

Untersuchungen zur Kern- und Chromosomenstruktur pflanzlicher Zellen

Von

HANS EGGMANN

Laboratorium für Elektronenmikroskopie, ETH, Zürich

Inhalt

I. Einleitung	281
II. Material und Methode	293
III. Meiose von <i>Tradescantia virginica</i>	294
1. Zerfall der Kernmembran während der Prophase	294
2. Kernstruktur während der Meiose	294
IV. Mitose in den spermatogenen Fäden von Characeen	295
1. Bildung der spermatogenen Fäden	295
2. Kernstruktur während der Mitose	296
V. Spermatogenese der Characeen	298
1. Bildung der Spermatozoiden	298
2. Kernstruktur während der Spermatogenese	300
VI. Diskussion	301
1. Vergleich verschiedener Fixations- und Präparationsmethoden	301
2. Chromosomenmodelle	302
Zusammenfassung	305
Literatur	306

I. Einleitung

Über die Struktur des Kerns und insbesondere der Chromosomen haben die elektronenmikroskopischen Untersuchungen bisher keine eindeutigen Ergebnisse gebracht und daher zu unterschiedlichen Auffassungen über den Bau der Chromosomen geführt. Die verschiedenen Chromosomenmodelle, die neben morphologischen Ergebnissen auch andere experimentelle Resultate berücksichtigen, lassen sich in folgende drei Hauptgruppen einteilen (Abb. 1):

1. Einstrangmodell: Dieses Modell, das sich vor allem auf Arbeiten von BOPP-HASSENKAMP (1958) und SHINKE (1959) stützt, postuliert eine Hierarchie von fünf Schraubenstufen (super coiling, Abb. 1a). Die Schraube 1. Ordnung entspricht der DNS-Doppelschraube. Diese langen Moleküle sind wiederum schraubig aufgewunden und bilden die Elementarfibrillen mit einem Durchmesser von 120 Å. Auch diese sind spiralisiert und bilden Schrauben mit einem Durchmesser von 350—800 Å. Für die als «Kleinschraube» bezeichnete Schraube 4. Ordnung wird ein Durchmesser von 2000 Å angegeben. Die Schraube 5. Ordnung entspricht der im Lichtmikroskop sichtbaren Schraubung der Metaphasechromosomen («Grossschraube»).

Für Bakterien und Dinoflagellaten wurde von GIESBRECHT (1961) ein entsprechendes Schraubensystem bis zu der als «major helix» bezeichneten Schraube 4. Ordnung angegeben. Ein neues Modell von GIESBRECHT (1965a) beschreibt einen periodischen Richtungswechsel in der Schraubung (Serpentinen-Schraubung).

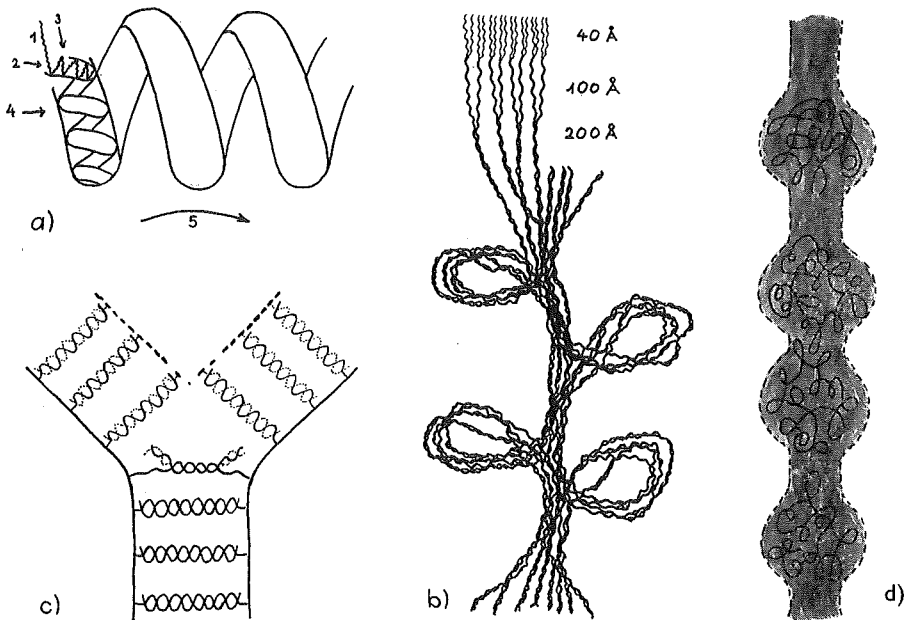


Abb. 1. Chromosomenmodelle.

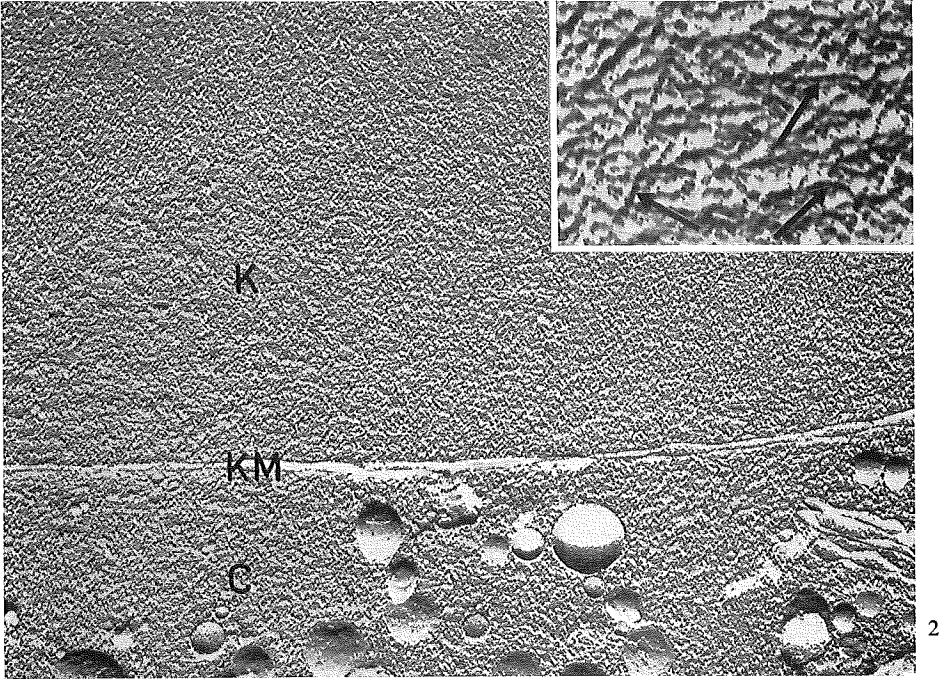
- a) Einstrangmodell: 1 DNS-Doppelschraube mit Histon. Die Pfeile 2, 3 und 4 bezeichnen die Achsen der entsprechenden Schraube. 5 Grossschraube in der Metaphase (in der Abb. nur durch Pfeil angedeutet).
- b) Mehrstrangmodell (nach RIS 1961): Paarweise verbundene Fibrillen von 40, 100, 200 Å Durchmesser. Chromomeren entstehen durch lokale Aufknäuelung der Fibrillen.
- c) Protein backbone-Modell nach TAYLOR (1962) und DE (1964): 2 Proteinlängsstränge, die durch DNS-Moleküle verbunden sind.
- d) Modell nach FREY-WYSSLING (1964) und FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER (1965). In den Chromomeren einzelne DNS-Moleküle, die vermutlich eine dichte Anordnung aufweisen.

Bildlegenden zu den Tafeln I—VIII

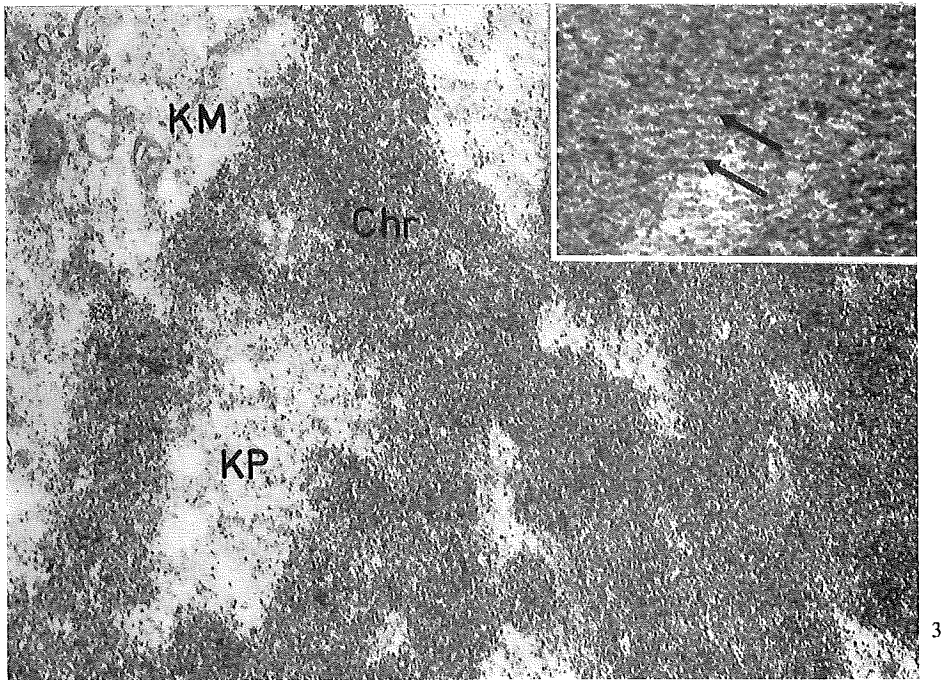
- Tafel I—III Pollenmutterzellen von *Tradescantia virginica*.
- Tafel I Abb. 2 Frühe Prophase, Gefrierätzung. Kern (K), Kernmembran (KM), Cytoplasma (C). 24000 ×. 100 Å-Fibrillen erkennbar im Ausschnitt (→). 100000 ×.
- Abb. 3 Prophasekern nach Glutaraldehydfixierung. Die dichten, fibrillären, stark kontrastierten Chromosomen (Chr) und das Kernplasma (KP) enthalten 100 Å dicke Elementarfibrillen (→). 50000 ×, Ausschnitt. 120000 ×.
- Tafel II Abb. 4 Aufsicht auf die Kernmembran, Gefrierätzung. Vor dem Zerfall der Kernmembran werden neue Poren geöffnet (→). 46000 ×.
- Abb. 5 Entsprechendes Stadium wie Abb. 4. Die Kernmembran (KM) zeigt blasige Erweiterungen. 24000 ×.
- Abb. 6 In der späten Prophase ist die Kernmembran (KM) in einzelne Abschnitte zerfallen. 20000 ×.
- Tafel III Abb. 7 In der Metaphase sind von der Kernmembran nur noch einzelne Bläschen vorhanden. Die Grenze zwischen Kern (K) und Cytoplasma (C) ist nur noch undeutlich zu erkennen (— —). 22000 ×.
- Abb. 8 Durch langsames Einfrieren entstehen im Nucleoplasma (KP) und Cytoplasma (C) grosse Eiskristalle, während die Chromosomen feinkörnig-fibrillär erscheinen. Das Bild zeigt ein geschraubtes Metaphasechromosom. 22000 ×.
- Tafel IV—VIII Spermatogene Fäden aus den Antheridien von Characeen.
 Abb. 9, 11—13, 15, 17—23: *Nitella spec.* Abb. 10, 14, 16: *Chara spec.*
- Tafel IV Abb. 9 Nucleolus in der Interphase. In der äussern Zone fibrilläre (f) und peripher gelegene granuläre (g) Bezirke. Glutaraldehydfixation. 27000 ×.
- Abb. 10 Nach Gefrierätzung zeigt der ganze Kern (K) die gleiche Struktur, während nach chemischer Fixierung (z. B. Abb. 11) die Chromosomen dichter erscheinen als das Kernplasma. 36000 ×.
- Abb. 11 Späte Prophase. Dichte Chromatinbezirke (Chr). Im Nucleoplasma (KP) mehrere 160—180 Å grosse Granula. 35000 ×.
- Abb. 12 Metaphase. Die Chromosomen liegen in einer Platte in der Raumdiagonalen (Querwand QW). 11000 ×.

- Tafel V Abb. 13 Meta- bis Anaphase. Dichte, fibrilläre Chromosomen (Chr). Von der Kernmembran (KM) sind noch vereinzelte Vesikel vorhanden. Einzelne Mikrotubuli (MT) der Kernspindel. Glutaraldehydfixation. 45000 \times .
- Abb. 14 Frühe Telophase. Im Längsschnitt sind die zwei anfänglich unregelmässig geformten Tochterkerne zu sehen. Beginn der Querwandbildung (\rightarrow). KMnO_4 -Fixation. 12000 \times .
- Tafel VI Abb. 15 Beginn der Spermatogenese. Das Chromatin bildet eine dichte Zone längs der Kernmembran. Im Kernplasma viele 160 Å grosse Partikel. 14000 \times .
- Abb. 16 Das Plasma zieht sich von der Längswand zurück. Die Kernmembran (KM) weist nur noch wenige Kernporen auf. Im plasmatischen Teil der Zelle grosser Golgi-Apparat (Go). 11000 \times .
- Abb. 17 Aufsicht auf das Plasmalemma (Pl) zu Beginn der Schraubung. Die Geisseln (G) sind in eine Schleimschicht eingebettet. 13000 \times .
- Tafel VII Abb. 18 Beginn der Kernstreckung. Unter dem Plasmalemma sind Mikrotubuli (MT) erkennbar. Die Geisseln (G, im Querschnitt sichtbar) haben in diesem Stadium bereits ihre endgültige Länge erreicht. 14500 \times .
- Abb. 19 Ausschnitt aus dem sichelförmigen Kern (K). Die Fibrillen von 30 Å Dicke beginnen sich in der Längsrichtung des Kerns anzuordnen. Die Kernmembran (KM) ist nur undeutlich zu erkennen. 45000 \times .
- Abb. 20 Querschnitt durch das plasmatische Vorderende. Die Geisseln (G) verlaufen ausserhalb der von den Mikrotubuli (MT) umgebenen Zone. 86000 \times .
- Tafel VIII Abb. 21 Kern bei Beginn der Schraubung. Die parallelen Fibrillen werden bündelweise kontrastiert. 68000 \times .
- Abb. 22 Die 30 Å dicken Fibrillen werden paarweise zu Fibrillen von 70 Å Dicke zusammengelagert (\rightarrow). Diese bilden Bänder oder Lamellen. 160000 \times .
- Abb. 23 Querschnitt durch das vordere Ende des Kerns (K). Die Mikrotubuli (MT) verlaufen auf der Aussen- und Innenseite der Schraube. Geisseln (G) im Querschnitt (links oben) und im Längsschnitt (unten). Auf der Geisselmembran regelmässig angeordnete viereckige Schuppen. 47500 \times .

TAFEL I

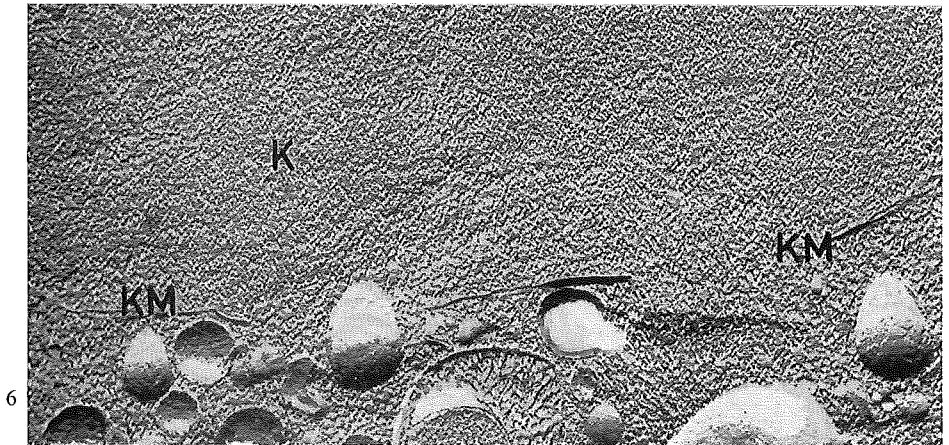
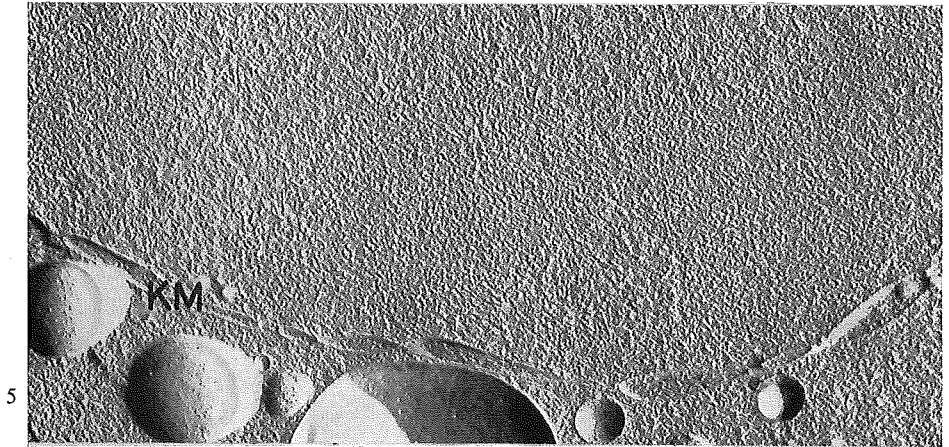
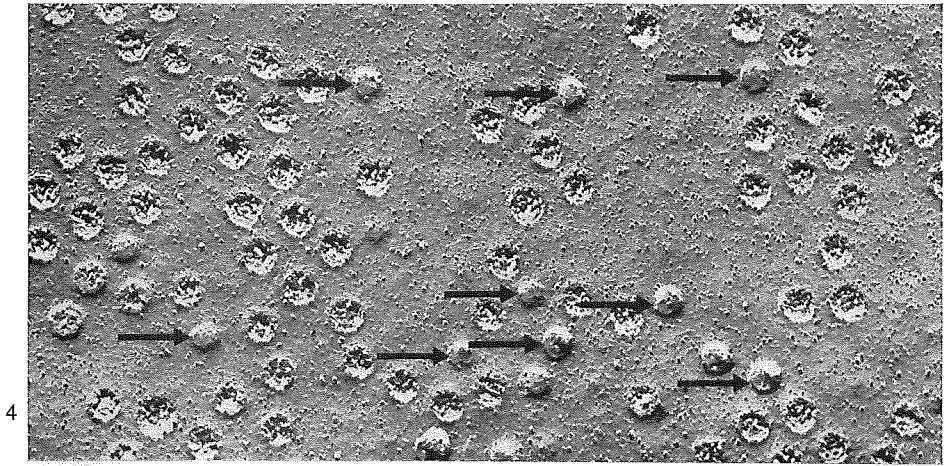


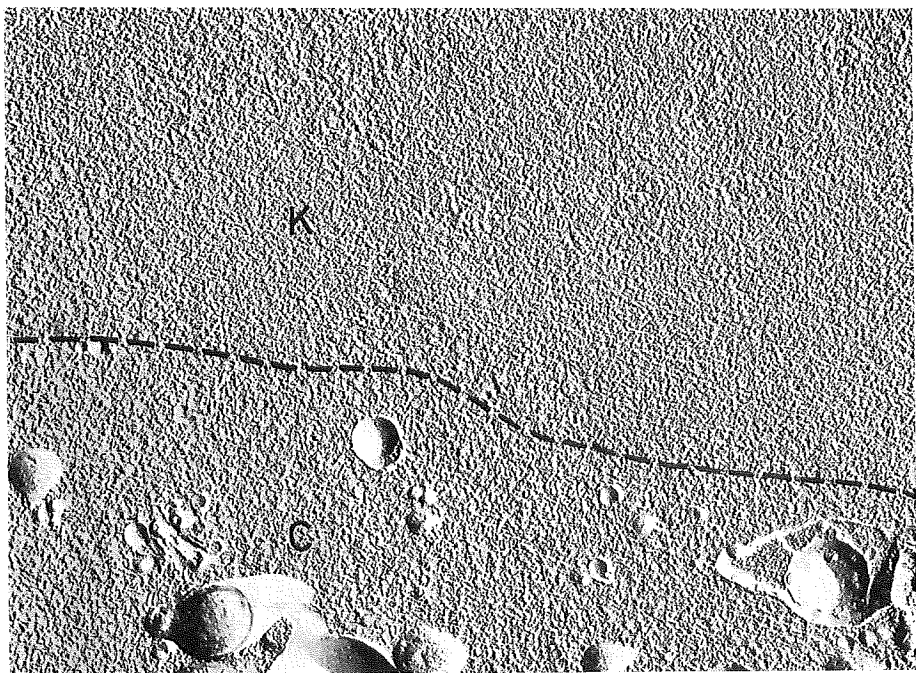
2



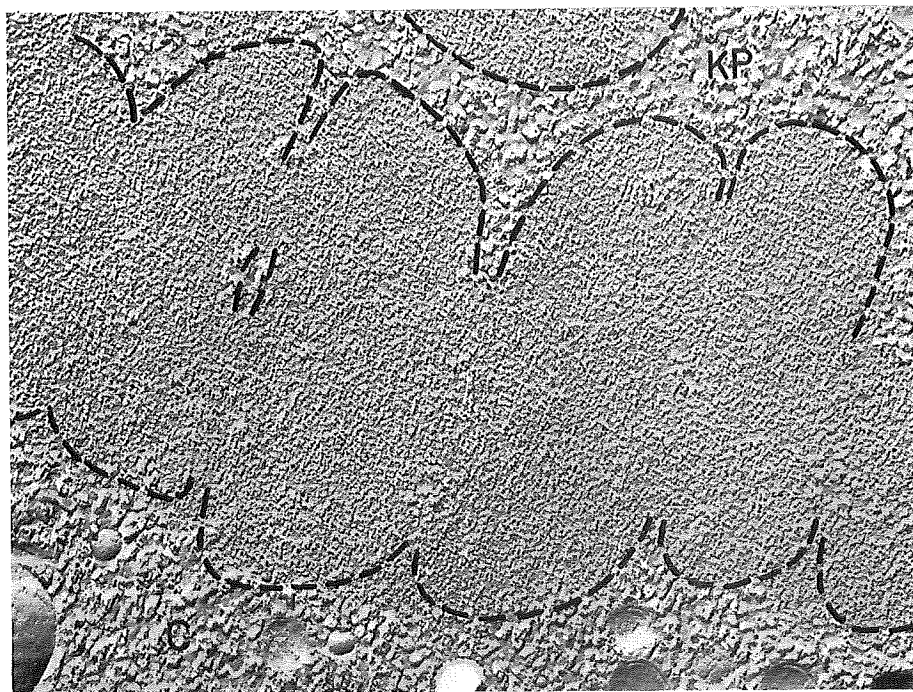
3

TAFEL II



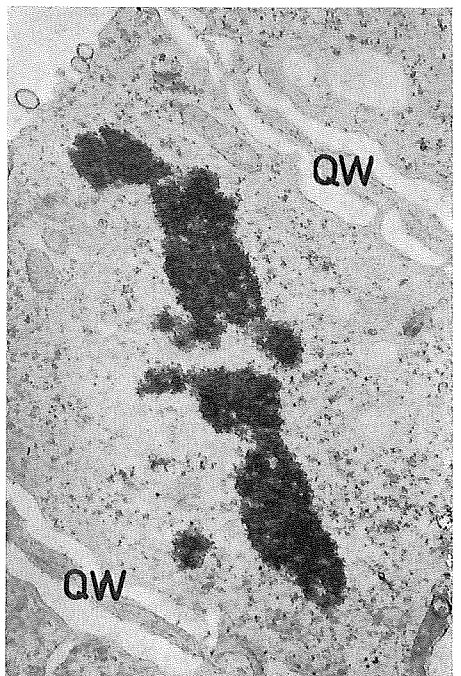
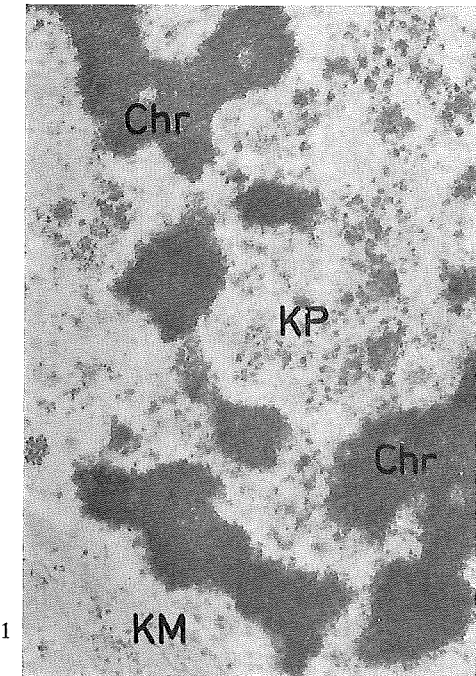
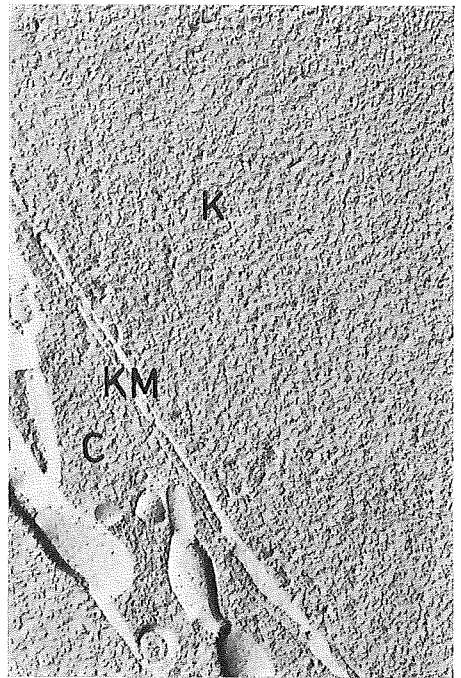
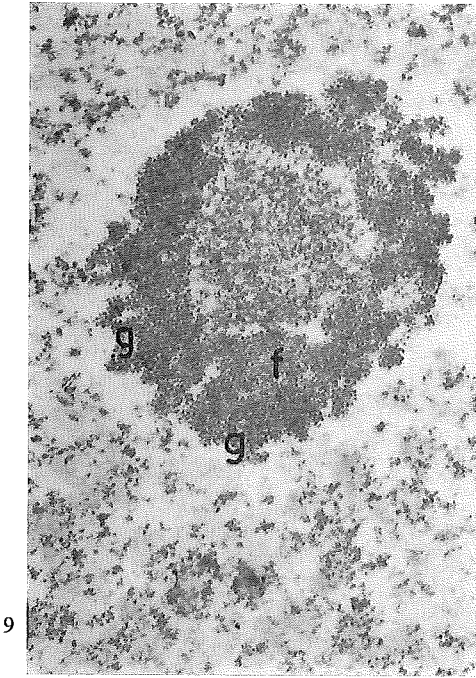


7

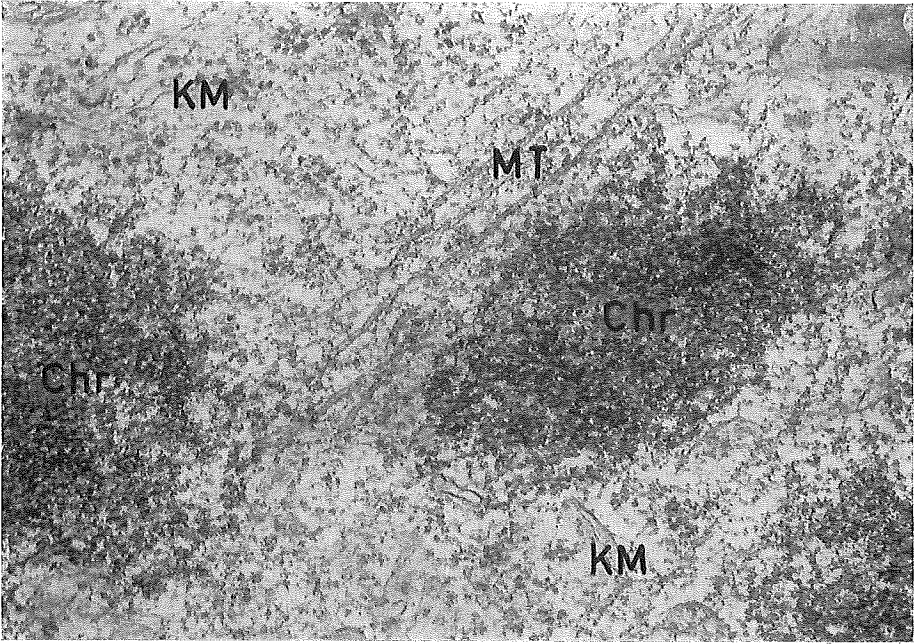


8

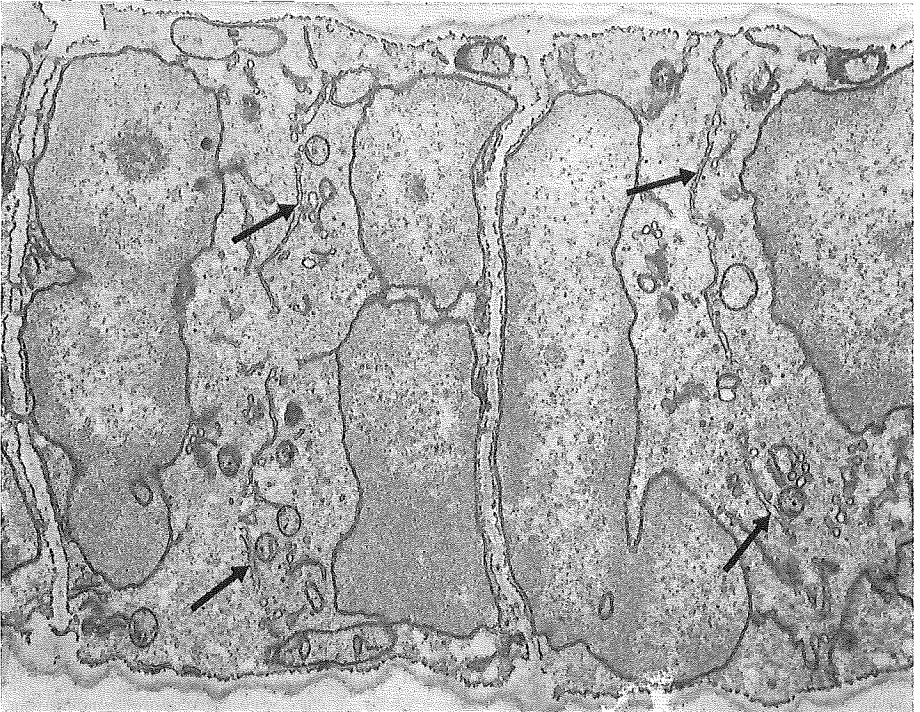
TAFEL IV



TAFEL V

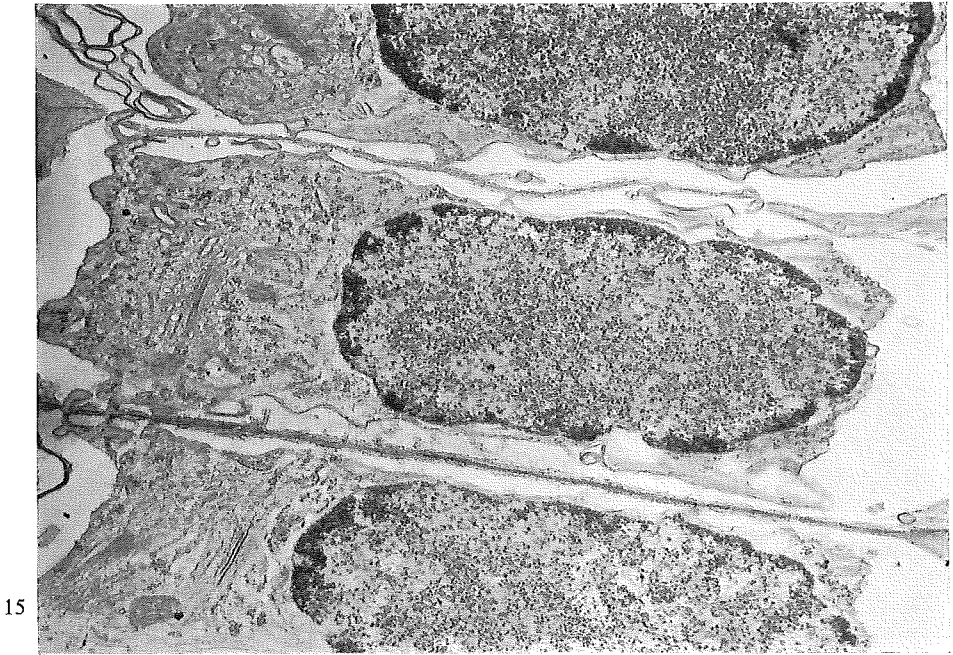


13

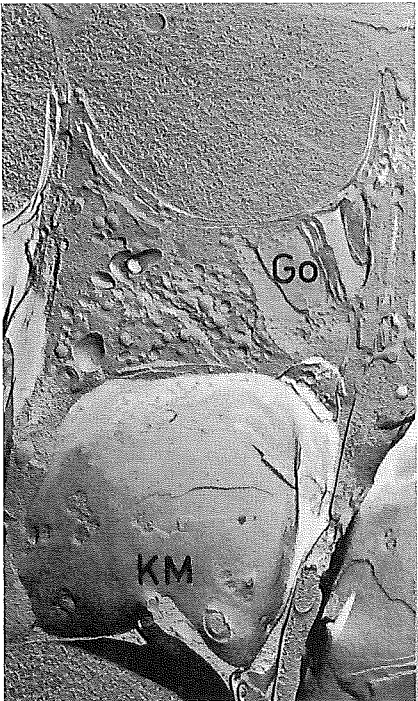


14

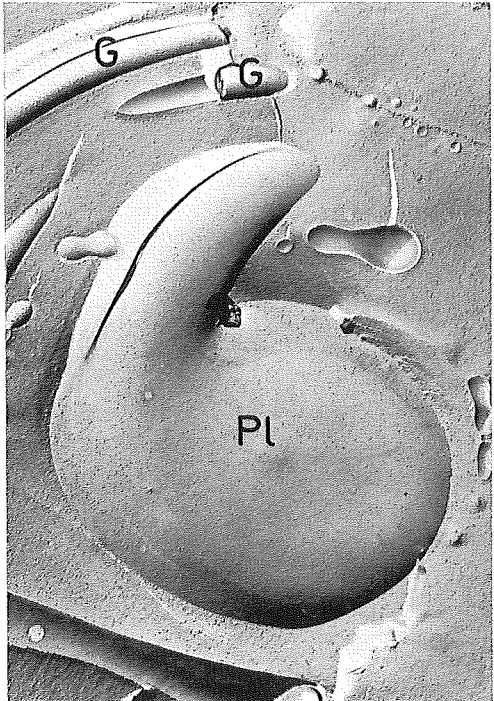
TAFEL VI



15

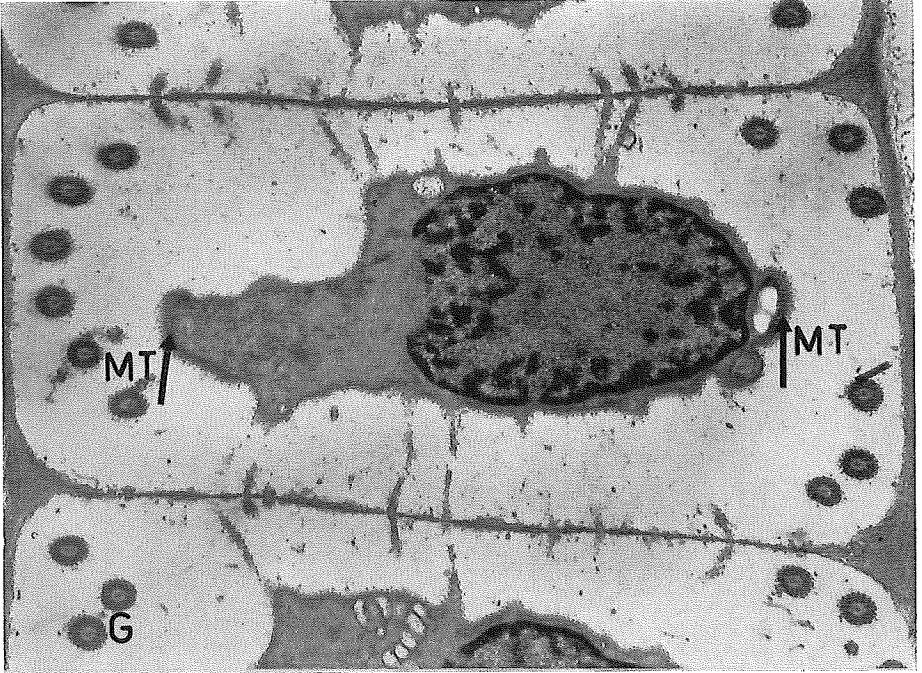


16

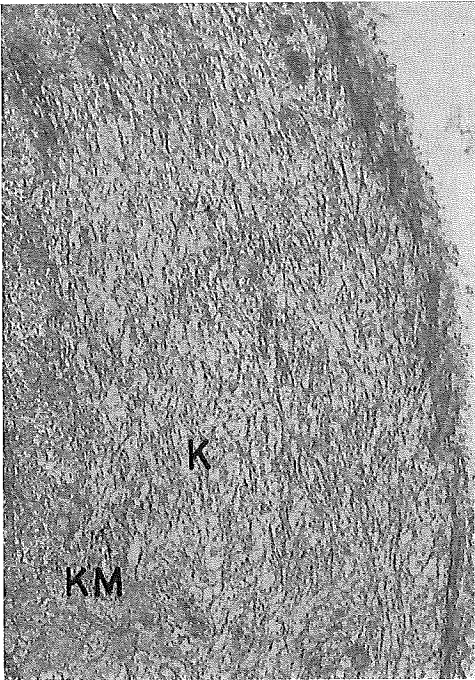


17

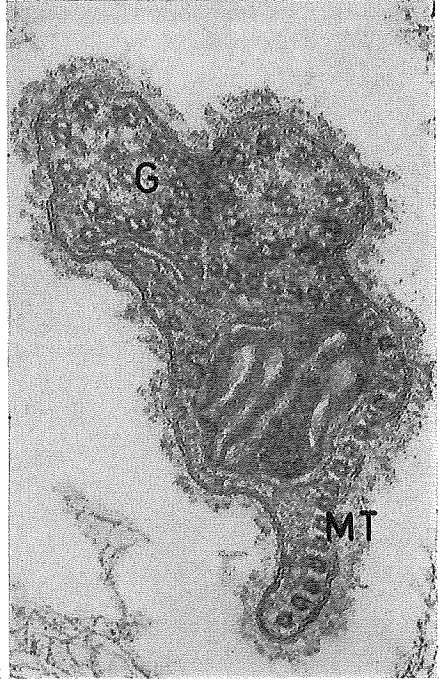
TAFEL VII



18

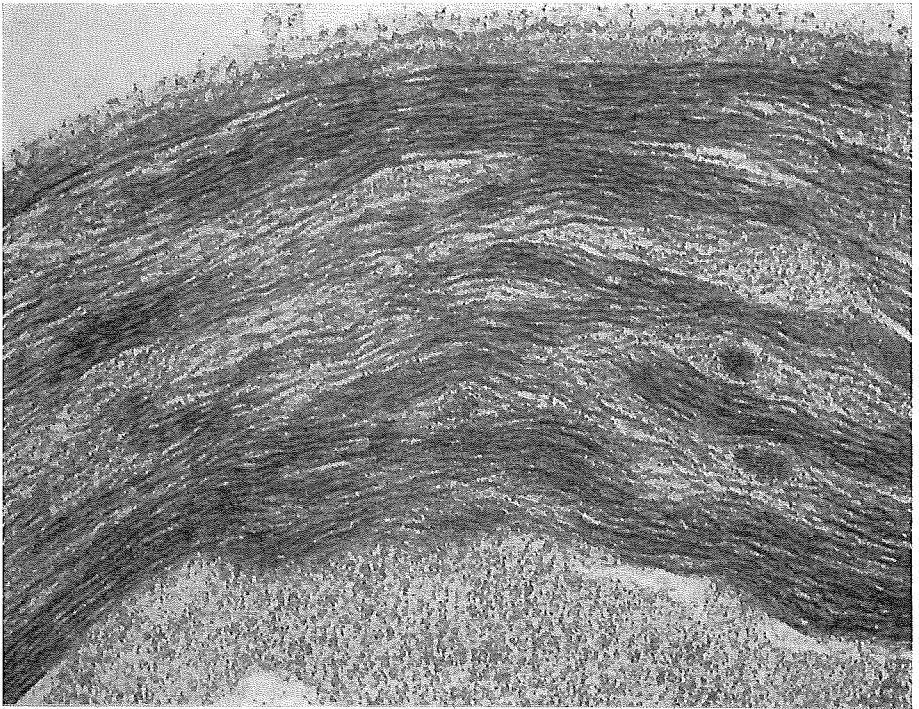


19

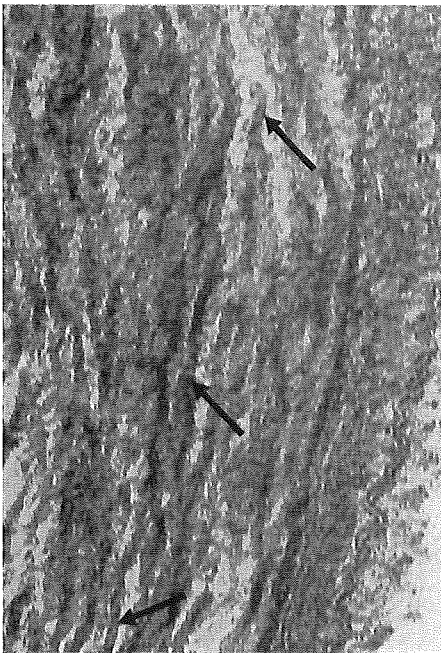


20

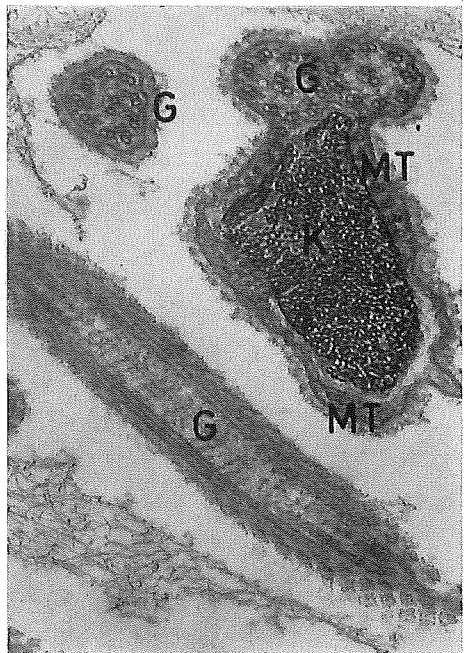
TAFEL VIII



21



22



23

2. Mehrstrangmodell: Nach KAUFMANN et al. (1960), RIS (1961) und STEFFENSEN (1961) besteht das Chromosom aus einem Bündel je paarweise verbundener Fibrillen (Abb. 1b). Als kleinste Einheit werden Subfibrillen mit einem Durchmesser von 40 Å angegeben. Zwei dieser Subfibrillen bilden die 100 Å Fibrille, die wiederum paarweise zu 200 Å Fibrillen verbunden sind. Ein Chromatid besteht aus acht dieser 200 Å dicken Fibrillen.

3. Protein backbone-Modell: TAYLOR (1962) hat ein Modell vorgeschlagen, das die von ihm nachgewiesene semikonservative Replikation der Chromosomen ermöglicht. Nach diesem Modell bestehen die Chromosomen aus zwei durchgehenden Proteinsträngen, die leitersprossenartig durch kurze DNS-Moleküle verbunden sind (Abb. 1c).

Die Untersuchungen an meiotischen Chromosomen der Spermatocyten haben zu einem ähnlichen Modell geführt (MOSES 1960, NEBEL und COULON 1962a). Mit dem Elektronenmikroskop kann in diesen Chromosomen während der Prophase ein etwa 2000 Å breites Band gefunden werden. Von diesem durch zwei Längsstränge begrenzten Band zweigen seitlich 70—100 Å dicke Fibrillen ab.

Das Modell von FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER (1965) lässt sich ebenfalls als Protein backbone-Modell bezeichnen. Der Proteinstrang ist verantwortlich für die lineare Anordnung der einzelnen, voneinander getrennten DNS-Moleküle (Abb. 1d, FREY-WYSSLING 1964).

Je nach Objekt und Methode führen die Chromosomenuntersuchungen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Im folgenden soll versucht werden, durch vergleichende Untersuchungen von pflanzlichen Zellkernen während Meiose, Mitose und Spermatogenese mit verschiedenen Fixations- und Präparationsmethoden Aufschluss über die Ultrastruktur der Chromosomen zu erhalten.

II. Material und Methoden

1. Meiose: Pollenmutterzellen von *Tradescantia virginica*. Durch lichtmikroskopische Kontrollen konnten die zur Untersuchung verwendeten Teilungsstadien, vor allem Prophase und Metaphase der ersten meiotischen Teilung, ausgewählt werden. Zur Fixierung gelangten aus den Antheren ausgepresste Pollenmutterzellen. Für die Gefrierätzung wurden die Antheren mit feinen Glaskapillaren angestochen und der Anthereninhalte in Tröpfchen von 0,5 mm Durchmesser auf kleine Kupferplättchen gebracht, die dann sorgfältig in das Gefrierschutzmittel getaucht wurden.

2. Mitose und Spermatogenese: Spermatogene Fäden aus den Antheridien von Characeen; *Chara spec.* (Freilandmaterial) und *Nitella spec.* (Kulturen nach HOLLENSTEIN 1960). Die spermatogenen Fäden wurden aus den Antheridien ausgepresst und in das Fixier- oder Gefrierschutzmittel gebracht.

3. Fixierung und Einbettung: Die Fixation erfolgte mit: 2% KMnO_4 in Brunnenwasser; 1% OsO_4 +0,002 m CaCl_2 nach ROTH und DANIELS (1962) oder Glutaraldehyd (pH 7,2) und Nachfixation in 1% OsO_4 nach SABATINI. Zur Einbettung dienten Araldit oder Epon 812. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat und PbO nach KARNOVSKY nachkontrastiert.

4. Gefrierätzung: Für die Gefrierätzung wurden die Objekte für zwei Stunden in eine als Gefrierschutzmittel dienende 20%ige Glycerinlösung gebracht (MOOR 1964). Anschliessend erfolgte das Einfrieren der vorbehandelten Präparate in flüssigem Freon. Die Abdrucke wurden nach der von MOOR und MÜHLETHALER (1963) und MOOR (1964) beschriebenen Methode hergestellt.

III. Meiose von *Tradescantia virginica*

1. Zerfall der Kernmembran während der Prophase

Im Verlaufe der Kernteilung wird die Kernmembran aufgelöst. Ihre Dicke beträgt zu Beginn der Prophase 250—400 Å (Abb. 2). Die 1000 Å messenden Poren sind über die ganze Kernoberfläche verteilt. In der Prophase zeigt die Kernmembran blasige Erweiterungen, die eine Dicke bis 1600 Å erreichen können (Abb. 5). Eine Aufsicht auf die Kernmembran in diesem Stadium zeigt Abb. 4. Neben den bestehenden Kernporen werden neue geöffnet. Einzelne Abschnitte der Kernmembran sind von stark mit Poren durchsetzten Bezirken eingeschlossen. Solche Stellen werden dann ganz aufgelöst, so dass nur noch vereinzelte Membranabschnitte mit wenig Poren übrig bleiben (Abb. 6). Das entsprechende Schnittbild eines fixierten Prophasekerns (Abb. 3) zeigt ebenfalls den Zerfall der Kernmembran in einzelne Teilstücke. Der Abstand zwischen den Membranresten beträgt 1—2 μ (Abb. 6). Diese Abschnitte zerfallen allmählich in kleine Bläschen, die in der Metaphase aus der Grenzzone zwischen Kern und Cytoplasma gegen das Cytoplasma wandern (Abb. 7).

Ob die Neubildung der Kernmembran in der Telophase *de novo* (JONES 1960) oder aus ER und Vesikeln der aufgelösten Kernmembran (PORTER und MACHADO 1960) erfolgt, konnte an meiotischen Kernen nicht abgeklärt werden.

2. Kernstruktur während der Meiose

Nach OsO₄- oder Glutaraldehydfixation zeigt der Kern eine fibrilläre Struktur. Der Durchmesser der sogenannten Elementarfibrillen (BOPP-HASSENKAMP 1958, RIS 1957, 1961) liegt bei 100 Å (Abb. 3, Ausschnitt). Chromatinbezirke und Kerngrundsubstanz unterscheiden sich vor allem durch verschieden dichte Anordnung dieser Fibrillen (BOPP-HASSENKAMP 1960). Es lässt sich auch eine unterschiedliche Kontrastierbarkeit der verschiedenen Teile feststellen (Abb. 3). Im Kernplasma sind auch Fibrillen von 40 Å Dicke enthalten. Für die Elementarfibrillen der Chromosomen wird ein Aufbau aus dünnern Einheiten angegeben, deren Durchmesser nach RIS (1961) 40 Å, nach WETTSTEIN und SOTELO (1965) 15—20 Å beträgt. Der Nucleolus besteht hauptsächlich aus 160 Å grossen Granula. Daneben sind auch fibrilläre Bezirke vorhanden, die vor allem in der innern Zone des Nucleolus liegen (LAFONTAINE und CHOUINARD 1963).

Nach der Gefrierätzung zeigt der Kern eine ähnliche Struktur wie das Cytoplasma (Abb. 2, 5—7). Nur andeutungsweise sind Fibrillen erkennbar, z. B. im Ausschnitt Abb. 2. Da diese Fibrillen nicht gestreckt sind, lassen sie sich meistens nur über kürzere Strecken verfolgen.

Ein Vergleich der Abb. 2, 6 und 7 zeigt, dass nach der Gefrierätzung in der Struk-

tur des Kerns keine Unterschiede zwischen Prophase und Metaphase festzustellen sind. Man findet keine regelmässige Anordnung von Fibrillen, wie sie das Schraubenmodell voraussetzt, aber auch keine Fibrillen mit einem Durchmesser über 100 Å, wie sie das Mehrstrangmodell verlangt.

Entsprechend diesen Resultaten zeigen auch Bilder von chemisch fixierten Präparaten, abgesehen von Kontrastunterschieden, nur geringe Strukturunterschiede zwischen Chromosomen und Nucleoplasma. Vor der Prophase ist eine eindeutige Unterscheidung zwischen Chromatin und Kerngrundsubstanz kaum möglich. Erst durch die Kontraktion der Chromonemata in der Prophase treten die Chromosomen deutlicher hervor (Abb. 3). Die einzelnen Chromatinbezirke zeigen unregelmässige Form und Grösse. Ihr Zusammenhang kann meistens erst in der späten Prophase oder in der Metaphase festgestellt werden.

Das Fehlen geordneter Kernstrukturen nach der Gefrierätzung kann nicht auf einen Einfluss des Gefrierschutzmittels oder des Einfrierens zurückgeführt werden. In der als Gefrierschutzmittel verwendeten 20%igen Glycerinlösung (p_H 6,0) zeigen die Chromosomen ihren natürlichen Quellungsgrad (RUCH 1949). In Kontrollversuchen wurden Pollenmutterzellen nach der Glycerinbehandlung mit Glutaraldehyd fixiert. Weder im Kern noch im Cytoplasma können Strukturunterschiede gegenüber normal fixierten Präparaten festgestellt werden. Eingefrorene Pollenmutterzellen zeigen nach dem Auftauen keine lichtmikroskopisch erkennbare Strukturveränderungen.

Mit der Gefrierätzung erhalten wir nur dann ein naturgetreues Abbild, wenn durch eine hohe Gefriereschwindigkeit die Bildung von Eiskristallen vermieden wird (MOOR 1964). Bei weniger raschem Einfrieren entstehen in den Zellen je nach Wassergehalt grössere oder kleinere Eiskristalle. Da der Wassergehalt der Chromosomen während der Kontraktion abnimmt (KUWADA 1939), können durch entsprechende Gefrierbedingungen die Chromatinbezirke vom wasserreicheren Kernplasma abgegrenzt werden. Diese Unterschiede sind bereits in der Prophase festzustellen, besonders deutlich werden sie aber in der Metaphase. Abb. 8 zeigt einen Ausschnitt aus einem solchen Metaphasekern. Der Durchmesser der gut erkennbaren Schraube entspricht der Abmessung der im Lichtmikroskop sichtbaren Schraubung. In den Chromatinbezirken ist im Vergleich mit Abb. 7 eine Strukturvergrößerung festzustellen, das Fibrillengerüst der Chromosomen erscheint etwas aufgelockert. Die Anordnung der Fibrillen in der Schraube lässt sich mit der in Schnittbildern gefundenen Chromosomenstruktur vergleichen. Anzeichen für eine regelmässige Anordnung der Fibrillen in der Schraube fehlen, sowohl nach Gefrierätzung als auch nach chemischer Fixierung.

IV. Mitose in den spermatogenen Fäden von Characeen

1. Bildung der spermatogenen Fäden

Die Spermatozoiden der Characeen entstehen in den aus 8 flachen Wandzellen (Schilder) gebildeten Antheridien. Im Innern dieser Organe sitzen die primären Köpfchenzellen, die je 3—6 sekundäre Köpfchenzellen tragen. Von diesen gehen je

3—5 unverzweigte spermatogene Fäden aus. Die Zellenzahl dieser spermatogenen Fäden beträgt im Normalfall 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 ($= 2^n$). Die Mitosen in den spermatogenen Fäden folgen sich in regelmässigen Zeitabständen. Die Teilungen benachbarter Zellen eines Fadens verlaufen synchron.

Der Durchmesser dieser Zellen beträgt 8—10 μ . In jungen Fäden sind sie hochzylindrisch, in ausgereiften Fäden haben sie mehr scheibenförmige Gestalt. Die sekundären Köpfcenzellen und die Zellen der spermatogenen Fäden enthalten keine Proplastiden. Die Anzahl und Verteilung der übrigen Zellorganelle im Plasma ist in jungen und älteren Zellen gleich. Ihre Teilung oder Neubildung erfolgt also gleich rasch wie die Zellteilung. In älteren Zellen sind die Ribosomen häufig in dichten Gruppen angeordnet. Der Kern hat einen Durchmesser von 4—6 μ . Mit zunehmender Zellenzahl der spermatogenen Fäden nimmt seine Grösse etwas ab. Die 800 bis 1000 Å messenden Kernporen sind gleichmässig über die Kernoberfläche verteilt.

In der Struktur der spermatogenen Fäden und der Spermatozoiden bestehen keine Unterschiede zwischen den Gattungen *Chara* und *Nitella*. Für die meisten Versuche wurden daher Antheridien von *Nitella* verwendet, da von dieser Gattung Gewächshauskulturen zur Verfügung standen.

2. Struktur des Kerns während der Mitose

a) Interphase: In der Mitose zeigen die Kerne den gleichen fibrillären Aufbau wie meiotische Kerne. Während der Interphase sind die Chromosomen stark aufgelockert, so dass in der Anordnung dieser Fibrillen keine Unterschiede zwischen Chromatin und Kernplasma erkennbar sind.

Im Interphase-Nucleolus (Abb. 9) lassen sich verschiedene Zonen unterscheiden: eine meist peripher liegende granuläre mit 150—180 Å grossen Granula und eine innere fibrilläre Zone. Der zentrale, weniger dichte Bezirk des Nucleolus in Abb. 9 zeigt die gleiche Struktur wie das Chromatin in der Prophase.

Mit der Gefrierätzung ergeben sich die gleichen Resultate wie bei *Tradescantia* (Abb. 10). Durch entsprechende Gefrierbedingungen lassen sich auch hier die Chromatinbezirke vom Kernplasma abgrenzen.

b) Prophase: Die Kontraktion der Chromonemata in der Prophase bewirkt eine Verdichtung des Chromatins. Dadurch treten die Chromosomen deutlicher hervor. Im Schnittbild zeigen die dichten, stark kontrastierten Chromatinbezirke unregelmässige Form und Grösse (Abb. 11). Da Dünnschnitte durch den Kern nur einen ganz kleinen Ausschnitt zeigen und die Chromosomen zudem unter verschiedenen Winkeln angeschnitten sind, kann der Zusammenhang der einzelnen Bezirke meistens nicht festgestellt werden.

Die Chromosomen sind aus dicht gepackten, unregelmässig angeordneten 100 Å dicken Fibrillen aufgebaut. Im Nucleoplasma kommen neben diesen Fibrillen auch solche mit einem Durchmesser von 40 Å vor. Zwischen diesen zerstreut angeordneten Fibrillen liegen Granula mit etwa 160 Å Durchmesser.

Der ursprünglich kugelige Nucleolus nimmt unregelmässige Gestalt an. Zuerst wird vor allem die granuläre Zone aufgelockert. Vor der Metaphase wird der Nucleo-

lus ganz aufgelöst. Dabei wird eine Zunahme der 160 Å grossen Granula im Nucleoplasma beobachtet, die anscheinend in das Cytoplasma auswandern.

Der Zerfall der Kernmembran während der Prophase verläuft gleich wie bei der Meiose von *Tradescantia*. Am Ende der Prophase sind nur noch Vesikel mit einem Durchmesser von 0,2—0,5 μ vorhanden (Abb. 13).

c) Metaphase: Die Metaphasechromosomen der spermatogenen Fäden liegen in einer Platte in der Raumdiagonalen der Zelle (Abb. 12). Kernmembran und Nucleolus sind in diesem Stadium aufgelöst. Infolge der sehr dichten Anordnung der Elementarfibrillen ist die Metaphase für Strukturuntersuchungen an Chromosomen ungeeignet.

KARLING (1926) fand bei seinen Untersuchungen kein Centrosom in den spermatogenen Fäden. Den Spindelapparat konnte er nur in einzelnen fixierten Zellen feststellen, aber auch dort sind die Spindelfasern viel weniger deutlich als in den vegetativen Zellen. Entsprechende Resultate ergeben die elektronenmikroskopischen Untersuchungen. Es werden immer nur vereinzelte Mikrotubuli der Kernspindel gefunden, sowohl mit Glutaraldehydfixierung (Abb. 13) als auch mit der Fixierung nach ROTH und DANIELS (1% OsO₄+0,002 m CaCl₂).

Im Gegensatz dazu konnte MANTON (1964) bei der Spermatogenese von *Equisetum* in den einzelnen Spindelfasern etwa 50 Mikrotubuli zählen. MANTON gibt für die Mikrotubuli einen Durchmesser von 250—300 Å an, bei Characeen werden 180 bis 220 Å gemessen.

Die Mikrotubuli der Spindel verhalten sich bei der Fixierung nicht gleich wie die in den Spermatozoiden gefundenen Tubuli (vgl. S. 299). Die Mikrotubuli der Spermatozoiden lassen sich auch mit OsO₄-Fixation (ohne Ca⁺⁺) darstellen, nicht aber die Fibrillen der Kernspindel. Die Übereinstimmung mit den lichtmikroskopischen Ergebnissen von KARLING (1926) zeigt aber, dass die geringe Anzahl der Mikrotubuli in der Spindel nicht auf ungenügende Fixierung zurückgeführt werden kann. Es ist erstaunlich, dass der Spindelapparat in diesen Zellen, die in regelmässigen, ziemlich kurzen Zeitabständen mitotische Teilungen durchmachen, nicht besser ausgebildet ist. Der aktive Transport der Chromosomen in der Anaphase durch Spindelfasern (im lichtmikroskopischen Sinn) oder Mikrotubuli scheint daher nicht die einzige Möglichkeit der Chromosomenbewegung zu sein.

d) Anaphase: Entsprechend der Lage der Metaphaseplatte weichen die Chromosomen in der Anaphase diagonal auseinander. Die Chromosomen zeigen die gleiche Gestalt wie in der Metaphase.

Vesikel der aufgelösten Kernmembran können oft in der Nähe der Chromosomen festgestellt werden. Einzelne dieser Vesikel fusionieren und bilden wieder eine Membran, so dass manchmal Gruppen von Anaphasechromosomen bereits teilweise von einer Membran umgeben sind.

e) Telophase: In der Telophase werden die Chromosomen wieder aufgelockert. Der fibrilläre Aufbau lässt sich dadurch besser erkennen als in Meta- und Anaphase. Die Neubildung des Nucleolus beginnt in der frühen Telophase.

Der Aufbau der neuen Kernmembran, der bereits in der späten Anaphase einsetzt, erfolgt sehr rasch. Vesikel der aufgelösten Kernmembran sind an der neuen Membran wieder beteiligt. Da bereits einzelne Chromosomengruppen der späten Anaphase eine Membran besitzen, hat der Telophasekern anfänglich eine unregelmässige Form mit Einschnürungen (Abb. 14). Der Kern nimmt zuerst scheibenförmige Gestalt an. Während der Bildung der neuen Querwand wird er allmählich wieder kugelig und wandert gegen die Mitte der Zelle.

V. Spermatogenese der Characeen

1. Bildung der Spermatozoiden

Nach dem 7. Teilungsschritt bestehen die spermatogenen Fäden aus je 128 (= 2⁷) scheibenförmigen Zellen, den Spermatiden. Der anfänglich zentral liegende Kern rückt gegen eine Seite der Zelle. Im plasmatischen Teil liegt ein auffallend grosser Golgi-Apparat (Abb. 15, 16). Die Ribosomen sind in dichten Gruppen angeordnet. Gegenüber jüngeren Zellen erscheint die Anzahl der Mitochondrien verringert.

Das Plasma beginnt sich von der Längswand abzulösen (Abb. 16). In die so gebildete Rinne werden die zwei Geisseln um den Plasmakörper herum gelegt (Abb. 24b–d). Ein Geisselquerschnitt, wie z. B. in Abb. 23, zeigt die bekannte Anordnung der 9+2 Fibrillen. Die Geisseln sind von einer Membran umgeben, auf der regelmässig angeordnete, viereckige Schuppen von 300 Å Grösse liegen (Abb. 23). Die Geisseln sind von einer Schleimschicht umgeben, daher bleiben diese Schuppen in der Gefrierätzung unsichtbar (Abb. 17).

Gleichzeitig mit einer Volumenverkleinerung des Kerns beginnt sich das Plasma auch von der Querwand abzulösen. Einzelne Plasmaverbindungen durch die Querwand bleiben vorläufig noch bestehen (Abb. 18). Der Kern streckt sich unter Querschnittsverkleinerung und nimmt sichelförmige Gestalt an. Auch das Plasma beginnt sich zu strecken und bildet in zwei verschiedenen Ebenen zwei Fortsätze, die sich zum plasmatischen Vorder- und Hinterende weiter entwickeln (Abb. 17, 24). Der zentrale Plasmateil enthält keine Mitochondrien mehr. Die anfänglich zahlreichen Golgi-Vesikel verschwinden allmählich während der Kontraktion des Plasmas.

Der Kern wird noch weiter gestreckt und beginnt sich schraubig aufzuwinden. In reifen Spermatozoiden erreicht er 2½ Windungen mit einem Durchmesser von 5 μ (Abb. 24e). Der nur noch von einem schmalen Plasmasaum überzogene Kern weist einen Durchmesser von 0,6–0,8 μ auf. Der ca. 10 μ lange plasmatische Hinterteil ist vor allem am Ende etwas verbreitert. Er enthält mehrere zusammenhängende Vakuolen von etwa 0,3 μ Durchmesser.

Nahe dem zugespitzten Vorderende treten die zwei Geisseln aus dem Spermatozoidenkörper aus. Soweit sie im Plasma verlaufen, sind sie von keiner Membran umgeben (Abb. 20, 23). Die Basalkörper liegen im schmalen Plasmarand neben dem Kern auf der Schraubenaussenseite. Auf einer Strecke von etwa einer halben Windung verlaufen die Geisseln im Bereich des vordern Kernendes parallel zum Kern (Abb. 24f). Die Mitochondrien zeigen eine von der Normalgestalt etwas abweichende

Form (Abb. 20). Im plasmatischen Vorderteil sind mehrere dieser Partikel aufgereiht. Eine entsprechende Differenzierung der Mitochondrien fand HEITZ (1959) auch in den Spermatischen von Lebermoosen.

In den Spermatischen der Characeen werden bereits vor der Kernstreckung Mikrotubuli gefunden, deren Durchmesser 200—240 Å beträgt. Sie bilden ein aus anfänglich nur wenigen, später bis 40 Tubuli bestehendes Band, das parallel zur Längswand der Fäden unmittelbar unter dem Plasmalemma um den Plasmakörper herumläuft (Abb. 18). In reifen Spermatozoiden erstrecken sich die Mikrotubuli über die ganze Länge der Zelle. Während bei den langgestreckten Spermatozoiden der Turbellarien die Mikrotubuli im Querschnitt über den ganzen Umfang verteilt sind (SILVEIRA und PORTER 1964), verlaufen sie bei den geschraubten Spermatozoiden der Characeen

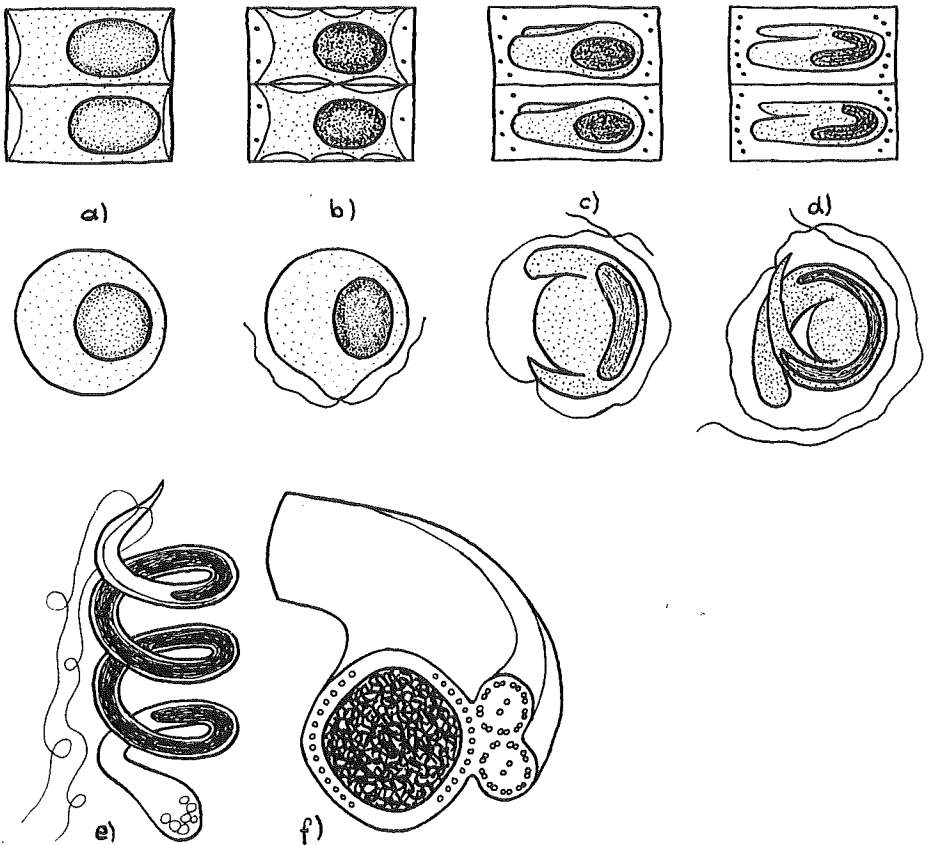


Abb. 24. Verlauf der Spermatogenese.

a—d: Spermatogene Fäden, oben im Längsschnitt, unten im Querschnitt.

e: Reifes Spermatozoid.

f: Ausschnitt aus dem geschraubten Spermatozoidenkörper im Bereich des vordern Kernendes, Verlauf der Mikrotubuli und der Geißeln.

nur auf der Aussen- und Innenseite der Schraube (Abb. 23, 24f). Nur im plasmatischen Vorderende sind sie ebenfalls auf den ganzen Umfang verteilt (Abb. 20). Die Geisseln verlaufen im Plasma ausserhalb der von Mikrotubuli umgebenen Zone (Abb. 20, 23, 24f).

Aus dieser Anordnung der Mikrotubuli kann die Art der Bewegung der geschraubten Spermatozoiden abgeleitet werden: Eine Kontraktion der innen liegenden Mikrotubuli bewirkt eine Verkleinerung des Windungsdurchmessers und gleichzeitig eine Vergrösserung der Ganghöhe der Schraube. Die Kontraktion der äusseren Mikrotubuli bewirkt die entgegengesetzte Veränderung. Im Lichtmikroskop lässt sich an freischwimmenden Spermatozoiden diese Art der Fortbewegung tatsächlich beobachten (HOLLENSTEIN 1960).

HEITZ (1959) fand in den Spermatiden von Lebermoosen ähnliche tubuläre Strukturen, die er in Zusammenhang mit der Geisselbasis brachte. Das Mikrotubuli-System ist aber von den Geisseln getrennt. Nach LEDBETTER und PORTER (1963) werden solche tubulären Systeme vor allem in stark asymmetrischen Zellen gebildet, meistens schon während ihrer Entwicklung. Diese Zellen sind entweder frei beweglich, wie die Spermatozoiden, oder es lässt sich eine starke Plasmaströmung in der Umgebung der Mikrotubuli feststellen. Daneben kommt diesen Tubuli in den asymmetrischen Zellen möglicherweise auch eine Gerüstfunktion zu (SILVEIRA und PORTER 1964).

In Abb. 20 können die Mikrotubuli direkt mit den Fibrillen der Geisseln verglichen werden. Beide weisen den gleichen Durchmesser und gleiche Struktur auf. Auch in ihrer Funktion besteht eine weitgehende Ähnlichkeit; sowohl die Mikrotubuli als auch die Fibrillen der Geisseln stehen im Zusammenhang mit der Bewegung der Zelle beziehungsweise der Geisseln.

2. Kernstruktur während der Spermatogenese

Zu Beginn der Umwandlung vom Interphasekern zum Spermatozoidenkern lässt sich eine Volumenverkleinerung des Kerns feststellen. Die Entquellung des Kerns von aussen nach innen führt zu einer Anlagerung des Chromatins längs der Kernmembran (Abb. 15). Diese chromatische Randzone ist bereits im Lichtmikroskop sichtbar (HOLLENSTEIN 1960).

Der Nukleolus wird kleiner und später bei beginnender Kernstreckung ganz aufgelöst. Gleichzeitig mit der Verkleinerung der granulären Komponente des Nukleolus lässt sich eine starke Zunahme von 150 Å grossen Granula im Nukleoplasma feststellen (Abb. 15). Die fibrilläre Komponente des Kernplasmas besteht aus 40 Å dicken, schwach kontrastierbaren Fibrillen. Die Randzone weist die gleiche Dichte und Struktur auf wie Prophasechromosomen. Das Chromatin ist zusammenhängend, eine Abgrenzung zwischen den einzelnen Chromosomen ist nicht mehr feststellbar. Zu Beginn der Kernstreckung wird diese Zone aufgelockert, zuerst in dem gegen das plasmatische Vorderende gerichteten Teil des Kerns (Abb. 18). Gleichzeitig mit dieser Auflockerung zeigt sich ein Rückgang der granulären Komponente. Der sichelförmige Kern besteht nur noch aus feinen, 20–40 Å dicken Fibrillen. Diese auffallend schwach kontrastierbaren Fibrillen beginnen sich in der Längsachse des

Kerns auszurichten (Abb. 19). Der Kern ist in diesem Stadium schwach doppelbrechend, im Verlauf der Reifung wird die Doppelbrechung stärker (HOLLENSTEIN 1960).

Bei der anschließenden Kernstreckung wird die Parallellagerung der 30 Å dicken Fibrillen noch deutlicher. In Abb. 21 und 22 ist eine Zusammenlagerung von je zwei dieser Fibrillen zu erkennen. Die so entstehenden Fibrillen von 60—70 Å Dicke werden im Verlauf der weitem Kernstreckung und -schraubung zu Bändern oder Lamellen zusammengelagert. Bezüglich Kontrastierung zeigen die Kerne in diesem Stadium ein anderes Verhalten als die sichelförmigen Kerne: die Lamellen lassen sich mit Uranylacetat und PbO stark anfärben. Anfänglich werden nur einzelne Fibrillenbündel oder Lamellenabschnitte kontrastiert (Abb. 21), später der ganze Kern. Diese Lamellen erstrecken sich über die ganze Länge des Kerns. In tierischen Spermatozoiden wird häufig eine regelmässige Anordnung dieser Bänder gefunden, so bei Heuschrecken oder bei Turbellarien (z. B. SILVEIRA und PORTER 1964). Bei den Spermatozoiden der Characeen kann im Querschnitt durch den Kern keine regelmässige Struktur gefunden werden (Abb. 23). Eine Abgrenzung in einzelne Chromosomen ist in diesen Kernen nicht mehr möglich.

Das Volumen des Kerns der reifen Spermatozoiden beträgt nur noch etwa die Hälfte des ursprünglichen Kernvolumens, was vor allem auf einen Proteinverlust des Kerns während der Spermatogenese zurückzuführen ist. In reifen Spermatozoiden sind die parallel gelagerten Lamellen so dicht gepackt, dass ihre Längsorientierung nur noch undeutlich zu erkennen ist. Der ganze Kern wird sehr stark kontrastiert.

Abb. 16 zeigt eine Aufsicht auf die Kernmembran zu Beginn der Spermatogenese. Die Zahl der Kernporen ist im Vergleich zu Interphasekernen stark reduziert. Nach Glutaraldehydfixierung erscheint die Kernmembran in reifen Spermatozoiden nur undeutlich, und es lassen sich keine Poren mehr nachweisen (Abb. 21, 22, vgl. auch SILVEIRA und PORTER 1964). Auch mit der Gefrierätzung werden in Spermatozoiden keine Kernporen gefunden.

Ein entsprechender Kernbau mit parallelen, in der Längsrichtung des Kerns angeordneten Fibrillen oder Lamellen wurde bisher in verschiedenen tierischen Spermatozoiden gefunden, so bei Turbellarien, Insekten, Mollusken und Wirbeltieren (siehe SILVEIRA und PORTER 1964). Diese orientierten Strukturen ergeben eine starke Doppelbrechung. Die Untersuchungen an den ebenfalls doppelbrechenden Spermatozoiden der Characeen zeigen, dass pflanzliche und tierische Spermatozoiden den gleichen Kernbau aufweisen.

VI. Diskussion

1. Vergleich der verschiedenen Fixations- und Präparationsmethoden

Die Fixierung mit Glutaraldehyd und OsO₄ nach SABATINI et al. (1963) erweist sich auch für Kern- und Chromosomenuntersuchungen den andern chemischen Fixationsmethoden überlegen. Nach KMnO₄-Fixierung erscheint der Kern granulär, die Unterschiede zwischen Nucleolus, Chromatin und Kernplasma sind nur gering.

Die Kernmembran, die nach Glutaraldehyd-Fixierung nicht deutlich erscheint, lässt sich mit der KMnO_4 -Fixation sehr schön abbilden (Abb. 14). Auch die von RESCH und PEVELING (1962) vorgeschlagene Carmin-Essigsäure-Fixierung zeigt keine Einzelheiten in der Chromosomenstruktur. Das Kernplasma erscheint nach dieser Fixation flockig und das Chromatin wird stark verquollen. Mit verschiedenen Kontrastierungsmethoden kann wohl der Kontrastunterschied zwischen Chromosomen und Kernplasma gesteigert werden, doch werden dadurch keine neuen Ergebnisse über die Chromosomenstruktur erzielt, da die Kontrastierungsmittel nicht spezifisch sind für DNS.

Da die Dicke der Schnitte nur etwa $1/100$ oder weniger des Kerndurchmessers beträgt, kann mit der Schnittmethode die Anordnung der langen Elementarfibrillen nur ungenügend dargestellt werden. Auch mit Serienschnitten oder Stereoaufnahmen lässt sich dieses Problem nicht lösen. Andere Präparationsmethoden bieten ebenfalls grosse Schwierigkeiten. RIS (1961) und DU PRAW (1965) untersuchten isolierte Chromosomen und fanden Fibrillen von 200—250 Å Durchmesser. Nach RIS sind diese Fibrillen aus vier DNS-Histon-Fibrillen aufgebaut, nach DU PRAW enthalten sie nur ein einziges, ausserordentlich langes DNS-Molekül, das von einem Proteinhülle umgeben ist. Diese Präparationsmethode bewirkt aber grobe Strukturveränderungen. Die 200 Å Fibrillen entstehen bei der Isolation der Chromosomen durch Zusammenlagerung dünnerer Fibrillen. In gut fixierten Präparaten oder mit der Gefrierätzung werden keine Fibrillen mit einem Durchmesser über 100 Å gefunden. BRANTON und MOOR (1964) erhielten mit der Gefrierätzmethode entsprechende Ergebnisse an *Allium cepa*, konnten aber Chromatin und Kernplasma nicht unterscheiden. Durch geeignete Gefrierbedingungen wird diese Unterscheidung möglich (Abb. 7, 8).

GIESBRECHT (1965b) gelang es, mit der Gefrierätztechnik Chromosomen von Dinoflagellaten abzubilden. Da diese Organismen in den Chromosomen weder Histon noch andere Proteine enthalten, kann die fibrilläre Struktur der Chromosomen direkt mit der Tertiärstruktur der DNS verglichen werden.

Mit der Gefrierätzung kann die Kernmembran sowohl im Schnitt als auch in der Aufsicht abgebildet werden (Abb. 4—6, 16). Während dem Zerfall der Kernmembran in der meiotischen oder mitotischen Prophase werden neue Kernporen geöffnet (Abb. 4). In der Spermatogenese werden bestehende Poren geschlossen, so dass nur noch wenige oder überhaupt keine mehr übrig bleiben. Dass sich die Zahl oder die Verteilung der Poren in der Kernmembran während der Zellentwicklung verändern kann, konnten MOOR und MÜHLETHALER (1963) auch an Hefe feststellen.

2. Chromosomenmodelle

Eine eindeutige Zuordnung der in Schnitt- oder Gefrierätzbildern gefundenen Kernstrukturen zu einem der eingangs beschriebenen Chromosomenmodelle ist nicht möglich. Einzig die Spermatozoidkerne scheinen auf ein Mehrstrangmodell hinzuweisen und wurden von RIS (1961) auch in dieser Art gedeutet. Es stellt sich die Frage, wie weit die Fibrillen der Spermatozoidkerne mit den Fibrillen der meiotischen oder mitotischen Chromosomen gleichgesetzt werden dürfen. RIS (1961) gibt

für beide einen Durchmesser von 100 Å und für die Untereinheiten von 40 Å an. In neuern Arbeiten wird für die Fibrillen der Spermatozoiden eine Dicke von 60 bis 70 Å angegeben (SILVEIRA und PORTER 1964), die Untereinheiten messen 30 Å (Abb. 19, 22). Während der Spermatogenese sinkt der Protein- und RNS-Gehalt der Kerne. Eine chromosomale Organisation ist in diesen Kernen nicht mehr erkennbar, die Kerne bestehen nur noch aus einem Bündel parallel gelagerter DNS-Protamin-Fibrillen oder Bänder. Bezüglich Kontrastierung verhalten sich diese Fibrillen nicht gleich wie die Elementarfibrillen der Chromosomen. Die gestreckten DNS-Protamin-fibrillen der Spermatozoiden unterscheiden sich also stark von den DNS-Histon-fibrillen der Chromosomen.

Nach dem Mehrstrangmodell sollen die 100 Å Fibrillen paarweise zu Fibrillen von 200 Å Dicke verbunden sein, die aber mit der Gefrierätzung weder in mitotischen oder meiotischen Kernen noch in Spermatozoidenkernen gefunden werden. Gegen das Mehrstrangmodell sprechen vor allem auch genetische Versuchsergebnisse (SCHWARTZ 1960, BEERMANN 1965). Eine in einem Strang induzierte rezessive Mutation könnte sich erst nach mehreren Teilungen manifestieren. Nach den Markierungsversuchen von TAYLOR (1962) verhält sich das ganze Chromosom bei der Teilung gleich wie ein DNS-Molekül, d. h. die Segregation verläuft semikonservativ. Der durch das Mehrstrangmodell vorausgesetzte Verlauf der Aufteilung steht im Widerspruch zu dieser beobachteten semikonservativen Chromosomenreplikation.

TROSKO und WOLFF (1965) haben daher eine abgeänderte Form des Mehrstrangmodells vorgeschlagen. In ihrem Modell sind mehrsträngige DNS-Abschnitte voneinander getrennt durch Proteinabschnitte, die Längsanordnung der Chromosomen ist also von Protein abhängig. Dieses Modell ermöglicht die semikonservative Replikation der Chromosomen, doch zeigt sich keine Übereinstimmung mit elektronenmikroskopischen Bildern.

Auch mit dem Schraubenmodell lassen sich Chromosomenreplikation und -segregation nicht befriedigend erklären. Gegen dieses Modell sprechen bereits lichtmikroskopische Untersuchungsergebnisse: RUCH (1949) konnte zeigen, dass meiotische Chromosomen nur eine Grossschraube aufweisen, aber keine Kleinschraube, die der Schraube vierter Ordnung entsprechen würde. Nach der Einstranghypothese soll die gesamte DNS-Menge eines Chromatids ein einziges Molekül bilden. Für diese Moleküle würde sich eine Länge von 10 oder mehr Zentimetern ergeben! CAIRNS (1963) konnte an *Escherichia coli* DNS-Moleküle von 1 mm Länge messen. Nach seinen Berechnungen ist die Abwicklung der Schraube während der DNS-Replikation bei längern Molekülen nicht mehr möglich.

Sowohl Mehrstrang- als auch Einstrangmodell nehmen durchgehende DNS-Fibrillen an, die sich über die ganze Länge der Chromosomen erstrecken. Die Chromomeren wären dann Stellen engerer Schraubung oder Aufknäuelung dieser Fibrillen (RIS 1961). Verschiedene Untersuchungsergebnisse weisen aber darauf hin, dass die Chromomeren voneinander getrennt angeordnete DNS-Moleküle enthalten. In den Speicheldrüsenchromosomen zeigen nur die Banden das für Nucleinsäuren charakteristische UV-Absorptionsmaximum bei 260 nm.

Durch radioaktive Markierung konnten KEYL und PELLING (1963) nachweisen, dass DNS nur in den Chromomeren synthetisiert wird. Die für die DNS-Replikation

benötigte Zeitspanne hängt vom DNS-Gehalt der betreffenden Bande ab. In mitotischen Chromosomen verläuft die DNS-Synthese nicht in allen Chromosomenabschnitten gleichzeitig und auch nicht gerichtet vom Ende oder vom Centromer aus. Die Replikation der einzelnen Abschnitte erfolgt in einer bestimmten Reihenfolge (Hsu 1964).

Enzymatische Abbauprobe ergeben allerdings zum Teil gegenteilige Resultate. LEZZI (1965) stellte an isolierten, unfixierten Speicheldrüsenchromosomen nach DNase-Behandlung Brüche in den Interbanden fest. Nach RNase- oder Trypsinbehandlung traten keine Chromosomenbrüche auf. Es ist aber auffallend, dass durch DNase nur die Interbanden, nicht aber die Querscheiben verändert werden.

Elektronenmikroskopische Bilder von enzymbehandelten Speicheldrüsenchromosomen sind ebenfalls nicht überzeugend. Nach SWIFT et al. (1964) wird nach RNase-Behandlung direkt das Bild der DNS-Anordnung erhalten. Während in unbehandelten Chromosomen die Banden deutlich voneinander getrennt sind, werden sie durch RNase stark verquollen, so dass der Eindruck durchgehender Fibrillen entsteht. Die Kernmembran und vor allem das Cytoplasma werden aber durch diese RNase-Behandlung ebenfalls stark verändert.

NEBEL und COULON (1962b) untersuchten den Einfluss von Enzymen auf die Struktur der Pachytän-Chromosomen in Spermatozyten. Diese Chromosomen haben eine ähnliche Struktur wie Lampenbürstchenchromosomen. Durch DNase werden nur die seitlichen Schlaufen aufgelöst, während der Längsstrang unverändert bleibt. Auch die Ergebnisse von GUENIN (1965) deuten darauf hin, dass der Längsstrang aus Proteinfibrillen besteht.

Die Chromosomen scheinen nach diesen Resultaten aus vielen, voneinander getrennt angeordneten DNS-Molekülen zu bestehen. Für deren lineare Anordnung ist ein durchgehender Proteinstrang verantwortlich. Eine solche Anordnung ermöglicht die von MESELSON und STAHL (1958) nachgewiesene semikonservative DNS-Replikation.

Die Chromosomenmodelle von TAYLOR (1962) und DE (1964) berücksichtigen die von TAYLOR (1962) gefundene semikonservative Chromosomensegregation (Abb. 1c). Das Fehlen geordneter Strukturen zwischen molekularem und lichtmikroskopischem Bereich in meiotischen und mitotischen Chromosomen weist aber darauf hin, dass keine derart starre Anordnung vorhanden ist.

Eine bessere Übereinstimmung mit elektronenmikroskopischen Bildern zeigt das Modell von FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER (1965). In diesem Modell wird vor allem auch der Anordnung der DNS-Moleküle in den Chromomeren Beachtung geschenkt (Abb. 1d): Die DNS-Moleküle, die in den Chromomeren vermutlich eine dichte Anordnung aufweisen, bilden einen endlosen, in sich geschlossenen Ring.

Nach KLEINSCHMIDT et al. (1962) enthalten Phagen und Bakterien nur ein einziges DNS-Molekül, das nach CAIRNS (1963) in Ringform vorliegt. Da für die DNS-Replikation diese Ringform besonders günstig ist (CAIRNS 1963), kann angenommen werden, dass die DNS-Moleküle in den Chromomeren ebenfalls in dieser Form vorliegen. Vor kurzem gelang es HOTTA und BASSEL (1965) aus pflanzlichen und tierischen Kernen ringförmige DNS-Moleküle zu isolieren, so dass sich eine schöne Bestätigung des Modells von FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER ergibt. Die Länge

der gefundenen ringförmigen Moleküle beträgt bis 30μ ; längere Moleküle werden vermutlich bei der Präparation aufgebrochen.

Dieses vorgeschlagene Modell stützt sich vor allem auf direkte Beobachtungen. Der histochemische Unterschied zwischen Chromomeren und Interchromomeren wird darin zum Ausdruck gebracht. Da der durchgehende Proteinstrang nur für die lineare Anordnung der DNS-Moleküle verantwortlich ist, kann damit auch der Formwechsel der Chromosomen in den verschiedenen meiotischen und mitotischen Phasen erklärt werden.

Das Bakterien-«Chromosom» ist eine Replikationseinheit für sich, während das Chromosom der höheren Organismen viele solche Replikationseinheiten, die Chromomeren, in gesetzmässiger Anordnung enthält (PELLING und SCHOLTISSEK 1964). Somit kann mit dem vorgeschlagenen Modell auch der Übergang der Prokaryonten zu den Eukaryonten erklärt werden (FREY-WYSSLING 1964).

Zusammenfassung

Nach chemischer Fixierung zeigen sowohl meiotische als auch mitotische Chromosomen einen fibrillären Aufbau. Mit der Gefrierätz-Methode erscheinen die Fibrillen weniger deutlich, der Kern zeigt eine ähnliche Struktur wie das Cytoplasma. Durch entsprechende Gefrierbedingungen können die Chromatinbezirke vom Kernplasma unterschieden werden. Im Verlauf der Prophase zerfällt die Kernmembran in einzelne Membranabschnitte, von denen in der Metaphase nur noch Bläschen von $0,2-0,5 \mu$ Durchmesser übrig bleiben. In den spermatogenen Fäden der Characeen sind diese Vesikel am Aufbau der neuen Kernmembran in der Telophase wieder beteiligt.

Die Spermatogenese der Characeen ist gekennzeichnet durch weitgehende Strukturveränderungen des Kerns. Während der Streckung und Schraubung besteht er nur noch aus $30-40 \text{ \AA}$ dicken Fibrillen, die eine Orientierung in der Längsachse des Kerns zeigen. In reifen Spermatozoiden sind sie zu parallelen Fibrillen von 70 \AA Dicke oder zu Bändern zusammengelagert, die sich über die ganze Länge des Kerns erstrecken. In den geschraubten Spermatozoiden ist ein Mikrotubuli-System ausgebildet, dessen Zusammenhang mit der Bewegung der Spermatozoiden diskutiert wird.

Die elektronenmikroskopischen Bilder ermöglichen keine offensichtliche Zuordnung zu einem der beschriebenen Chromosomenmodelle. Verschiedene Untersuchungsergebnisse deuten darauf hin, dass sich die DNS-Fibrillen nicht über die gesamte Länge des Chromosoms erstrecken, sondern in einzelnen Abschnitten, die den Chromomeren entsprechen, voneinander getrennt angeordnet sind. Ein durchgehender Proteinstrang ist verantwortlich für die lineare Aufreihung der einzelnen DNS-Moleküle, die vermutlich in Ringform vorliegen. Das Modell von FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER (Abb. 1d) beschreibt eine derartige Anordnung der DNS-Moleküle und zeigt eine gute Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopischen Bildern und mit andern experimentellen Ergebnissen.

Literatur

- BEERMANN, W. (1965): Operative Gliederung der Chromosomen. *Naturwissenschaften* 52, 365—375.
- BOPP-HASSENKAMP, G. (1958): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Aufbau pflanzlicher Chromosomen im Pachytän der Meiosis. *Protoplasma* 50, 243—268.
- (1960): Weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen am pflanzlichen Zellkern während der Meiosis. *Z. Zellforsch.* 52, 238—247.
- BRANTON, D., and MOOR, H. (1964): Fine structure of freeze-etched allium cepa root tips. *J. Ultrastruct. Res.* 11, 401—411.
- CAIRNS, J. (1963): The bacterial chromosome and its manner of replication as seen by autoradiography. *J. Mol. Biol.* 6, 208—213.
- DE, N. D. (1964): A new chromosome model. *Nature* 203, 343—346.
- DU PRAW, E. J. (1965): Macromolecular organization of nuclei and chromosomes: A folded fibre model based on wholemount electron microscopy. *Nature* 206, 338—343.
- FREY-WYSSLING, A. (1964): Über die Ultrastruktur der Chromosomen. 24. Jber. Schweiz. Ges. Vererb.-Forsch. 39, 107—117.
- FREY-WYSSLING, A. and MUEHLEHALER, K. (1965): Ultrastructural Plant Cytology. Amsterdam-New York: Elsevier.
- GIESBRECHT, P. (1961): Über das Supercoiling-System der Chromosomen von Bakterien und Flagellaten und seine Beziehungen zu Nucleolus und Kerngrundsubstanz. *Zbl. Bakteriol. I Orig.* 183, 1—44.
- (1965a): Über das Ordnungsprinzip in den Chromosomen von Dinoflagellaten und Bakterien. *Zbl. Bakteriol. I Orig.* 196, 516—519.
- (1965b): Über die Tertiärstruktur des DNS in den Chromosomen lebender Zellen. *Z. Naturforsch.* 20b, 927—928.
- GUENIN, H. A. (1965): Observations sur la structure submicroscopique du complexe axial dans les chromosomes méiotiques chez *Gryllus*. *J. Microscopie* 4, 749—758.
- HEITZ, E. (1959): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über zwei auffallende Strukturen an der Geisselbasis der Spermatiden von *Hepaticae*. *Z. Naturforsch.* 14b, 399—401.
- HOLLENSTEIN, H. U. (1960): Optische Untersuchungen an den Kernen spermatogener Fäden von *Chara*. Diplomarbeit ETH (unveröffentlicht).
- HOTTA, Y., and BASSEL, A. (1965): Molecular size and circularity of DNA in cells of mammals and higher plants. *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.* 53, 356—362.
- HSU, T. C. (1964): Mammalian chromosomes in vitro: XVIII. DNA-replication sequence in the chinese hamster. *J. Cell Biol.* 23, 53—62.
- JONES, O. P. (1960): De novo origin of the nuclear membrane. *Nature* 188, 239—240.
- KARLING, J. S. (1926): Nuclear and cell division in *Nitella* and *Chara*. *Bull. Torrey Club* 53, 319 to 379.
- KAUFMANN, B. P., GAY, H. and McDONALD M. R. (1960): Organizational patterns within chromosomes. *Intern. Rev. Cytol.* 9, 77—127.
- KEYL, H. G. und PELLING, C. (1963): Differentielle DNS-Replikation in den Speicheldrüsenchromosomen von *Chironomus thummi*. *Chromosoma* 14, 347—359.
- KLEINSCHMIDT, A. K., LANG, D., JACHERTS, D. und ZAHN, R. K. (1962): Darstellung und Längenmessung des gesamten DNS-Inhaltes von T₂-Bakteriophagen. *Biochim. Biophys. Acta* 61, 857—864.
- KUWADA, Y. (1939): Chromosome structure. A critical review. *Cytologia (Jap.)* 10, 213—256.
- LAFONTAINE, J. G., and CHOUINARD, L. A. (1963): A correlated light and electron microscope study of the nucleolar material during mitosis in *Vicia faba*. *J. Cell Biol.* 17, 167—201.
- LEDBETTER, M. C., and PORTER, K. R. (1963): A microtubule in plant cell fine structure. *J. Cell Biol.* 18, 239—250.
- LEZZI, M. (1965): Die Wirkung von DNase auf isolierte Polytän-Chromosomen. *Exptl. Cell Res.* 39, 289—292.
- MANTON, J. (1964): Preliminary observations on spindle fibres at mitosis and meiosis in *Equisetum*. *J. R. micr. Soc.* 83, 471—476.

- MESELSON, M., and STAHL, F. (1958): The replicating of DNA in *Escherichia coli*. Proc. U.S. Nat. Acad. Sci 44, 671—686.
- MOOR, H. (1964): Die Gefrier-Fixation lebender Zellen und ihre Anwendung in der Elektronenmikroskopie. Z. Zellforsch. 62, 546—580.
- MOOR, H., and MUEHLETHALER, K. (1963): Fine structure in frozen-etched yeast cells. J. Cell. Biol. 17, 609—628.
- MOSES, M. J. (1960): Patterns of organization in the fine structure of chromosomes. IV. Int. Kongr. Elektronenmikr. Berlin 1958. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer.
- NEBEL, B. R., and COULON, E. M. (1962a): The fine structure of chromosomes in pigeon spermatocytes. Chromosoma 13, 272—291.
- (1962b): Enzyme effects on pachytene chromosomes of the male pigeon, evaluated with the electron microscope. Chromosoma 13, 292—299.
- PELLING, C. and SCHOLTISSEK, C. (1964): Die Funktion der RNS im Organismus. Angew. Chem. 76, 881—888.
- PORTER, K. R., and MACHADO, R. D. (1960): Studies on the ER. IV: Its form and distribution during mitosis. J. biophys. biochem. Cytol. 7, 167—180.
- RESCH, A. and PEVELING, E. (1962): Carminessigsäure zur Darstellung des Zellkerns im Elektronenmikroskop. Planta 59, 85—90.
- RIS, H. (1957): Chromosome structure. In: Chemical Basis of Heredity, herausgeg. von McElroy und Glass, S. 23—62. Baltimore: John Hopkins Press.
- (1961): Ultrastructure and molecular organization of genetic systems. Can. J. Genet. Cytol. 3, 95—120.
- ROTH, L. E., and DANIELS, E. W. (1962): Electron microscopic studies of mitosis in amebae. J. Cell Biol. 12, 57—78.
- RUCH, F. (1949): Über den Schraubenbau der meiotischen Chromosomen. Chromosoma 3, 358 bis 392.
- SCHWARTZ, D. (1960): Desoxyribonucleic acid and chromosome structure. In: The cell nucleus, herausgeg. von J. S. Mitchel, S. 227—230. New York: Academic press.
- SHINKE, N. (1959): An electron microscopy study of chromonemata in some higher plants. The Nucleus 2, 161—170.
- SILVEIRA, M., and PORTER, K. R. (1964): The spermatozoides of flatworms and their microtubular systems. Protoplasma 59, 240—265.
- STEFFENSEN, D. M. (1961): Chromosome structure with special reference to the role of metal ions. Intern. Rev. Cytol. 12, 163—197.
- SWIFT, H., ADAMS, J., and LARSEN, K. (1964): Electron microscope cytochemistry of nucleic acids in *Drosophila* salivary glands and *Tetrahymena*. J. R. micr. Soc. 81, 161—167.
- TAYLOR, J. H. (1962): Chromosome reproduction. Intern. Rev. Cytol. 13, 39—73.
- TROSKO, J. E., and WOLFF, S. (1965): Strandedness of *Vicia faba* chromosomes as revealed by enzyme digestion studies. J. Cell Biol. 26, 125—135.
- WETTSTEIN, R., and SOTELO, J. R. (1965): Fine structure of meiotic chromosomes. J. Ultrastruct. Res. 13, 367—381.

