

A. Morphologie

I. Cytologie

a) Allgemeine und molekulare Cytologie

VON WERNER W. FRANKE, ULRICH SCHEER und WERNER HERTH

1. Vorbemerkung

Die Literaturflut auf dem zu referierenden Gebiet ist derartig groß, daß eine gleichmäßige, jährliche Berichterstattung aller Teilaspekte auf den zur Verfügung stehenden Druckseiten nicht mehr möglich erscheint oder nur zu einer unkritischen Zitatensammlung geraten würde. Will man aber dennoch die Fortschritte in den einzelnen cytologischen Problemkreisen genügend detailliert und kritisch würdigen, erscheint es den Referenten der einzig gangbare Weg, von Jahr zu Jahr wechselnde Teilaspekte herauszugreifen. Im vorliegenden Bericht soll zunächst nur das Genom des Zellkerns besprochen werden.

2. Molekulare Cytologie des Zellkerns

a) Isolationsmethoden, Herstellung von Unterfraktionen des Zellkerns

Fortschritte auf dem Gebiet der Präparationstechnik pflanzlicher Zellkern- und Kernsubfraktionen sind erstaunlich gering, vor allem im Vergleich mit der Ergebniswelt der Sechziger Jahre und der medizinisch-zoologischen Literatur (Zusammenfassung: FRANKE, 2). Der Traum der Botaniker, im sogenannten "flüssigen Endosperm" z.B. vieler Palmen (speziell *Cocos nucifera*) eine für Kernpräparationen ideale - gewissermaßen von Natur aus isolierte - Zellkernsuspension vorzufinden (vgl. CUTTER et al., 1, 2), scheint jedenfalls ausgeträumt: MONDAL et al. konnten überzeugend demonstrieren, daß die Kokosnußmilch keine (oder nur sehr wenige) intakten "freien" Zellkerne enthält, nicht einmal "intakte" DNA, dagegen aber sehr viele Hydrolyseprodukte. Eine verbesserte Methode zur Isolation von Hefe-Zellkernen haben BHARGAVA u. HALVORSON vorgestellt (vgl. auch HABER et al.). Eine - in ihrer Güte allerdings kaum belegte - Methode zur Isolation von Zellkernen aus Petersilie-Zellsuspensionen ist von SEITZ und SEITZ (1) beschrieben worden. Sehr schwierig ist wohl auch die Präparation von Euglena-Kernen: Die von PARENTI et al. und APRILLE und BUETOW beschriebenen Detergenz-Methoden liefern nur weitgehend disintegrierte Zellkerne. Detergentien wurden auch bei den Isolationsverfahren benutzt, mit denen die vegetativen und generativen Zellkerne von keimenden Pollenschläuchen isoliert und voneinander getrennt wurden (z.B. LAFOUNTAIN u. MASCARENHAS; PIPKIN u. LARSON). Für Gewebe höherer Pflanzen hat TAUTVYDAS eine weitere Modifikation der mittlerweile als "klassisch" angesehenen Kuehlschen Methode bei Erbsenkeimlingen geschildert. BRÄNDLE u. ZETSCHKE haben die Zielisolation einzelner Primärkerne aus dem Rhizoid von *Acetabularia*

wesentlich verbessert, wobei man aber im Auge behalten muß, daß solchen isolierten *Acetabularia*-Kernen in der Regel noch der besondere "peri-nucleäre Cytoplasma-Saum" anhaftet (vgl. zur Feinstruktur BOLOUKHÈRE). Ansonsten gibt es recht wenig präparative Fortschritte der botanischen Karyologie zu berichten, vor allem was Unterfraktionen des Zellkerns betrifft: Chromatinpräparate werden zumeist immer noch nach BONNER u. Mitarb. (Zusammenfassung bei BONNER et al.), Nucleolen nach BIRNSTIEL u. Mitarb. (z.B. BIRNSTIEL et al., 1; BIRNSTIEL u. HYDE) und Kernmembranen nach FRANKE (1) hergestellt.

b) Nucleotidzusammensetzung von Kern-DNA

Pflanzliche Zellkern-DNA scheint sich allgemein durch größere Anteile "anomaler" Basen auszuzeichnen. So ist z.B. ihr - im Vergleich sowohl zu tierischen Eukaryonten als auch zu Prokaryonten - erhöhter Gehalt an 5-Methyl-Cytosin (3-6 %) schon lange bekannt und dient als brauchbares präparatives Unterscheidungskriterium gegenüber Plastiden-DNA (Literatur zitiert bei WELLS u. BIRNSTIEL, vgl. auch HERRMANN). Wie lohnend es aber sein kann, bei DNA-Analysen jeder Abweichung vom erwarteten Muster nachzugehen, hat die sorgfältige Arbeit von RAE (2) demonstriert, der einer Anomalität im Schwebdichte-Verhalten der Kern-DNA des Dinoflagellaten *Gyrodinium cohnii* nachging und zeigen konnte, daß hier 37 % des Thymins durch 5-Hydroxymethyl-Uracil ersetzt ist, einer Base, die bisher weder in Pro- noch in Eukaryonten gefunden wurde, sondern lediglich in *Bacillus subtilis*-Phagen der SP-Serie. Die Verteilung des entsprechenden Nucleotids in der *Gyrodinium*-DNA ist dabei nicht statistisch, sondern es kommen AT-reiche Abschnitte vor, in denen das T zu 44 % durch OH-U ersetzt ist, neben anderen DNA-Segmenten mit nur 17 % T-Substitution. Die Arbeitsgruppe eines anderen Schülers von H. Swift (GOROVSKY et al.) hat, ebenfalls neuartig in Eukaryonten, dazu eine methylierte Form des Adenins (⁶N-Methyl-Adenin) in der Makronucleus-DNA des Ciliaten *Tetrahymena pyriformis* gefunden: hier kann bis zu 0,8 % des Adenins methyliert vorliegen. Die Autoren betonen dabei, daß dieser Gehalt unter den verschiedenen physiologischen Bedingungen recht konstant bleibt, daß aber in der DNA des Mikronucleus sehr viel (mehr als 10 x) weniger Adenin in dieser Weise methyliert ist. Über die biologische Funktion solcher "seltenen" Basen ist nach wie vor nichts bekannt.

Wie stark der relative GC-Gehalt der Kern-DNA selbst innerhalb einer Gattung (*Allium*) schwanken kann, hat die Arbeit von KIRK et al. gezeigt. Diese Autoren haben außerdem gezeigt, daß diese Unterschiede nicht mit Schwankungen des 2C-DNA-Gehaltes korreliert sind. Was die biologisch grundsätzlich so interessante Kern-DNA von *Acetabularia* anbetrifft, so sind die diesbezüglichen Angaben der verschiedenen Autorengruppen inzwischen derartig stark abweichend (vgl. z.B. BERGER u. SCHWEIGER; GREEN et al., 1, 2; HEILPORN u. LIMBOSCH), daß die Referenten sich jeden Kommentars dazu enthalten möchten.

c) Nucleoläre DNA (rRNA-Cistrons), ihre Transkription, rRNA-Bildung

Den einzigen bisher funktionell wenigstens etwas bekannten Genomteil der Eukaryonten stellt die rDNA dar. Der in der Evolution ausgeprägt konservative Charakter der rRNA-Cistrons, verglichen mit dem Gesamt-Genom, ist - wie bei tierischen Zellen - auch bei Pflanzen auffällig, wobei die Monokotyledonen eine größere Divergenz erkennen lassen (z.B. VODKIN u. KATTER-

MANN). Der Gehalt an ribosomalen RNA-Cistrons im Kern-Genom pflanzlicher Zellen kann wie bei tierischen Zellen stark schwanken: Der bisher experimentell angegebene Bereich für den Anteil von DNA-Masse, die komplementär zu "reifer" rRNA ist, erstreckt sich von 0,02 % des Genoms (*Helianthus tuberosus*) bis zu 3 bzw. 4 % (z.B. Bäckerhefe und einige Cucurbitaceen, vgl. die Übersichten in BIRNSTIEL et al., 2; und INGLE u. SINCLAIR). Wenn auch einige der Hybridisierungs-Ergebnisse noch mit großer Zurückhaltung interpretiert werden müssen (nicht alle Autoren halten sich an die Kriterien, wie sie von z.B. SCOTT u. INGLE gefordert worden sind!), so läßt sich doch heute schon als gesichert ansehen, daß der pflanzliche Zellkern die Cistrons für rRNA in vielen Kopien (von 140 pro haploidem Genom bei der Hefe bis zu einigen 10 000 bei manchen Cucurbitaceen und Brassicaceen, vgl. BIRNSTIEL et al., 2; SCHWEIZER et al., INGLE u. SINCLAIR) enthält, die in der Regel im Bereich des chromosomalen Nucleolus-Organisators lokalisiert sind. Dabei scheint der relative Gehalt an rRNA-Cistrons weder mit der taxonomischen Stellung noch mit dem Zelldifferenzierungszustand korreliert zu sein (INGLE u. SINCLAIR). SIEGEL et al. berichten, daß bei der Tetraploidisierung innerhalb der Gattung *Nicotiana* die absolute Anzahl der rRNA-Cistrons pro Zellkern konstant bleibt (im Gegensatz zum Verhalten der Cistrons für die plastidäre rRNA); die Autoren vermuten entweder selektiven rDNA-Verlust oder selektiven Replikationsausfall dieser Gene während der Polyploidisierung. Eine selektive Degradation (Deletion) wird auch von CHEN u. OSBORNE während der frühen Keimung von *Triticum* beschrieben. Es wäre äußerst interessant zu wissen, ob bei der Polytänisierung pflanzlicher Chromosomen eine ähnliche "Unter-Replikation" der rRNA-Cistrons erfolgt, wie sie SPEAR u. GALL für *Drosophila* beschrieben haben (vgl. HENNIG u. MEER), und ob dabei ebenfalls der rDNA-Gehalt unabhängig von der Anzahl der Nucleolus-Organisator-Stellen ist (vgl. unten). Bemerkenswert ist vor allem, daß die Kontrollmechanismen für rDNA-Synthese in diploiden Kernen und in Polytänchromosomen durchaus verschieden sein können. Andere Phänomene wie die Vermehrung von rRNA-Cistrons in somatischen Zellen (TARTOF, 1, 2) oder die genetisch stabile rRNA-Cistron "magnification" bei den bobbed Mutanten von *Drosophila* (z.B. RITOSSA u. SCALA) sind bisher bei pflanzlichen Zellkernen noch nicht beschrieben worden.

Im Gegensatz dazu beschreiben AVANZI u. Mitarb. (AVANZI et al., 1-4) eine selektive Amplifikation (s.a. CIONINI u. AVANZI) von rRNA-Cistrons, z.B. während der frühen Xylemdifferenzierung in Zwiebelwurzeln (sechsfache relative Zunahme von rDNA gegenüber den Meristemzellen; vgl. dazu auch die cytologischen Arbeiten von INNOCENTI u. AVANZI). HOWELL deutet Befunde bei *Chlamydomonas* so, daß obligatorisch nach jeder Mitose in der frühen G1-Phase eine selektive Amplifikation der rDNA erfolgt: eine sehr ungewöhnliche Vorstellung, die wohl nicht verallgemeinert werden darf, denn sie würde bedeuten, daß in jeder G1 DNA-Synthese erfolgt (was qua definitione in den meisten Zellen nicht der Fall ist). Zumindest läßt sich feststellen, daß in sehr vielen Zellsystemen die Replikation von rDNA bzw. nucleolärer DNA "spät" stattfindet, d.h. beim Übergang in die G2-Phase, eine Besonderheit, die jüngst vor allem beim Myxomyceten *Physarum polycephalum* sehr klar herausgearbeitet worden ist (GUTTES u. GUTTES; ZELLWEGER et al., RYSER et al.).

Wie von tierischen Zellen (speziell *Drosophila* und *Xenopus*, siehe Zusammenfassung in BUSCH u. SMETANA) schon länger bekannt, kommen die rRNA-Cistrons in Gruppen gehäuft vor und liegen im Nucleolus-Organisator-(NO-)Bereich der Chromosomen (vgl. CRAMER et al.; TIMMIS et al.; BIRNSTIEL et al., 2; FINKELSTEIN et al.; PHILLIPS et al.), was auch mit der Hybridisierungs-

technik, speziell bei den pflanzlichen Riesenchromosomen, demonstriert werden konnte (BRADY u. CLUTTER; AVANZI et al., 1-3). Dabei scheint sich die rDNA auch noch in NO-benachbartes Heterochromatin zu erstrecken; am Ende des kürzeren Arms vom Riesenchromosom II von *Phaseolus coccineus*-Embryo-Suspensorzellen liegt wohl auch etwas rDNA. Bezüglich des rDNA-Gehaltes der "Mikronucleolen" solcher Kerne gehen die Meinungen auseinander (AVANZI et al.; BRADY u. CLUTTER), wie es denn überhaupt unklar ist, ob diese Strukturen mit den "Mikronucleolen" von Sciariden (vgl. z.B. GERBI) verglichen werden dürfen (oder vielleicht nur Artefakte der Quetschpräparation sind). Ein etwas überraschender Befund ist die Angabe aus dem Labor von INGLE (TIMMIS et al.) nach Hybridisierungsstudien verschiedener Aneuploidieformen von *Hyacinthus orientalis*, daß alle Aneuploiden weniger rRNA-komplementäre DNA pro durchschnittlichem NO aufweisen als die Formen mit ganzzahligen Chromosomensätzen (Euploide; vgl. dazu auch die *Drosophila*-Arbeiten von z.B. TARTOF, 1, 2; HENDERSON u. RITOSSA). Die rDNA ist in vielen Zellen von der Masse der DNA in Dichte-Gradienten-Systemen (CsCl , Hg^+ - Cs_2SO_4 , Ag^+ - Cs_2SO_4) in einer "Satelliten-DNA" mit erhöhter Schwebedichte abtrennbar, ähnlich wie das in tierischen Zellen schon vielfach beschrieben war (vgl. die Übersichten bei BIRNSTIEL et al., 2; und SCOTT u. INGLE). Es ist jedoch mehr als fraglich, ob solche "schwere" Nebenbanden-DNA in allen Fällen ausschließlich auf den erhöhten Anteil an (in der Regel GC-reichen) rRNA-Cistrons zurückgeht (vgl. etwa die früheren Arbeiten, z.B. von MATSUDA u. SIEGEL), wie das bei der amplifizierten rDNA von Amphibien- und Insektenoocyten ja der Fall ist. Aus der Tatsache, daß solche Nebenbanden-DNA vielfach erst bei der Präparation kleinerer DNA-Bruchstücke erscheint (vgl. z.B. die γ -DNA der Bäckerhefe, CRAMER et al.), und aus ihrem Renaturierungsverhalten (vgl. z.B. MATSUDA u. SIEGEL) möchten wir vermuten, daß in solchen Fällen häufig rDNA in kovalentem Zusammenhang mit sog. "schwerer" repetitiver DNA (siehe unten) vorliegt. Bekanntlich findet man in tierischen Systemen häufig, wenn auch nicht immer, eine auffällige Nachbarschaftsbeziehung von Nucleolus und bestimmten Heterochromatin-Typen (bei Pflanzen siehe z.B. auch die jüngeren Befunde von VOSA; NAGL; CIONINI u. AVANZI), die reich an repetitiven Sequenzen sind (vgl. z.B. die Diskussion bei RAE u. FRANKE, ferner die Hybridisierungsresultate in Abb. 2 von PEARSON u. INGLE). Um SCOTT u. INGLE zu zitieren: "man weiß sehr wenig über pflanzliche Spacer-DNA", d.h. über jene Abschnitte, die zwischen den rRNA-Cistrons eingeschoben liegen. Leider ist der Literaturgebrauch des Terminus "spacer" DNA recht konfus und auch widersprüchlich; am sinnvollsten erscheint den Referenten die Definition nach REEDER u. BROWN, die als "spacer" jene DNA-Abschnitte bezeichnen, deren Information nicht in das primäre Prekursor-Molekül der rRNA-Cistrons transkribiert wird (für differenzierte Betrachtungen zur Korrelation der molekularbiologischen und der strukturellen Daten der rDNA vgl. MILLER u. BEATTY; MILLER u. HANKALO; WENSINK u. BROWN; SCHEER et al.). Die Ergebnisse von SCOTT u. INGLE lassen aber immerhin den Schluß zu, daß die DNA der spacer-Abschnitte innerhalb der rDNA von Pflanzen entweder in ihrer Basenzusammensetzung den rRNA-Cistrons ähnlich oder überhaupt nur in geringer Menge vorhanden ist. Ähnlich wie bei tierischen Zellen findet man auch bei Pflanzen, daß von der rDNA zunächst ein hochmolekulares rRNA-haltiges Molekül transkribiert wird, von dem dann in weiteren Schritten ("processing") die beiden reifen rRNAs ("26 S" und "17 S") enzymatisch abgespalten werden. Das erste faßbare pre-rRNA-Molekül liegt meist im Molekulargewichtsbereich von 2,3 - 2,9 Millionen Daltons (LEAVER u. KEY; MURPHY u. LOVETT; LONBERG-HOLM; LOENING, 1, 2; LOENING et al.; ROGERS et al.; GRIERSON et al.; RETEL u. PLANTA, 1, 2; TANIFUJI et al.; KOCHERT; CHENG u. HAGEN; CHEN et al.; VAN DEN BOS u. PLANTA; CECCHINI et al.; SEITZ u. SEITZ; UDEM u. WARNER; JACKSON u. INGLE; für Dinophyten vgl.

RAE, 1). GRIERSON u. LOENING geben dabei eine gewisse Gewebespezifität des primären (faßbaren) pre-rRNA-Produktes an (z.B. etwa 0,2 Millionen Daltons Unterschied zwischen Blättern und Wurzeln der Bohne *Phaseolus aureus*). Ein längeres pre-rRNA-Molekül ist für *Euglena gracilis* (3,5 Millionen Daltons; BROWN u. HASELKORN) aber auch für Hefe (VAN DEN BOS u. PLANTA) beschrieben worden. Als mögliche Erklärungen für solche Unterschiede werden, wie auch in tierischen Zellen, Heterogenität der rRNA-Cistron-Population bzw. Variabilität oder Unschärfe des Transkriptionsbeginns oder -endes diskutiert (vgl. GRIERSON u. LOENING; ROGERS et al.; LOENING et al.; SCHEER et al.; siehe dagegen CECCHINI et al.). Generell läßt sich das pflanzliche Transkriptions- und Processing-Schema mit dem der "niedereren Tiere" bis hinauf zu den Amphibien vergleichen. Es scheint aber wesentlich verschieden von dem der Säugetierzellen zu sein (vgl. die Übersichten bei WEINBERG u. PENMAN; BURDON).

Die oben angegebene, enge Definition von rDNA "spacer"-Abschnitten ist deshalb besonders zweckmäßig, weil eine Transkription dieser DNA-Abschnitte (in ein nicht zur pre-rRNA gehöriges Produkt) nicht nur nicht ausgeschlossen werden kann, sondern sogar in einigen Spreitungspräparationen von Amphibienoocyten-Nucleolen angezeigt worden ist (SCHEER et al.). Bedauerlicherweise sind Spreitungen isolierter pflanzlicher Nucleolen, obwohl in einigen Laboratorien unternommen, noch nicht gelungen.

Die Transkriptionsgeschwindigkeit von pre-rRNA (genauer gesagt: die mittlere Kettenverlängerungsgeschwindigkeit) ist bisher nur für einen pflanzlichen Zelltyp, nämlich *Euglena gracilis*, abgeschätzt worden (BROWN u. HASELKORN). Der angegebene Wert von 12,5 Nucleotiden pro Sekunde kann sich durchaus mit den für tierische Zelltypen mit bekannt hoher Ribosomenbildungsgeschwindigkeit wie *Xenopus laevis* Oocyten im Lampenbürstenstadium (34 Nucleotide/sec; SCHEER) und HeLa-Zellen (90 Nucleotide/sec; GREENBERG u. PENMAN) oder mit den für Prokaryonten (vgl. MANOR et al.) angegebenen Werten vergleichen.

Die Transkription der rRNA Cistrons ist anscheinend auf die pars fibrosa des Nucleolus beschränkt, während in der pars granulosa das Processing bzw. eine Speicherung der im Processing befindlichen Produkte lokalisiert zu sein scheint. Viele Nucleolentypen, aber keineswegs nur inaktive, weisen fast nur pars fibrosa auf (vgl. dazu JORDAN u. CHAPMAN). Segregation der beiden strukturell differenzierten Nucleolusregionen kann bei "aktiven" Nucleolen durch Hemmung der Transkription, aber auch durch andere, unspezifische metabolische Hemmungen induziert werden (vgl. z.B. STOCKERT et al., 1, 2; RISUEÑO et al.; CLOWES u. DeLa TORRE; FERNÁNDEZ-GÓMEZ et al.). Mit dieser experimentell erzeugten Segregation kann übrigens sehr klar demonstriert werden, daß die neusynthetisierten rRNA-Vorstufen zwar die pars fibrosa verlassen, aber dann im Bereich der pars granulosa liegen bleiben (die schönste Demonstration dazu ist in der Arbeit von FAKAN u. BERNHARD an tierischen Zellkulturen enthalten). Solche Segregation kann aber auch in Kerntypen mit reduzierter rRNA-Synthese-Aktivität im Verlauf normaler Zelldifferenzierungen erfolgen, so in tierischen Zellen (z.B. REDDY u. SVOBODA; THOMAS) wie in pflanzlichen, besonders deutlich in der generativen Zelle des keimenden Pollenschlauches (FRANKE et al.; zur allg. Diskussion siehe auch GIMÉNEZ-MARTIN u. STOCKERT). Es hat den Anschein, als wenn diese "segregierte" pars fibrosa nur mehr das dichtgepackte "nackte" (nicht mehr mit dem pre-rRNP assoziierte) rdNP darstellt.

d) Repetitive DNA Sequenzen, Kern-Satelliten DNA

Die Zellkern-DNA der Eukaryonten enthält charakteristischerweise einen gewissen (quantitativ wie qualitativ variablen) Anteil repetitiver DNA-Sequenzen, d.h. Oligonucleotide, die einander gleich oder sehr ähnlich sind und vielfach, und meistens gehäuft, vorkommen. Im Extremfall kann sie als sog. "simple sequence" DNA in hochrepetitiver (d.h. millionenfach sich wiederholender) Form auftreten, wobei sie in ihrem G+C-Gehalt entweder von der Hauptbande der Kern-DNA verschieden oder nicht verschieden ist (letzteres z.B. prototypisch bei der Mäuse-Satelliten-DNA). Solche DNA-Sequenzen, die anscheinend *in vivo* nicht transkribiert werden und deren Funktion noch unbekannt ist, sind auch in Pflanzenzellkernen vorhanden (vgl. Zusammenfassungen und funktionelle Hypothesen bei BRITTEN u. KOHNE; WALKER; SIVOLAP u. BONNER; MIKSCH u. HOTTA; FLAMM; RAE) und können auch dort in einigen Arten einen gewaltigen Anteil der Kern-DNA ausmachen (bis zu ca. 45 %). In den Fällen, in denen die Basenzusammensetzung der repetitiven Sequenzen von der "Rest-DNA" signifikant abweicht, läßt sie sich vielfach in Dichtegradientenzentrifugationen aufgrund ihrer veränderten Schwebdichte abtrennen (z.B. als CsCl-Satelliten-DNA). Solche Satelliten-DNA-Fraktionen (die in der Regel nicht mit rDNA identisch sind, wenn sie auch in einigen Fällen wohl rDNA-Stücke miteinschließen können, s. voriger Abschnitt) sind bei einer Vielzahl von Dikotyledonen, aber (bisher) nicht bei einer einzigen einkeimblättrigen Art gefunden worden (s. die großartige Übersicht von INGLE et al.; weitere Literatur bei MATSUDA u. SIEGEL sowie bei COUDRAY et al.). Bei z.B. einigen Cucurbitaceen, Rutaceen, Linaceen, Leguminosen und Cruciferen kann solche CsCl-Satelliten-DNA beträchtliche Anteile ausmachen (15-44 % der Gesamt-DNA, den "Rekord" hält *Cucumis sativus*), wobei kein taxonomischer Bezug erkennbar ist (INGLE et al.; vgl. dazu die entsprechende Situation innerhalb der Nage-tiere: z.B. HENNIG u. WALKER). Bei manchen Species (z.B. *Cucumis sativus*) können sogar zwei distinkte Satelliten-DNA-Gipfel identifiziert werden. Der Repetitionsgrad innerhalb dieser Satelliten ist recht hoch (bis zu 10^5), liegt aber wohl um mindestens eine Größenordnung unter dem in der Mäuse-Satelliten-DNA. (Bei den Monokotyledonen darf man annehmen, daß ihre repetitive DNA innerhalb der CsCl-Hauptbande liegt, d.h. maskiert ist.)

Die meisten dieser Satelliten sind "schwere" Satelliten, d.h. sie entsprechen höheren Schwebdichten als die Hauptbande. Nur beim Flachs (*Linum usitatissimum*) und bei *Lobularia* wurden auch "leichtere" Satelliten-Banden beobachtet (INGLE et al.). Ein besonderes botanisches Problem stellen die häufigen "Pseudo-Satelliten"-DNA-Banden dar, die von z.T. auffällig hoher Dichte sind (ca. $1,72 \text{ g/cm}^3$ und höher). Berichte, daß solche "sehr schwere Satelliten"-DNA nach Stress-Behandlungen wie z.B. langdauernde Dunkelkeimung, Wundreizung, Kältelagerung entstehen sollte oder vermehrt würde (z.B. QUÉTIER et al.; GUILLÉ et al.), haben sich nicht erhärten lassen: Die sorgfältige Untersuchung dieses Effekts durch PEARSON u. INGLE hat gezeigt, daß diese durch "Stress" hervorgerufenen "DNA-Satelliten" die DNA kontaminierender Bakterien darstellen. Überhaupt liefern die Untersuchungen der INGLEschen Arbeitsgruppe ein Musterbeispiel für die Problematik der Bakterienkontamination in Pflanzenmaterial.

DNA-Verwandtschaftsstudien durch DNA/DNA-Hybridisierung bei verschiedenen Weizen-Biotypen bzw. zwischen verschiedenen Getreidegräsern (Gerste, Roggen, Weizen, Hafer) haben erkennen lassen, daß innerhalb der Weizen-Typen die hoch repetitiven (d.h. schnell renaturierenden) DNA-Sequenzen einander am ähnlichsten sind, während sie sich bei den verschiedenen Getreidegattungen

doch signifikant unterscheiden (mit erkennbarer Weizen-Roggen-Verwandtschaft; vgl. BENDICH u. McCARTHY).

Über die Lokalisation dieser hochrepetitiven Sequenzen bzw. der Satelliten-DNA ist nichts Gesichertes bekannt, doch wird vielfach (entsprechend den Befunden bei tierischen Zellen) vermutet, daß sie im Heterochromatin (besonders im pericentromerischen, telomerischen, oder im perinucleolären) angereichert sind (vgl. z.B. WALKER; RAE; INGLE et al.). Auch bezüglich einer selektiven Über- oder Unter-Replikation solcher DNA-Sequenzen im Zuge bestimmter pflanzlicher Zelldifferenzierungen ist noch nichts bekannt. NAGL (2) und NAGL et al. diskutieren eine mögliche "Amplifikation" solcher repetitiven DNA-Anteile im Zusammenhang mit der beschriebenen disproportionalen Zunahme heterochromatischer DNA bei *Cymbidium*-Protocormen (vgl. Beitrag TSCHERMAK-WOESS), vielleicht vergleichbar der von WILLE beschriebenen selektiven Vermehrung repetitiver DNA-Sequenzen durch Hitzeschock-Behandlung beim Ciliaten *Tetrahymena pyriformis*. (Die von NAGL dazu erwähnte Arbeit von KOCH u. CRUZEANU trifft allerdings nicht: hier handelt es sich eindeutig um rDNA-Vermehrung.) Eine Korrelation von DNA-Sequenzen mit den verschiedenen durch die "Giemsa-Technik" bzw. Quinacrin-Fluorochrome und andere selektive Färbungen darstellbaren Heterochromatin-Typen, wie sie in einigen tierischen Systemen bekannt ist (vgl. z.B. die oben angegebenen Übersichtsartikel), ist in pflanzlichen Chromosomen (s. z.B. die jüngeren Heterochromatin-Arbeiten von VOSA; VOSA u. MARCHI; CIONINI u. AVANZI; YAMASAKI; SCHWEIZER; vgl. auch Beitrag TSCHERMAK-WOESS) offensichtlich im Augenblick noch nicht möglich.

e) Integration von bakterieller DNA in Kern-DNA

Die durch eine Reihe genetischer Befunde ausgelöste Hypothese, daß bakterielle DNA kovalent in das Genom der Kern-DNA integriert werden kann, ist auch an der isolierten DNA geprüft worden: mit negativem Ergebnis im Symbionten-System Soyabohne-*Rhizobium* (RAKE), mit positivem Ergebnis bei direkten, bakteriellen Zellinfektionen (z.B. STROUN et al., 1, 2; STROUN u. ANKER). Die Referenten stehen der Signifikanz der letzteren Ergebnisse aber recht skeptisch gegenüber.

f) Längenverteilungen und Konformationen von Kern-DNA

Es ist erstaunlich, wie wenig strukturelle Untersuchungen pflanzlicher Kern-DNA bisher durchgeführt worden sind. Lediglich WOLSTENHOLME hat eine eingehende Studie der Verteilung und Form schonend präparierter (direkte Lysis der Zellen in Natrium-Dodecylsulfat und EDTA) DNA-Moleküle in Kleinschmidt-Präparationen bei Microsporocyten von *Lilium longiflorum* gemacht. Obwohl man selbst bei einer solch vorsichtigen Präparation nicht ausschließen kann, daß die dargestellten Stränge artefizielle Bruchstücke sind, ist als Ergebnis dieser Arbeit aber doch bemerkenswert, daß unter den beobachteten Molekülen von z.T. beträchtlicher Länge (bis hinauf zu 200 μm) keine nativen Ringstrukturen gefunden wurden, und daß bei den verschiedenen untersuchten Meiose-Stadien keine wesentlichen Unterschiede in der Längenverteilung der DNA-Stücke erkennbar waren, was der Autor in Zusammenhang mit den bekannten Hypothesen zur Rekombination von Master-Slave-Genserien diskutiert.

Literatur

- APRILLE, J.R., BUETOW, D.E.: Arch. Mikrobiol. 89, 355-362 (1973). - AVANZI, S., CIONINI, P.G., D'AMATO, E.: (1) Caryologia 23, 605-611 (1970). - AVANZI, S., BUONIGIORNO-NARDELLI, M., CIONINI, P.G., D'AMATO, F.: (2) Acad. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. 50, 357-361 (1971). - AVANZI, S., DURANTE, M., CIONINI, P.G., D'AMATO, F.: (3) Chromosoma 39, 191-203 (1972). - AVANZI, S., MAGGINI, F., INNOCENTI, A.M.: (4) Proto-plasma 76, 197-210 (1973).
- BENDICH, A.J., MCCARTHY, B.J.: (1) Genetics 65, 545-565 (1970); - (2) Genetics 65, 567-573 (1970). - BERGER, S., SCHWEIGER, H.G.: Physiol. Chem. Phys. 1, 280-290 (1969). - BHARGAVA, M.M., HALVORSON, H.O.: J. Cell Biol. 49, 423-429 (1971). - BIRNSTIEL, M.L., HYDE, B.B.: J. Cell Biol. 18, 41-50 (1963). - BIRNSTIEL, M.L., RHO, J.H., CHIPCHASE, M.I.H.: (1) Biochim. Biophys. Acta 55, 734-740 (1962). - BIRNSTIEL, M.L., CHIPCHASE, M., SPEIRS, J.: (2) Prog. Nucleic Acid Res. 11, 351-389 (1971). - BOLOUKHÈRE, M.: In: Biology of *Acetabularia* (BRACHET, J., BONOTTO, S., eds.) New York-London: Academic Press 1970, p. 145-175. - BONNER, J., CHALKLEY, G.R., DAHMUS, M., FAMBROUGH, D., FUJIMURA, F., HUANG, R.C., HUBERMAN, J., JENSEN, R., MARUSHIGE, K., OHLENBUSCH, H., OLIVEIRA, B., WIDHOLM, J.: Meth. Enzymol. 12, 3-64 (1968). - BRADY, T., CLUTTER, M.E.: J. Cell Biol. 53, 827-832 (1972). - BRÄNDLE, E., ZETSCHKE, K.: Planta 111, 209-217 (1973). - BRITTEN, R.J., KOHNE, D.E.: Science 161, 529-534 (1968). - BROWN, R.D., HASELKORN, R.: J. Mol. Biol. 59, 491-503 (1971). - BURDON, R.D., HASELKORN, R.: J. Mol. Biol. 59, 491-503 (1971). - BURDON, R.H.: Progr. Nucleic Acid Res. 11, 33-79 (1971). - BUSCH, H., SMETANA, K.: The Nucleolus, p. 1-626. New York-London: Academic Press 1970.
- CECCHINI, J.P., MIASSOD, R., RICHARD, J.: FEBS Letters 28, 183-187 (1972). - CHEN, D., OSBORNE, D.J.: Nature 225, 336-340 (1970). - CHEN, D., SCHULTZ, G., KATCZALSKI, E.: Nature New Biol. 231, 69-72 (1971). - CHENG, T.-Y., HAGEN, G.L.: Biochim. Biophys. Acta 228, 503-508 (1971). - CIONINI, P.G., AVANZI, S.: Exp. Cell Res. 75, 154-158 (1972). - CLOWES, F.A.L., De La TORRE, C.: Cytobiologie 6, 318-326 (1972). - COUDRAY, Y., QUÉTIER, F., GUILLÉ, E.: Biochim. Biophys. Acta 217, 259-267 (1970). - CRAMER, J.H., BHARGAVA, M.M., HALVORSON, H.O.: J. Mol. Biol. 71, 11-20 (1972). - CUTTER, V.M., WILSON, K.S., DUBE, J.K. (1) Science 115, 58-59 (1952). - CUTTER, V.M., WILSON, K.S., BESSIE, F.: (2) Am. J. Botany 42, 109-115 (1955).
- FAKAN, S., BERNHARD, W.: Exp. Cell Res. 79, 431-444 (1973). - FERNÁNDEZ-GÓMEZ, M.E., RISUEÑO, M.C., GIMÉNEZ-MARTÍN, G., STOCKERT, J.C.: Proto-plasma 74, 103-112 (1972). - FINKELSTEIN, D.B., BLAMIRE, J., MARMUR, J.: Nature New Biol. 240, 279-281 (1972). - FLAMM, W.G.: Int. Rev. Cytol. 32, 1-52 (1972). - FRANKE, W.W.: (1) J. Cell Biol. 31, 619-623 (1966); - (2) In: Biochemische Zytologie der Pflanzenwelt (JACOBI, G., ed.). Stuttgart: Thieme 1973. - FRANKE, W.W., TRENDLENBURG, M.F., SCHEER, U.: Planta 110, 159-164 (1973).
- GERBI, S.A.: J. Mol. Biol. 58, 499-511 (1971). - GIMÉNEZ-MARTÍN, G., STOCKERT, J.C.: Z. Zellforsch. 107, 551-563 (1970). - GOROVSKY, M.A., HATTMAN, S., LORICK PLEGER, G.: J. Cell Biol. 56, 697-701 (1973). - GREEN, B., HEILPORN, V., LIMBOSCH, S., BOLOUKHÈRE, M., BRACHET, J.: (1) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58, 1351-1358 (1969). - GREEN, B., BURTON, H., HEILPORN, V., LIMBOSCH, S.: (2) In: Biology of *Acetabularia*. (BRACHET, J., BONOTTO, S., eds.) p. 35-59. New York-London: Academic Press 1970. -

- GREENBERG, H., PENMAN, S.: *J. Mol. Biol.* 21, 527-535 (1966). - GRIERSON, D., ROGERS, M.E., SARTIRANA, M.L., LOENING, U.E.: *Cold Spring Harbor Symp.* p. 589-598 (1970). - GRIERSON, D., LOENING, U.E.: *Nature New Biol.* 235, 80-82 (1972). - GUILLÉ, É., QUÉTIER, F., HUGUET, T.: *C.R. Acad. Sci. (Paris) Sér. D* 266, 836-838 (1968). - GUTTES, E., GUTTES, S.: *J. Cell Biol.* 43, 229-233 (1969).
- HABER, J.E., PELQUIN, J.G., HALVORSON, H.O., BORISY, G.G.: *J. Cell Biol.* 55, 355-367 (1972). - HEILPORN, V., LIMBOSCH, S.: *Europ. J. Biochem.* 22, 573-579 (1971). - HENDERSON, A., RITOSSA, F.M.: *Genetics* 66, 463-473 (1970). - HENNIG, W., WALKER, P.M.B.: *Nature* 225, 915-919 (1970). - HENNIG, W., MEER, B.: *Nature New Biol.* 233, 70-72 (1971). - HERRMANN, R.G.: *Protoplasma* 74, 7-17 (1972). - HOWELL, S.H.: *Nature New Biol.* 240, 264-267 (1972).
- INGLE, J., SINCLAIR, J.: *Nature* 235, 30-32 (1972). - INGLE, J., PEARSON, G.G., SINCLAIR, J.: *Nature New Biol.* 242, 193-197 (1973). - INNOCENTI, A.M., AVANZI, S.: *Caryologia* 24, 283-292 (1971).
- JACKSON, M., INGLE, J.: *Plant Physiol.* 51, 412-414 (1973). - JORDAN, E.G., CHAPMAN, J.M.: *J. Exp. Botany* 22, 627-634 (1972).
- KIRK, J.T.O., REES, H., EVANS, G.: *Heredity* 25, 507-512 (1970). - KOCH, J., CRUCEANU, A.: *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 352, 137-142 (1971). - KOCHERT, G.: *Arch. Biochem. Biophys.* 147, 318-322 (1971). - KUEHL, L.: *Z. Naturforsch.* 19b, 525-532 (1964).
- LAFOUNTAIN, K.L., MASCARENHAS, J.P.: *Exp. Cell Res.* 73, 233-239 (1972). - LEAVER, C.J., KEY, J.L.: *J. Mol. Biol.* 49, 671-680 (1970). - LOENING, U.E.: (1) *Biochemistry J.* 102, 251-257 (1967); - (2) *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* 20, 77 (1970). - LOENING, U.E., GRIERSON, D., ROGERS, M.E., SARTIRANA, M.L.: *FEBS Symp.* 23, 395-405 (1972). - LONBERG-HOLM, K.K.: *Nature* 213, 454-457 (1967).
- MANOR, H., GOODMAN, D., STENT, G.S.: *J. Mol. Biol.* 39, 1-29 (1969). - MATSUDA, K., SIEGEL, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. US* 58, 673-680 (1967). - MIKSCHÉ, J.P., HOTTA, Y.: *Chromosoma* 41, 29-36 (1973). - MILLER, O.L., BEATTY, B.R.: *Science* 164, 955-957 (1969). - MILLER, O.L., BAKKEN, A.H.: *Acta Endocrinologica, Suppl.* 168, 155-177 (1972). - MILLER, O.L., HAMKALO, B.A.: *Intern. Rev. Cytol.* 33, 1-24 (1972). - MONDAL, H., MANDAL, R.K., BISWAS, B.B.: *The Nucleus* 13, 10-18 (1970). - MURPHY, M.N., LOVETT, J.S.: *Develop. Biol.* 14, 68-95 (1966).
- NAGL, W.: (1) *Österr. Botan. Z.* 114, 171-172 (1967); - (2) *Cytobios* 5, 145-154 (1972). - NAGL, W., HENDON, J., RÜCKER, W.: *Cell Differentiation* 1, 229-237 (1972).
- PARENTI, F., BRAWERMAN, G., PRESTON, J.F., EISENSTADT, J.M.: *Biochim. Biophys. Acta* 195, 234-243 (1969). - PEARSON, G.G., INGLE, J.: *Cell Differentiation* 1, 43-51 (1972). - PHILLIPS, R.L., KLEESE, R.A., WANG, S.S.: *Chromosoma* 36, 79-88 (1971). - PIPKIN, J.L., LARSON, D.A.: *Exp. Cell Res.* 79, 28-42 (1973).
- QUÉTIER, F., GUILLÉ, É., VEDEL, F.: *C.R. Acad. Sci. (Paris) Sér. D* 266, 735-738 (1968).
- RAE, P.M.M.: (1) *J. Cell Biol.* 46, 106-113 (1970); - (2) In: *Adv. Cell. Mol. Biol.* (DuPRAW, E.J., ed.). New York-London: Academic Press, 2, 109-149 (1972); - (3) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 1141-1145 (1973). - RAE, P.M.M., FRANKE, W.W.: *Chromosoma* 39, 443-456 (1972). - RAKE, A.V.:

Genetics 71, 19-24 (1972). - REDDY, J.K., SVOBODA, D.J.: J. Ultrastruct. Res. 38, 608-613 (1972). - REEDER, R.H., BROWN, D.D.: J. Mol. Biol. 51, 361-377 (1970). - RETEL, J., PLANTA, R.J.: (1) Biochim. Biophys. Acta 199, 286-288 (1970); - (2) Biochim. Biophys. Acta 224, 458-469 (1970). - RISUEÑO, M.C., FERNÁNDEZ-GÓMEZ, M.E., De La TORRE, C., GIMÉNEZ-MARTÍN, G.: J. Ultrastruct. Res. 39, 163-172 (1972). - RITOSSA, F.M., SCALA, G.: Genetics Suppl. 61, 305-317 (1969). - ROGERS, M.E., LOENING, U.E., FRASER, R.S.S.: J. Mol. Biol. 49, 681-692 (1970). - RYSER, U., FAKAN, S., BRAUN, R.: Exp. Cell Res. 78, 89-97 (1973).

SCHEER, U.: Develop. Biol. 30, 13-28 (1973). - SCHEER, U., TRENDELENBURG, M., FRANKE, W.W.: Exp. Cell Res. 80, 175-190 (1973). - SCHWEIZER, D.: Chromosoma 40, 307-320 (1973). - SCHWEIZER, E., MACKECHNIE, C., HALVORSON, H.O.: J. Mol. Biol. 40, 261-267 (1969). - SCOTT, N.S., INGLE, J.: Plant Physiol. 51, 677-684 (1973). - SEITZ, U., SEITZ, U.: (1) Nucleic Acids and Proteins in Higher Plants. Proc. Symp. Biol. Hung. (KARKAS, G.L., ed.). Akadémiai Kiadó 15-28 (1972); - (2) Planta 106, 141-148 (1972). - SIEGEL, A., LIGHTFOOT, D., WARD, O.G., KEENER, S.: Science 179, 682-683 (1973). - SIVOLAP, Y.M., BONNER, J.: Proc. Natl. Acad. Sci. US 68, 387-389 (1971). - SPEAR, B.B., GALL, J.G.: Proc. Natl. Acad. Sci. US 70, 1359-1363 (1973). - STOCKERT, J.C., FERNÁNDEZ-GÓMEZ, M.E., SOGO, J.M., LÓPEZ-SAEZ, J.F.: (1) Exp. Cell Res. 59, 85-89 (1970). - STOCKERT, J.C., COLMAN, O.D., FERNÁNDEZ-GÓMEZ, M.E.: (2) Cytologia (Tokyo) 36, 499-503 (1971). - STROUN, M., ANKER, P.: Molec. Gen. Genetics 113, 92-98 (1971). - STROUN, M., ANKER, P., ANDERSET, J.: (1) Nature 227, 607-608 (1970). - STROUN, M., ANKER, P., GAHAN, P., ROSSIER, A., GREPPIN, H.: (2) J. Bacteriol. 106, 634-639 (1971).

TANIFUJI, S., HIGO, M., SHIMADA, T., HIGO, S.: Biochim. Biophys. Acta 217, 418-425 (1970). - TARTOF, K.D.: (1) Science 171, 294-297 (1971); - (2) Genetics 73, 57-71 (1973). - TAUTVYDAS, K.J.: Plant Physiol. 47, 499-503 (1971). - THOMAS, C.: Exp. Cell Res. 74, 547-551 (1972). - TIMMIS, J.N., SINCLAIR, J., INGLE, J.: Cell Differentiation 1, 335-339 (1972).

UDEM, S.A., WARNER, J.R.: J. Mol. Biol. 65, 227-242 (1972).

VAN DEN BOS, R.C., PLANTA, R.J.: Biochim. Biophys. Acta 294, 464-471 (1973). - VODKIN, M., KATTERMANN, F.R.: Genetics 69, 435-451 (1971). - VOSA, C.G.: Chromosoma 33, 382-385 (1971). - VOSA, C.G., MARCHI, P.: Nature New Biol. 237, 191-192 (1972).

WALKER, P.M.B.: In: Progress in Biophysics and Molecular Biology 23, 145-190 (1971). BUTLER, J.A.V., NOBLE, D., eds. Oxford-New York: Pergamon Press. - WEINBERG, R.A., PENMAN, S.: J. Mol. Biol. 47, 169-178 (1970). - WELLS, R., BIRNSTIEL, M.: Biochem. J. 112, 777-786 (1969). - WENSINK, P.C., BROWN, D.D.: J. Mol. Biol. 60, 235-247 (1971). - WILLE, J.J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 46, 692-699 (1972). - WOLSTENHOLME, D.R.: Chromosoma 33, 396-402 (1971).

YAMASAKI, N.: Chromosoma 33, 372-381 (1971).

ZELLWEGER, A., RYSER, U., BRAUN, R.: J. Mol. Biol. 64, 681-691 (1972).

Doz. Dr. WERNER FRANKE
Institut für Biologie II
Lehrstuhl für Zellbiologie
D - 7800 Freiburg
Schänzlestraße 9

Dr. ULRICH SCHEER
Institut für Biologie II
D - 7800 Freiburg
Schänzlestraße 9

Dipl. Biol. WERNER HERTH
Institut für Biologie II
D - 7800 Freiburg
Schänzlestraße 9