©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

| Phyton (Austria) | Vol. 25 | Fasc. 1 | 23—29 | 28. 2. 1985 |
|---|---|---|---|---|

# DNA-Gehalt der Kerne von Riesenschließzellen

Von

Helmut GUTTENBERGER *)

Mit 6 Abbildungen (3 Abb. auf einer Tafel)

Eingelangt am 8. November 1983

Key words: guard cells, nuclear DNA content, *Vicia faba, Phaseolus vulgaris, Solanum tuberosum*

Summary

GUTTENBERGER H. 1985. Nuclear DNA-content of giant guard cells. — Phyton (Autria) 25 (1): 23—29, with 6 figures (1 plate). — German with English summary.

Giant stomata in the epidermis of *Vicia faba, Phaseolus vulgaris* and *Solanum tuberosum* are investigated with regard to the size of the cells, number of chloroplasts and nuclear DNA content. The giant stomata exceed the regular ones by 50 to 60% in the length and by 30 to 45% in the breadth, and they contain 50 to 100% more chloroplasts. The nuclear DNA contents of normal and giant guard cells of the investigated plants are not different to 2 C, as a rule. The latter findings suggest that the giant guard cells investigated in this paper are not endopolyploid.

Zusammenfassung

GUTTENBERGER H. 1985. DNA-Gehalt der Kerne von Riesenschließzellen. — Phyton (Austria) 25 (1): 23—29, mit 6 Abb. (1 Tafel). — Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

Riesenschließzellen in den Epidermen von *Vicia faba, Phaseolus vulgaris und Solanum tuberosum* wurden auf Zellgröße, Chlorplastenzahl und DNA-Gehalt der Kerne untersucht. Die Riesenschließzellenpaare sind um ca. 50 bis 60% länger und um ca. 30 bis 45% breiter als normale Schließzellenpaare. Die Anzahl der Chloroplasten abnorm großer Schließzellenpaare ist gegenüber normalen um ca. 50 bis 100% höher. Der Kern-DNA-Gehalt von Riesenschließzellen und normal großen ist bei den untersuchten Pflanzen gleich und entspricht meist 2 C. Die in dieser Arbeit gemessenen Kerne von Riesenschließzellen sind also nicht endopolyploid.

*) Mag. Dr. Helmut GUTTENBERGER, Institut für Pflanzenphysiologie, Karl-Franzens-Universität Graz, A-8010 Graz, Schubertstraße 51.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



## Einleitung

Vereinzelt treten in Blattepidermen verschiedener Pflanzenarten Schließzellenpaare auf, die durch ihre abnorme Größe und ihre erhöhte Chloroplastenzahl auffallen.

Über die Entstehung solcher Riesenschließzellen gibt es verschiedene Ansichten. REED & HIRANO 1931 meinen, daß die Riesenschließzellen zuerst gebildet werden und daher die relativ ältesten und auch größten Schließzellen sind. KROPFITSCH 1951 schließt sich dem an, hält aber eine Förderung durch Wachstumsregulatoren für möglich, da sie nach Einwirkung von Apfelgas häufiger Riesenschließzellen fand. Auch WEBER & KENDA 1952 und INAMDAR *et al.* 1980 machen Wachstumsregulatoren für die Entstehung der Riesenschließzellen verantwortlich, während STACE 1965 die meisten Riesenschließzellen für Hydathoden hält.

Allgemein herrscht die Meinung vor, daß Schließzellen nicht endopolyploid sind, wie DNA-Messungen von SHANKS 1965 und SCHLAYER 1968 sowie karyologische Untersuchungen von TSCHERMAK-WOESS 1956 an normal großen Schließzellen ergaben. Aufgrund der erhöhten Anzahl an Chloroplasten ist FRANDSEN 1968 der Ansicht, daß die Kerne von Riesenschließzellen endopolyploid sind.

Über Kern-DNA-Messungen von Riesenschließzellen konnten in der Literatur keine Hinweise gefunden werden. Daher sei im Folgenden übere Kern-DNA-Messungen an normalen und an Riesenschließzellen von *Vicia faba, Phaseolus vulgaris* und *Solanum tuberosum* berichtet.

## Material und Methode

Die Epidermen der Unterseite der Primärblätter von *Vicia faba* L., der ersten Folgeblätter von *Phaseolus vulgaris* L. var. *nanus* MART. cv. „Saxa" und *Solanum tuberosum* L. cv. „Sirtema" wurden untersucht. Bei *Phaseolus* wurden die Basalfiedern, bei *Solanum* die Endfiedern verwendet. Stets wurden die Schnitte den Intercostalfeldern des mittleren Spreitenbereichs entnommen, da die Schließzellenpaare des Blattrandes, der -basis und über den Blattnerven abweichende Chloroplastenzahlen aufweisen (vgl. BUTTERFASS 1979).

Zur quantitativen Bestimmung des DNA-Gehalts diente die Feulgen-Reaktion. Die Präparate wurden in Alkohol-Eisessig 3 : 1 (v/v) 24 Stunden bei 4° C fixiert. In 1 N HCl wurde bei 60° C hydrolysiert. Die optimale Hydrolysedauer mußte für jede Pflanzenart anhand von Extinktionskurven bestimmt werden. Das zur Reaktion verwendete Schiffsche Reagens wurde stets frisch hergestellt. Nach dem Auswaschen wurden die Präparate unter Umgehung der Alkoholreihe nach der „quick freeze" — Methode in Euparal eingebettet (vgl. NAGL 1976). Es wurde darauf geachtet, daß die Epidermispräparate von vorn-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

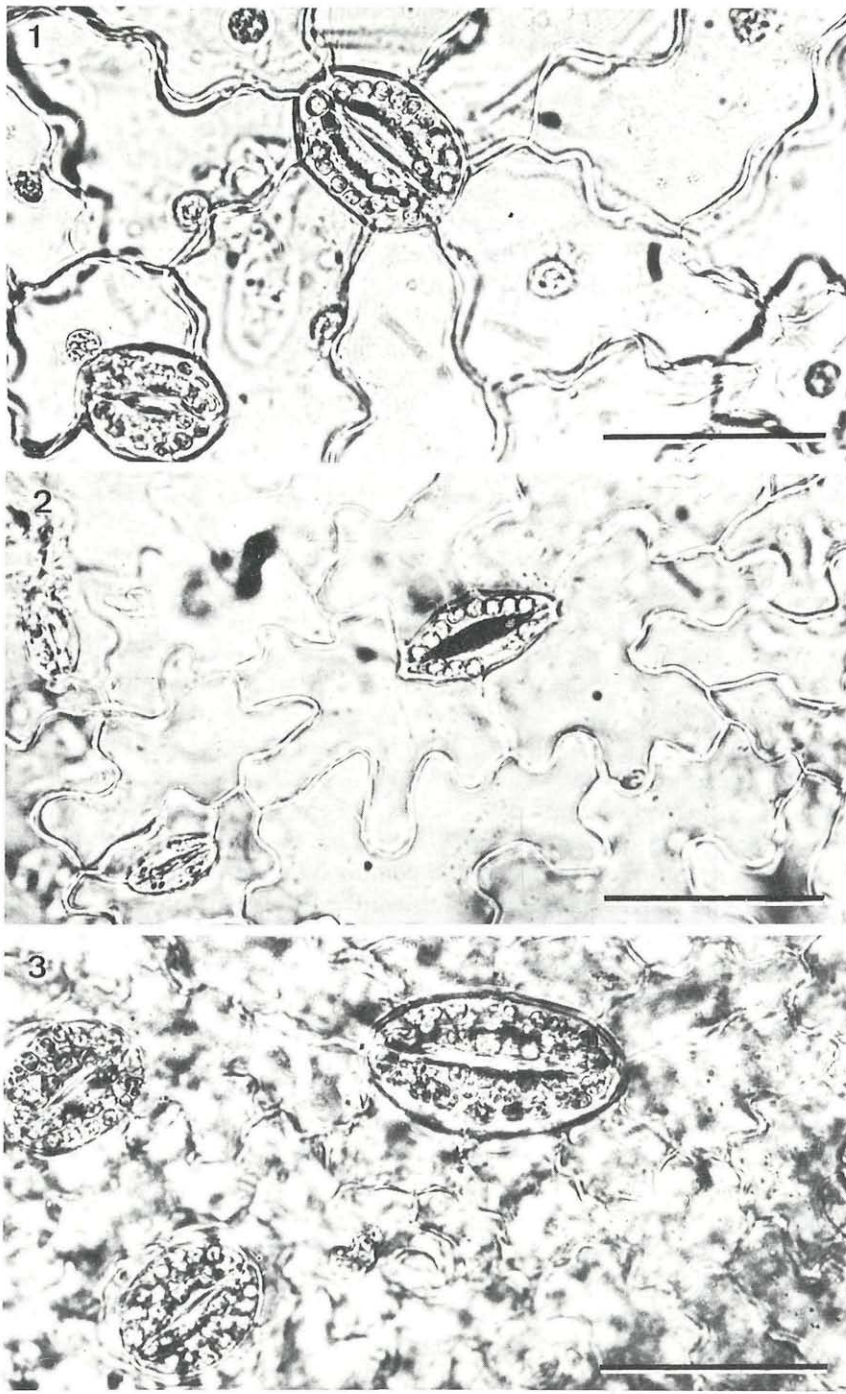


Abb. 1—3. Untere Epidermis, Blattflächenschnitt. Riesenschließzellenpaare im Vergleich zu normal großen. Maßstrecken 50 μm

Abb. 1. *Vicia faba*, Primärblatt. — Abb. 2. *Phaseolus vulgaris*, erstes Folgeblatt. — Abb. 3. *Solanum tuberosum*, erstes Folgeblatt

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



herein nur eine Zellage dick waren; Wurzelspitzen wurden gequetscht untersucht.

Zur photometrischen Auswertung wurde die Zwei-Wellenlängen-Methode nach ORNSTEIN 1952 und PATAU 1952 benützt. Die Extinktionsmessungen wurden an einem Mikroskopphotometer der Fa. Reichert mit einem hinter dem Objekt angeordneten Interferenzverlauf-Linienfilter in Verbindung mit dem großen Forschungsmikroskop ZETOPAN der Fa. Reichert durchgeführt. Als Referenzobjekt wurden Wurzelspitzen von *Allium cepa* zugleich mit den Versuchsobjekten fixiert, gefärbt und präpariert. Die relativen DNA-Gehalte werden in Arbeitseinheiten (= relative Einheiten) angegeben.

Die Funktionsfähigkeit der Schließzellen wurde durch Plasmolyse in 10%iger Harnstofflösung geprüft.

## Ergebnisse

Die Abb. 1, 2 und 3 zeigen Riesenschließzellen der untersuchten Arten im Vergleich zu normal großen. Auf den Übersichtsbildern ist bei *Phaseolus* und *Solanum* deutlich der Riesenschließzellenpaare oft umgebende, schließzellenfreie „Hof" zu erkennen. Die Länge der Riesenschließzellen beträgt bei *Vicia* und *Solanum* ca. 45 bis 60 µm, während die normal großen eine Länge von 30 bis 37 µm erreichen. *Phaseolus* hat kleinere Schließzellen, die Länge beträgt etwa 20 bis 25 µm. Riesenschließzellen sind hier etwa 30 bis 38 µm lang. Die Breitenzunahme der Riesenschließzellenpaare gegenüber normal großen ist bei allen untersuchten Pflanzenarten geringer; die Schließzellenpaare sind bei *Vicia* und *Solanum* 21 bis 27 µm breit, die abnorm großen ca. 30 bis 35 µm breit. Bei *Phaseolus* beträgt die Breite normal großer Schließzellenpaare 11 bis 14 µm und nimmt bei Riesenschließzellen auf 16 bis 20 µm zu. Deutlich ist die Zunahme der Chloroplastenzahl von Riesenschließzellenpaaren. *Vicia* besitzt in normal großen Schließzellenpaaren ca. 18 Chloroplasten, *Solanum* ca. 20 und *Phaseolus* etwa 8 Chloroplasten pro Schließzellenpaar; diese Zahlen erhöhen sich in den Riesenschließzellen von *Vicia* auf 30 bis 35, bei *Solanum* auf 35 bis 40 und bei *Phaseolus* auf 12 bis 16 Chloroplasten.

Ferner ist auf den Abb. 1, 2 und 3 zu erkennen, daß bei *Vicia* und *Solanum* die Größe der Chloroplasten in normalen Schließzellen und in Riesenschließzellen gleich ist, während die Riesenschließzellen von *Phaseolus* größere Chloroplasten aufweisen.

Zur Bestimmung der Zellgröße und der Anzahl der Chloroplasten wurden pro Art insgesamt 60 normal große Schließzellenpaare von 6 verschiedenen Pflanzen herangezogen. Riesenschließzellenpaare sind relativ selten; daher konnten von *Vicia* und *Solanum* jeweils nur 7 und von Phaseolus nur 3 Riesenschließzellenpaare vermessen und deren Chloroplastenzahl bestimmt werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



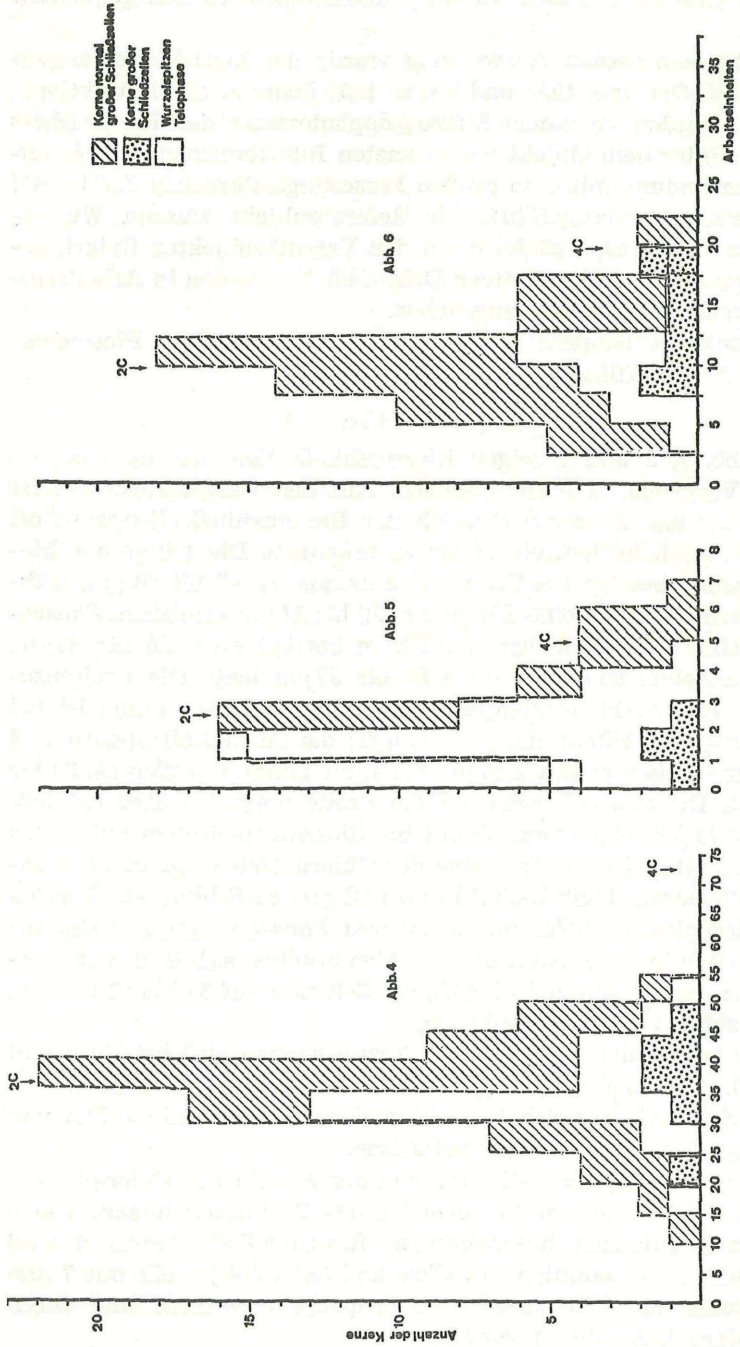


Abb. 4—6. DNA Häufigkeitsverteilung

Abb. 4. *Vicia faba*, Klassenbreite 5 Arbeitseinheiten

Abb. 5. *Phaseolus vulgaris*, Klassenbreite = 1 Arbeitseinheit

Abb. 6. *Solanum tuberosum*, Klassenbreite = 2,5 Arbeitseinheiten

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



In den Abb. 4, 5 und 6 ist der relative DNA-Gehalt der Kerne normal großer Schließzellen, Riesenschließzellen und der Telophasenkerne von Wurzelspitzen in der Form von Histogrammen aufgetragen. Man erkennt bei allen drei untersuchten Pflanzenarten, daß der DNA-Gehalt der meisten Kerne, sowohl der Wurzelspitzen, der normal großen Schließzellen als auch der Riesenschließzellen, 2 C entspricht. Einzig bei *Solanum* scheint noch ein weiterer Gipfel bei einem DNA-Gehalt von 4 C vorhanden zu sein; er findet sich aber sowohl an Kernen normal großen als auch in Riesenschließzellen. Daraus läßt sich ableiten, daß die meisten Schließzellenkerne in der $G_1$-Phase verharren. Sie treten in Zellzyklus von der $G_1$-Phase in die $G_0$-Phase des diploiden Arbeitskernes über. Bei *Phaseolus* dürften einige Schließzellenkerne entweder von diploid $G_2$ oder tetraploid $G_1$ in $G_0$ übergehen. Höhere DNA-Gehalte als 4 C wurden niemals gefunden.

## Diskussion

Den Kern-DNA-Gehalt normal großer Schließzellen haben Shanks 1965 und Schlayer 1968 gemessen. Sie fanden DNA-Gehalte von 2 C bis 4 C. Auch karyologische Untersuchungen von Tschermak-Woess 1968 brachte das gleiche Ergebnis. Diese Angaben werden durch die eigenen Messungen bestätigt. Ebenso zeigen die untersuchten Kerne von Riesenschließzellen gleiche DNA-Gehalte wie die Kerne normal großer Schließzellen. Endopolyploidie kann daher im Gegensatz zu Frandsen 1968 nicht für ihre abnorme Zellgröße und die Chloroplastenvermehrung verantwortlich gemacht werden.

Die Untersuchungen der Riesenschließzellenpaare lassen auch Rückschlüsse auf den Zusammenhang der Chloroplastenzahl pro Zelle mit dem DNA-Gehalt des Kernes zu. Butterfass 1973 meint, daß ein Anstieg der Chloroplastenzahl pro Zelle während der Pflanzenentwicklung mit der Endoreduplikation des Kernes zusammenhängt. Cattolico 1978 beobachtet bei *Olisthodiscus luteus*, daß die Chloroplastenzahl pro Zelle variiert, obwohl sie einen konstanten Kern-DNA-Gehalt haben. Sie vermutet, daß der postulierte „Kontroll"-Mechanismus der Kern-DNA auf die Plastiden nicht universell und vielleicht auch bei einigen Pflanzensystemen nicht primär ist. Lamppa *et al.* 1980 nehmen aufgrund ihrer Untersuchungen an, daß Kern-DNA-Synthese und Chloroplastenzahl bei *Pisum sativum* voneinander unabhängig sind. Butterfass 1983 ist der Ansicht, daß der DNA-Gehalt pro Genom für die Chloroplastenzahl ausschlaggebend ist, obwohl es auch Effekte einzelner Gene oder Gengruppen gibt und die Chloroplastenzahl auch durch DNA-unabhängige Kontrollprozesse während des Wachstums und der Differenzierung beeinflußt wird.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Riesenschließzellen haben eine um 50 bis 100% höhere Chloroplastenzahl, der DNA-Gehalt ihrer Kerne ist aber von normal großen Schließzellen nicht verschieden. Daher ist in diesem Fall die Anzahl der Chloroplasten pro Zelle nicht mit dem DNA-Gehalt des Kernes korreliert. Häufig wird das Verhältnis der Volumina der Zelle zu dem ihrer Chloroplastenpopulation und der Chloroplastenzahl pro Zelle im Zusammenhang gebracht (vgl. Butterfass 1979).

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben bei den abnorm großen Schließzellen immer mehr und zumindest gleich große, wenn nicht größere Chloroplasten. Butterfass 1979 vermutet, daß eine direkte Korrelation zwischen Zellgröße und Chloroplastenzahl nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann; größere Zellen können bessere Bedingungen für eine große Chloroplastenpopulation bieten, die ihrerseits wieder die Zellgröße positiv beeinflussen kann.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse erscheint es wahrscheinlich, daß die Riesenschließzellen die relativ ältesten Schließzellen eines Blattes sind, wie schon Reed & Hirano 1931 vermuteten. So könnte der Einfluß von Wachstumsregulatoren auf die Schließzellen oder Hemmwirkungen, die von den Schließzellen selbst ausgehen, in einem bestimmten Entwicklungsstadium besonders groß sein (Kropfitsch 1951). Dies würde die abnorme Größe dieser Schließzellen und den sie umgebenden schließzellenfreien „Hof" erklären.

Ob es sich bei den Riesenschließzellen um Hydathoden handelt, wie Stace 1965 vermutete, konnte nicht eindeutig geklärt werden. Zwar sind alle zu Öffnungs- bzw. Schließbewegungen befähigt, wie Versuche mit Harnstoff zeigten; dies trifft aber auch für Hydathoden zu (Meissner 1937).

## Schrifttum

Butterfass Th. 1973. Control of plastid division by means of nuclear DNA-amount. — Protoplasma 76: 167—195.

— 1979. Patterns of chloroplast reproduction. In: Cell Biology Monographs 6. — Springer Verlag Wien, New York.

— 1983. A nucleotypic control of chloroplast reproduction. — Protoplasma 118: 71—74.

Cattolico R. A. 1978. Variation of plastid number. — Plant Physiol. 62: 558—562.

Frandsen N. O. 1968. Die Plastidenzahl als Merkmal bei der Kartoffel. — Theor. Appl. Genetics 38: 153—167.

Inamdar J. A., Aleykutty K. M. (Sr. Avita) & Murthy G. S. R. 1980. Effect of growth regulators on the structure and ontogeny of cotyledonary stomata of *Helianthus annuus*. — Phyton (Austria) 20: 3—14.

Kropfitsch M. 1951. Apfelgas-Wirkung auf Stomatazahl. — Protoplasma 40: 256—265.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



LAMPPA G. K., ELLIOT L. V. & BENDICH A. J. 1980. Changes in chloroplast number during pea leaf development. — Planta 148: 437—443.

MEISSNER R. 1937. Protoplasmatische Anatomie der Wasserspalten. — Protoplasma 28: 100—118.

NAGL W. 1976. Zellkern und Zellzyklen. Molekularbiologische Organisation und Entwicklungsphysiologie der DNS und des Chromatins. — Ulmer Verlag Stuttgart.

ORNSTEIN L. 1952. The distributional error in microspectrophotometry. — Lab. Invest. 1: 250—262.

PATAU K. 1952. Absorption microphotometry of irregular-shaped objects. — Chromosoma 5: 341—362.

REED H. S. & HIRANO E. 1931. The density of stomata in *Citrus* leaves. — J. Agricult. Res. 43: 209—222.

SCHLAYER G. 1968. Die experimentelle Veränderung des DNS-Gehalts und der Chloroplastenzahl in den Epidermis- und Schließzellen der Keimblätter von *Beta vulgaris* L. — Diss. Heidelberg.

SHANKS R. 1965. Differentiation in leaf epidermis. — Aust. J. Bot. 13: 143—151.

STACE C. A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. — Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 4: 1—78.

TSCHERMAK-WOESS E. 1956. Karyologische Pflanzenanatomie. Ein kritischer Überblick. — Protoplasma 46: 798—834.

WEBER F. & KENDA G. 1952. Stomata am *Tropaeolum*-Schlauchblatt. — Phyton (Austria) 4: 51—54.

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1985

Band/Volume: 25_1

Autor(en)/Author(s): Guttenberger Helmut

Artikel/Article: DNA-Gehalt der Kerne von Riesenschließzellen. 23-29