Über die Entstehung erblicher Eigenschaften durch cytoplasmatische Induktion.

Von E. Toenniessen, Erlangen.

(Eingegangen am 22. August 1921.)

Erbliche Eigenschaften können bekanntlich nur dadurch entstehen, daß sich das Keimplasma verändert. Zur Bezeichnung dieser erblichen Variationen hat sich in Anknüpfung an de Vries der Name *Mutation* allgemein eingebürgert. Auf welche Weise aber die Mutationen und zwar besonders die den phylogenetischen Fortschritt bringenden Mutationen entstehen, darüber gehen die Meinungen noch stark auseinander. Man kann sich m. E. folgende drei Möglichkeiten für die Veränderung des Keimplasmas vorstellen:

1. Die spontane, endogene Veränderung eines Erbfaktors aus unbekannten, im Keimplasma selbst gelegenen Gründen. Diese Blastovariation zeigt sich in dem plötzlichen Auftreten einer neuen, erblichen Eigenschaft. Aber der Bereich der spontanen Mutationen ist doch ein recht beschränkter, wie neuerdings auch Goldschmidt betont. Sie erstrecken sich auf einige wenige Eigenschaften wie „Albinismus und Melanismus bei Tieren, zerschlissene Blätter, Blattfarbe, gefüllte Blüten bei Pflanzen“ — oder sie haben direkt den Charakter des Pathologischen an sich, wie z. B. „Dackelbeinigkeit, Kurzsteißigkeit, Polydaktylie, Riesen- und Zwergwuchs“ — so daß schon Darwin das Pathologische als das Charakteristikum der „sports“ ansah. Auch die Entstehung pathologischer Erbfaktoren des Menschen dürfte auf solche spontane Keimplasmaänderungen zurückzuführen sein, wie Nägeli im Hinblick auf die Hämophilie hervorhebt.

2. Die exogene Mutation durch Einwirkung eines äußeren Reizes unmittelbar auf das Keimplasma selbst. Daß eine solche Beeinflussung

stattfinden kann, ist durch Temperaturexperimente an Insekten (Studien an Schmetterlingen von E. Fischer und Standfuß, am Coloradokäfer von Tower) erwiesen. Es handelt sich dabei aber wahrscheinlich nicht um die Entstehung neuer Erbfaktoren oder den Verlust schon vorhandener Erbfaktoren, sondern um einen Valenzwechsel, indem gewisse Gene latent oder rezessiv gemacht werden. Dieser Auffassung Plates (Selektionsprinzip S. 467) möchte ich mich anschließen.

3. Die Veränderung des Keimplasmas durch einen äußeren Reiz auf dem Umwege über das Soma.

Man hat bisher zur Erklärung der Phylogenese angenommen, daß ein äußerer Reiz zunächst das Soma verändern kann und daß hierbei Beziehungen zwischen Reiz und Reizeffekt (für unser subjektives Urteil oft im Sinne einer Anpassung) bestehen. So wäre z. B. die phylogenetische Entstehung des Auges ohne eine Reaktions- und Differenzierungsfähigkeit bestimmter Somazellen auf Lichtstrahlen oder die Form und Struktur der Knochen ohne die Annahme einer adäquaten Reaktion auf den Reiz der Belastung undenkbar. Die Veränderung des Somas ist zunächst exogen bewirkt, tritt aber bei der Ontogenese späterer Generationen ohne Fortdauer des Reizes auf, muß also erblich fixiert worden sein.

Die Übertragung einer somatischen Veränderung auf das Keimplasma hat man somatische Induktion genannt. Der experimentelle Nachweis einer somatischen Induktion ist trotz der Fülle hierauf verwendeter Arbeit bisher nicht einwandfrei erbracht worden. Das Mißlingen der bisherigen Versuche, eine Vererbung vom Soma erworbener Eigenschaften experimentell nachzuweisen, erklärte man sich bisher durch die Schwierigkeiten, welche einer Übertragung somatischer Veränderungen auf das Keimplasma der Geschlechtszellen entgegenstehen. M. E. liegt aber das Zentrum des Problems in einem anderen Punkt. Nach W. Roux müssen wir annehmen, daß die Zellen des Somas neben dem Cytoplasma auch Keimplasma enthalten; die Zellen der niederen Tiere sogar mit Sicherheit Vollkeimplasma, wie aus der Bildung der Keimdrüsen von differenzierten Somazellen beim Bandwurm (Child) und bei Amphibien (Kuschokewitsch) hervorgeht; die Somazellen der höheren Tiere enthalten vielleicht nur Partialkeimplasma, da sie nur ein beschränktes Regenerationsvermögen besitzen. Doch ist es wahrscheinlicher, daß bei der Ontogenese das Keimplasma erbgleich weitergegeben wird, während das Cytoplasma der Eizelle ungleich vererbt wird und so die Differenzierung der Organe bewirkt. (C. Herbst,

Entwicklungsmechanik und Entwicklungsphysiologie, Handwörterbuch der Naturwissenschaften, III. Bd., S. 584).

Das Cytoplasma der Somazellen besitzt nun die bekannte Reaktionsfähigkeit auf äußere Reize, welche in den Somavariationen zum Ausdruck kommt. Gleichzeitig wird es aber von inneren Reizen beeinflusst, nämlich vom somatischen Keimplasma. Dieses beherrscht die Art und die Grenzen der Reaktionsfähigkeit des Cytoplasmas, die sogenannte Variationsbreite. Wir stellen uns das Keimplasma nach Plate und Goldschmidt am besten als einen Komplex von Reizquellen vor, welche das Cytoplasma zu den ererbten artspezifischen Leistungen anregen, etwa nach Art der Fermente; das Cytoplasma ist also gewissermaßen ausführendes Organ, welches sowohl auf die Reize der Umwelt, als auch auf die inneren, vom Keimplasma ausgehenden Reize anspricht. Was geschieht nun, wenn ein äußerer Reiz das Soma trifft und ein Artmerkmal gegenüber dem Idealtypus d. i. dem ererbten Mittelwert verändert? Bei dieser Veränderung wird höchstwahrscheinlich nur das Cytoplasma der variierenden Zellen betroffen, denn man beobachtet, daß diese Somavariationen bei Fortfall des Variationsreizes wieder verschwinden und zwar oft schon beim gleichen Individuum, von dem sie erworben waren (z. B. Aktivitätshypertrophie von Muskeln, Hautpigmentationen durch Wärme, Besonnung u. a.). Es liegt also nur eine Reaktion des Cytoplasmas auf äußere Reize vor, welche sich in der ererbten Variationsbreite abspielt. Für die Entstehung einer neuen vererbaren Eigenschaft ist es aber nötig, daß die ererbte Variationsbreite des betreffenden Artmerkmals überschritten wird. Falls dies überhaupt durch einen äußeren Reiz möglich ist, muß das Cytoplasma durch den Reiz so stark verändert werden, daß der somatische Erbfaktor dabei nicht unverändert bestehen bleiben kann und eine Veränderung erleidet. Diese Annahme liegt nahe, wenn man sich die Erbfaktoren als Reize fermentartiger Natur vorstellt und also annimmt, daß Erbfaktor und Cytoplasma wie Schlüssel und Schloß zueinander passen (um E. Fischers Vergleich zur Fermentwirkung zu gebrauchen). Auf diese Weise könnte durch Vermittlung des Cytoplasmas ein äußerer Reiz in einen inneren Reiz, d. h. in einen Erbfaktor verwandelt werden. Roux hat die Notwendigkeit dieses Vorgangs bei der Vererbung somatogener Variationen bereits rein theoretisch erörtert und den Vorgang selbst blastoide Metamorphose genannt, wobei er aber den Ort dieser Reizumwandlung in das generative Keimplasma verlegte. Ich bin jedoch der Ansicht, daß zunächst das somatische Keimplasma verändert werden muß, und möchte diese Ver-

änderung des somatischen Keimplasmas durch Einwirkung des Cytoplasmas als cytoplasmatische Induktion bezeichnen. Damit sie zustande kommt, muß natürlich das Cytoplasma die Fähigkeit haben, auf den Reiz in einer Weise zu reagieren, welche die ererbte Variationsbreite überschreitet, und das somatische Keimplasma muß imstande sein, sich der Veränderung des Cytoplasmas anzupassen; der Reiz muß also eine noch nicht abgeschlossene Differenzierungsfähigkeit des Cytoplasmas und des somatischen Keimplasmas treffen. In dem Vorgang der cytoplasmatischen Induktion liegt m. E. das staunenswerteste Rätsel der Pylogenese. Wesentlich leichter zu verstehen ist es, daß das somatische Keimplasma die eigene Veränderung auf irgend einem Wege auf das generative Keimplasma überträgt; denn das Keimplasma ist ein über den ganzen Körper verbreitetes, durch viele Brücken zusammenhängendes Organsystem. Nachdem der Begriff der cytoplasmatischen Induktion theoretisch definiert ist, möchte ich jetzt auseinandersetzen, durch welche experimentelle Beobachtung dieser Begriff entstanden ist.

Meine Untersuchungen fanden statt an einer Bakterienart, nämlich dem *Bakterium pneumoniae*. Es ist selbstverständlich, daß die einzelligen Lebewesen nicht dazu herangezogen werden können, das Problem der somatischen Induktion in seiner bisherigen Fassung zu erforschen; denn die Bakterien sind nicht in Soma und Keimbahn differenziert. Aber selbst bei einem Metazoon könnten wir im Falle einer eingetretenen somatischen Induktion nicht entscheiden, ob hier der exogene Reiz primär das Cytoplasma oder das somatische Keimplasma der Somazellen verändert hat, ob also das generative Keimplasma durch Vermittlung des Cytoplasmas oder des Keimplasmas der veränderten Somazellen beeinflußt worden ist. Wohl aber können wir bei einzelligen Lebewesen sicher unterscheiden, ob eine Variation nur auf einer Änderung des Cytoplasmas beruht — sie zeigt dann keine bzw. keine echte Erblichkeit — oder ob sie auf Änderung des Keimplasmas beruht, dann ist sie erblich. Und insbesondere läßt sich entscheiden, ob bei einer erblichen Variation die Veränderung des Cytoplasmas der Veränderung des Keimplasmas vorausgeht. Das Problem der cytoplasmatischen Induktion ist also bei Protisten sehr wohl angreifbar, wahrscheinlich sogar besser als bei Metazoen. An der Hand folgender Tafel (S. 21), welche einen Überblick über die Variabilität des *Bakterium pneumoniae* gibt, möchte ich jetzt die experimentellen Befunde erörtern. Der normale Phänotypus besteht aus dem Ento- und Ektoplasma, welche lebenswichtige Bestandteile des Bakteriums sind, und der breiten

Gallerthülle, welche ein Sekretionsprodukt ist und aus einem Galaktan besteht. Die Breite dieser Hülle und die damit parallel gehende Tierpathogenität ist die auf Variabilität untersuchte Eigenschaft. Der Variationsreiz bestand in der Anhäufung der Stoffwechselprodukte. Er wirkte hemmend auf die Galaktanbildung ein. Durch Übertragung der Kulturen in verschiedenen langen Zwischenräumen ließ er sich beliebig abstufen. Dem Variationsreiz entgegen wirkten Tierpassagen (Maus), welche die Varianten mehr oder weniger rasch in den normalen Typus zurückverwandeln. Die einzelnen Variationsformen (vergl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86) waren folgende:

1. Die Modifikation. Durch gelinde Einwirkung des Variationsreizes geht die Galaktanbildung im Laufe mehrerer Kulturgenerationen immer mehr zurück bis zum völligen Verschwinden bei den extrem modifizierten Individuen, die übrigen Individuen der Massenkulturen zeigen alle Übergänge zwischen normalem Phänotypus und extremer Modifikation. Durch Tierpassagen stellt sich die Galaktanbildung sofort, bei künstlicher Kultivierung ohne den Variationsreiz bei einzelnen Individuen sofort, bei anderen langsamer wieder in normalem Umfang ein. Die Modifikation beruht auf einer Hemmung der galaktanbildenden Teile des Cytoplasmas, welche bei Wegfall des Variationsreizes bei einem Teil der Nachkommen sofort, bei einem anderen Teil langsamer (pseudohereditäre Nachwirkung durch Proliferation des modifizierten Cytoplasmas) ihren normalen Funktionsgrad wieder erreichen, durch den konträr wirkenden Reiz sofort in den normalen Phänotypus zurückverwandelt werden. Das Keimplasma ist also unverändert geblieben.

2. Die Alternation. Durch stärkere Einwirkung des Variationsreizes geht die Galaktanbildung bei einem geringen Teil der Individuen einer Massenkultur plötzlich ganz verloren. Zugleich wird auch das Ektoplasma und Entoplasma stark reduziert, so daß die alternierte Form von allen Varianten die stärkste Abweichung vom Typus zeigt. Diese Veränderung vollzieht sich ohne Übergangsstadium im Laufe einer einzigen Individualgeneration, also sprunghaft. Sie ist bei Wegfall des Variationsreizes, nämlich bei der üblichen Art der Übertragung in kurzfristigen Zwischenräumen erblich, schlägt aber durch 2—3 Tierpassagen (also schwerer wie die Modifikation) und auch durch Aussaat alter Kulturen (hierbei nur bei einem Teil der Nachkommen) wieder in den Typus zurück, und zwar ebenso sprunghaft wie sie entstanden war. Man wird durch dieses plötzliche Verschwinden und Wiederauftreten einer Eigenschaft an die Erscheinungen der $DR \times DR$ -Kreuzung der

Metazoen erinnert: da aber bei Bakterien Amphimixis nicht vorkommt, muß man die Alternation wohl auf einen Valenzwechsel von Erbfaktoren zurückführen, und zwar auf einen Valenzwechsel biologisch zusammenhängender Radikale. Bei der regressiven Alternation werden aktive Faktoren inaktiv (latent), beim Rückschlag d. h. der progressiven Alternation werden latente Faktoren wieder aktiv. Das Sprunghafte der Alternation ist nur dadurch zu erklären, daß gleichzeitig das Cytoplasma und das Keimplasma verändert wird. Das Charakteristische dieser Variation ist

der oft große, stets sprunghaft auftretende Unterschied zwischen Variante und Typus (da ein mehr oder weniger großer Komplex von Faktoren betroffen ist) und die Fähigkeit der Variante zum Rückschlag. Da der Phänotypus und ebenso auch der Genotypus zwischen zwei verschiedenen Zuständen abwechselt, habe ich für diese Variationsform den Namen Alternation (alternare = abwechseln zwischen zwei Möglichkeiten) gewählt.

Zur Alternation gehören die in den letzten Jahren sehr zahlreich beobachteten sogen. Bakterienmutationen d. h. meist bei Aussaat alternder Kulturen gefundener, sprunghaft in Erscheinung tretender Variationen mit stets erhaltener Fähigkeit zum Rückschlag.

3. Die Mutation. Durch stärkste Einwirkung des Variationsreizes entstehen mehrere Mutanten, die sich immer nur in sehr spärlicher Zahl in den Massenkulturen finden. Nach dem Grade ihrer Abweichung bilden sie eine kontinuierliche Reihe. Drei Grade der Mutation waren leicht gegeneinander zu unterscheiden. Es ließ sich zeigen, daß die extremen Mutanten nicht unmittelbar aus dem Typus, durch einen „Sprung“ wie die alternierten Individuen entstehen, sondern durch eine allmähliche, im Laufe vieler Generationen zunehmende Abänderung (Verminderung der Galaktanbildung und Virulenz), die zu erblichen Zwischenformen führt. Eine isolierte Zwischenform geht in die stärker abweichende nächste Mutante erst über, wenn von neuem die stärkste Einwirkung des Variationsreizes auf sie stattfindet. Die Mutation zeigt den weitaus höchsten Grad von Erblichkeit. Die Mutanten I, II und III blieben bei 20 Tierpassagen ohne bemerkbare Veränderung. Auch bei langer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden blieben die Mutanten konstant. Vergleicht man die Mutanten mit den anderen Varianten hinsichtlich ihrer erblichen Konstanz, so ist die Annahme wohl gerechtfertigt, daß die regressive oder Verlustmutation zu einem Verlust von Erbfaktoren führt. Die verschiedenen Stadien der Mutation zeigen, daß die Galaktanbildung ein polygenes bzw. polymeres Merkmal ist. Nun wurde die Frage aufgeworfen, ob nicht durch noch längere Einwirkung von Tierpassagen die verloren gegangenen Faktoren wieder gebildet werden können. Das Resultat ist auf der Kurve (S. 23) dargestellt.

Die Virulenz ist dabei durch den negativen Exponenten von 10 ausgedrückt (wie die „Wasserstoffzahl“ des Blutes in der Physiologie). So besagt z. B. eine Virulenz von 3, daß $1 \cdot 10^{-3}$ ccm Bouillonkultur = 0,001 ccm die in 2—3 Tagen tödliche Dosis war.

Es ergibt sich zunächst, daß der Typus die höchste Virulenz hat und daß die Virulenz mit dem Grade der regressiven Mutation abnimmt. Bei der Mutante III ist die Virulenz soweit gesunken, daß erst 1,0 ccm Bouillonkultur in 2—3 Tagen tödlich sind (also auf der Kurve = 0, da $1,0 \cdot 10^0 = 1$). Werden der Typus und die Mutanten ohne Einwirkung des Variationsreizes auf künstlichen Medien fortgezüchtet, so bleibt die Virulenz unverändert ($\frac{3}{4}$ Jahr durch Agarplatten fortgezüchtet). Wird nun die Mutante III einer großen Zahl von Tierpassagen unterworfen, so zeigt sich ein ganz allmähliches Ansteigen der Virulenz und der Kapselbildung. Nach 40 Mauspassagen ist die Virulenz auf 2 (= 0,01 ccm Bouillonkultur), und 80 Mauspassagen auf 5 (= 0,00001 ccm Bouillon-

kultur) gestiegen. Jetzt wurde untersucht, ob diese Steigerung eine erbliche war, d. h. ob sie ohne Fortdauer der Tierpassagen bestehen blieb. Zu diesem Zweck wurde alle 7 Tage neu auf Agar übertragen. Hierdurch wird beim Typus und den einzelnen Mutanten die Virulenz nicht verändert, sie bleibt also innerhalb der genotypisch festgelegten Größe. Wird aber die Mutante III nach 80 Mauspassagen auf die genannte Methode künstlich fortgezüchtet, dann tritt wieder ein allmähliches Sinken der Virulenz ein, nach 5 Agarpassagen auf 4, nach 10 Agarpassagen auf 3, nach 15 auf 2. Von der 15. Agarpassage ab

bleibt die Virulenz aber mit geringen Schwankungen unverändert auf 2 stehen. Dieser Grad der Virulenz stellt also einen erblichen Gewinn gegenüber dem Ausgangszustand der Mutante III dar und hat somit als progressive Mutation zu gelten. Der darüber hinausgehende Grad von Virulenz (und Kapselbildung) ist dagegen nicht-erblich, d. h. war nur vom Cytoplasma erworben.

Nun zur Entstehungsweise der beobachteten Mutation. Da bisher eine progressive Mutation durch somatische Induktion trotz aller Mühe nicht experimentell herbeizuführen war, nehmen die meisten Forscher an, daß progressive Mutationen unabhängig von äußeren Reizen nur durch primäre Veränderungen des Keimplasmas entstehen, die Veränderung des Phänotypus also sekundär erfolgt und je nach dem Grade

ihrer Nützlichkeit durch Selektion erhalten bleibt. Im Gegensatz zu dieser Auffassung zeigt die hier beobachtete Mutation eine andere Art des Geschehens. Hier entsteht die neue Eigenschaft zunächst im Cytoplasma als Folge seiner Reaktionsfähigkeit auf den äußeren Reiz und die Veränderung des Keimplasmas folgt der Veränderung des Cytoplasmas nach. Denn in jedem beliebigen Punkte der progressiven Mutation geht die phänotypische, nicht-erbliche Komponente der wieder erworbenen Eigenschaft weit über die genotypische Komponente hinaus. Man muß also annehmen, daß die Veränderung des Keimplasmas höchst wahrscheinlich auf dem Wege über das Cytoplasma erfolgt, d. h. durch „cytoplasmatische Induktion“. Dieser Weg ist sehr wohl denkbar, da wir uns die Beziehungen zwischen Keimplasma und Cytoplasma als sehr enge vorstellen müssen. Hierauf hat Driesch bereits 1894 (analytische Theorie der organischen Entwicklung, Leipzig) hingewiesen. Was die Bedeutung der cytoplasmatischen Induktion für die Entstehung vererbbarer Eigenschaften betrifft, hat neuerdings nur Goldschmidt (die quantitative Grundlage von Vererbung und Artbildung; Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen. Herausgegeben von W. Roux, H. 24) eine ähnliche Auffassung vertreten, wonach die durch Anpassung an äußere Lebensbedingungen veränderlichen Faktorenquantitäten in engster Beziehung zum Artbildungsprozeß stehen. Viel schwierigere Hypothesen wären nötig, wenn man annehmen wollte, daß das Keimplasma primär von dem Reiz verändert wird und dann eine Veränderung des Cytoplasmas reproduziert, welche ihrerseits adäquate Beziehungen zu dem angewandten Reiz zeigt, ohne daß das Cytoplasma selbst vorher von dem Reiz beeinflusst worden ist.

Für das Problem der Artbildung ist besonders wichtig, daß sowohl die retrogressive als auch die progressive Mutation allmählich verläuft und zwischen den einzelnen Generationen keine bemerkbaren Unterschiede schafft. Erst nach vielen Generationen (bei der beobachteten progressiven Mutation wohl mehrere tausend) werden die Unterschiede wahrnehmbar. Im Gegensatz hierzu sind die spontanen, endogenen Mutationen und die durch direkte exogene Beeinflussung des Keimplasmas erzeugten Verlustmutationen durch „sprunghaftes Entstehen“ charakterisiert. Auch die nicht erblichen Variationsformen, welche oben als Modifikation und Alternation beschrieben wurden, bringen große Unterschiede zwischen den einzelnen Generationen mit sich. Diese Tatsachen stehen im Einklang mit den bisherigen Versuchen an Metazoen; die exogen bewirkten Veränderungen des Somas, welche

innerhalb einer einzigen oder weniger Generationen zu einem sichtbaren Unterschied gegenüber dem Ausgangstypus führen, sind nicht erblich. In diesem Sinne gibt es also keine Vererbung erworbener Eigenschaften, d. h. von Eigenschaften, welche bei einem Individuum (einer Individualgeneration) als Reaktion auf einen äußeren Reiz entstehen.

Um erbliche Gewinnvariationen zu erzielen, ist eben eine ungeheure Zahl von Generationen nötig. So wird es verständlich, weshalb progressive Mutationen experimentell kaum zu erzielen sind. Es muß 1. ein Reiz zur Anwendung kommen, der eine noch unentwickelte, aber doch in der bisherigen Konstitution des Cytoplasmas und Keimplasmas vorhandene Fähigkeit zur Bildung einer neuen Eigenschaft bezw. eines neuen Erbfaktors trifft, und 2. wenn es auch gelingt, diese Bedingung zu erfüllen, dürfte es bei den Metazoen kaum möglich sein, die Bildung des neuen Erbfaktors experimentell zu beobachten, da schon bei den relativ einfach gebauten und zu großer Plastizität fähigen Bakterien eine unzählige Reihe von Generationen hierzu nötig ist. So ist m. E. die Annahme berechtigt, daß die Entstehung erblicher Eigenschaften im Sinne der phylogenetischen Entwicklung durch cytoplasmatische Induktion vor sich gegangen ist und wohl auch weiter vor sich geht, auch wenn der experimentelle Beweis an Metazoen bisher nicht erbracht ist.