

CHROMOSOOM PERSPECTIEVEN

REDE

UITGESPROKEN BIJ
DE AANVAARDING VAN HET AMBT VAN
HOGLERAAR IN DE ERFELIJKHEIDSLEER
AAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL
OP DINSDAG 14 JUNI 1949

DOOR

Dr R. PRAKKEN



H. VEENMAN & ZONEN . WAGENINGEN

*Mijne Heren Curatoren der Landbouwhogeschool,
Mijne Heren Hoogleraren, Mevrouw en Mijne Heren
Lectoren en Docenten, Dames en Heren Wetenschappe-
lijke Medewerkers,
Dames en Heren Ambtenaren en Beambten,
Dames en Heren Studenten,
en voorts Gij allen die door Uw aanwezigheid blijk geeft
van Uw belangstelling,*

Zeer geachte en gewaardeerde Toehoorders,

Wanneer ik hier thans een en ander zal vertellen over chromosoomperspectieven, dan wil ik daar een korte toelichting aan vooraf laten gaan.

Waarnemingen omtrent erfelijkheidsverschijnselen, dat is omtrent overeenkomst en verschil in kenmerken tussen ouders en nakomelingen, zijn reeds zeer oud. Terloopse waarnemingen omtrent familie-gelijkenissen zijn zeker bijna even oud als de mensheid. Ook waarnemingen bij huisdieren of bij cultuurplanten zijn reeds van zeer oude datum. De oudste stamboom van paarden, bestaande uit vier rijen in steen gegraveerde koppen die de erfelijkheid van een tweetal kenmerken laten zien, is gevonden in Mesopotamië en dateert van ongeveer 3000 voor Christus.

Systematische waarnemingen en experimenten zijn echter nog betrekkelijk jong. Zoals U weet, behoort hierbij het werk van MENDEL, die in zijn erwten een bijna ideaal materiaal vond, tot de klassieke onderzoekingen. In de tuin van het Augustijnerklooster in Brünn, het Tsjechische Brno, kruiste hij een aantal constante variëteiten, die telkens slechts in één kenmerk of in enkele kenmerken verschilden: hoge stengel – lage stengel, paarse bloem – witte bloem, enzovoort.

Deze enkele bepaalde kenmerken, of liever kenmerkenparen, volgt en vergelijkt MENDEL dan bij de ouders, bij de bastaarden (F_1) en bij de volgende bastaardgeneraties (F_2 , F_3 , enzovoort). Na een tiental jaren van experimenteren beschrijft hij in zijn publicatie van 1865 de resultaten van zijn proeven en waarnemingen. Na deze beschrijving ontwikkelt MENDEL zijn verklaring van de waargenomen erfelijkheidsverschijnselen. Dit geheel van analyserende beschrijving en daarop aansluitende verklaring is zo dwingend logisch, dat het nog steeds een wetenschappelijk en aesthetisch genoeg is, het betoog in zijn geheel te volgen.

En toch bleef MENDEL's werk vrijwel onopgemerkt en werd het fundamenteel belangrijke van zijn verklaring niet ingezien. Een der belangrijkste oorzaken hiervan is ongetwijfeld, dat omstreeks 1865 het onderzoek der chromosomen nog in zijn allereerste kinderschoenen stond.

Het laatste kwart van de negentiende eeuw was voor het onderzoek van de voortplanting en van de rol, die de chromosomen daarbij spelen, een grote periode. In de loop van deze vijftientig jaren werd het duidelijk, dat bij iedere bepaalde soort van plant of dier de kern van de grote eicel en die van de kleine mannelijke geslachtscel een precies gelijk stel chromosomen bezitten. Het aantal chromosomen in dit stel is voor iedere soort constant en wordt aangeduid met de letter n . Bij de bevruchting versmelt de mannelijke kern met de kern van de eicel, zodat de kern van de bevruchte eicel twee gelijke stellingen chromosomen bezit, n paren dus, ieder paar van zeer bepaalde grootte en vorm. Bij de opeenvolgende celdelingen deelt ieder van die $2n$ chromosomen zich nauwkeurig overlans of verdubbelt zich, en in iedere dochtercel komen daardoor steeds weer alle $2n$ chromosomen terecht, in de hele plant. Bij de rijpingsdeling voor de vorming van de geslachtscellen echter gaat het anders. Dan leggen de $2n$ chromosomen zich twee aan twee zeer nauw aaneen tot n paren, ieder paar bestaande uit de twee gelijke (homologe) chromosomen. De partners van ieder paar wijken daarna naar de beide polen uiteen en elk der dochtercellen ontvangt zodoende slechts een enkel stel van n chromosomen. Dit zeer regelmatige gedrag van de chromosomen leidde ertoe, ze te beschouwen als de voornaamste dragers van de erfelijke eigenschappen.

Juist in deze tijd, tegen het einde van de eeuw, kwam het experimentele erfelijkheidsonderzoek, in de geest van MENDEL, weer op de voorgrond. In een en hetzelfde jaar, 1900, publiceerden DE VRIES, CORRENS en TSEHERMAK de resultaten van hun onderzoekingen en kwamen daarbij tot vrijwel dezelfde resultaten en dezelfde verklaring als MENDEL. En thans vond deze verklaring onmiddellijk algemeen ingang. Het overbrengen der kenmerken door middel van de geslachtscellen op de volgende generatie bleek namelijk te geschieden op geheel dezelfde wijze als het overbrengen der chromosomen. Deze waren reeds erkend als dragers van de erfelijke kenmerken en deze opvatting vond nu door de erfelijkheidsanalyse haar bevestiging.

Van dat jaar 1900 af is het onderzoek van de chromosomen ten nauwste verbonden met het erfelijkheidsonderzoek, de *genetica*. Het op de erfelijkheid toegespitste onderzoek van de chromosomen in kern en cel wordt aangeduid als *cytogenetica* en het is van dit chromosomenonderzoek dat ik enkele perspectieven voor u zal schetsen.

Met een enigszins vereenvoudigde wijze van uitdrukken mag gezegd worden, dat bij de klimerwt een bepaald chromosomenpaar de „drager” is van de „aanleg” voor de eigenschap lange stengel. Die „aanleg” wordt gewoonlijk aangeduid als factor of geen. Bij de stamerwt is het overeenkomstige chromosomenpaar drager van de factor of het geen voor korte stengel. Bij de bastaard bezit dus het ene chromosoom van het paar de factor voor lange stengel, het andere de factor voor korte stengel. (Tussen haakjes zij hier vermeld, dat het uiterlijk van de bastaard vaak intermediair is, tussen dat van de ouders inligt; in zeer

veel gevallen echter, en zo ook hier, domineert één der factoren van het paar over zijn partner: volgens het uiterlijk is de bastaard een gewone klimmerwt). Bij het begin van de rijpingsdeling in de bastaard paren de twee homologe chromosomen en gaan daarna uiteen, waardoor in de ene helft van de eicellen, en evenzo van de pollenkorrels, het chromosoom met het geen voor lange stengel terecht komt en in de andere helft dat met het geen voor korte stengel. Uit deze geslachtscellen wordt door zelfbevruchting de tweede bastaardgeneratie gevormd en daarvan is $\frac{1}{4}$ zuiver klim, $\frac{1}{4}$ zuiver stam en $\frac{1}{2}$ weer bastaard. Voor andere factorenparen, b.v. paarse en witte bloem, geldt precies hetzelfde. Dit kleurfactorenpaar ligt in een ander chromosoom als het stengelfactorenpaar.

Wanneer nu twee erwtenrassen gekruist worden die in deze beide kenmerken verschillen, in stengellengte en in bloemkleur, dan bevat de bastaard het chromosomenpaar lang-kort en het paar paars-wit. Bij het begin van de reductiedeling treedt voor beide paren paring op en daarna volgt weer het uiteenwijken der partners. Nu geschiedt het uiteenwijken van de partners in het ene paar blijkbaar onafhankelijk van dat in het andere paar. De scheiding in „lang paars” en „kort wit” (de beide oude combinaties) komt namelijk even vaak voor als de scheiding in „lang wit” en „kort paars” (de beide nieuwe combinaties). En onder de geslachtscellen, mannelijke en vrouwelijke, zijn dan ook de vier typen lang paars, kort wit, lang wit en kort paars, even vaak vertegenwoordigd; de twee nieuwe typen zijn precies even talrijk als de beide oude, 50 % dus van het totale aantal gameten.

MENDEL maakte toevallig uitsluitend kennis met zulke onafhankelijke splitsingen voor twee (of meer) factorenparen. Maar toen na 1900 steeds meer kruisingsanalyses werden verricht, werden daarbij ook gevallen aangetroffen, waarbij de combinatie van de twee kenmerkenparen in de geslachtscellen van de bastaard niet volgens het voel geschiedde. En steeds bleken dan de beide nieuwe typen of combinaties minder talrijk te zijn dan de beide oude. De twee factoren bleken dus meer of minder sterk aan elkaar gekoppeld te blijven in de combinaties zoals zij in de beide ouders aanwezig waren. Meer of minder sterk, want het percentage dat de beide nieuwe gametentypen uitmaken van het totale aantal gameten (het zogenaamde overkruisingspercentage) varieert van geval tot geval, en wel van 0 % (absolute koppeling) tot 50 % (geen koppeling).

Ter verklaring van deze koppelingsverschijnselen stelden MORGAN en zijn medewerkers bij het *Drosophila*-onderzoek de hypothese op, dat gekoppelde factoren in hetzelfde chromosoom liggen, de sterk gekoppelde dicht bijeen, de zwakker gekoppelde verder van elkaar af. Ze nemen verder aan, dat de overkruising of uitwisseling tot stand komt bij het begin van de reductiedeling, wanneer de twee homologe chromosomen nauw tegen elkaar aan liggen; en wel doordat in de beide chromosomen op precies dezelfde plaats een breuk optreedt,

waarna dan een gelijk stuk uitgewisseld wordt; zo'n breuk treedt in het gedeelte tussen twee factoren in natuurlijk des te vaker op, naarmate ze verder vaneen liggen.

Nu zijn bij *Drosophila*, met 2×4 chromosomen, en ook bij mais, met 2×10 chromosomen, honderden factorenparen bekend. Door middel van de koppelingsanalyse heeft men deze tot vier, resp. tien groepen kunnen brengen, een groep voor elk chromosoom. En in elk der chromosomen heeft men alle daarin gelegen factoren in volgorde kunnen plaatsen, weer op grond van de koppelingsverhoudingen. Dat de zo gevonden volgorde inderdaad juist is, is op verschillende manieren bevestigd, waarop ik hier echter niet nader in kan gaan.

Tussen de twee homologe chromosomen waarin de gekoppelde factoren van een bastaard gelocaliseerd zijn is, ook met de sterkste vergroting, gewoonlijk geen enkel verschil te ontdekken. Dat in de geslachtscellen met een nieuwe factorencombinatie het betreffende chromosoom ook werkelijk bestaat uit gedeelten van de twee oorspronkelijke chromosomen, is daardoor niet zonder meer vast te stellen. Om het te bewijzen, heeft STERN in 1931 bij een *Drosophila*-kruising een elegante signaalmethode toegepast, die, enigszins geschematiseerd, aldus verloopt. In een bepaald chromosoom bezit het ene ras het geen voor ronde oogvorm dicht bij het éne en het geen voor rose oogkleur dicht bij het andere uiteinde. Het tweede ras heeft op de overeenkomstige plaatsen het geen voor ovale oogvorm en dat voor rode oogkleur. Verder is er voor gezorgd, dat beide uiteinden van het betreffende chromosoom bij dit laatste ras een abnormale structuur bezitten: aan het ronde-oogvormende is een sterke insnoering en aan het rode-oogkleureinde is een stuk van een ander chromosoom aangehecht. In de bastaard tussen deze twee rassen verschillen de twee homologe chromosomen „ovaal rood” en „rond rose” dus microscopisch waarneembaar aan beide uiteinden. De geslachtscellen van deze bastaard nu werden op twee manieren geanalyseerd: door genetisch onderzoek op de factoreninhoud en door microscopisch onderzoek op de vorm van het betreffende chromosoom. Met deze methode van „signaalvlaggetjes” aan de uiteinden kon zo direct worden vastgesteld, dat de chromosomen „ovaal rood” en „rond rose” onveranderd zijn, en dat de nieuwe combinaties „ovaal rose” en „rond rood” inderdaad steeds uit gedeelten van beide oorspronkelijke chromosomen bestaan.

Het koppelingsonderzoek leerde de volgorde en de relatieve afstand van een aantal factoren in de chromosomen kennen. Daarop volgde natuurlijk de vraag: wat kunnen we te weten komen over de werkelijke, de absolute ligging van de genen? Hier bracht het door H. J. MULLER omstreeks 1930 toegepaste bestralingsonderzoek een stap verder. Behandeling met X-stralen doet tweërlei veranderingen of mutaties optreden. In de eerste plaats factor- of geenmutaties, b.v. verandering van de factor voor rood oog in die voor wit oog bij *Drosophila*. In de tweede plaats zogenaamde structurele mutaties, waarbij

breuken in de chromosomen en eventueel daarbij aansluitende veranderingen optreden (fragmentatie, inversie en translocatie ; verder deficiency en duplicatie). Wanneer een chromosoom in tweeën breekt, verandert de ene koppelingsgroep van factoren in twee. Ook de overige structurele veranderingen beïnvloeden natuurlijk de koppelingsverhoudingen. Door ingewikkelde koppelingsanalyse is het zo steeds mogelijk voor iedere breuk vast te stellen, tussen welke twee factoren in die gelegen is. Of omgekeerd: welke twee factoren juist links en rechts van die bepaalde breuk gelegen zijn.

Maar bij de kleine, massief gekleurde, worstvormige chromosomen zoals wij die bij de kerndeling naar de polen zien gaan, in de meeste gevallen niet veel meer dan $\frac{1}{100}$ mm lang en $\frac{1}{1000}$ mm dik (10μ bij 1μ) kan van deze wetenschap geen of nauwelijks nuttig gebruik worden gemaakt.

Juist op dit moment, in 1934, kwam een ontdekking van de Amerikaan PAINTER te hulp. In de bovengenoemde worstvormige chromosomen zit de eigenlijke chromosoomdraad spiraalvormig opgerold, of zelfs als een dubbele spiraal, ongeveer zoals de gloeidraad in de verwarmingselementen van een electrisch straalkachelkje. Tussen twee kerndelingen in of in zeer jonge delingsstadia is de chromosoomdraad, het chromonema, niet gespiraliseerd. Die zeer dunne draad laat dan, bij bepaalde kleuring, soms een uiterst fijne kralenstructuur zien van donkerder gekleurde deeltjes, de chromomeren. De chromosomen in de kernen der speekselkliercellen van de larven van *Drosophila* zijn bijzonder sterk gestrekt. Bovendien zijn de homologe chromosomen er gepaard. En tenslotte zijn deze gepaarde chromosomen ook sterk in de dikte gegroeid, door een soort interne veelvoudige verdubbeling. Deze reuzenkernen bezitten daardoor vier reuzenchromosomen, bijna 5μ dik en samen van de reusachtige lengte van 750μ , driekwart millimeter. De chromomeren zijn hierin zichtbaar als duizenden donkere dwarsbandjes, gescheiden door lichter gekleurde banden. PAINTER nu leerde de vier verschillende chromosomen onderscheiden, o.a. door middel van karakteristieke bijzonderheden in het bandenpatroon. Nauwkeurige analyse bracht hem tenslotte tot de hoogst belangrijke ontdekking, dat het afwisselende patroon van dikke en dunne, zeer donkere en minder donkere dwarsbanden, volkomen constant is, precies gelijk in alle cellen van hetzelfde dier en in het algemeen ook gelijk bij alle exemplaren van de soort. PAINTER'S resultaten werden bevestigd en reeds kort daarna publiceerde BRIDGES kaarten van de speekselklierchromosomen, waarop alle banden, omstreeks 5000, hun eigen nummer hadden, van hoofdafdeling, onderafdeling en individuele band, b.v. 3C2, 16A1, enzovoort.

Pas nu kon van de breukenanalyse een effectief gebruik worden gemaakt, en dat geschiedde dan ook op zeer grote schaal. Wanneer nu breuk nr 1 links van een bepaalde factor blijkt te liggen en breuk nr 2 rechts ervan, dan is daarmee die factor gelocaliseerd in de groep ban-

den, die tussen deze twee breuken in ligt. Hoe dichter de twee breuken bijeen liggen hoe nauwkeuriger de localisatie. Op deze manier zijn honderden factoren gelocaliseerd, een aantal zelfs in of bij één bepaalde dwarsband. Zo ligt bij *Drosophila* het verschil tussen een dier met rode ogen en een met witte ogen in dwarsband of chromomeer 3C2. Met andere woorden, de factor voor rode ogen (resp. die voor witte) is gelocaliseerd in chromomeer 3C2. Er zij ook hier nog eens herhaald, dat tussen chromomeer 3C2 van een roodgeoogd en van een witgeoogd dier geen verschil valt te ontdekken met de tegenwoordige methoden, fysisch noch chemisch.

Zo gezien, lijkt deze breukenanalyse van de jaren 1930-'40 een triomf te zijn voor het begrip van de genen, als stoffelijke deeltjes die de uitwendige eigenschappen bepalen. Maar... tegelijkertijd wordt deze breukenanalyse er oorzaak van, dat het geen-begrip zelf minder scherp omlijnd kan worden, en misschien zelfs geheel zal moeten verdwijnen. Bij een inversie wordt namelijk een stuk van een chromosoom omgekeerd, zonder dat daarbij een enkel chromomeer verloren gaat. Bij een reciproke translocatie verwisselen twee niet homologe chromosomen een stuk, eveneens zonder dat ook maar het allerkleinste chromomeer verloren gaat. En toch heeft in zeer veel gevallen zo'n inversie of translocatie bij *Drosophila* een invloed op het uiterlijk, op het phaenotype van het dier. Het zijn daarbij in het bijzonder genen die dicht bij de breuk liggen, die in hun werking beïnvloed worden. Wanneer nu een inversie weer teruggaat, of wanneer als gevolg van een overkruising in de kleine zone tussen de breukplaats en het beïnvloede geen dit laatste weer zijn normale burens terugkrijgt, dan is ook de normale werking van dat geen weer hersteld. Hieruit moet de conclusie worden getrokken, dat de werking van de genen niet uitsluitend berust op de samenstelling of de moleculaire structuur van de individuele genen zelf, maar dat ook de onderlinge ligging der genen, hun positie ten opzichte van elkaar, voor de werking van betekenis is: positie-effect. Een grote inversie, met begeleidend positie-effect aan de uiteinden, is gemakkelijk als zodanig te herkennen, door erfelijkheidsanalyse en door microscopisch onderzoek. Maar een zeer kleine inversie, van één chromomeer b.v., is nòch genetisch nòch microscopisch als zodanig te herkennen. Eventueel begeleidend positie-effect is dan op geen enkele manier van een factor- of geenmutatie te onderscheiden. Dit verschijnsel van het positie-effect wijst er op, wanneer dit al eens vergeten mocht worden, dat het chromonema niet slechts een morfologische eenheid van de verbonden deeltjes der individuele genen is, doch ook een fysiologische eenheid, misschien zelfs, volgens GOLDSCHMIDT, één reusachtig eiwitmolecuul.

Toen het zo gelukt was, bepaalde genen in bepaalde chromomeren te localiseren, was het natuurlijk een verleidelijke gedachte, de genen met de chromomeren te vereenzelvigen. Het zo juist besproken positie-effect moet hier echter reeds tot voorzichtigheid manen.

Er zijn trouwens onderzoekers, die van mening zijn, dat het levende chromonema zeer gelijkmatig draadvormig is, en dat de chromomeren slechts optreden als gevolg van de fixering. Maar ook overigens is het niet geheel bewezen te achten, dat de genen uitsluitend tot de chromomeren beperkt zijn. Tenslotte vond MULLER aanwijzingen, dat in een bepaalde dwarsband van $0,5 \mu$ dik een viertal genen gelocaliseerd is, 1 per $100 m\mu$ dus. Met behulp van verschillende, meer of minder onzekere berekeningswijzen, worden voor de lengte van de individuele genen waarden gevonden van ongeveer 10 tot $100 m\mu$. Deze laatste waarde, $100 m\mu$ of $1/10 \mu$, ligt juist bij de grens van het oplossend vermogen van het ultravioletmicroscop. Het directe onderzoek van de chromosomen met polarisatie-, röntgen- of electronenmicroscop heeft, voor zover aan spreker bekend, tot nu toe weinig licht geworpen op de fijnste structuur of op de moleculaire bouw van de chromosomen.

Zo zijn we dus nu aangekomen bij de vraag naar de chemische samenstelling, naar de moleculaire bouw van de chromosomen. Reeds uit de klassieke macrochemische analyse van vissensperma door MIESCHER in het eind van de vorige eeuw bleek dat dit, en dus ook de chromosomen die er het hoofdbestanddeel van uitmaken, vrijwel geheel bestaat uit nucleoproteïden, en dat deze nucleoproteïden voor ruim $\frac{1}{3}$ bestaan uit eiwitten, en wel vooral eenvoudige basische eiwitten van het type der protaminen en histonen, en voor bijna $\frac{2}{3}$ uit nucleïnezuur. Ook bij de moderne onderzoekingen zijn eiwitten en nucleïnezuur steeds gebleken de voornaamste bestanddelen van kernen of chromosomen te zijn. Ik noem hier slechts die van MIRSKY en RIS, van 1947 en 1949, aan geïsoleerde chromosomen van lymfocyten uit de lever van het kalf. Bij behandeling met 1 m NaCl lost 90 % van de massa der chromosomen op: 40 % desoxyribosenucleïnezuur en 50 % eiwit van het histontype. De resterende 10 % duiden MIRSKY en RIS aan als „residual protein”, en daarin is nog de fijnste spiraalstructuur der chromosomen aanwezig. Deze „residual protein” is van het type der gewone eiwitten, niet van het meer eenvoudige type der histonen.

Wat de moleculaire bouw van deze chemisch, fysisch-chemisch en ook microscopisch zeer grondig onderzochte stoffen betreft, zij er hier slechts aan herinnerd, dat de eiwitten te beschouwen zijn als polypeptideketens, een serie door de peptidebinding verenigde l-aminozuren. Deze ketens zijn bij verschillende eiwitten van zeer uiteenlopende lengte en de aminozuren zijn van zeer veelvormige aard. De bouw der eiwitten is dus zeer specifiek en het aantal kan eindeloos groot zijn. Ook de nucleïnezuren zijn meer of minder lange ketenmoleculen, opgebouwd uit nucleotiden. De nucleotiden bevatten een pyrimidine- of purinekern, een pentosemolecuul (ribose of desoxyribose) en fosforzuur, en zijn via het fosforzuur en de pentose met elkaar verbonden. Vergeleken met de uiterst vormenrijke eiwitten zijn de nucleïnezuren van een zeer eenvormige samenstelling.

Nog één eigenschap van de eiwitten en de nucleïnezuren moet hier aangeroerd worden. In 1938 stelden ASTBURY en BELL, met behulp van het röntgenmicroscop, vast, dat de afstand van de opeenvolgende aminozuren in geheel gestrekte eiwitten vrijwel precies gelijk is aan die van de opeenvolgende nucleotiden in nucleïnezuur: de zogenaamde intramoleculaire periode van de hoofdketen is namelijk voor de beide stoffen bepaald op 0,335 resp. 0,334 $m\mu$. Het is wel zeer waarschijnlijk te achten, dat deze nauwkeurige overeenstemming niet toevallig is, maar dat ze een zeer fundamentele rol speelt bij de samenwerking van de beide stoffen in de nucleoproteïden der chromosomen. Terloops zij er hier op gewezen, dat op de berekende lengte van de genen, 10 tot 100 $m\mu$, dus plaats is voor niet minder dan 30 à 300 aminozuurgroepen.

Door deze ontdekking van ASTBURY en BELL heeft de oude vraag, of nu eiwitten of nucleïnezuren de eigenlijke dragers van de erfelijke factoren of genen zijn, hernieuwde actualiteit gekregen. Veel pleit voor de eiwitten, vooral hun eindeloze veelvormigheid. Verder bestaat de gestrekte chromonemadraad van het stadium tussen twee kerndelingen in vrijwel uitsluitend uit eiwit, zonder nucleïnezuur. En bij behandeling met het eiwitplitsende enzym trypsine vallen de speekselklierchromosomen van *Drosophila* geheel uiteen, terwijl na behandeling met nuclease een doorlopende eiwitstructuur behouden blijft. Een resultaat dus, dat gelijk is aan het hiervoor genoemde van MIRSKY en RIS. Andere verschijnselen weer wijzen meer in de richting van de nucleïnezuren. Ik noem daarvan alleen maar het feit, dat juist bestraling met ultraviolet licht van de golflengte van ruim 2600 Å een groot aantal mutaties veroorzaakt, bij lagere en hogere planten en dieren; 2600 Å nu is juist het gebied, waarvoor nucleïnezuur een zeer sterk uitgesproken absorptiemaximum bezit.

Hier verdienen genoemd te worden de zeer ingenieuze onderzoekingen der laatste vijftien jaren van CASPERSSON en zijn medewerkers. Uitgaande van de specifieke ultravioletabsorptie van eiwitten en vooral van nucleïnezuren gaat CASPERSSON de reuzenchromosomen van *Drosophila* (en ook allerlei andere chromosomen, kernen en cellen) onder het ultravioletmicroscop punt voor punt aftasten, met monochromatisch ultraviolet licht, ieder punt (van 0,1 μ) met een hele serie van golflengten van 2500–3000 Å, opklimmend met 25 of 50 Å. Uit de zo bepaalde absorptiesterkten in ieder punt voor iedere golflengte, kan hij van punt tot punt het gehalte aan laag- en hoogmoleculaire eiwitten en aan nucleïnezuur bepalen. Het nucleïnezuur blijkt vooral in de chromomeren gelocaliseerd te zijn, maar op CASPERSSONS overige resultaten en theorieën kan hier niet worden ingegaan.

CASPERSSON tracht nog verder te gaan. Nucleïnezuur vertoont een sterk dichroïsme. Dit komt ook hierin tot uiting, dat juist in het gebied van de sterkste ultravioletabsorptie, bij de golflengte van 2600 Å, de absorptie van trillingen evenwijdig aan en rechthoekig op de lengteas

van het molecuul van zeer verschillende sterkte is. Door nu gebruik te maken van gepolariseerd monochromatisch ultraviolet met een golflengte van 2600 Å, en de mate van absorptie in twee trillingsrichtingen te bepalen, is het mogelijk, ten naastenbij het percentage der evenwijdig liggende of gerichte moleculen te bepalen, tenminste in vitro. Met behulp van deze methode ter bepaling van de mate van gerichtheid der nucleïnezuurmoleculen hoopt CASPERSSON enig verder inzicht te kunnen krijgen in de rol van het nucleïnezuur in de chromosomen, vooral ook op het moment van de overlangse splitsing of verdubbeling.

Het is hier de plaats te herinneren aan de uiterst intensieve en veelzijdige virusonderzoekingen, nadat STANLEY in 1935 het tabaksmozaïekvirus zuiver had weten te verkrijgen. Door deze onderzoekingen is thans de chemische bouw van dit virus en van enige andere met grote nauwkeurigheid bekend. Evenals de chromosomen bestaan ook de virusdeeltjes, reuzenmoleculen van 280 m μ lengte, uit nucleoproteïde, zij het ook van een enigszins andere samenstelling dan die van de chromosomen. En, evenals de chromosomen, zijn ook de virusdeeltjes in staat zichzelf te reproduceren, al geschiedt dit, voor zover tot nu toe bekend, uitsluitend in het protoplasma van de gastheer. Tussen virusmoleculen enerzijds en genen of chromosomen anderzijds bestaat een sterke overeenkomst.

Zo komt dus naast de vraag naar de moleculaire bouw van genen en chromosomen, steeds meer de vraag naar het mechanisme van hun verdubbeling, en naar de rol die eiwit en nucleïnezuur daarbij spelen, op de voorgrond. Het is eigenlijk pas gedurende het laatste tiental jaren dat gepoogd wordt hier tot een begin van verklaring te komen, maar de desbetreffende analogieën en theorieën moeten thans buiten beschouwing blijven.

Uit het voorgaande is wel gebleken, dat het cytogenetisch onderzoek belangrijke resultaten heeft opgeleverd. Maar er is tevens uit gebleken, dat omtrent de moleculaire bouw van de chromosomen en omtrent het wezen van de erin gelocaliseerde genen nog weinig met zekerheid bekend is.

Een groot terrein van onderzoek is hier echter buiten bespreking gelaten. De *genetica in engere zin*, de erfelijkheidsanalyse, vergelijkt hoofdzakelijk de volwassen stadia, namelijk de ouders en hun nakomelingen. De *cytogenetica*, d.i. het onderzoek van de chromosomen als dragers van de erfelijke factoren, bestudeert en vergelijkt eigenlijk vooral de beginstadia, namelijk de geslachtscellen en daarmee de bevruchte eicel, de laatste bestaande uit de kern met beide stellingen chromosomen en het omringende cytoplasma. Tussen het beginstadium, de bevruchte eicel, en het eindstadium, het volwassen organisme, ligt de gehele individuele ontwikkeling. Deze heeft plaats door de werking van de in de chromosomen gelocaliseerde genen, in samenwerking met het cytoplasma en onder de invloed van de uitwendige omstandigheden. Hier ligt het terrein van de ontwikkelingsfysiologie

en van de experimentele morphologie. Van genetisch standpunt gezien is dit het terrein van de physiologische of ontwikkelingsgenetica, de *phaenogenetica*. Hier bestaat de mogelijkheid op grond van hun werking het wezen der genen te benaderen, en juist hier openen zich gedurende de allerlaatste jaren nieuwe perspectieven.

Thans nog zeer in het kort een geheel ander chromosoomperspectief, waarbij de blik niet gericht wordt op steeds fijnere onderdelen, tot de aparte chromomeren en genen toe, maar op het geheel van alle chromosomen met alle daarin gelocaliseerde genen: het genoom.

Zoals bekend, bevatten de normale geslachtscellen in hun kern een enkel stel van n chromosomen, één genoom dus, ze zijn haploïd. De bevruchte eicellen en alle cellen van de daaruit ontstaande planten of dieren bevatten twee stellen chromosomen, twee genomen, ze zijn diploïd ($2n$). Bij de vorming der geslachtscellen wordt door de reductiedeling het haploïde aantal weer hersteld, enzovoort.

Nu is in de loop dezer eeuw van enkele tienduizenden hogere planten (op een totaal van 150.000 à 200.000) het aantal chromosomen bepaald. Daarbij werden een drietal belangrijke ervaringen opgedaan.

In de eerste plaats werden zowel bij wilde plantensoorten als bij cultuurplanten zogenaamde polyploïde reeksen vastgesteld. Zo zijn alle roggesoorten diploïd, met $2n = 14$. Maar bij de tarwe zijn er soorten of soortgroepen met $2n = 14$, $2n = 28$ en $2n = 42$. Ten opzichte van het laagste haploïde aantal, het grondtal 7, zijn deze soorten respectievelijk diploïd, tetraploïd en hexaploïd te noemen. Onder alle drie groepen komen of kwamen cultuurtarwes voor, maar onze tegenwoordige *Triticum vulgare* is hexaploïd. Bij de haver is het vrijwel precies evenzo. In Zuid-Amerika, het stamland van de aardappel, komen veel wilde en ook cultuurvormen voor met het diploïde aantal van 24 chromosomen, terwijl onze *Solanum tuberosum* met zijn hoge knollenproductie er 48 heeft en dus tetraploïd is. De bosaardbei, *Fragaria vesca*, heeft 14 chromosomen; onze tegenwoordige aardbeirassen met hun 56 chromosomen zijn dus niet minder dan octoploïd. Tenslotte nog een voorbeeld op het gebied van de bolgewassen, waar DE MOL zijn uitgebreide onderzoekingen heeft verricht. Tot omstreeks 1885 was het narcissensortiment in Nederland grotendeels kleinbloemig, met $2n = 24$; daarna werden deze diploïde rassen verdrongen door nieuwe vormen met grotere bloemen en het triploïde aantal van 36 chromosomen, terwijl deze op hun beurt in het begin van de eeuw verdrongen werden door weer nieuw optredende grootbloemige vormen met het tetraploïde aantal van 48 chromosomen. In al deze en in veel andere gevallen behoren de meest productieve of meest gewaardeerde cultuurplanten tot de hoogst polyploïde vormen.

Een tweede waarneming was, dat in de poolstreken, en misschien ook in enkele andere extreme gebieden, een betrekkelijk zeer hoog percentage van de wilde planten polyploïd is. Hieruit meende men af te mogen leiden, dat polyploïde planten in het algemeen een groter weer-

standsvermogen tegen extreme omstandigheden bezitten. Waarschijnlijk ligt het verband enigszins anders, maar daarop zal hier niet worden ingegaan.

Ten derde waren er de waarnemingen aan de enkele polyploïde vormen waarvan men het ontstaan meemaakte, spontaan of in het experiment: na verwonding, door hoge of lage temperatuur, of door behandeling met narcotica. In de meeste gevallen bleken de nieuwe polyploïde vormen, b.v. van mossen, teunisbloem, tomaat, enzovoort, wat groter en vooral forser te zijn dan het diploïde uitgangsmateriaal, ze vertoonden gigas-kenmerken.

Het waren vooral deze drie groepen van waarnemingen die maakten, dat men voor de plantenveredeling grote resultaten ging verwachten van het polyploïd maken van cultuurgewassen.

Zoals u weet, werd omstreeks 1937 in het alcaloïd colchicine het ideale middel voor het verdubbelen van chromosoomaantallen gevonden. In gewone delende cellen worden de chromosomenhelften door de spoeldraden naar de beide polen getrokken. Wanneer nu kiemende zaden of toppen van jonge planten gedurende enkele uren worden behandeld met een 0,1 à 0,5 % sterke colchicine-oplossing, dan worden daardoor de spoeldraden in de delende cellen onwerkzaam of verdwijnen geheel. De chromosomen delen zich nog wel overlangs, maar de helften gaan niet naar de polen, zodat cellen ontstaan, en daaruit planten of gedeelten van planten, met het verdubbelde, tetraploïde aantal chromosomen. Na de colchicine zijn een groot aantal andere stoffen gevonden, die meer of minder sterk dezelfde werking vertonen. Colchicine hoort onder de stoffen met een sterke werking, terwijl het bovendien de grootste marge tussen de gewenste verdubbelende en de te vermijden dodelijke werking bezit.

Sedert dat jaar 1937 zijn wel omstreeks duizend artikels omtrent experimenten met colchicine verschenen en zijn van honderden plantensoorten en rassen de chromosoomaantallen verdubbeld. Hoe zijn hierbij de resultaten en vooruitzichten met het oog op de plantenveredeling?

Als meest algemene ervaring geldt, dat bij de planten met verdubbelde aantal chromosomen de aparte cellen groter zijn. In verband hiermee zijn haren en schubben groter, en meestal ook de helmknoppen en stuifmeelkorrels, de zaadknoppen en de zaden; de bladen zijn breder, dikker en donkerder groen; de bloemen groter en vaak intenser van kleur. Belangrijk is verder, dat meestal de duur van de vegetatieve groeiperiode wat langer is (van belang bij suikerbieten, bladgroenten, enz.), de bloei later en vaak langer, terwijl de volgroeide planten meestal wat groter en vooral forser zijn. Hierin liggen zeker verschillende mogelijkheden tot veredeling besloten.

Het laatstgenoemde kenmerk, dat tetraploïde planten groter en forser zijn dan de vorm waaruit ze zijn verkregen, geldt in het algemeen echter slechts dan, wanneer die uitgangsvorm het laagste diploïde aantal

chromosomen van het geslacht bezit en niet reeds ten opzichte daarvan sterk polyploid is. Dit komt b.v. duidelijk uit bij de granen. Verdubbeling bij rogge en gerst (met $2n = 14$) geeft forse, levenskrachtige en betrekkelijk fertiele planten, evenals verdubbeling van haver- en tarwesoorten met $2n = 14$. Maar verdubbeling van onze cultuurrassen van haver en tarwe (waar $2n$ reeds 42 is) geeft steeds dwergplanten, die vaak misvormd en vrijwel geheel steriel zijn. Het optimum aantal chromosomen is daar blijkbaar overschreden.

Wat verdere morphologische en vooral ook chemische en fysiologische eigenschappen betreft, is het zeer moeilijk algemene lijnen te ontdekken. Vaak is het droge-stofgehalte wat geringer, soms is het eiwitgehalte hoger, terwijl in verscheiden gevallen het vitaminegehalte hoger is (bij appels, tomaten, maïs en kool.) Te voorspellen valt er meestal weinig. Bij een en dezelfde soort kan trouwens het resultaat zeer uiteenlopend zijn, al naar het type, waarvan wordt uitgegaan. Zo verdubbelde SINNOTT vier pompoenrassen met zeer verschillende vruchtvorm. Bij het eerste ras werd de vrucht gelijkmatig groter in alle richtingen, een zeer lang komkommervormig ras werd dikker en veel korter, een peervormig ras werd alleen maar korter, terwijl bij het vierde ras een sterke ringvormige insnoering geheel verdween. Zeer sterk komt hetzelfde tot uiting bij de tomaat, waar verschillende onderzoekers verschillende rassen verdubbeld hebben en waar voor de tetraploïde vormen vermeld worden: een vrijwel gelijk en een veel hoger watergehalte – een sterkere en een minder sterke kouderesistentie – 50 % meer en evenveel droge-stofproductie – een verdubbeld en een vrijwel gelijk gehalte aan vitamine C – even grote en veel kleinere vruchten (dit laatste als gevolg van slechte zaadzetting).

De algemene ervaring is inderdaad, dat de meeste nieuwgemaakte tetraploïden verschillende zwakke punten vertonen, dikwijls in de vorm van geringer weerstandsvermogen tegen extreme omstandigheden: droogte, vorst, parasieten, enzovoort. Zo heeft tetraploïde rode klaver een aanzienlijk hoger productievermogen dan diploïde, vooral onder gunstige omstandigheden; op droge, zonnige dagen echter hangt de tetraploïde veel slapper dan de diploïde, misschien door een minder goed functioneren van de vergrote huidmondjes. In het algemeen is het dan ook nodig gebleken, niet één plant, doch vele verschillende planten of rassen polyploïd te maken en daarna scherp te selecteren, bij de zelfbestuivers liefst na voorafgaande kruising. In verband hiermee worden bij kruisbestuivers vaak snellere en betere resultaten bereikt dan bij zelfbestuivers.

Het zwakke punt van veel tetraploïden is de slechte zaadzetting, de vaak sterk verminderde fertiliteit. Deze betrekkelijke steriliteit heeft zeer verschillende oorzaken. In de eerste plaats is ieder chromosoom in viervoud aanwezig in plaats van in tweevoud. Dit maakt meestal de paring aan het begin van de reductiedeling, en daardoor de verdeling van de chromosomen, minder regelmatig, zodat niet alleen ge-

slachtsellen met $2n$ chromosomen ontstaan, zuiver de helft van $4n$, maar ook een aantal ongebalanceerde, minder levensvatbare, met enkele chromosomen te veel of te weinig. Soms echter, b.v. bij de tetraploïde *Solanum nigrum*, is de paring volkomen regelmatig twee aan twee, terwijl daarna toch de meeste stuifmeelkorrels te gronde gaan, misschien door ongunstige voedingsomstandigheden bij de nieuwe celgrootte. Het derde gevoelige punt is de verhouding van de vergrote diploïde stuifmeelkorrels tot de tetraploïde stijl, met zijn veranderde anatomische en physiologische eigenschappen. Ook voor de fertiliteit echter geldt gelukkig hetzelfde als voor de eigenschappen in het algemeen: verschillende planten of rassen van dezelfde soort reageren zeer verschillend op de chromosoomverdubbeling. Door selectie-kruising-selectie blijkt dan ook vrijwel steeds de fertiliteit aanmerkelijk te verbeteren: rogge, maïs, klaver, vlas, gerst, e.a. Ook hier zijn de kruisbestuivers weer in het voordeel.

Het steriliteitsbezwaar vervalt natuurlijk geheel bij die gewassen, waar het niet om de zaadproductie te doen is, en die tevens vegetatief worden voortgeplant. In die gevallen kunnen zelfs de meestal geheel steriele triploïde planten (met $3n$ chromosomen) van grote betekenis zijn: appels, pisang, Citrus, tijgerlelie en andere bolgewassen. Verschillende van de beste appelsoorten zijn triploïd (b.v. Goudreinet of Schone van Boskoop) en behalve door hun goede opbrengst zijn deze vaak gekenmerkt door lange houdbaarheid en hoog vitaminegehalte.

Het steriliteitsbezwaar bij triploïden vervalt eveneens, wanneer deze triploïden gemakkelijk op grote schaal telkens opnieuw verkregen kunnen worden door de kruising van diploïde met tetraploïde stammen. Zo is b.v. de triploïde *Populus tremula* gebleken een zeer productieve houtsoort te zijn, en reeds enkele jaren geleden werden aan het proefstation voor de veredeling van bomen in Zweden jaarlijks tienduizenden, door kunstmatige kruising verkregen, triploïde zaailingen voor de verkoop beschikbaar gesteld. Ook bij de suikerbiet is gebleken, dat de triploïde vorm per oppervlakte-eenheid een ongeveer 10 % hogere suikerproductie geeft dan de diploïde en tetraploïde rassen. Nu is in Zweden de hele voorziening met heterosis zaaizaad voor bieten in één hand, en het is niet uitgesloten te achten, dat binnen enkele jaren heterosiszaad geleverd zal worden, dat een zo hoog mogelijk percentage triploïde zaden bevat.

Bij gewassen als klaver betreft wel de productie de vegetatieve delen van de plant, doch voor de vermenigvuldiging is men op het zaad aangewezen. De bladopbrengst nu van de beste tetraploïde rode klaver ligt, volgens de voorlopige proefresultaten, 15 à 20 % boven die van diploïde stammen. De zaadzetting is nog niet geheel bevredigend, maar toch zijn de eerste velden voor zaaizaadproductie op grotere schaal reeds aangelegd.

Bij rogge, gerst, koolzaad, enz., gaat het om de zaadproductie zelf. Maar vooral met rogge zijn, in Zweden door MÜNTZING en in ons land

door BREMER en MEVROUW BREMER-REINDERS, toch reeds hoopgevende resultaten bereikt.

Uit de hiervoor gegeven bespreking is wel gebleken, dat vooral een viertal punten van belang zijn, wanneer het geldt de vooruitzichten te beoordelen, die polyploidisering voor de veredeling van bepaalde gewassen biedt:

1. Is het aantal chromosomen hoog (polyploid), of laag?
2. Geschiedt de vermenigvuldiging door zaad of vegetatief?
3. Betreft de productie het zaad of een vegetatief deel van de plant?
4. Is het gewas een zelfbestuiver of een kruisbestuiver?

Ten slotte wil ik nog een vijfde punt noemen, dat van grote betekenis is. Ten opzichte hiervan treffen we weer, als zo vaak in de levende natuur, een rijkdom en variatie aan, die bewonderd, maar nog niet verklaard kan worden. Dat punt moge het einde zijn van dit korte overzicht, waarin bijna alle theoretische en verschillende praktische genetische en cytogenetische problemen van de polyploidie buiten beschouwing zijn gelaten. Ik heb hier het oog op de mate, waarin kruising tussen tetraploïde en diploïde rassen spontaan optreedt of met succes uitgevoerd kan worden. In sommige gevallen is deze kruising geheel onmogelijk. Tussen tetraploïde en diploïde maïsrassen is ze wel mogelijk, maar er treden slechts enkele spontane kruisingen op, zodat ze toch rustig naast elkaar verbouwd kunnen worden. Geheel anders is het echter bij de rogge. Wanneer tetraploïde en diploïde rogge naast elkaar verbouwd worden, dan heeft bij de eerste vrij vaak bevruchting door stuifmeel van de diploïde plaats; de zo ontstaande triploïde embryo's geven zeer slechte korrels of sterven geheel af, zeer ten nadele van de opbrengst; tetraploïde rogge kan daardoor niet naast diploïde verbouwd worden. Bij de suikerbieten daarentegen weer, geven triploïde planten de hoogste opbrengst; bovendien vindt de spontane kruising hier zó vaak plaats, dat het naast of door elkaar verbouwen van een aantal diploïde en tetraploïde rassen gebruikt zal kunnen worden om heterosiszaad te krijgen, dat een zeer hoog percentage triploïden bevat. Bij *Populus tremula* ten slotte levert de kunstmatige kruising tussen diploïde en tetraploïde afgesneden takken gemakkelijk voldoende hoeveelheden zaad voor het op grote schaal verkrijgen van de zeer productieve triploïde populieren.

Mijne Heren Curatoren der Landbouwhogeschool,

Van deze plaats moge ik uiting geven aan mijn gevoelens van erkentelijkheid, dat Gij mij bij Hare Majesteit de Koningin hebt voor willen dragen voor de benoeming tot hoogleraar aan deze Hogeschool. Reeds gedurende lange tijd ben ik aan het Laboratorium voor Erfelijkheidsleer verbonden. Nu ik hier thans mijn werk voortzet met een nieuwe en verantwoordelijke taak, wil ik gaarne de verzekering geven, dat ik bij het vervullen daarvan steeds mijn beste krachten zal blijven inspannen.

Mijne Dames en Heren Hoogleraren, Lectoren, Docenten en Wetenschappelijke Medewerkers, Ambtenaren en Beambten,

Als bioloog zou ik de ontwikkeling van de Landbouwhogeschool en van het Landbouwcentrum Wageningen willen zien als de ontwikkeling van een levend organisme, waarvan de verschillende delen sterk op elkaar aangewezen zijn. Waar precies alle genen gelocaliseerd zijn, die deze ontwikkeling sturen en richten laat ik thans buiten beschouwing, en evenzeer de machtige invloed van de uitwendige omstandigheden. Maar binnen dit levende organisme mag ieder onzer de voldoening hebben, als een ferment mede te werken aan de ontwikkeling en het juist functionneren. Aan de samenwerking die daarvoor onverbiddelijk nodig is, zal ik van ganser harte medewerken.

Hooggeleerde Honing,

Het zij me vergund enkele woorden van warme dank tot U te richten. Als betrekkelijk jong bioloog werd ik aan Uw laboratorium verbonden, en bleef daar, met een onderbreking door zes Zweedse jaren, voortdurend werkzaam. Uw ijzeren volharding en volkomen objectiviteit bij Uw onderzoekingen heb ik leren bewonderen. Naar ik hoop, zal in veel opzichten Uw traditie aan het laboratorium worden voortgezet. Maar niemand liet groter wetenschappelijke en persoonlijke vrijheid dan Gij. Ik hoop, dat het laboratorium en zijn personeel op Uw blijvende vriendschap en belangstelling mogen rekenen.

Zeergeleerde Hoogenraad,

Dat ik U hier onder de aanwezigen mag zien, roept dankbare herinneringen op aan Uw persoon, aan Uw liefde voor de natuur en aan Uw voortreffelijk onderwijs. Evenals vele Uwer oud-leerlingen beschouw ook ik het als een voorrecht, Uw vriendschap na de schooljaren steeds te hebben mogen behouden.

Tot het personeel van het Laboratorium voor Erfelijkheidsleer

Wil ik gaarne enkele woorden richten. De gemeenschappelijke band tussen de meesten van U en mij is reeds oud. Ik hoop, dat we nog lang mogen samenwerken, en ik weet, dat Gij ook in de toekomst Uw werk ten behoeve van de Hogeschool met grote ijver zult blijven verrichten.

Mijn vrouw,

Jouw voortdurende warme belangstelling in mijn werk is daarbij mijn grootste steun.

Dames en Heren Studenten,

Ook de mensen, Gij en ik, ondergaan bij hun ontwikkeling velerlei invloeden van de uitwendige omstandigheden. De Landbouwhoge-

school met haar leerlingen vormt een belangrijk bestanddeel van mijn milieu. Wat meer dan tot nu toe zal ik voortaan een der vele factoren van Uw milieu uitmaken. Ik zal er naar streven, mijn taak in dienst van Uw ontwikkeling niet al te eenzijdig op te vatten en trachten haar zo goed mogelijk te volbrengen. Op Uw eigen volle medewerking hoop ik daarbij te mogen rekenen.

Ik dank U voor Uw aandacht.