar zu werden (es wäre daher wichtig, weitere sichere Fälle homologer Inversionen zu finden); 2. wäre es möglich, daß die homologen Chromosomen gleiche präformierte Bruchstellen besitzen, die parallele Inversionen bedingen würden.

Die Lösung dieser Probleme wird dadurch kompliziert, daß die homologen Chromosomenpaare von *Paris quadrifolia* wahrscheinlich überhaupt nicht mehr im strengen Sinn homolog sind; für die c- und besonders die d-Chromosomenpaare ist dies unmittelbar morphologisch sichtbar, für die anderen ergibt sich die Verschiedenheit aus dem Paarungsverhalten, welches zeigt, daß ausschließlich

<sup>1)</sup> OFFERMANN konnte für *Drosophila melanogaster* und *simulans* zeigen, daß beide Arten die gleiche Duplikation besitzen, woraus man schließen kann, daß diese Duplikation schon in der Stammform gebildet worden war.

Bivalente, niemals Tri- oder Tetravalente vorkommen. Ob dies daher kommt, daß die Art ein tetraploider Bastard ist, oder daher, daß die Chromosomen sich nach Autopolyploidie nachträglich verändert haben, muß unentschieden bleiben.

Es ist klar, daß es von Interesse wäre, Populationen ganz anderer Herkunft, etwa aus England oder Skandinavien, vergleichend zu untersuchen. Die in dieser Mitteilung gebrachten Abbildungen dürften dazu die nötige Grundlage liefern.

### VIII. Zusammenfassung einiger Ergebnisse

Auf Grund eines großen Untersuchungsmaterials wird ein Bild über das Vorkommen von Inversionen und Translokationen in natürlichen Populationen von *Paris quadrifolia* gegeben. Die Art stellt einen extremen Fall von „structural hybridity“ im Sinne von DARLINGTON dar.

Es ließen sich 1427 Inversionsbilder bestimmen, die 43 Inversionen entsprechen, bzw. wenn die in den homologen Chromosomenpaaren auftretenden Inversionen getrennt gezählt werden, mindestens 45 oder vielleicht noch mehr Inversionen anzeigen. Dieses Ergebnis stützt sich auf die Analyse der I. Anaphase in den Pollenmutterzellen von 39 Pflanzen, von welchen mehrere wahrscheinlich vegetativ auseinander entstanden waren (Koloniewachstum! vgl. den Abschn. über die Ökologie).

Die Inversionen verteilen sich über alle Chromosomenarme. In jedem Arm ist eine extrem proximale und eine stark distale Inversion vorhanden; außerdem treten mehr oder weniger intermediäre Inversionen auf.

Die Inversionsbilder sind größtenteils einfach (1 dizentrische Chromatide und 1 Fragment), seltener kommen infolge mehrfacher Chiasmabildung Schleifenchromatiden oder Paare mit zwei Brücken und zwei Fragmenten vor. Fünfmal wurden translozierte Inversionen beobachtet.

Die Inversionsheterozygotie bedingt eine in verschiedenen Pflanzen stark wechselnde Pollensterilität (s. Tab. 2). Pollensterilität wird auch durch das Auftreten von Univalenten und ihre unregelmäßige Verteilung in der I. Anaphase hervorgerufen. Die an sich geringe Paarungsintensität — regelmäßig treten nur proximal lokalisierte Chiasmata auf, die Zahl der interstitiellen ist schwankend und meist gering — wird anscheinend durch extreme Außenbedingungen, denen *Paris* im Gebiet besonders an seiner Verbreitungsgrenze ausgesetzt ist, in einzelnen Fällen weiter geschwächt.

Die Entscheidung darüber, ob sich die Univalenten in der I. Anaphase spalten oder nicht, hängt von ihrer Lage in der Spindel ab: bei polarer oder überhaupt exzentrischer Lage erfolgt niemals Trennung der Schwestercentromeren, bei äquatorialer Lage tritt diese wenigstens manchmal ein. Das Auseinanderspreizen der Chromatidenarme erfolgt hiervon unabhängig in den Bivalenten und Univalenten gleichzeitig.

Der Embryosack entsteht nach dem *Scilla*-Typus. Eine gerichtete Reduktionsteilung mit Ausschaltung der durch Inversionen oder Univalente bedingten Störungen ist daher unmöglich.

Die Inversionen dürften ein hohes und vielleicht teilweise phylogenetisches Alter besitzen. Es besteht die Möglichkeit, daß einige schon vor der Entstehung der Art vorhanden waren.

Botanisches Institut der Universität Wien, im Juli 1938.

Biologische Station Lunz

### Literatur

- DARLINGTON, C. D., 1937. Recent Advances in Cytology. 2. Aufl. London 1937.
- ERNST, A., 1902. Chromosomenreduktion, Entwicklung des Embryosacks und Befruchtung bei *Paris quadrifolia* und *Trillium grandiflorum*. Flora 91.
- GEITLER, L., 1937. Cytogenetische Untersuchungen an natürlichen Populationen von *Paris quadrifolia*. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbgs. 73.
- HUSTED, L., 1937. Chromosome breakage and knot formation in *Paris* and *Pancratium*. Journ. of Gen. 34.
- MATSUURA, H., 1937. Chromosome studies on *Trillium kamschaticum*. III. V. Cytologia 8 und Fujii Jub. Vol. 1937.
- OEHLKERS, F., 1937. Neue Versuche über cytologisch-genetische Probleme. Biol. Cbl. 57.
- OFFERMANN, C. A., 1936. Branched chromosomes as symmetrical duplications. Journ. of Gen. 32.
- RIBBANDS, C. R., 1937. The consequences of structural hybridity at meiosis of *Lilium* × *testaceum*. Journ. of Gen. 35.
- SCHRADER, F., 1936. The kinetochore or spindle fiber locus in *Amphiuma tridactylus*. Biol. Bull. 70.
- STRAUB, J., 1937. Untersuchungen zur Physiologie der Meiose. VII. Die Abhängigkeit der Chiasmabildung bei *Vicia Faba* und *Campanula persicifolia* von äußeren Bedingungen. Zeitschr. f. Bot. 32.
-