

Dauermodifikationen und Mutationen bei Protozoen.

Von

Victor Jollos (Berlin-Dahlem).

Bei meinen Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Protozoen war ich zu dem Ergebnis gelangt, daß neben nicht-erblichen Veränderungen (Modifikationen), streng erblichen genotypischen Umstimmungen (Mutationen) und Neukombinationen heterozygoter Erbfaktoren noch eine vierte bis dahin nicht erkannte Kategorie der Variantenbildung eine wichtige Rolle spielt: „bedingt-erbliche“ Umstimmungen, die als „Dauermodifikationen“ bezeichnet worden sind (JOLLOS, 1913, 1921).

Dauermodifikationen können unter der Einwirkung verschiedener Umwelteinflüsse (chemischer, thermischer u. a.) experimentell erzielt werden, kommen aber sicherlich auch unter den wechselnden Bedingungen in der freien Natur nicht selten zustande¹⁾. Sie lassen sich auch durch wiederholte oder langdauernde gleichartige Behandlung bis zu einem gewissen Grade steigern. Im Gegensatz zu gewöhnlichen Modifikationen bleiben sie nach Fortfall der sie auslösenden Faktoren bei vegetativer Vermehrung längere Zeit, über Dutzende, Hunderte oder selbst Tausende von Teilungsfolgen hinweg erhalten. Im Gegensatz zu Mutationen bilden sie sich aber im allgemeinen schließlich doch schon bei vegetativer Vermehrung allmählich zurück. Beschleunigen läßt sich dieses Abklingen durch

¹⁾ Diese bisher allzu wenig berücksichtigte Möglichkeit mahnt zu größerer Vorsicht bei der systematischen Bewertung im Freien an verschiedenen Fundstellen gesammelter Protistenformen. So manche als besondere „Art“ beschriebene Form dürfte sich mit der Zeit als Dauermodifikation herausstellen. Für die Gattung *Chlamydomonas* wird dies durch die im gleichen Heft dieser Zeitschrift erscheinenden Untersuchungen von Moëwus klar gezeigt.

schroffen Wechsel der Außenbedingungen, durch Auslösung parthenogenetischer Prozesse und vor allem durch den Befruchtungsakt. Die meisten beobachteten Dauermodifikationen verschwanden schon nach einer einzigen Konjugation. Nur die hartnäckigsten konnten sich über mehrere Befruchtungsfolgen hinweg erhalten, um schließlich doch, entweder nach einer Reihe von Konjugationen (*Paramaecium*) oder nach jahrelanger vegetativer Vermehrung (*Actinophrys*, s. u.) abzuklingen.

Aus diesem Verhalten war der Schluß zu ziehen, daß es sich bei den Dauermodifikationen nicht um genotypische, d. h. Gen- oder Genomveränderungen handelt, sondern um Umstimmungen außerhalb des Genkomplexes, um Umstimmungen, die den Organismus in einem gewissen Gegensatz zu seinen genotypischen Anlagen „aufgezwungen sind, die genotypischen Potenzen lange Zeit nicht in normaler Weise zur Geltung kommen lassen, von ihnen schließlich aber doch überwunden werden“.

Die genauere Analyse einer Anzahl von Dauermodifikationen führte weiterhin zu dem Ergebnis, daß diese Veränderungen in vielen Fällen auf Veränderungen des Plasmas (Umstimmungen von Paramäcien durch Einwirkung von Calcium und arsenige Säure sowie sämtliche bei *Arcella* und *Actinophrys* erzielten Dauermodifikationen) beruhen, in anderen auf Veränderungen des Macronucleus oder des Macronucleus und des Plasmas (Umstimmungen von Paramäcien durch Hitzeeinwirkung).

Denkbar wäre noch eine weitere Möglichkeit des Sitzes derartiger Umstimmungen: eine Umstimmung des Kernes bzw. des Micronucleus der Infusorien außerhalb des Genkomplexes. Doch haben sich für das tatsächliche Vorkommen derartiger Umstimmungen bisher keine hinreichenden Anhaltspunkte ergeben.

Demgemäß sind die Dauermodifikationen definiert worden als „Veränderungen, die auf Umstimmungen des Plasmas oder bestimmter gesonderter Strukturen (außerhalb des Kernes bzw. Micronucleus) beruhen“ (JOLLOS, 1921). —

Die Beschaffenheit jedes Organismus, sein Phänotypus, erscheint durch das Zusammenwirken von drei Gruppen von Faktoren bedingt: 1. von der Gesamtheit seiner mit den Chromosomen des Kernes verknüpften Gene, 2. von dem Substrat, mit dem die Gene zusammenwirken, d. h. dem Plasma (im weitesten Sinne) und 3. von den Außenbedingungen, unter denen der Organismus sich entwickelt und lebt. Dementsprechend sind jetzt auch dreierlei prinzipiell verschiedene Veränderungsmöglichkeiten auseinanderzuhalten: 1. Ver-

änderungen, die auf Umstimmungen des Genotypus beruhen = „Mutationen“, 2. Veränderungen, die auf Umstimmungen des „Plasmotypus“ beruhen = „Dauermodifikationen“, 3. Veränderungen, die — ohne Umstimmung des Genotypus oder Plasmotypus — nur durch veränderte Umweltfaktoren bedingt sind = „Modifikationen“.

Jeder dieser Begriffe ist durch die Erweiterung unserer Kenntnisse seit seiner ersten Aufstellung zu einem Sammelbegriff für mehr oder weniger heterogene Erscheinungen geworden und bedarf daher der Unterteilung: Bei den Veränderungen des Genotypus müssen wir zwischen den Umstimmungen von Genen (den Mutationen im engeren Sinne oder „Genmutationen“) und den Genomveränderungen (Hetero- und Polyploidie, Translokationen, Inversionen usw.) unterscheiden. Bei den Dauermodifikationen sind die Umstimmungen des Plasmas (die Dauermodifikationen im engeren Sinne) zu trennen von Umstimmungen der Plastiden (des „Plastoms“) und anderer besonderer Strukturen. Und endlich werden auch bei den Modifikationen verschiedene Gruppen auseinanderzuhalten sein ¹⁾.

Nach Klärung dieser allgemeinen Grundlagen zeigen die bei den Protisten und im besonderen auch bei den Infusorien bisher festgestellten Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen keineswegs ein so chaotisches und unverständlich-widerspruchsvolles Bild, wie es JENNINGS (1933, JENNINGS und Mitarbeiter, 1932) durch willkürliche Aneinanderreihung der verschiedensten Einzelbeobachtungen neuerdings entworfen hat, sondern sie fügen sich ohne weiteres in das zuvor nochmals skizzierte (in gleicher Weise für Vielzellige wie Protisten geltende) System ein. Wie von mir schon 1921 ausgeführt wurde, besteht auf genetischem Gebiete im Prinzip eine völlige Übereinstimmung zwischen den Protisten und den Metazoen und Metaphyten: Hier wie dort kommt es unter dem Einfluß veränderter Außenbedingungen verhältnismäßig leicht zu nicht-erblichen Veränderungen des Phänotypus, Modifikationen. Hier wie dort finden wir weiterhin nur relativ selten Veränderungen des Genotypus, Mutationen; Veränderungen, durch die das Vorhandensein und Neuentstehen verschiedener Rassen bedingt wird. Und hier wie dort bietet sich endlich im Zusammenhang mit den Befruchtungsvorgängen die Möglichkeit der Neukombination veränderter Gene. Was den Vergleich zuvor erschwerte, sind Veränderungen des Plasmas (im weitesten Sinne), die Dauermodifikationen. Bei Pro-

¹⁾ Auf diese zum Teil nicht ganz einfachen Verhältnisse und Unterscheidungen wird an anderer Stelle demnächst genauer eingegangen werden.

tisten sind sie offenbar recht häufig und können unter Umständen das Bild der Variabilität einer Art beherrschen, während bei vielzelligen Organismen das Vorhandensein derartiger plasmatischer Umstimmungen bei Aufstellung des Begriffes „Dauermodifikation“ nur vermutet werden konnte. Erst spätere Untersuchungen haben gezeigt, daß Dauermodifikationen auch bei Metazoen und höheren Pflanzen unter der Einwirkung verschiedener Umweltfaktoren entstehen können (s. S. 218) und vielleicht nicht einmal so selten sind.

Das Verhalten von Genveränderungen ist durch die mendelistische Forschung bei vielzelligen Tieren und Pflanzen weitgehend geklärt. Das Verhalten plasmatischer Veränderungen ist in den erwähnten Untersuchungen an Protozoen erstmalig genauer verfolgt worden. Als wichtigstes Ergebnis wurde hierbei festgestellt, daß plasmatische Veränderungen nicht die hohe Konstanz der Genmutationen besitzen, sondern unter Einwirkung des unveränderten Genotypus nach längerer oder kürzerer Zeit wieder zurückgehen. Es sind also bei ihnen „quantitative“ Abstufungen innerhalb weiter Grenzen möglich, aber im Prinzip ist ihr Verhalten überall das gleiche. Von den bei Genveränderungen ja auch gelegentlich zu beobachtenden „Rückmutationen“, die nur eine von vielen Möglichkeiten der weiteren Veränderung des betreffenden Genes, und meist keine besonders bevorzugte darstellen, unterscheidet sich die Rückbildung der Plasmaumstimmungen eben durch die Regelmäßigkeit ihres Vorkommens und durch ihr (bei vegetativer Vermehrung allmähliches stufenweises) Abklingen in eindeutig bestimmter Richtung.

Während somit das Verhalten von Dauermodifikationen zuerst bei Protozoen etwas genauer analysiert werden konnte, ist umgekehrt eine Prüfung der als Mutationen angesprochenen Veränderungen bei Einzelligen in Kreuzungsversuchen bisher nur in ganz vereinzelten Fällen möglich gewesen.

Bei Infusorien sind die Schwierigkeiten einer solchen Kreuzungsanalyse im allgemeinen so groß und der auszuschaltenden Fehlerquellen sind so viele, daß nur von im größten, die Arbeitsmöglichkeit eines einzelnen Untersuchers weit übersteigenden Maßstabe angesetzten Experimenten eine wirkliche Klärung erwartet werden kann. Da mir die Möglichkeit der Heranziehung einer genügenden Anzahl von Mitarbeitern nicht zur Verfügung stand, so konnten leider auch die bei meinen Paramäcienversuchen erzielten „Mutationen“ in dieser Hinsicht nicht ausgewertet werden.

Von JENNINGS (1932, 1933) ist nun neuerdings eine solche Zusammenarbeit einer größeren Anzahl von Untersuchern organisiert worden. Und da es ihnen nach den bereits vorliegenden Mitteilungen auch gelungen ist, Konjugationen zwischen morphologisch gut unterscheidbaren Rassen von *Paramecium aurelia* zu erzielen, so ist von diesen Arbeiten wohl bald eine genauere Kenntnis der genotypischen Veränderungen bei Infusorien zu erhoffen.

Unabhängig hiervon bringen aber schon die bisher vorliegenden Veröffentlichungen aus diesem Kreise, besonders die Untersuchungen von D. RAFFEL (1932 a, 1932 b) einen von der in meinen Arbeiten vertretenen und hier nochmals zusammengefaßten Auffassung wesentlich abweichenden allgemeinen Deutungsversuch der Veränderungen bei Paramäcien. RAFFEL sucht nämlich zu zeigen, daß auch sämtliche beobachteten Dauermodifikationen als echte Genmutationen aufzufassen wären.

Den Anstoß zu dieser Umdeutung haben offenbar einige meiner Ergebnisse bei Hitzeeinwirkung gegeben: Es war festgestellt worden, daß die nach längerem Aufenthalt im 31° Thermostaten gefundenen Veränderungen (Erhöhung der Teilungsrate und der Hitzeresistenz) im Gegensatz zu allen anderen Dauermodifikationen niemals während rein vegetativer Vermehrungsperioden abklängen, sondern nur nach einer Parthenogenese oder einer Konjugation verschwanden. Ferner bestand hier kein quantitativer Unterschied in der „Wirkungsstärke“ von Parthenogenese und Konjugation (wie er bei den unter Einwirkung von Arsen- oder Calciumverbindungen entstandenen Dauermodifikationen so klar zu erkennen war). Die Veränderungen wurden häufig schon durch die erste Parthenogenese oder die erste Konjugation völlig beseitigt; in hartnäckigeren Fällen schwanden sie dagegen erst nach mehrfacher Wiederholung eines dieser Reorganisationsprozesse. Dabei kam es vor, daß von den Exkonjuganten einer Paarung bzw. ihren Nachkommen, ja selbst unter den getrennt aufgezogenen unmittelbaren Nachkommen eines der Exkonjuganten oder auch eines Individuums nach Parthenogenese, ein Teil die Veränderung verloren hatte, während der andere Teil sie noch aufwies und erst mit einer der nächsten Konjugationen oder Parthenogenesen verlor. Und endlich konnte in solchen Fällen gelegentlich der zur normalen Teilungsrate zurückgekehrte Teil bei der nächsten Parthenogenese oder Konjugation die beseitigte Veränderung erneut aufweisen, um sie erst bei der darauf folgenden Parthenogenese endgültig zu verlieren.

Diese auf den ersten Blick außerordentlich komplizierten Verhältnisse (die weitaus kompliziertesten bei meinen Variabilitätsuntersuchungen an Protisten) sind von mir in folgender Weise gedeutet worden (JOLLOS, 1921): Hauptsitz der durch Hitzeeinwirkung erzielten Umstimmung muß in diesen Fällen der Macronucleus sein. Daraus erklärt sich das Schwinden der Veränderung nach Parthenogenese oder Konjugation und nur nach diesen zu einer Neubildung des Macronucleus führenden Prozessen. Nicht erklärt ist damit aber die Erhaltung der hartnäckigsten Veränderungen über mehrere Reorganisationsprozesse hinweg, das verschiedene Verhalten von Abkömmlingen von Exkonjuganten (bzw. nach Parthenogenese) und das gelegentliche Wiedererscheinen der bereits geschwundenen Veränderung. Es muß daher neben der Macronucleusumstimmung noch eine Umstimmung eines anderen Zellteiles vorliegen. Am wahrscheinlichsten und einfachsten erschien (und erscheint mir auch jetzt) die Annahme einer primären Umstimmung des Plasmas, die erst die veränderte Ausbildung des Macronucleus bedingt.

So lange diese Umstimmung des Plasmas besteht, wird auch die Bildung eines neuen Macronucleus bei Parthenogenese oder Konjugation immer wieder in die gleiche abgeänderte Bahn gelenkt. Mit dem allmählichen Abklingen der Plasmaveränderung wirkt sich aber ihr Einfluß nicht immer gleichmäßig genügend stark auf die unveränderten Macronucleusbildungspotenzen des Micronucleus aus, so daß er gelegentlich bei der Bildung des einen oder anderen Macronucleus nicht zur Geltung kommt.

Mit der alleinigen Annahme einer solchen primären Dauermodifikation des Plasmas sind sämtliche zuvor skizzierten Feststellungen befriedigend erklärt. Sie wird aber weiterhin noch durch die Tatsache gestützt, daß gerade in den beiden Abzweigungen, in denen die nach einem Reorganisationsprozeß zur Norm zurückgekehrte Teilungsrate nach der nächsten Macronucleuserneuerung die Veränderung wieder aufweist (s. o.), eben nur die Teilungsrate zeitweilig zur Norm zurückkehrte, während die Erhöhung der Hitze-resistenz dauernd erhalten blieb und erst zugleich mit der endgültigen Beseitigung der abgeänderten Teilungsrate verschwand! (vgl. JOLLOS, 1921).

Gewiß handelt es sich bei dieser Deutung um einen Wahrscheinlichkeitsschluß und nicht um eine Beweisführung wie in den einfacheren Fällen von Dauermodifikationen. Denn denkbar wäre auch ein primärer Sitz der Umstimmung im Micronucleus, außerhalb des Genoms. Eine solche Auffassung würde aber sicher keine Ver-

einfachung, sondern eher eine Komplizierung der Erklärung bedeuten, wenn sie alle zuvor erwähnten Beobachtungen decken soll.

Am unwahrscheinlichsten ist aber auch hier die Deutung der Veränderung als Genmutation. Gewiß liegt bei oberflächlicher Betrachtung nur des Schwindens und Wiederkehrens eines veränderten Charakters nach Konjugation der Gedanke an Rekombinationen heterozygoter Genpaare nahe (ich selbst habe natürlich zunächst auch an diese Möglichkeit gedacht). Diese Vorstellung würde aber eine ganze Reihe von recht unwahrscheinlichen Hilfsannahmen nötig machen: Zunächst einmal ist das geschilderte Wiederauftreten der bereits geschwundenen Veränderung, wie meine alte Darstellung zeigt (entgegen der Wiedergabe von RAFFEL!) nicht „häufig“, sondern nur in zwei von zahlreichen Abzweigungen des gleichen durch Hitze einwirkung veränderten Klones beobachtet; und zwar in dem einen Falle (Abzweigung IV A β) die Rückkehr zur Norm nach einer Konjugation, in dem anderen (Abzweigung II) dagegen nach einer Parthenogenese! Und auch das Wiederauftreten der abgeänderten Teilungsrate erfolgte in beiden Abzweigungen nach Parthenogenesen, in II außerdem auch nach einer Konjugation, während das endgültige Verschwinden der Umstimmung in all diesen Fällen durch Parthenogenesen bewirkt wurde.

Da nun auch RAFFEL keine Neukombination von Genomen bei der Parthenogenese von *Paramaecium* annehmen kann, so muß er die gleichen Erscheinungen nach Konjugation und Parthenogenese ganz verschieden deuten: Das Schwinden der Abänderung in IV A β durch Kombination, in II durch Rückmutation; ihr Wiederauftreten in IV A β durch eine neue Mutation, in II in zwei Teilzuchten ebenfalls durch neue Mutationen, in einer dritten wieder durch Kombination. Und das endgültige Verschwinden der Umstimmung in allen Zweigkulturen könnte auch nur durch eine Serie neuer „Rückmutationen“ bedingt sein! Weiterhin muß RAFFEL aber auch in allen anderen Abzweigungen des gleichen durch Hitze veränderten Klones, in denen die Umstimmung erst nach mehreren Parthenogenesen verschwand, jedesmal entsprechende Rückmutation annehmen.

Aber damit noch nicht genug: In zahlreichen Fällen weniger hartnäckiger Umstimmungen der gleichen Art verschwanden die Veränderungen wie erwähnt bereits mit der ersten Konjugation oder Parthenogenese restlos, und zwar nur nach solchen Reorganisationsprozessen. Aus diesem Verhalten war eben auf eine Veränderung des Macronucleus geschlossen worden. RAFFEL hat diese bis dahin isoliert dastehenden Befunde jetzt durch entsprechende

Feststellungen (gleichfalls nach Hitzeeinwirkung) bestätigt und schließt sich auch der Deutung: Macronucleusveränderung, an; nur daß er entsprechend seiner allgemeinen Anschauung ohne weiteres von „Genveränderungen im Macronucleus“ spricht. Er müßte daher zu den zuvor genannten Hilfsannahmen auch noch einen sehr häufigen Parallelismus von somatischen (Macronucleus) und generativen (Micronucleus) Mutationen heranziehen.

Und all das würde noch immer nicht das verschiedene Verhalten von Nachkommen des gleichen Exkonjuganten oder des gleichen eine Parthenogenese vollziehenden Individuums erklären. Wieder müßten neue Serien von spontanen Mutationen und Rückmutationen zur Hilfe genommen werden!

Das Gesagte dürfte wohl genügen, um selbst für diese kompliziertesten und relativ am wenigsten geklärten Fälle unter meinen Dauermodifikationen, die Überlegenheit der alten Deutung gegenüber dem Versuch einer Zurückführung auf Mutationen zu zeigen.

RAFFEL glaubt aber, nicht nur diese Fälle, sondern auch alle anderen von mir durch Arsen- oder Calciumeinwirkung erzielten Dauermodifikationen einfacher(!) als Mutationen und Kombinationen erklären zu können.

Betrachten wir die vorliegenden Tatsachen (JOLLOS, 1921): Die durch Calciumeinwirkung hervorgerufenen Veränderungen können einzelne Parthenogenesen und Konjugationen überdauern, also nicht „Mutationen im Macronucleus“ darstellen. Sie verschwinden aber nach einer Folge von Parthenogenesen. RAFFEL müßte dies durch Rückmutation im Micronucleus erklären. Sie klingen aber endlich auch während rein vegetativer Vermehrung ab, so daß RAFFEL hier eine entsprechende „somatische“ (Macronucleus-) Rückmutation annehmen müßte. Und diese identische, bald generative, bald somatische Mutation müßte immer wieder in den verschiedenen zur Norm zurückkehrenden Zweigzuchten auftreten!

Noch großzügiger endlich müßten Mutationen für eine Erklärung des Zustandekommens und Wiederabklingens der Arsenfestigung bewilligt werden: Die Steigerung der Arsenresistenz erfolgte, wie die veröffentlichten alten Protokolle zeigen, in einer Reihe von Stufen (unter Ausschluß von Konjugationen, aber nicht von Parthenogenesen) und ebenso konnte umgekehrt ihr stufenweises Abklingen im arsenfreien Medium festgestellt werden. Nach RAFFEL'S Mutationshypothese müßte also für jede dieser Stufen eine neue Mutation bzw. Rückmutation angenommen werden! Nun wäre ja gerade ich, nach meinen Feststellungen über „gerichtete Mutationen“ bei *Drosophila*,

wohl am ehesten geneigt, die Möglichkeit einer Reihe gerichteter Mutationsschritte unter der wiederholten Einwirkung der gleichen, Mutationen auslösenden spezifischen Umweltfaktoren zuzugeben. Hier aber müßte ein solches gerichtetes Mutieren nicht nur unter der spezifischen Arseneinwirkung, sondern dann, in umgekehrter Folge, auch unter „normalen“ Kulturbedingungen angenommen werden, unter Kulturbedingungen, die sonst auch bei vieljähriger Einwirkung keinerlei die Arsenresistenz herabsetzenden Einfluß ausübten! Unter solchen Umständen erscheint die Annahme fortgesetzter, in verschiedenem Zuchtmaterial immer wiederkehrender, sich nur in bestimmter Richtung auswirkender Mutationen nicht als eine „Erklärung“ sondern als Dekretierung eines Wunders. Denn es kann sich ja bei dem stufenweisen Abklingen der Giffestigung nicht um eine Selektion von „Rückmutationen“ und Übersehen von Mutationen in entgegengesetzter Richtung gehandelt haben, da die Anordnung der Versuche gerade umgekehrt eine Feststellung der jeweils resistantesten Individuen ermöglichte. Diese von meinen Kritikern offenbar nicht hinreichend beachtete Möglichkeit ist gerade der Hauptvorteil der Prüfung der Gift- und Wärmeresistenz gegenüber Untersuchungen der Teilungsrate, der Durchschnittsgröße u. dgl. Wenn also JENNING'S und RAFFEL gelegentlich andeuten, daß es sich bei meinen Arsenfestigungen nicht um unter der Einwirkung der Arsensäure neu entstandene Veränderungen, sondern nur um Selektion von Kombinationen bereits vorhandener Spontanmutationen gehandelt haben könne, so ist diese Auffassung mit Sicherheit abzulehnen. Denn durch Selektion allein wäre bei Nichtberücksichtigung des sonstigen Verhaltens vielleicht der erste Festigungsschritt erklärbar, keinesfalls aber die weiteren Steigerungen, da schon bei der ersten Prüfung der Festigungsgrad der resistantesten Individuen erkennbar werden müßte und alle höheren Grade der Festigung bei Ausschluß von Konjugation erreicht wurden. Außerdem hätten bei den zahlreichen Kontrollprüfungen unbehandelt gebliebener Zweige des gleichen Klones wenigstens einzelne solcher von vornherein resistenteren Paramäcien gefunden werden müssen. Wie die Protokolle zeigen, war dies aber niemals der Fall.

(Die von JENNING'S und RAFFEL zur Begründung ihrer Vermutung herangezogene Tatsache, daß nur bei einem Teil der mit arseniger Säure behandelten verschiedenen Klone Arsenfestigungen erzielt werden konnten, hat dem gegenüber kaum etwas zu besagen. Denn auch bei den mit Erfolg behandelten Stämmen (α , A, B, Z) sind neben den ausführlich wiedergegebenen zu einer Festigung führenden

Versuchsserien eine noch viel größere Anzahl ganz entsprechender Beeinflussungsexperimente ohne jedes positive Ergebnis durchgeführt worden.)

Die gleichen Erwägungen machen endlich auch eine Deutung des völligen Verlustes der Gifffestigung nach Konjugation als Rekombination heterozygoter Erbfaktoren mehr als unwahrscheinlich. (Ganz abgesehen davon, daß die Festigung bei anderen Abzweigungen des gleichen Klones auch ohne jede Konjugation abklang.) Denn bei der großen Zahl der verwandten Pärchen, wäre doch zum mindesten in einzelnen Fällen auch die elterliche Kombination wieder zu erwarten gewesen und hätte dann bei der Versuchsanordnung auch unter noch so zahlreichen anderen Kombinationen herausselektioniert werden müssen!

Es sei hinzugefügt, daß die im Protokoll 6 meiner Veröffentlichung von 1921 angeführten Zuchten S_1 , S_2 , S_3 , von Stamm α , die nach einer Konjugation sogleich zur Ausgangsnorm zurückgekehrt waren, noch längere Zeit weiter gezüchtet wurden. Zu wiederholten Malen wurde versucht Abzweigungen dieser Zuchten erneut arsenfest zu machen. Keiner dieser Versuche hatte aber Erfolg, obwohl in der Zeit zwischen einzelnen dieser Versuche wenigstens 3 mal „Konjugationsepidemien“ stattgefunden hatten. Eine „giftfeste Genkombination“ ist also auch bei diesen sehr zahlreichen Pärchen nicht wieder zum Vorschein gekommen!

Der Versuch, die verschiedenen von mir bei Paramácien erzielten Dauermodifikationen als Mutationen und Kombinationen umzudeuten, erscheint somit selbst bei großzügigster Annahme von Mutationen völlig unbegründet und unbefriedigend. Und wo möglich noch haltloser wäre eine entsprechende Annahme bei den bei *Arcella* geschilderten Dauermodifikationen (JOLLOS, 1924), deren stufenweise Steigerung und stufenweises Abklingen ja bei rein asexueller Vermehrung erfolgte.

Aber auch bei manchen von RAFFEL selbst festgestellten und als Mutationen angesprochenen Veränderungen erscheint uns seine Deutung recht anfechtbar. So traten bei seinem Klon 128 a (RAFFEL, 1932 a) bei vegetativer Vermehrung ziemlich häufig und immer wieder Individuen auf, die sich vor allem in Größe, Gestalt und Teilungsrate von der „normalen“ Ausgangsform wesentlich unterschieden. Diese Veränderungen blieben bei vegetativer Vermehrung während der ganzen Beobachtungsdauer erhalten und ebenso auch nach einer Konjugation. Die „Ausgangsform“ dagegen bildete nicht

nur, wie erwähnt, bei vegetativer Vermehrung immer wieder neben „normalen“ auch „veränderte“ Individuen, sondern sie verwandelte sich auch nach Konjugation mit ganz wenigen Ausnahmen (4 Proz.) in die „veränderte“ Form!

Auf Grund dieser Angaben würde ich annehmen, daß es sich bei dem Klone 128 a um eine Dauermodifikation handelte, die schon bei vegetativer Vermehrung, noch sicherer aber — eben zu 96 Proz.! — durch Konjugation zurückgebildet wurde. Zum Beweise dieser Deutung hätte ich die 4 Proz. noch nicht zurückgeschlagener Exkonjuganten weitergezüchtet und das Verhalten nach weiteren Konjugationen geprüft. Es wäre dabei schließlich eine 100 Proz. Rückbildung der Dauermodifikation zu erwarten.

Anders RAFFEL, für den es offenbar keine andere Möglichkeit als Mutationen und Kombinationen gibt. Schreibt er doch (1932 b) „That such differences are not in the cytoplasm seems to be evident from fact that they persist after ordinary division in all the descendants. Moreover, the diversities observed in vegetative reproduction were of the same kinds as those caused by conjugation, which is essentially an exchange of nuclear material. No evidence of cytoplasmic inheritance has ever been discovered in animals¹⁾ and all of the evidence from regeneration experiments in the protozoa indicates that the cytoplasm is powerless to develop without the influence of the nucleus, Hence the cause of the altered characteristics must be changes in the nuclei“. Daher fragt er sich nur, wie viele heterozygote Genpaare zum Zustandekommen eines Zahlenverhältnisses von 96 Proz. „veränderter“ zu 4 Proz. unveränderter Exkonjuganten erforderlich wären. Er errechnet, daß 4—5 heterozygoter Genpaare den „normalen“ d. h. Ausgangscharakter von 128 a bedingen müßten und nimmt weiterhin an, daß Mutation eines einzigen dieser 8—10 Gene das Entstehen der „veränderten“ Form hervorrufe. Damit sind für RAFFEL die von ihm festgestellten Erscheinungen restlos und befriedigend geklärt. Der Umstand, daß die Veränderung bei vegetativer Vermehrung auftrat, also im Rahmen seiner Auffassung nur als „Mutation im Macronucleus“ (d. h. also als somatische Mutation) gedeutet werden könnte, wird von ihm nicht erörtert. Bei dem häufigen Auftreten der Veränderung in zahlreichen Zweiglinien ergibt sich aber daraus die Konsequenz, daß im Laufe weniger Wochen somatische Mutationen sich Dutzende von Malen wiederholt haben müßten!

¹⁾ Von mir gesperrt. Vgl. hierzu S. 218.

Freilich wird RAFFEL wohl auch diese Konsequenz nicht scheuen; glaubt er doch in einer weiteren Veröffentlichung (1932 b), ein besonders häufiges Auftreten von (generativen) Mutationen nachgewiesen zu haben:

Jeder, der längere Zeit experimentell mit Paramäcien gearbeitet hat, weiß, daß Konjugation und Parthenogenese besonders kritische Perioden im Leben dieser Infusorien darstellen. Die Mortalität der Exkonjuganten ist bei den üblichen Zuchtmethoden meist eine recht hohe, und auch während bzw. nach einer Parthenogenese gehen verhältnismäßig viele Paramäcien zugrunde. JENNINGS und seine Mitarbeiter geben an, daß verschiedene ihrer Klone verschieden hohe Mortalitätsziffern der Exkonjuganten aufwiesen. (Nach meinen Erfahrungen kann die Mortalität nach Konjugation auch bei dem gleichen Klon wechselnd hoch sein.)

RAFFEL nimmt nun an, daß diese Mortalität nur durch genetische Letalfaktoren bedingt sein könne, Letalfaktoren, die während der vegetativen Vermehrungszeit entstehen, aber erst bei den Rekombinations- und Reorganisationsprozessen bei einer Konjugation manifest werden können. Bei der Parthenogenese würden sich entsprechend nur dominante Letalfaktoren sowie Letalmutationen bei einem in dieser Hinsicht bereits heterozygoten Genpaare manifestieren. Charakteristischerweise wird diese Annahme nicht etwa zuerst eingehend auf ihre Richtigkeit geprüft, sondern sie wird von vornherein als sichere Grundlage für eine Feststellung der Zahl der jeweils vorhandenen genetischen Letalfaktoren angesehen:

In einem einige Zeit lang von RAFFEL gezüchteten Klon kam es zu einer Konjugationsepidemie. Von 144 hierbei isolierten Exkonjuganten starben 34, d. h. etwa 25 Proz. Dies ist für RAFFEL ein Beweis dafür, „that the clone was at this time heterocygous for a single recessive lethal“. Er glaubt nun auch eine einfache und sichere Methode zur Feststellung der Mutationshäufigkeit an der Hand zu haben: Er züchtete eine Anzahl nicht zur Konjugation gelangter Individuen des genannten Klones einzeln weiter, löste in 5 dieser Abzweigungen nach 2 Monaten wiederum Konjugationen aus, fand diesmal eine höhere Mortalität der Exkonjuganten — und glaubt daraus die Zahl der während dieser 2 Monate aufgetretenen Letalmutationen sicher zu errechnen. In den 5 Abzweigungen fand er eine Mortalität der Exkonjuganten von 65—94 Proz. und hält damit das Auftreten von 4—10 (!) neuen Letalfaktoren für bewiesen. Nur in einer einzigen dieser Abzweigungen wurde noch eine zweite Konjugationsepidemie verfolgt. Sie trat 15 Tage nach der ersten

auf und ergab eine weitere Steigerung der Mortalität, aus der RAFFEL auf das mutative Auftreten eines weiteren Letalfaktors innerhalb dieser 15 Tage schließt.

Hätte er seine Versuche über längere Zeit und mehr Konjugationsperioden ausgedehnt, so würde er nach meinen zuvor erwähnten Erfahrungen sicherlich ab und zu statt einer Erhöhung auch ein Absinken der Mortalität festgestellt haben. Allerdings würde ihn auch das wohl kaum an seiner Deutung zweifeln lassen, sondern nur zu der Annahme führen, daß in solchen Fällen eben „Letal gene“ zurückmutiert wären.

Es gibt aber noch schwierigere Fälle: So isolierte ich z. B. bei einer am 18. November 1917 in einer Zweigzucht meines Klones h von *Paramaecium aurelia* aufgetretenen Konjugationsepidemie 47 Pärchen (d. h. sämtliche an diesem Tage in dem Kulturgläse vorhandenen Pärchen) und trennte die Exkonjuganten nach ihrem Auseinandergehen. Am nächsten Tage traten in der gleichen Zucht 39 neue Pärchen auf, die in gleicher Weise isoliert weitergeführt wurden; und endlich wurden am übernächsten Tage 34 neu zusammengetretene Pärchen entsprechend behandelt. Von den 94 Exkonjuganten des 1. Tages gingen nun 28 ein, von denen 78 des 2. dagegen 69! und von den 68 des 3. Tages 31. Will RAFFEL nun annehmen, daß hier innerhalb der ersten 24 Stunden durch Mutation neue Letalfaktoren entstanden sind, während innerhalb der zweiten 24 Stunden dem Zahlenverhältnis entsprechende „Rückmutationen“ erfolgten?!

Bei meinen Untersuchungen über die parthenogenetischen Prozesse endlich habe ich es durchaus nicht selten erlebt, daß von Geschwisterindividuen, die gleichzeitig eine Parthenogenese durchmachten, das eine zugrundeging, während das andere lebens- und vermehrungsfähig blieb. Hier müßte also die von RAFFEL geforderte Letalmutation immer gerade während der kurzen Zeit zwischen letzter Teilung und Parthenogenese erfolgt sein!

Mit großzügiger Heranziehung beliebig zahlreicher Letalfaktoren, Mutationen und Rückmutationen läßt sich natürlich jedes Zahlenverhältnis interpretieren. Es fragt sich nur, ob eine solche „Erklärung“ im gegebenen Falle mehr als eine rein formale Bedeutung hat!

Aber auch abgesehen von den zuvor angegebenen Tatsachen, die wohl eindeutig gegen die RAFFEL'sche Anschauung sprechen, dürfte eine nicht nur rein mathematisch, sondern auch biologisch orientierte Betrachtung der vorliegenden Verhältnisse von vornherein gegenüber einer so schematischen Übertragung der an vielzelligen Organismen (speziell *Drosophila*) gewonnenen Vorstellungen

auf die Infusorien etwas skeptisch stimmen. Wenn hier schon innerhalb von nur 2 Monaten unter angeblich günstigsten Bedingungen wirklich 4—10 Letalfaktoren entständen, dann könnte man nur darüber staunen, daß heute überhaupt noch Paramäcien existieren. Und dabei ist andererseits gar nicht einzusehen, weshalb gerade bei Infusorien Letalmutationen so ungewöhnlich häufig auftreten sollen. Hier kommt es nach der Konjugation ja nicht, wie nach der Befruchtung bei Metazoen, zur Entwicklung eines ganzen neuen Individuums mit ihren komplizierten bei jedem Schritt störungsempfindlichen Reaktionsketten, sondern es wird im wesentlichen nur ein neuer Macronucleus gebildet, während die meisten anderen Differenzierungen bereits vorhanden sind und übernommen werden.

Um Mißverständnissen vorzubeugen, sei aber noch ausdrücklich hervorgehoben, daß nicht etwa das Vorkommen von genetischen Letalfaktoren bei Infusorien bestritten werden soll, sondern nur ihre von RAFFEL postulierte oder zu postulierende Häufigkeit: Sie sind nur einer, der die Mortalität der Exkonjuganten in unseren Laboratoriumszuchten bedingenden Faktoren, aber nicht der einzige und wahrscheinlich nicht einmal der wichtigste!

Die Verhältnisse sind hier eben ganz ähnlich (wenn auch weniger geklärt) wie bei den allgemeinen Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen bei Protisten: Es kommen echte Mutationen sicherlich vor (wie von mir ja schon vor langer Zeit hervorgehoben wurde) und sie sind sogar bis zu einem gewissen Grade auslösbar, aber daneben gibt es auch noch ganz andere sich lange erhaltende Veränderungen: die als Dauermodifikationen bezeichneten Veränderungen des Plasmas. Und diese plasmatischen Umstimmungen spielen in vielen Fällen eine hervorragende, die Mutationen überdeckende Rolle.

* * *

Bei der Prüfung der neuen Veröffentlichungen der JENINGS'schen Schule fällt in diesem Zusammenhange noch auf, daß schon nach verhältnismäßig kurzer Beobachtung der vegetativen Vermehrungsphase Schlüsse auf den Charakter verschiedener Veränderungen gezogen werden. Daß Dauermodifikationen über viele Monate und hunderte von Teilungsschritten bei vegetativer Vermehrung erhalten bleiben können, ist von mir ja in einer ganzen Reihe von Fällen dargetan worden. Die Nichtbeachtung solcher Möglichkeit kann nur zu leicht die mendelistische Analyse mutativer Veränderungen unnötig erschweren.

Wie lange Dauermodifikationen sich unter Umständen erhalten können, zeigen besonders schön einige von mir schon vor Jahren erhobene Befunde an weiteren experimentell erzielten Dauermodifikationen, die bisher nur ganz summarisch bei anderer Gelegenheit (JOLLOS, 1931) erwähnt worden sind:

Es handelt sich um Versuche zur Steigerung der Hitzeresistenz des Heliozoons *Actinophrys sol*.

Die Lebensgeschichte von *Actinophrys* ist durch die schönen Untersuchungen von KARL BĚLAŘ (1923, 1924) in allen Einzelheiten aufgeklärt. Wir kennen durch ihn nicht nur die cytologischen Vorgänge bei der vegetativen Vermehrung und bei der (hier in Form einer Pädogamie auftretenden) Befruchtung, sondern wir können auch durch entsprechende Wahl der Kulturbedingungen Sexualprozesse jederzeit leicht auslösen oder umgekehrt beliebig lange mit Sicherheit verhindern, also einen Klon dauernd bei vegetativer Vermehrung halten.

Als Ausgangsmaterial für meine Versuche dienten Abzweigungen der Zuchten F_{47} und F_{61} von BĚLAŘ, d. h. Abkömmlinge des gleichen Klones, die nach der Isolierung 47 bzw. 61 pädogame Befruchtungsprozesse durchgemacht hatten (vgl. BĚLAŘ, 1924). Es handelte sich also — wenn wir von etwaigen in der Zwischenzeit aufgetretenen „Spontanmutationen“, für die kein Anhaltspunkt vorliegt, absehen — um ein denkbar einheitliches homozygoten Material.

Diese Zuchten gediehen bei Temperaturen zwischen 20 und 25° sehr gut. Schon bei 26° fielen sie in Depression. Durch langsame allmähliche Steigerung der Temperatur gelang es jedoch, eine Gewöhnung an 26° bis höchstens 28° zu erzielen und eine solche „gewöhnte“ Abzweigung von F_{47} beliebig lange (über 1/2 Jahr) bei etwa 27° — die Temperaturen des Thermostaten schwankten in dieser Zeit gelegentlich zwischen 26 und 28° — zu halten. Eine Gewöhnung an höhere Temperaturen konnte trotz sehr zahlreicher Versuche auch bei noch so vorsichtiger Steigerung niemals erzielt werden.

Abzweigungen des an 26—28° gewöhnten Zweiges von F_{47} konnten nach halbjährigem Aufenthalt in dieser Temperatur eine Versetzung in 29° zwar einige Zeit aushalten, verfielen hier aber stets nach längstens einer Woche in Depression und blieben nie länger als 15 Tage am Leben. Eine Steigerung der Temperatur auf 30° führte ausnahmslos in höchstens 4—5 Tage zum Aussterben der Kulturen. Abzweigungen der an 26—28° gewöhnten Zuchten, die auf eine Woche in 21° zurückversetzt wurden, verloren die Gewöh-

nung wieder völlig und verhielten sich dann stets genau wie unbehandelte F_{47} -Individuen.

Bei Versetzung von (unbehandelten) Abzweigungen von F_{47} und F_{61} aus Zimmertemperatur unmittelbar in 28° kam es nicht selten innerhalb von 24 Stunden zur Encystierung; ebenso mehrmals bei Versetzung von Abzweigungen der an $26-28^{\circ}$ gewöhnten Zucht unmittelbar in 30° , 32° oder 35° . In beiden Fällen gelang es aber nur ganz ausnahmsweise, solche Cysten bei den angegebenen Temperaturen unter den sonst das Ausschlüpfen veranlassenden Bedingungen (BĚLAŘ, 1924) zum Keimen zu bringen. Bei den an $26-28^{\circ}$ gewöhnten Heliozoen läßt sich Pädogamie und Encystierung bei dieser Temperatur zwar in üblicher Weise hervorrufen, doch ist auch hier ein Ausschlüpfen aus diesen Cysten nur ziemlich selten zu erzielen. Die aus solchen Cysten getrennt aufgezogenen Kulturen wiesen stets die gleiche Temperaturresistenz auf wie die rein vegetativ vermehrten Zweige.

Im Oktober 1924 gelang es nun ausnahmsweise, einige bei Versetzung einer unbehandelten Zucht von F_{47} in 28° gebildete Cysten in dieser Temperatur zum Keimen zu bringen. Die ausgeschlüpften Individuen wurden dann bei 21° weitergeführt und Abzweigungen dieser Zucht nach 10 Tagen teils in 28° , teils in 30° versetzt. In beiden Thermostaten blieben die Kulturen ungeschädigt lebens- und vermehrungsfähig. Weitere Versuche zeigten, daß diese Heliozoen sogar die Versetzung aus 21° in 32° aushalten konnten und bei dieser für alle unbehandelten und auch für die an $26-28^{\circ}$ gewöhnten Zuchten unbedingt tödlichen Temperatur monatelang gut gediehen!

Weitere in regelmäßigen Abständen von 10 Tagen durchgeführte Prüfungen des dauernd bei 21° weitergeführten Teiles dieser Zucht zeigten, daß diese beträchtliche Hitzeresistenzsteigerung 3 Monate unverändert erhalten blieb. Sie wurde auch durch 3 im November—Dezember 1924 in kurzen Abständen hintereinander ausgelöste Befruchtungsfolgen nicht zum Schwinden gebracht. Im 4. Monat (Ende Januar 1925) ging jedoch ein großer Teil der Heliozoen bei Versetzung aus 21° in 32° zugrunde. Die am Leben gebliebenen Individuen wurden bei 21° weitergeführt und vermehrten sich gut. Doch die nächsten Prüfungen, sowohl dieser Zucht wie auch der dauernd bei 21° gehaltenen, ergaben eine sich ständig steigende Mortalität bei 32° . Und ab Ende Februar gingen sämtliche Kulturen bei Übertragung aus 21° in 32° , ja selbst bei Übertragung in 28° stets restlos zugrunde. Die Hitzeresistenzsteigerung, die sich über 3 Befruchtungen erhalten hatte, war somit bei rein-vegetativer Vermehrung

bei einem ständig steigenden Teil und schließlich bei allen Individuen völlig geschwunden!

Es kann sich hierbei auch nicht um ein Überwuchern resistent gebliebener Heliozoen durch zunächst vereinzelt „abgespaltene“ weniger widerstandsfähige Individuen handeln. Denn es wurden ja stets gerade die in 32° am Leben gebliebenen, also resistentesten Heliozoen zur Weiterzucht verwandt und die von ihnen aus gewonnenen Zuchten in kurzen Abständen geprüft.

Damit ist aber dargetan, daß es sich bei der erzielten Hitze-resistenz und ihrer Rückbildung nicht um eine Mutation bzw. Rückmutation gehandelt haben kann. Denn um den Tatsachen gerecht zu werden, müßte man bei der großen Zahl der allmählich restlos zur Norm zurückschlagenden Zweigzuchten Rückmutationen in einer völlig unwahrscheinlichen Häufigkeit postulieren. Wir müssen daher auch diese Veränderung als typische Dauermodifikation ansprechen, eine Deutung, die mit allen festgestellten Erscheinungen bei diesen Zuchten im besten Einklang steht.

Interessanterweise wurde diese durch Hitzeeinwirkung hervorgerufene Dauermodifikation nicht nur nach über 3 Monate langem Aufenthalt in 21° zurückgebildet, sondern sie verschwand auch bei dem dauernd bei 28° gehaltenen Teile dieser Zucht (die dauernd bei 32° gehaltene Abzweigung konnte in dieser Hinsicht leider nicht mehr geprüft werden, da sie im Januar 1925 bei einer mit Temperaturanstieg auf 39° verbundenen Störung des Thermostaten zugrunde gegangen war).

Als Anfang Februar 1925 sich bei der 21°-Abzweigung ein Schwinden der Dauermodifikation deutlich gezeigt hatte, wurden Kulturen des seit Ende Oktober 1924 bei 28° geführten Zweiges zum Teil in 32°, zum Teil in 21° versetzt. In 32° blieben in diesem Falle nur wenige Individuen am Leben. Diese wurden bei 21° weitergezüchtet und ihre Nachkommen nach 10 Tagen erneut in den 32°-Thermostaten gebracht. Diesmal blieben von hunderten von Individuen nur 2 am Leben. Bei 21° vermehrten sie sich reichlich. Aber bei erneuter Versetzung in 32° gingen diese Zuchten jetzt restlos zugrunde, und zwar in der gleichen Zeit wie unbehandelte zur Kontrolle gleichzeitig übertragene Kulturen von F 47!

Von den Anfang Februar aus 28° in 21° versetzten Heliozoen (s. oben) wurden 10 Tage später Zweigkulturen sowohl wieder in 28° wie in 32° gebracht. Auch hier blieben, und zwar in beiden Serien, nur einige wenige Individuen am Leben. Und die von diesen aus bei 21° gewonnenen Zuchten gingen nicht nur bei 32°,

sondern auch schon bei 28° restlos zugrunde. Wurden dagegen um die gleiche Zeit (Ende Februar) neue Abzweigungen des dauernd bei 28° gehaltenen Teiles nur auf 2 Tage in 21° gebracht und dann in 28 bzw. 32° versetzt, so gingen sie zwar in 32° gleichfalls restlos ein; in 28° blieben sie dagegen zum größten Teil ungeschädigt lebens- und vermehrungsfähig.

Diese Feststellungen sind in mehrfacher Hinsicht wichtig: Einmal zeigt uns der Verlust der Wärmeresistenz auch bei den dauernd bei 28° gehaltenen Kulturen, daß das Schwinden der Dauermodifikation hier nicht durch konträre Induktion eines „normalen“ Mediums bedingt sein kann, sondern wohl nur auf eine Einwirkung des unveränderten Genoms auf das experimentell veränderte Plasma zurückführbar ist (wie dies schon bei Aufstellung des Dauermodifikationsbegriffes angenommen worden war).

Weiterhin wird uns aber auch der (schon bei meinen alten Arsenversuchen betonte) Unterschied zwischen „Gewöhnung“ und „Festigung“ nochmals klar vor Augen geführt: „Festigung“ in unserem Sinne kommt durch eine Dauermodifikation, durch eine Veränderung des lebenden, vermehrungsfähigen Plasmas zustande und bleibt dementsprechend auch nach Fortfall der auslösenden Umweltfaktoren längere oder kürzere Zeit erhalten — so lange, bis eben Einflüsse des unveränderten Genoms die ihm konträre plasmatische Umstimmung beseitigt haben. „Gewöhnung“ hält sich dagegen nur unter dem Einfluß der sie verursachenden Außenbedingungen und verschwindet nach deren Fortfall sogleich oder nach einer kurzen „Nachwirkungsperiode“. Mit Dauermodifikation hat sie offenbar gar nichts zu tun, kann sie doch neben einer Dauermodifikation und unabhängig von dieser zustandekommen.

Unser gegen Hitze durch Dauermodifikation „gefestigter“ Stamm erwarb bei seinem lange dauernden Aufenthalt bei 28° daneben noch eine „Gewöhnung“, die ganz der eingangs erwähnten „Gewöhnung“ von F₄₇ an 26—28° entsprach. Diese „Gewöhnung“ blieb dem bei 28° verbleibenden Teil auch erhalten, als seine Dauermodifikation im Februar 1925 bereits geschwunden war. So erklärt es sich, daß Abzweigungen, die 10 Tage bei 21° verbracht hatten, bei der Zurückversetzung in 28° eingingen, während die dauernd bei 28° gehaltene Hauptzucht ungestört weiterging. Denn nach 10 Tagen ist, wie eingangs ausgeführt wurde, auch die letzte Nachwirkung der „Hitze-Gewöhnung“ stets restlos geschwunden, nicht dagegen bei nur zweitägigem Aufenthalt in 21°. So kommt es, daß sogar

spätere Abzweigungen aus 28 in 21° nach nur zweitägigem Aufenthalt bei 21° die Rückübertragung in 28° zum größten Teil gut überstanden, dagegen bei 32° restlos zugrunde gingen. Sie hatten eben zwar ihre „Festigung“ (Dauermodifikation), nicht aber ihre „Gewöhnung“ an höhere Temperatur eingeübt.

Eine zweite entsprechende Steigerung der Hitzeresistenz, die aber ganz wesentlich länger erhalten blieb, wurde im Januar 1925 in ähnlicher Weise gleichfalls aus dem Stamme F_{47} erhalten. Diesmal gelang es ausnahmsweise, einige Cysten, die bei der Übertragung von an 26—28° „gewöhnnten“ Zuchten (s. oben) in 35° gebildet wurden, bei dieser Temperatur zum Keimen zu bringen. (Alle sonstigen Versuche dieser Art blieben ohne Erfolg.) Diese frisch geschlüpften Actinophrysindividuen, 5 an der Zahl, wurden bei 21° weitergezüchtet und vermehrten sich in normaler Weise. Ihre Nachkommen vertrugen ohne merkbare Schädigung die Übertragung in den 32°-Thermostaten und konnten beliebig lange bei dieser Temperatur gehalten werden. Regelmäßige Prüfungen des dauernd bei 21° weitergeführten Teiles dieser Kulturen hatten in den folgenden Monaten das gleiche Ergebnis. In der Zeit von Ende Mai bis Ende Juli wurden hintereinander 5 Befruchtungen ausgelöst, ohne daß sich die Hitzeresistenz veränderte. Die Heliozoen der F_5 -Generation (nach Festigung) blieben genau so gefestigt wie alle vorausgegangenen Generationen. Auch bei asexueller Weiterzucht der F_5 -Generation bis Januar 1926, und ebenso in der dann erzielten F_6 -Generation kam es zu keinem Rückgang. Unter diesen Umständen mußte es zweifelhaft erscheinen, ob hier wieder eine Dauermodifikation oder aber diesmal eine Mutation vorlag.

Da eine Kreuzungsanalyse bei einem pädogamen Organismus wie Actinophrys nicht möglich ist, so war eine rasche Klärung dieser Frage nur zu erwarten, falls eine dominante Mutation nur eines Genes des betreffenden Genpaares vorlag. Denn dann mußte es nach der Befruchtung auch zum Auftreten der homozygoten rezessiven Kombination kommen, d. h. von Heliozoen mit der geringen Hitzeresistenz des Ausgangsstammes (F_{47}).

Es wurden daher schon von der F_5 und F_6 -Generation unserer hitzeresistenten Zucht in einzelnen Kulturschälchen sämtliche aus den Cysten ausschüpfenden Individuen vor ihrer ersten Teilung isoliert und getrennt aufgezogen. Die aus ihnen gewonnenen Kulturen wurden dann auf ihre Resistenz geprüft. Entsprechende Prüfungen wurden von mir Anfang 1926 auch bei der F_7 - und

F₈-Generation durchgeführt. Ferner hatte Herr F. WEYER die große Freundlichkeit, im Frühjahr 1926 nach meiner Übersiedelung nach Cairo meine F₆-Generation in Dahlem weiterzuführen und eine Anzahl in gleicher Weise gewonnener Einzelkulturen der von ihm erzielten F₇, F₈ und F₉-Generationen zu prüfen. Im ganzen sind auf diese Weise über 300 unmittelbar nach den Befruchtungsprozessen isolierte Individuen, bzw. die von jedem dieser Individuen gebildeten Stämme vergleichend untersucht worden: Unterschiede zwischen ihnen waren nicht festzustellen. Alle wiesen die gleiche erhöhte Hitzeresistenz auf!

Wenn es sich also bei unserer experimentell erzielten Veränderung um eine echte Mutation handelte, so konnte es nur eine homozygote sein. Aber immer noch bestand daneben die Möglichkeit, daß eine besonders hartnäckige Dauermodifikation vorlag. Die Entscheidung fiel erst nach fast drei weiteren Jahren. Ein Teil der F₈-Generation wurde von mir nach Ägypten mitgenommen und hier rein vegetativ weitergeführt, teils in kleinen Kulturschalen, teils in besonders großen gut geschlossenen Aquariumgläsern (mit *Gonium* und *Chlorogonium*). In diesen Aquariumgläsern konnten die Heliozoen mehrere Monate sich selbst überlassen werden und auch die Sommerzeit in meiner Abwesenheit überstehen. Die Gefahr einer Einschleppung „fremder“ Individuen bestand nicht, da ich in den Jahren meines ägyptischen Aufenthaltes in sehr zahlreichen untersuchten Wasserproben niemals *Actinophrys* (oder *Actinosphaerium*) finden konnte. Auch nach Angaben von Loos scheinen diese Heliozoen in Ägypten, zum mindesten in der Umgebung von Cairo, überhaupt nicht vorzukommen. Da auch die von mir gleichfalls mitgenommenen Kulturen des Ausgangsstammes F₄₇ schon im Mai 1926 (offenbar infolge der um diese Zeit für sie zu hohen Zimmertemperaturen) restlos ausstarben, so waren in meinem Institut von dieser Zeit an sicher keine anderen Heliozoen vorhanden als die hitzeresistenten F₈-Zuchten. Im Herbst jedes Jahres wurden von den in Aquarien am Leben gebliebenen Individuen aus erneut in kleinen Schälchen Kulturen angelegt und auf ihre Hitzeresistenz in Abständen von 3—4 Monaten geprüft. Bis zum Oktober 1928 zeigte sich keinerlei Abschwächung. Dagegen ging von Dezember 1928 an eine ständig wachsende Zahl der in 32° versetzten Heliozoen bei dieser Temperatur zugrunde. Es handelte sich auch in diesem Falle nicht, oder nur zum geringsten Teil, um ein Überwuchern der unverändert resistent gebliebenen Individuen durch die Nachkommen einiger weniger zur Norm zurückgeschlagener, sondern um das tatsächliche

Abklingen der Veränderung bei einer ständig wachsenden Zahl von Heliozoen. Denn auch hier wurden stets die in den geprüften Kulturen nach Hitzeeinwirkung am Leben gebliebenen Individuen, also gerade die noch voll resistent gebliebenen, zur Weiterzucht verwandt, und die Prüfungen wurden von Februar bis Ende April 1929, als das Absinken der Resistenz immer stärker hervortrat, alle 10 bis 14 Tage erneut vorgenommen. Im Februar und März 1929 vertrug schon die weit überwiegende Mehrzahl der Heliozoen weder eine Temperatur von 32°, noch eine solche von 28°. Am 19. März fanden sich in 8 Kulturschälchen nach 5 tägigem Aufenthalt in 32° zusammen noch 11 lebende *Actinophrys*individuen, während in 6 am 20. März in 28° versetzten Schälchen am 25. März noch 5 Individuen am Leben geblieben waren! In beiden Fällen wurden diese wenigen Überlebenden bei Zimmertemperatur weitergezogen. Sie vermehrten sich in normaler Weise. Abzweigungen dieser Zucht wurden im Laufe des April und zuletzt Anfang Mai 1929 wiederholt teils in 32°, teils in 28° versetzt: Bei jeder dieser Temperaturen gingen sie jetzt stets in wenigen Tagen restlos zugrunde.

Bei anderen Abzweigungen wurde Anfang April Befruchtung ausgelöst. Je 10 Kulturen, die von zahlreichen frisch aus der Cyste geschlüpften Individuen gewonnen worden waren, wurden in 32 bzw. 28° versetzt. Auch sie gingen bei beiden Temperaturen restlos ein. Auch eine schon zuvor, Anfang März, durchgeführte Prüfung einer durch Befruchtungsauslösung frisch erzielten F₉-Generation hatte das gleiche Ergebnis.

Auch diese experimentell hervorgerufene Steigerung der Hitze-resistenz von *Actinophrys sol* hat sich somit als Dauermodifikation erwiesen. Es war die weitaus „hartnäckigste“ aller von mir bisher untersuchten Veränderungen dieser Kategorie; konnte sie sich doch bei vegetativer Vermehrung über 4 Jahre und über 8 (bei dem von Herrn WEYER geprüften Teil sogar über 9) Befruchtungsfolgen hinweg erhalten! Und selbst nach Einsetzen der Rückbildungsprozesse dauerte es hier noch mehrere Monate, bis die Dauermodifikation auch bei dem letzten Abkömmling dieser Zucht restlos abgeklungen war.

*

*

*

Der Versuch der JENNINGS'schen Schule, die Dauermodifikationen der Protozoen als echte Mutationen umzudeuten, hat sich, wie wir sahen, als undurchführbar erwiesen. Gerade umgekehrt ist aber in den letzten Jahren durch eine Reihe von Untersuchungen die von

vornherein ausgesprochene Vermutung bestätigt worden, daß Dauermodifikationen auch bei vielzelligen Lebewesen vorkommen.

Die Feststellungen R. WOLTERECK's und seiner Mitarbeiter an Daphniden, auf die damals in erster Linie hingewiesen worden war, erscheinen jetzt so weit geklärt, daß an dem Dauermodifikationscharakter der durch verschiedene Umwelteinflüsse hier erzielten, sich im extremsten Fall über 40 parthenogenetische Generationen erhaltenden Veränderungen kaum mehr gezweifelt werden kann.

Echte Dauermodifikationen sind ferner durch Hitzeeinwirkung bei *Habrobracon* (KÜHN, KAESTNER) und vor allem auch bei *Drosophila* (JOLLOS, 1931, 1932 a) hervorgerufen worden. Bei *Drosophila* entstehen derartige Veränderungen nach den Angaben von WOSKRESSENSKY und TIMOSÉEFF-RESSOWSKY auch nach Röntgenbestrahlung. Die geprüften Dauermodifikationen halten sich bei *Habrobracon* über 3 Generationen, bei *Drosophila* über 6 Generationen (nach Angaben von WOSKRESSENSKY sogar über 10 Generationen!). Bei beiden Organismen konnte durch Kreuzungsversuche bewiesen werden, daß es sich wirklich um Umstimmungen des Plasmas handelte.

Auf botanischem Gebiete sind hier die Untersuchungen von HOFMANN zu nennen, der bei *Phaseolus vulgaris* durch Behandlung mit Chloralhydrat Dauermodifikationen der Blattbildung erzielte, die sich über 6 Generationen erhielten und, wie ein Kreuzungsversuch zeigte, gleichfalls auf einer Veränderung des Plasmas beruhten.

Bei *Drosophila* und *Phaseolus* konnte auch, ganz wie bei den Protozoen, ein allmähliches Abklingen der Dauermodifikationen festgestellt werden. Auch die Dauermodifikationen von *Habrobracon* und den Daphniden verhalten sich offenbar ganz entsprechend. Und endlich zeigen nach den Untersuchungen von MICHAELIS auch die bei manchen Kreuzungen hervortretenden Unterschiede der Plasmen verschiedener Arten im Prinzip das gleiche Verhalten: Auch sie werden bei langdauernder Einwirkung eines „fremden“ Genoms allmählich entsprechend umgestimmt.

Die an den Dauermodifikationen der Protozoen erhobenen Feststellungen scheinen demnach ganz allgemein für das Verhalten plasmatischer Umstimmungen und Unterschiede zu gelten¹⁾.

¹⁾ Auf die Dauermodifikationen und die „plasmatische Vererbung“ bei vielzelligen Organismen wird an anderer Stelle demnächst näher eingegangen werden.

Literaturverzeichnis.

- BĚLAŘ, K. (1923): Untersuchungen an *Actinophrys sol* EHRBG. I. Die Morphologie des Formwechsels. Arch. f. Protistenk. Bd. 46.
- (1924): II. Beiträge zur Physiologie des Formwechsels. Ibid. Bd. 48.
- HOFMANN, F. W. (1927): Some attempts to modify the germ plasm of *Phaseolus vulgaris*. Genetics Vol. 12.
- JENNINGS, H. S. (1933): Genetics of the Protozoa in relation to some of the problems of genetics. Japan. Journ. of Genetics Vol. 8.
- JENNINGS, H. S., RAFFEL, D., LYNCH, R. S. and SONNEBORN, T. M. (1932): The diverse biotypes produced by conjugation within a clone of *Paramecium aurelia*. Journ. of exper. Zool. Vol. 62.
- JOLLOS, V. (1913): Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. Biol. Zentralbl. Bd. 33.
- (1913 a): Über die Bedeutung der Konjugation bei Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 30.
- (1921): Experimentelle Protistenstudien. I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. Ibid. Bd. 43 (und Sonderausgabe Jena, G. Fischer).
- (1924): Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Arcellen. Ibid. Bd. 49.
- (1931): Genetik und Evolutionsproblem. Verhandl. Deutsch. Ges. (und Sonderausgabe Leipzig, Akad. Verlagsges.).
- (1932): Variabilität und Vererbung bei Mikroorganismen in ihrer Bedeutung für die Medizin. Klin. Wochenschr. Jahrg. 11.
- (1932 a): Weitere Untersuchungen über die experimentelle Auslösung erblicher Veränderungen bei *Drosophila melanogaster*. Zeitschr. f. indukt. Abst.- u. Vererbl. Bd. 62.
- KAESTNER, H. (1931): Die Wirkung von Temperaturreizen auf die Pigmentierung und ihre Nachwirkung in den folgenden Generationen bei *Habrobracon juglandis*. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 124.
- MICHAELIS, P. (1933): Entwicklungsgeschichtlich-genetische Untersuchungen an *Epilobium*. II. Bedeutung des Plasmas für die Pollenfertilität des *Epilobium luteum-hirsutum* Bastardes. Zeitschr. f. indukt. Abst.- u. Vererbl. Bd. 65.
- RAFFEL, D. (1932 a): Inherited variation arising during vegetative reproduction in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. Vol. 62.
- (1932 b): The occurrence of gene mutations in *Paramecium aurelia*. Journ. exper. Zool. Vol. 63.
- SONNEBORN, T. M. and LYNCH, R. S. (1932): Racial differences in the early physiological effects of conjugation in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. Vol. 62.
- TIMOFÉEFF-RESSOWSKY, N. W. (1932): Die heterogene Variationsgruppe. „Abnormes Abdomen“ bei *Drosophila funebris*. Zeitschr. f. indukt. Abst.- u. Vererbl. Bd. 62.
- WOLTERECK, R. (1931): Beobachtungen und Versuche zum Fragenkomplex der Artbildung. I. Biol. Zentralbl. Bd. 51.
- WOSKRESSENSKY, N. M. (1930): Beschleunigende Röntgenstrahleneinwirkung und deren Vererbung. Proc. U.S.S.R. Congr. of Genetics, Plant- and Animal-Breeding Vol. 2. Leningrad.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1934

Band/Volume: [83_1934](#)

Autor(en)/Author(s): Jollos Victor

Artikel/Article: [Dauermodifikationen und Mutationen bei Protozoen. 197-219](#)