© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Stapfia 10	11 — 51	30.11.1982

Trends in der Chromosomenevolution von *Scilla (Liliaceae)*

J. Greilhuber, Wien

Abstract.

Trends in the chromosome evolution of *Scilla* (*Liliaceae*). Key words: *Scilla, Liliaceae;* genome size, nucleotype; heterochromatin, banding patterns, satellite DNA, selfish DNA; chromosome evolution.

Some general aspects of genome size and heterochromatin evolution are discussed on the basis of published and previously unpublished data on a probably monophyletic branch within the heterogenous genus *Scilla* L., embracing the spring-flowering species groups characterized by basic chromosome numbers of x = 5, x = 6, and x = 9 (*S. hohenackeri-, S. bisotunensis-, S. siberica-, and S. bifolia*-alliance). A 7.6 — fold interspecific variation in DNA content was found among these species, and a significant amount of this variation must be due to dispensable DNA. The primary significance of dispensable DNA is regarded to be nucleotypic rather than informatory or regulatory. I.e., evolutionary changes of non-informatory DNA quantities alter the physico-mechanical properties of the genome (= the nucleotype), and therefore affect essential, selection dependent parameters as nuclear size, cell size, and cell cycle duration. The *Scilla bifolia*-alliance represents a probable example of progressive evolutionary reduction of the genome size.

Constitutive heterochromatin (H) represents a particular fraction of largely dispensable DNA, which can be analyzed by various cytochemical methods. In *Scilla,* H occurs in various amounts and has been accumulated independently several times. H is always an additional component of the genome, and, therefore, does not represent transformed euchromatin, and also does not replace eliminated euchromatin. A general model for the evolution of C-banding patterns, and a causal explanation for the "principle of equilocal heterochromatin distribution" is presented. Heterochromatic DNA sequences are assumed to behave like transposable elements. Their distribution in the genome is assumed to be primarily determined by the geometry of the polarized interphase nucleus. Alternative concepts are discussed. It is assumed, by refering to the recent literature, that a property of heterochromatic as well as non-heterochromatic dispensable DNA sequences is self-accumulation, which can be limited by the availability of sequence-recognizing proteins and therefore by the existence of corresponding coding genes, and which can be selected against because of position effect, nucleotypic effects, and effects on the recombination system.

True functions of H are discussed with reference to the ubiquitous occurrence of H in indispensable chromosome segments as nucleolar organizers and centromeres.

There is strong evidence for the phylogenetically independent accumulation of the same satellite DNA sequence in different species of the *S. siberica*-alliance, which is discussed with reference to the "library hypothesis".

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Es werden einige allgemeine Aspekte der Evolution von Genomgröße und Heterochromatin anhand von publizierten und bisher nicht publizierten Befunden über einen wahrscheinlich monophyletischen Zweig innerhalb der heterogenen Gattung *Scilla* L. (die frühjahrsblühenden Artengruppen mit x = 5, x = 6, und x = 9) diskutiert. Es wurde bei diesen Arten eine 7.6-fache interspezifische Variation des DNA-Gehalts gefunden, wobei ein wesentlicher Teil dieser Variation auf entbehrlicher DNA beruhen dürfte. Die primäre Bedeutung dieser entbehrlichen DNA ist eher nukleotypisch als informatorisch oder regulatorisch zu sehen. D.h., evolutive Änderungen der Menge von nicht-informationstragender DNA ändern die physikalisch-mechanischen Eigenschaften des Genoms (= Nukleotyp), und beeinflussen wesentliche, selektionsabhängige Parameter wie Kerngröße, Zellgröße, und Zellzyklusdauer. Die *Scilla bifolia*-Verwandtschaft repräsentiert ein wahrscheinliches Beispiel für progressive evolutive Genomgrößenreduktion.

Constitutives Heterochromatin (H) repräsentiert eine besondere Fraktion von entbehrlicher DNA, die mit verschiedenen cytochemischen Methoden analysiert werden kann. Bei *Scilla* kommt H in verschiedensten Mengen vor und ist mehrmals unabhängig voneinander akkumuliert worden. H erweist sich stets als additive Genomkomponente und repräsentiert daher weder transformiertes Euchromatin noch einen Ersatz für eliminiertes Euchromatin. Es wird ein allgemeines Modell für die Evolution von C-Bändermustern und eine kausale Erklärung für das "Prinzip der äquilokalen Heterochromatie" präsentiert. Es wird angenommen, daß sich heterochromatische DNA-Sequenzen wie transponierbare Elemente verhalten, und daß ihre Verteilung im Genom primär durch die Geometrie des polarisierten Zellkerns determiniert wird. Weiters wird mit Bezug auf die neuere Literatur angenommen, daß es eine Eigentümlichkeit von heterochromatischen sowie nicht-heterochromatischen entbehrlichen DNA-Sequenzen ist, einen Mechanismus für Selbstakkumulation zu besitzen. Limitierend dabei könnte die Verfügbarkeit von Sequenz-erkennenden Proteinen — und somit die Existenz entsprechender codierender Gene — und die natürliche Selektion infolge von Positionseffekten, nukleotypischen Effekten sowie Effekten auf das Rekombinationssystem sein.

Echte Funktionen von H werden in Bezug auf das ubiquitäre Vorkommen in unentbehrlichen Chromosomensegmenten wie Nukleolus-Organisatoren und Zentromeren diskutiert.

Es gibt starke Hinweise für die phylogenetisch unabhängige Amplifikation ein- und derselben Satelliten-DNA Sequenz bei verschiedenen Arten der *S. siberica*-Verwandtschaft. Dies wird mit Bezug auf die "Library-Hypothese" diskutiert.

1. EINLEITUNG

Es ist eine Tatsache, daß zwischen nahe verwandten Arten bedeutende Unterschiede in der Genomgröße bestehen können, die keineswegs von ähnlich auffälligen Unterschieden in der äußeren Morphologie begleitet sind. Solche Genomgrößenunterschiede auf konstantem Polyploidieniveau sind nicht von einer Änderung der Anzahl der Strukturgene begleitet (ROOSE & GOTTLIEB 1978, GOTTLIEB 1981) — im Gegensatz zur Genomgrößenvervielfachung bei Polyploidisierung, die zwangsläufig eine Vervielfachung der Strukturgene nach sich zieht. Es handelt sich also bei der sichtlich entbehrlichen DNA wahrscheinlich zum großen Teil um nicht-informationstragende Erbsubstanz. Andererseits hat jede Art ihren spezifischen DNA-Gehalt, der nur in sehr engen Grenzen schwankt. In der Tat ist infraspezifische Variation bisher mit cytophotometrischen Methoden nur in wenigen Fällen glaubhaft nachgewiesen worden (PRICE et al. 1980) und dürfte in der Regel — falls sie vorhanden ist — innerhalb der Nachweisgrenze von ca. ± 5 % der Genomgröße liegen. Diese Feststellung gilt mit der Einschränkung, daß "orthodoxe" Chromosomenmutationen (Duplikationen, Deletionen, Aneuploidie), sowie das Vorkommen von B-Chromosomen eine

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Ursache echter infraspezifischer Genomgrößenvariation darstellen, die jedoch von der interspezifischen bzw. auch infraspezifischen Variation der "euchromatischen Normalausstattung" sowie des Heterochromatins[1] getrennt zu betrachten ist.

Die Kausalität, die der interspezifischen Genomgrößenvariation sowie der bemerkenswert hohen infraspezifischen Konstanz zugrunde liegt, war lange Zeit obskur, und ist auch jetzt noch keineswegs abgeklärt, sondern im Gegenteil Gegenstand einer laufenden, vielfach spekulativen Diskussion. Immerhin erlauben neuere Ergebnisse der Molekularbiologie und der molekularen Cytogenetik die fundiertere Formulierung von Modellvorstellungen, und ermöglichen die Fortschritte der lichtmikroskopischen Chromosomentechnik eine gesonderte cytologische Erfassung bestimmter Genomkomponenten, ihre cytochemische Charakterisierung und somit auch eine qualifiziertere Korrelation chromosomaler und molekularbiologischer Befunde. Der vorliegende Beitrag beabsichtigt, anhand der vom Autor und Co-Autoren bisher veröffentlichten Befunde zur Chromosomenevolution der Gattung *Scilla* sowie einiger bisher unveröffentlichter Daten einige grundsätzliche funktionelle und kausale Aspekte der E- und H-Variaton bei Pflanzen zu diskutieren.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. MATERIAL

Soweit bereits veröffentlichte cytologische Befunde diskutiert werden, kann bezüglich der Herkünfte und Dokumentation auf die Originalarbeiten verwiesen werden (GREILHUBER 1977, 1978, 1979, GREILHUBER & SPETA 1976, 1977, 1978, GREILHUBER et al. 1981, DEUMLING & GREILHUBER 1981). Bisher unveröffentlichte Originalbefunde werden von folgenden Arten der *Scilla siberica*-Verwandtschaft präsentiert (Belege im Herbar F. SPETA, Sp):

S. bithynica BOISS. subsp. *bithynica*. Türkei: Umgebung von Izmir, Davis 26248. Erhalten vom Botanischen Garten der Universität Cambridge.

S. bithynica subsp. *radkae* (DAVIDOFF) SPETA. Kultiviert im Botanischen Garten der Universität Cambridge, England. Naturherkunft nicht gesichert, aber wahrscheinlich bei Varna, Bulgarien (siehe SPETA 1981).

S. rosenii C. KOCH. Kultiviert im Botanischen Garten in Tiflis, Georgien, UdSSR.

S. koenigii FOMIN. Türkei: Provinz Kars, Yalnizcam Daglari, oberhalb von Yalnizcam, 2.500 m, Davis 30335. Erhalten vom Botanischen Garten der Universität Cambridge.

2.2. METHODEN

2.2.1. Bestimmung der Genomgröße

Die Genomgröße wurde an Feulgen-gefärbten Kernen aus dem Wurzelspitzenmeristem, seltener aus Samenanlagen, mit der Zwei-Wellenlängenmethode (PÄTAU 1952, ORNSTEIN 1952) gemessen. Es wurde ein Leitz MPV II Cytophotometer verwendet. Es wurden die bekannten Vorsichtsmaßnahmen für eine gute Reproduzierbarkeit der Daten eingehalten: Hydrolyse in 5 N HCl bei 20°C für 60 min., parallele Verarbeitung eines inneren Standards *(Allium cepa)*.

---

[1]Abkürzungen: H — constitutives Heterochromatin, E — Euchromatin.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

2.2.2. Karyometrie

Die rein visuelle Analyse von Chromosomensätzen reicht für eine korrekte Homologisierung der Chromosomen sowie für aussagekräftige interspezifische Vergleiche vielfach nicht aus. Keinesfalls können damit schematische Darstellungen des Chromosomensatzes (Karyogramme) hergestellt werden. Es ist also notwendig, Quantifizierungen vorzunehmen, die für eine statistische Weiterverarbeitung geeignet sind. Im vorliegenden Fall erfolgte die Quantifizierung durch Längenmessungen an genauen Zeichnungen von Giemsa-C-gebänderten Metaphasen, die mithilfe eines modernen Zeiss-Zeichenapparates bei einer linearen Vergrößerung von 5000 x hergestellt wurden. Für die Messung gekrümmter Linien eignet sich ein auf einem Stäbchen montiertes Zahnrädchen, das auf der Zeichnung Eindrücke hinterläßt, die gezählt werden können. Die irreguläre Form vieler, besonders kleiner C-Bänder muß insofern berücksichtigt werden, als die Längenangabe ja nur ein Äquivalent für das Volumen der betreffenden Struktur darstellen soll, das wiederum Rückschlüsse auf deren DNA-Gehalt ermöglichen soll. Ein kleines C-Band von z.B. ¼ Chromatidenbreite darf auch nur mit ¼ seiner Ausdehnung in der Chromosomenlängsachse in die Kalkulation eingehen. Die so erhaltenen Werte sind aber noch nicht direkt für die Weiterverarbeitung geeignet, da sie verschiedenen Grundgesamtheiten entstammen, d.h. der früheren oder späteren Metaphase, Zelltypen mit tendenziell längeren oder kürzeren Chromosomen, usw. Dieser Mangel läßt sich beseitigen, wenn man die Werte 'normalisiert', d.h. auf die jeweilige Gesamtlänge der gerade analysierten Metaphase bezieht. Dies ist möglich, weil alle analysierten Metaphasen eines Individuums identische Kopien darstellen und ein jeder Chromosomensatz als die Konstante dienen kann, an der seine Einzelelemente gemessen werden. Dasselbe trifft für die Bestimmung der Centromerpositionen sowie der Bänderpositionen zu. Hier dient das jeweilige Chromosom als Maß für den längeren Arm, bzw. der betreffende Chromosomenarm als Maß für den Abstand eines C-Bandes vom Zentromer.

Generell ist die Mengenbestimmung von H ungenauer als die Chromosomenmessung, da sowohl die Meßfehler als auch die methodisch bedingten Abweichungen vom "wahren Wert" — der Größe des H-Segments im unbehandelten Chromosom — infolge der etwas variablen Aufnahme des Giemsa-Farbstoffes und der dadurch bedingten Quellung größer sind. Die ermittelten Werte sind eher Obergrenzen. Sie sind aber viel besser als Schätzwerte und in ihrer Aussagekraft den planimetrischen, volumetrischen oder scanning-photometrischen Bestimmungen an Interphasekernen sicher überlegen, bei denen entweder das Dichteverhältnis zwischen E und H unbekannt ist, oder die fehlerfreie densitometrische Erfassung von H praktisch unmöglich ist, da zwischen kleinen Chromozentren und Euchromomeren, H und verklumptem E, sowie den Kernzyklusstadien nicht unterschieden werden kann. Voraussetzung einer DNA-Mengenbestimmung im H ist allerdings die Kenntnis der relativen Dichte der DNA in E und H. Die Ansichten zu diesem Punkt gehen weit auseinander. THOMAS (1981) berechnete aus den absoluten Chromosomen- und H-Längen mehrerer *Lolium*-Arten eine unrealistisch hohe 7.2-fache DNA-Konzentration im H. Falls dies stimmte, wäre in einigen wenigen kleinen C-Bändern das halbe Genom lokalisiert, was völlig absurd ist. Dieses Verfahren würde eben nur funktionieren, wenn eine exakte lineare Proportionalität zwischen absoluten Längen und DNA-Gehalt bestünde. Bekanntlich sind jedoch die Längen bei konstanter Genomgröße ziemlich variabel. Außerdem müßte zuerst gezeigt werden, auf welchem Signifikanzniveau ein auf solchem Wege ermittelter Kondensationsgrad des H von 1.0 verschieden ist.

Daß bei *Scilla siberica* in der Metaphase im H dieselbe DNA-Dichte wie im E vorliegt, haben CASPERSSON et al. (1969) UV-densitometrisch nachgewiesen. Daß auch bei den anderen *Scilla*-Arten keine wesentlichen Abweichungen von einem 1 : 1 Verhältnis gegeben sein dürfte, ist aus den Feulgen-gefärbten Präparaten für die DNA-Photometrie ersichtlich. Wie gut dieses Verhältnis verwirklicht ist, ergibt sich indirekt auch aus den Abb. 9 und 10, in die normalisierte E- und H-Längen und Genomgrößen unter der Annahme eines 1 : 1 Dichteverhältnisses eingegangen sind.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

3.1. KARYOTYP, GENOMGRÖSSE UND PHYLOGENETISCHE VERWANDTSCHAFT

3.1.1. Vorbemerkungen

Karyotypmerkmale und Genomgrößen können unter evolutionistischen Gesichtspunkten betrachtet werden. Es steht in diesem Fall die Frage nach der funktionellen oder adaptiven Bedeutung der betreffenden Zellkernparameter im Vordergrund. Dies soll in einigen der folgenden Kapitel geschehen. Man kann aber Zellkerncharakteristika als Merkmale wie alle anderen auch betrachten und für die Analyse verwandtschaftlicher Beziehungen verwenden. Dies soll in diesem Abschnitt versucht werden.

Der Umfang der Gattung *Scilla* L. ist gegenwärtig noch weitgehend durch die Tradition bestimmt. Die phylogenetischen Beziehungen der includierten Gruppen untereinander sowie zu anderen verwandten Gattungen sind auch jetzt noch recht unklar, wenn auch durch die taxonomischen Forschungen der letzten 10 Jahre (SPETA 1971, 1972, 1974a, b, 1975, 1976a, b, 1977 a, b, 1979, 1980) der Artenbestand gründlich durchforscht und erweitert wurde, eine kritische Gliederung der Formenmannigfaltigkeit erarbeitet wurde, die chromosomalen Verhältnisse mit modernen Methoden untersucht wurden (GREILHUBER 1977, 1978, 1979, GREILHUBER & SPETA 1976, 1977, 1978, GREILHUBER et al. 1981, DEUMLING 1981, DEUMLING & GREILHUBER 1982) und die embryologische Erforschung in Angriff genommen wurde (SVOMA 1981). In Teilbereichen wurden konkrete phylogenetische Vorstellungen gewonnen (GREILHUBER 1979, GREILHUBER et al. 1981, SVOMA 1981). Es sei hier lediglich festgestellt, daß eine 'natürliche Gliederung' erst dann möglich sein wird, wenn Plesio- von Apomorphien, und echte Synapo- bzw. Symplesiomorphien von Parallelismen und Konvergenzen auseinandergehalten werden können. Davon sind wir heute nicht mehr so weit wie ehedem entfernt, doch ist selbst innerhalb der bestbekannten Gruppe — der *Scilla bifolia*-Verwandtschaft — die betreffende Argumentation auf wenige Annahmen angewiesen, die zwar plausibel scheinen, aber erst durch Erarbeitung weiterer Merkmale und ihres Merkmals-Status wahrscheinlicher gemacht werden müssen, als sie das jetzt sind.

Der vorliegende Beitrag behandelt 5 Verwandtschaftseinheiten, deren jeweils monoparaphyletischer Chrakter nach den bisherigen taxonomischen und cytologischen Studien sehr wahrscheinlich ist, und die zusammen wahrscheinlich eine monophyletische Gruppe darstellen. (Monophyletisch ist eine Gruppe dann, wenn sie alle rezenten Vertreter, die sich auf ihre Ausgangsform zurückführen lassen, umfaßt, was sich durch das Vorliegen einer gemeinsamen echten Synapomorphie feststellen läßt. Ist eine Gruppe durch eine Plesiomorphie definiert, was dem Systematiker durchaus nicht bewußt sein muß, so läßt sie sich zwar auf eine gemeinsame Ausgangsform zurückführen. Von dieser Ausgangsform stammen aber außerdem noch andere Formen ab, die durch eine Apomorphie gekennzeichnet sind und einer taxonomischen Nachbareinheit zugezählt werden. Die unerwünschte Folge ist, daß ein wirklich monophyletischer Zweig teils der einen, teils der anderen taxonomischen Einheit zugezählt wird.)

Abb. 1 stellt die systematische Gliederung der betreffenden Gruppen (SPETA 1981) einem Kladogramm gegenüber. Es handelt sich zunächst um frühjahrsblühende Arten mit habituellen Gemeinsamkeiten bzw. Ähnlichkeiten und gleicher Lebensform, die sich auch in einer Tendenz zur Myrmekochorie äußert. Elaiosomen werden häufig ausgebildet. Wo sie fehlen, ist jedoch ein zur Fruchtreife schlaffer oder niederliegender Stengel vorhanden, der sich als reliktäres Korrelat einer ehemaligen Myrmekocherie deuten läßt.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Als Apomorphie der *S. bifolia*-Verwandtschaft seien die Zweiblättrigkeit und das Elaiosom exostomaler Herkunft genannt. In der *S. siberica*-Verwandtschaft ist der bispore Embryosack apotypisch. Bei den Verwandtschaften mit x = 5 (*S. bisotunensis*- und *S. hohenackeri*-Verwandtschaft) dürfte es sich um eine monophyletische Gruppe handeln, deren besonders niedrige Chromosomenzahl wahrscheinlich als apotypisch eingestuft werden darf. *S. messeniaca* hat kein Merkmal aufzuweisen, das als eher apotypisch zu bewerten wäre. Diese Art besitzt embryologische Primitivmerkmale (Embryosack nach dem *Polygonum*-Typ, helobiales Endosperm; SVOMA 1981), mit x = 9 eine relativ hohe Grundzahl, deren Merkmalsstatus unsicher ist, und eine mittlere Genomgröße.

Um den phylogenetischen Zusammenhang zwischen den einzelnen monophyletischen, durch ein relativ sicher abgeleitetes Merkmal gekennzeichneten Verwandtschaften zu eruieren, bedarf es der Auffindung übergreifender Apomorphien. Leider liegt hier eine Hauptschwierigkeit. Es gibt nämlich zur Zeit keinen sehr stichhaltigen Grund, eine der Chromosomenzahlen (x = 9, 6, 5) für abgeleitet zu halten. Am ehesten darf man dies noch für x = 5 annehmen, da solche Zahlen oft am Ende einer Reduktionsreihe stehen. So betrachtet, könnte die höchste Grundzahl, x = 9, ursprünglich sein, besonders, weil es keinen Hinweis auf einen polyploiden Ursprung dieser Zahl gibt (ganz im Gegensatz zu n = 9 bei *S. gorganica,* deren hypotetraploider Charakter auf der Basis von x = 5 offenkundig ist). Selbstverständlich könnte die ursprüngliche Grundzahl der Ausgangsgruppe auch anders gewesen sein, z.B. 16, 14, oder 12. Da *S. messeniaca* keine eindeutige Synapomorphie mit der *S. bifolia*-Verwandtschaft besitzt, ist ihre phylogenetische Schwestergruppe unklar. Da die chromosomalen Unterschiede zwischen *S. messeniaca* und der *S. bifolia*-Verwandtschaft mäßig (Abb. 3), die zwischen *S. messeniaca* und der *S. siberica*-Verwandtschaft jedoch gravierend sind, erscheint es wahrscheinlicher, daß die Linie mit x = 6 schon separiert war, bevor noch die Trennung zwischen der *S. bifolia*-Verwandtschaft und *S. messeniaca* erfolgte.

Die *S. siberica*-Verwandtschaft ist durch Chromosomenzahl, -struktur, Genomgröße, den Embryosack-Typ (*Allium*-Typ) sowie die papillöse Testa gut umschrieben. Sie beinhaltet jedoch 4 samenmorphologische Typen mit insgesamt mehr als 20 Arten. Es stellt sich also die Frage, wo der Anschluß der *Scilla*-Arten mit x = 5 zu suchen sei. Wegen der schwarzen Samen und vor allem wegen der chromosomalen Ähnlichkeit von *S. bisotunensis* (x = 5) und *S. bithynica* (x = 6) (ähnliche Genomgröße und Karyotypmorphologie, 2 NORs in ähnlicher Position, ähnlicher Bänderungs-Stil, Auftreten eines zweiten metazentrischen Chromosoms als Verdachtsmoment für eine Chromosomenfusion oder Translokation bei *S. bisotunensis*) erschiene ein Anschluß in der Nähe von *S. bithynica* plausibler als in der Nähe einer anderen Art der *S. siberica*-Verwandtschaft. Es wäre dann aber zu erwarten, daß auch die Arten mit x = 5 einen bisporen Embryosack nach dem *Allium*-Typ aufweisen, wie dies als Apomorphie für die *S. siberica*-Verwandtschaft charakteristisch zu sein scheint (SVOMA 1981). Dies ist jedoch nicht so. Zumindest bei *S. greilhuberi* (x = 5) entwickelt sich der Embryosack nach dem Normaltyp (GREILHUBER unpubl.), den man doch wohl als Plesiomorphie einstufen muß. Das heißt also, daß man die Abgliederung der Scillen mit x = 5 an die Basis der *S. siberica*-Verwandtschaft zu legen hat und daß beide Linien monophyletische Schwestergruppen repräsentieren. Allerdings wäre die embryologische Analyse der bisher nicht untersuchten Arten der *S. siberica*-Verwandtschaft und der Arten mit x = 5 sehr wichtig. Die karyotypische Ähnlichkeit von *S. bisotunensis* und *S. furseorum* mit *S. bithynica* oder *S. mischtschenkoana* könnte dann immer noch als Symplesiomorphie gedeutet werden, wodurch aber andererseits die Einschätzung der gelben Samenfarbe als ursprüngliches Merkmal für die *S. siberica*- und *S. amoena*-Gruppe relativiert würde (s. unten).

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die gegenwärtig vorliegenden Befunde so interpretiert werden können, daß die *S. bifolia*-Verwandtschaft (x = 9), die *S. siberica*-Verwandtschaft (x = 6), und die Arten mit x = 5 (*S. bisotunensis*- und *S. hohenackeri*-Verwandtschaft) jeweils eine monophyletische Gruppe darstellen. *S. messeniaca* scheint eher Plesiomorphien zu vereinigen. *S. bifolia*- und *S. messeniaca*-Verwandtschaft einerseits, und *S. siberica*- und *S. bisotunensis* + *S. hohenackeri*-Verwandtschaft andererseits dürften Schwestergruppen repräsentieren.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

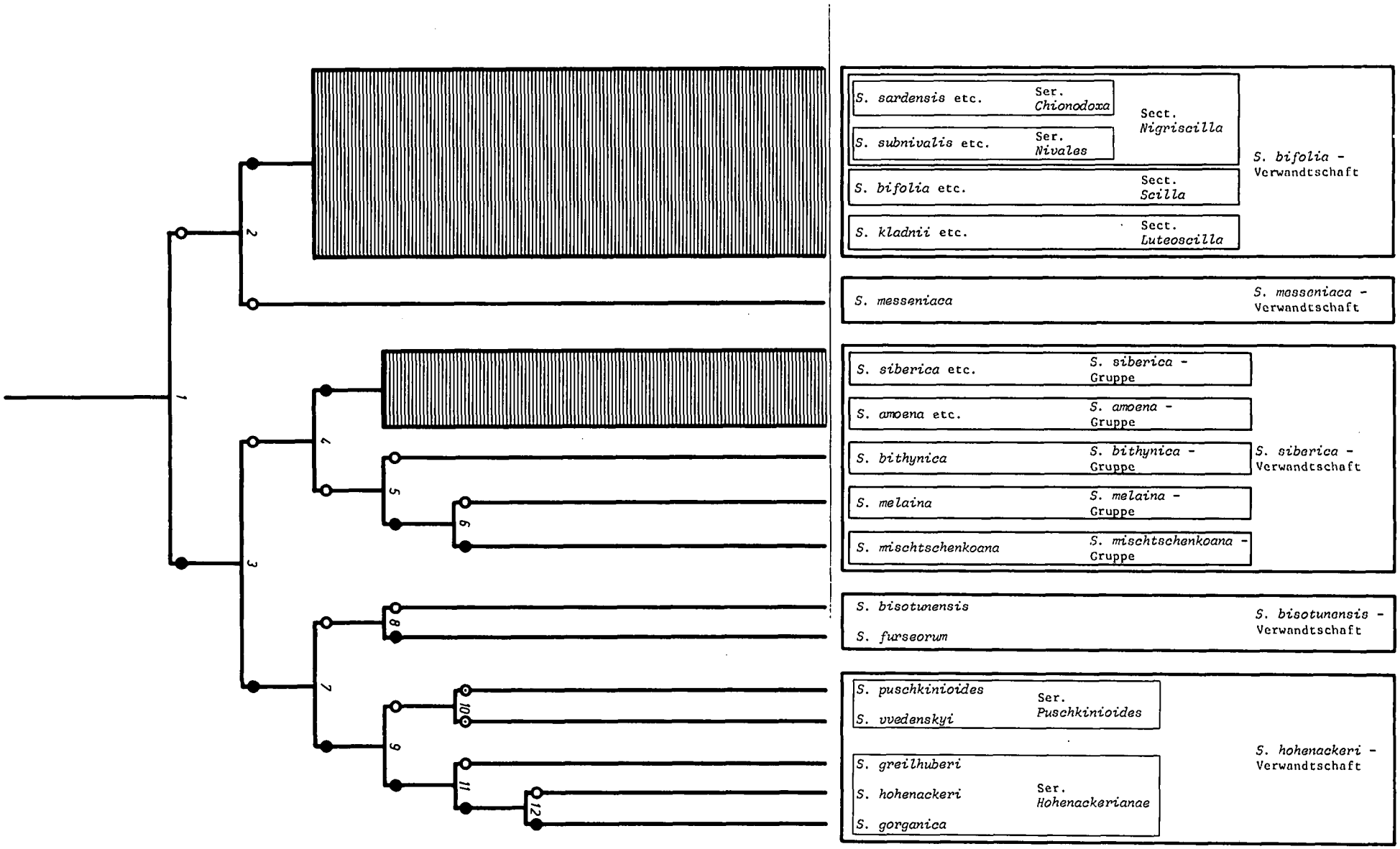


Abbildung 1

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.1.2 *Scilla bifolia*-Verwandtschaft

Die kürzlich taxonomisch neugegliederte *S. bifolia*-Verwandtschaft umfaßt einschließlich der früheren Gattung *Chionodoxa* Boiss. gegenwärtig 26 Arten (SPETA 1980), von denen ein Großteil karyologisch (GREILHUBER 1978, 1979, GREILHUBER & SPETA 1977, GREILHUBER et al. 1981) und embryologisch (SVOMA 1981) untersucht ist. Diese Studien haben den klaren Nachweis erbracht, daß *Chionodoxa* mit *S. bifolia* s.l. so nahe verwandt ist, daß bei den nächstverwandten Arten der beiden Gruppen weder cytologische, embryologische oder samenstrukturelle Unterschiede aufzufinden sind. Daß fertile Bastarde vorkommen, ist ebenfalls bekannt. Außerdem kommen die fraglichen Arten teilweise sympatrisch in SW-Anatolien vor. Es besteht also kein Grund, *Chionodoxa* als Gattung weiter aufrecht zu erhalten. Andererseits haben diese Untersuchungen auch gezeigt, daß *S. bifolia* im traditionellen Sinn eine erstaunliche Vielfalt bezüglich der Genomgrößen aufweist, wozu in bestimmten Fällen abweichende Karyotypen (Abb. 4) zu verzeichnen sind. Zu den taxonomisch relevanten Unterschieden in der Morphologie kommen Unterschiede im Embryosack-Typ (SVOMA 1981). Diese Vielfalt an Befunden hat die Ausarbeitung eines Phylogenie-Schemas ermöglicht, das in Abb. 2 der taxonomischen Gruppierung nach SPETA (1980) gegenübergestellt ist und außerdem die Trends der Chromosomenevolution in dieser Gruppe verdeutlichen soll.

Die Genomgrößen liegen zwischen 4.2 und 9.4 pg (1C) und variieren somit um das 2.2-fache. Dieser Unterschied liegt natürlich weit über der Meßgenauigkeit der Methode (die ca. 5% beträgt) und wurde an zahlreichen unabhängigen Messungen verifiziert. Dabei hat sich auch herausgestellt, daß innerhalb einer taxonomischen Art die Genomgröße auch über weite geographische Strecken so konstant ist, daß ein Unterschied zwischen entfernten Herkünften nicht nachgewiesen werden konnte. Dies wurde insbesondere an den weiträumig verbreiteten Arten *S. vindobonensis, S. bifolia* und *S. kladnii* gezeigt (GREILHUBER 1978, 1979, und unveröffentl.). Überdies gibt es 2 Gruppen von nah verwandten diploiden Taxa, bei denen die Genomgröße gleich ist (Abb. 2)[1], sowie einige Polyploide, deren Grund-

[1] Der 1C-Wert von *Scilla xanthandra* beträgt ca. 5.3 pg (GREILHUBER, unpubl.). Er wurde bei GREILHUBER (1979) infolge eines Versehens mit 4.3 pg angegeben. Dieser Wert bezog sich auf *S. nivalis,* was hiermit richtiggestellt wird.

Abb. 1: Die Verwandtschaftgruppen um *Scilla bifolia* (x = 9), *S. messeniaca* (x = 9), *S. siberica* (x = 6), *S. bisotunensis* (x = 5) und *S. hohenackeri* (x = 5) in der Gliederung nach SPETA (1980) und ihr vermutlicher phylogenetischer Zusammenhang (vorläufiges Kladogramm). Arugementation (partiell; siehe Kapitel 3.1.1.):

	Plesiomorphien (o)	Apomorphien (●)
1	x = 9, Genom mittelgroß	x = 6, Genom groß
2	Genom mittelgroß, mehr als 2 Blätter	Genom kleiner, 2 Blätter
3	x = 6	x = 5
4	schwarze Samen	gelbe Samen
5	kein Elaiosom	Elaiosom
6	Bänderung einfach	Bänderung spezifisch und komplex
7	Bänderung einfach, Genom groß	Bänderung komplex, Genom kleiner
8	Genom groß	Genom kleiner
9	Samen länglich	Samen rund
10	—	—
11	Karyotyp	Karyotyp (Deletion)
12	2n = 10	2n = 18 (4x — 2)

Kladistik der *S. bifolia*-Verwandtschaft siehe Abb. 2.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

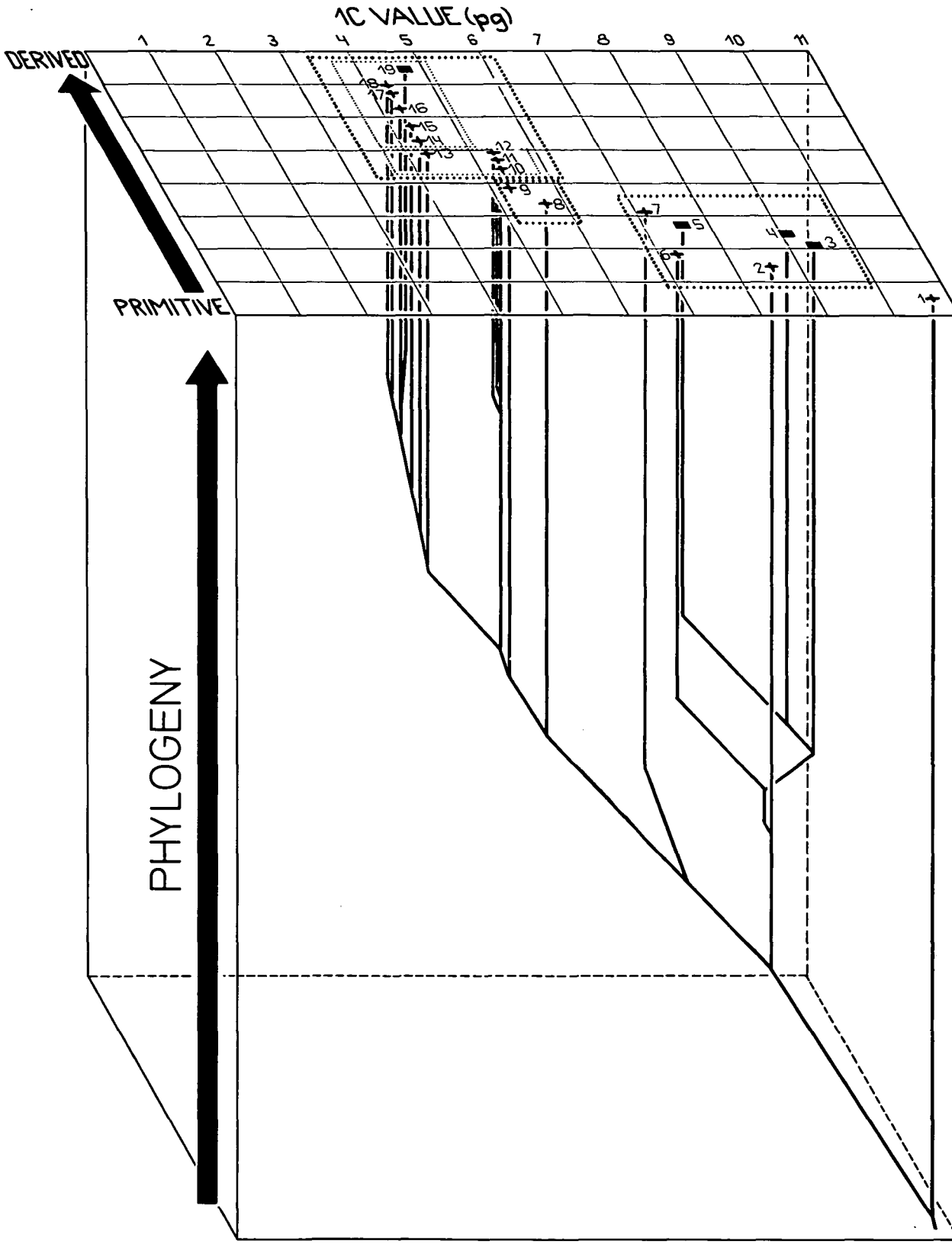


Abb. 2: Chromosomale Evolutionstrends (Genomgrößenabnahme, Heterochromatinakkumulation) in Relation zur systematischen Gruppierung nach SPETA (1980) und wahrscheinlichen Phylogenie (nach GREILHUBER 1979, GREILHUBER et al. 1981, SVOMA 1981). Argumentation siehe Kapitel 3.1.2. 1 *Scilla messeniaca*, 2 *S. kladnii*, 3 *S. vindobonensis*, 4 *S. voethorum*, 5 *S. resslii*, 6 *S. taurica*, 7 *S. decidua*, 8 *S. bifolia*, *S. drunensis*, *S. buekkensis*, 9 *S. laxa*, 10 *S. subnivalis*, *S. rueteri*, *S. pneumonanthe*, 11 *S. longistylosa*, 12 *S. xanthandra*, 13 *S. nivalis*, 14 *S. sardensis*, 15 *S. siehei*, 16 *S. luciliae*, 17 *S. nana*, 18 *S. albescens*, 19 *S. tmoli*. 2—7 Sect. *Luteoscilla:* 8 und 9 Sect. *Scilla;* 10-19 Sect. *Nigriscilla*, 10-13 Ser. *Nivales*, 14-19 Ser. *Chionodoxa*. Tetraspore Embryosäcke nach dem Drusa-I-Typ finden sich bei den Arten 3-6 und 16-19.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

genomgröße sehr gut mit der diploiden, morphologisch identifizierbaren Ausgangsform übereinstimmt. Es handelt sich dabei um *S. bifolia* (2x) — *S. drunensis* (4x) — *S. buekkensis* (4x, 5x, 6x) mit einer Grundgenomgröße von 5,7 pg (GREILHUBER 1979), und um *S. subnivalis* (2x) — *S. reuteri* (4x) — *S. pneumonanthe* (6x) mit einer Grundgenomgröße von 5,3 pg (GREILHUBER 1979, GREILHUBER et al. 1981). Das heißt also jedenfalls, daß die Genomgröße ein sehr brauchbares taxonomisches Merkmal darstellt. Wie aus Abb. 2 hervorgeht, ist die taxonomische Gruppierung, die sich primär nach der Samenfarbe, sekundär nach dem Verwachsungsgrad des Perigons richtet, konform mit den DNA-Mengen. D.h., gelbsamige Arten haben hohe C-Werte, braunsamige mittlere, schwarzsamige mittlere bis niedrige; eine grausamige Art liegt im DNA-Gehalt zwischen den gelb- und braunsamigen Arten. Die Variationsbereiche der taxonomischen Gruppen berühren einander, überschneiden einander jedoch nicht bzw. nur in einem Fall, der zweifelsfrei auf sekundäre H-Akkumulation zurückzuführen ist (s. unten). Das alles spricht dafür, daß Samenfarbe und Genomgröße gleichermaßen phylogenetische Zusammenhänge wiederspiegeln. Wenn sich feststellen ließe, welche Genomgröße, Karyotypstruktur, Samenfarbe und Blütenmophologie ursprünglich ist, ließe sich ein Kladogramm erstellen. Sehr hilfreich ist hierbei, daß neben Embryosäcken nach dem Normaltyp bei einigen Arten auch tetraspore Embryosäcke nach dem *Drusa* I-Typ vorkommen (SVOMA 1981), die auf jeden Fall als abgeleitet betrachtet werden müssen. Da mit der *S. bifolia*-Verwandtschaft nur *S. messeniaca* in engere Beziehung gebracht werden kann, sollten sich aus dem Merkmalskomplex dieser Art die Plesiomorphien der *S. bifolia*-Verwandtschaft ableiten lassen. Diese wären: großes Genom, wenig H, gelbe Samen, weitgehend freies Perigon, monosporer Embryosack. Diese Kombination trifft bei allen bisher bekannten Arten nur auf *S. kladnii* zu, die zusätzlich stark dazu neigt, mehr als 2 Blätter auszubilden, was ebenfalls einer Plesiomorphie entsprechen könnte. Folglich leiten sich kleine Grundgenome von größeren ab (wichtig ist hierbei die E-Menge!), H-reiche Karyotypen von H-armen, schwarze Samen von braunen, braune von gelben (eher als von grauen), und graue von gelben, partiell verwachsenen Perigone von fast freien, und tetraspore Embryosäcke von monosporen.

Von 5 gelbsamigen Arten weisen 4 den *Drusa* I-Typ auf, 3 davon haben zusätzlich H-reiche Karyotypen, deren einfachster sich durch H-Zunahme DNA-mengenmäßig und strukturell vom *S. kladnii*-Karyotyp ableiten läßt. Die beiden anderen sind graduell komplexer und weisen parallel dazu E-Abnahme auf. Auch die H-arme, tetraspore Art besitzt weniger DNA als *S. kladnii*. Von einer gelbsamigen monosporen Ancestralform, die jedoch schon eine etwas reduzierte Genomgröße besessen haben könnte, ist die grausamige *S. decidua* abzuleiten. Ebenfalls von einer gelbsamigen Form mit vermutlich stärker reduzierter Genomgröße sind dann alle anderen monosporen Arten mit braunen, dann mit schwarzen Samen, jeweils in der Reihenfolge der abnehmenden Genomgröße "abgegliedert" worden. Bei einigen Species muß bei gleicher Genomgröße (Abb. 2, Nr. 10, 11, 12) fraglich bleiben, ob die zweifellos nahe verwandten Arten eine para- oder monophyletische Gruppe darstellen (im Diagramm wurde die monophyletische Version gewählt). Mit *S. nivalis* ist bei 4.2 pg ein Niveau der Genomgröße erreicht, das offenbar nicht mehr nennenswert unterschritten wird. Die Schwestergruppe dieser Art ist die Series *Chionodoxa*, deren verwachsenes Perigon eine auffällige Apomorphie darstellt. Das primitivste Glied ist *S. sardensis*, es folgt *S. siehei*, die mit allen weiteren Arten ein weißes Auge gemeinsam hat, aber noch monospor ist. Alle übrigen Arten besitzen einen tetrasporen Embryosack. Von diesen sind *S. luciliae* und *S. tmoli* in der Blütengröße und -zeichnung der *S. siehei* ähnlich (symplesiomorph), doch hat *S. tmoli* H akkumuliert und weist eine adäquate Genomvergrößerung auf. *S. nana* und *S. albescens* besitzen in ihren ziemlich kleinen Blüten eine gemeinsame Apomorphie. Beide Arten kommen als Endemiten auf Kreta vor und sind sicher relativ nahe verwandt. Ihre Schwestergruppe könnte *S. luciliae* oder *S. luciliae* + *S. tmoli* sein (diese Variante in Abb. 2). *S. tmoli* dürfte wohl als Schwestergruppe auszuschließen sein, da Synapomorphien fehlen.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

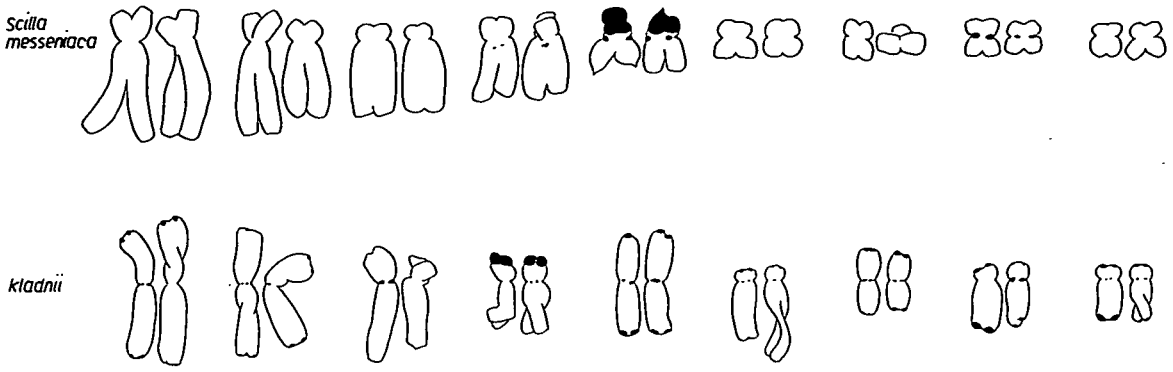


Abb. 3: C-gebänderte Karyotypen von *S. messeniaca* und *S. kladnii.*

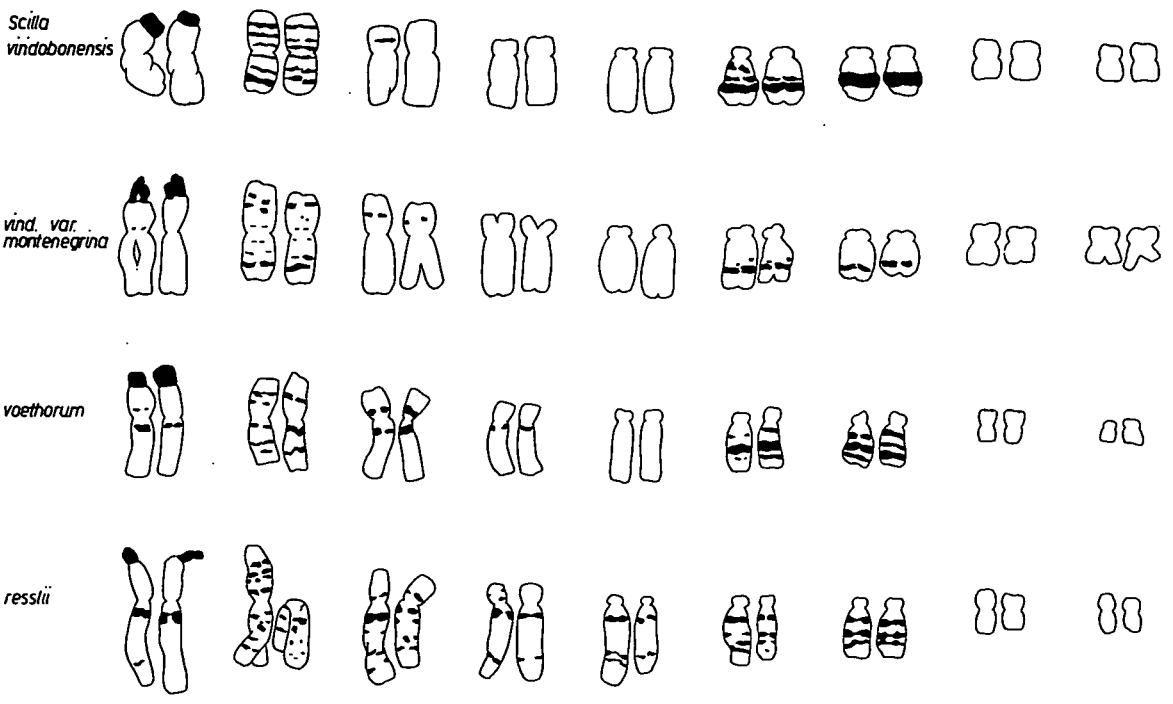


Abb. 4: C-gebänderte Karyotypen von *S. vindobonensis, S. vindobonensis* var. *montenegrina, S. voethorum,* und *S. resslii.*

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.1.3. *Scilla siberica*-Verwandtschaft

Nach SPETA (1980) umfaßt diese Verwandtschaft zur Zeit 20 Arten, die, wie oben ausgeführt wurde, eher eine mono- als eine paraphyletische Einheit darstellen. Die taxonomische Gliederung richtet sich nach der Samenmorphologie, wobei 4 Samentypen unterscheidbar sind (Samen gelb, ohne Elaiosom — *S. amoena*-Gruppe; Samen gelb, mit Elaiosom aus Exostom und angrenzendem Teil der Raphe — *S. siberica*-Gruppe; Samen schwarz, ohne Elaiosom — *S. bithynica*-Gruppe; Samen schwarz, mit mächtigem Elaiosom aus der gesamten Raphe — *S. melaina*-Gruppe und *S. mischtschenkoana*-Gruppe; *S. mischtschenkoana* ist karyologisch so eigenständig, daß ihr ein eigener Gruppenrang zuerkannt wurde).

Eine phylogenetische Systematik der gesamten Verwandtschaft ist deswegen so schwer zu präsentieren, weil noch große Unsicherheiten bestehen, welche Merkmale nun ursprünglich oder abgeleitet sind. Gelbe oder schwarze Samen, solche mit oder ohne Elaiosom, Chromosomensätze mit einem oder mit 2 NOR-Paaren könnten mit einigem Recht so oder so eingestuft werden. Wie oben ausgeführt, sind vielleicht schwarze Samen (ohne Elaiosom?) und ein Chromosomensatz mit 2 NOR-Paaren eher plesiomorph. Ich möchte daher die Diskussion auf die Arten beschränken, von denen chromosomal mehr bekannt ist als von den meisten anderen Pflanzenarten (quantifizierte Karyogramme, Genomgrößen, H-Mengen, Fluoreszenzcharakterisierung des H, in situ Hybridisierungsmuster, Sequenz der Satelliten-DNA). Es handelt sich dabei um *S. siberica, S. amoena, S. ingridae* und *S. mischtschenkoana* (Abb. 5). Samenmorphologische und karyologische Befunde führen zur selben taxonomischen Gruppierung, die auf folgender Argumentation aufbaut. Ausschließliche Merkmale von *S. mischtschenkoana* sind schwarze Samen mit Elaiosom aus der Raphe, Karyotyp mit 2 NOR-Paaren terminal im kurzen Arm, C-Band-Scharen anstelle von kompakten Blöcken, eine nicht-GC-reiche Satelliten-DNA anderer Sequenz als bei den übrigen Arten, ein eigentümliches Fluoreszenzverhalten des H. Gemeinsame Merkmale von *S. siberica, S. amoena* und *S. ingridae* sind gelbe Samen, 1 NOR-Paar mit interkalarer, centromernaher Lage, kompakte C-Blöcke, CMA-positive Fluoreszenz, identische Sequenz der Satelliten-DNA (GC-reich, hoch methyliert, ein Palindrom von 33bp; DEUMLING 1981) mit Lokalisation hauptsächlich in der interkalar-terminalen H-Fraktion. Gemeinsame Merkmale von *S. amoena* und *S. ingridae* sind das Fehlen oder eine hochgradige Reduktion des Elaiosoms, eine mäßig zentromernahe NOR mit relativ viel assoziiertem H, ein komplexes C-Band-Muster, ein für GC-reiches H bzw. Satelliten-DNA etwas atypisches Fluoreszenz-Verhalten (je nach kürzerer oder längerer Fixierungsdauer $Q^- \rightarrow Q^o$, $DAPI^+ \rightarrow DAPI^o$), sowie eine relativ geringe E-Menge. Hierbei ist die H-Menge von *S. amoena* geringer, und auch das Bändermuster ist etwas weniger komplex als bei *S. ingridae.*

Die isolierte Position von *S mischtschenkoana* ist evident, und die komplexen C-Band-Muster von *S. amoena* und *S. ingridae* bieten sich geradezu als abgeleitete Merkmale an. Auch die Annahme einer Reduktion des Elaiosoms zu einem unscheinbaren Rest würde keine Schwierigkeit bereiten. Artenpaare, die soviel gemeinsam haben wie *S. amoena* und *S. ingridae,* sollten einen jüngeren gemeinsamen Vorfahren haben als jedes andere denkbare Artenpaar. Es ergäbe sich das Kladogramm a in Abb. 6.

Allerdings spechen neuerdings die phenolischen Inhaltsstoffe dieser Arten, die von HARMER (1980, zitiert nach SPETA 1980) chromatographiert wurden, gegen eine solche Deutung. HARMER findet nämlich bei *S. mischtschenkoana* und *S. ingridae* sehr ähnliche Muster (6 bzw. 5 Stoffe), während *S. siberica* und *S. amoena* nur je 1, wahrscheinlich dieselbe, Substanz aufweisen. Dies ergibt einen logischen Widerspruch zum Kladogramm a, in Abb. 6. Nimmt man an, daß hier kein Parallelismus und keine Konvergenz vorliegt, sind folgende phylogenetische Zusammenhänge denkbar (monophyletische Gruppen hierarchisch verklammert):

1) (mi)(as)
2) ((mi)s)a
3) ((mi)a)s
4) ((sa)i)m
5) ((sa)m)i

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

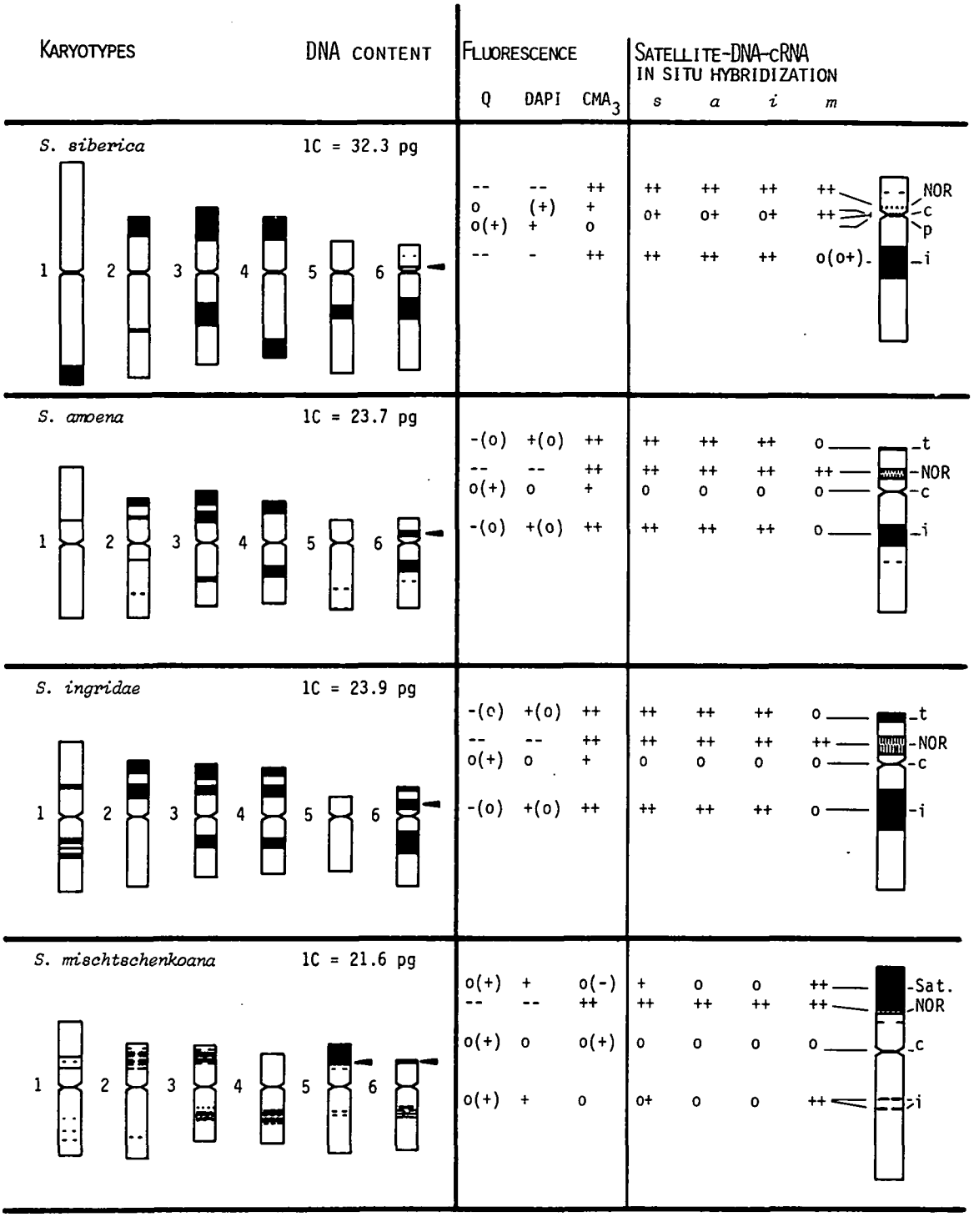


Abb. 5: Heterochromatin- und Genom-Charakterisierung bei *Scilla siberica* (s), *S. amoena* (a), *S. ingridae* (i), und *S. mischtschenkoana* (m) mit Genomgrößenbestimmung, Giemsa-C-Bänderung, Fluorochromierung mit Quinacrin (Q), DAPI, und Chromomycin A_3 (CMA_3), und auto- und heterologer in situ Hybridisierung von Satelliten-DNA-cRNA. Exemplarische haploide C-Band-Karyogramme Genomgrößen-gerecht präsentiert. Heterochromatin-Fluoreszenz im Vergleich zur Euchromatin-Fluoreszenz: stark erhöht + +, erhöht +, indifferent o, reduziert —, stark reduziert — —; seltener beobachtete Ausprägung ( ). Hybridisierungs-Markierung: sehr stark + +, deutlich +, undeutlich erhöht o+, nicht erhöht o; seltener gefundene Ausprägung ( ). NOR = Nukleolus-organisierende Region, c = eigentlicher Zentromerbereich, p = parazentromerische Region, t = terminales Heterochromatin, i = interkalares Heterochromatin, Sat. = heterochromatischer Satellit bei *S. mischtschenkoana* Chr. 5.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Wenn hier auch noch offenbleibt, ob das komplexe Muster phenolischer Substanzen bei *S. ingridae* und *S. mischtschenkoana* eine Apo- oder Plesiomorphie darstellt, wird doch klar, daß die *S. amoena*-Gruppe eine paraphyletische Gruppe ist. Schon SPETA (1980) vermutet, daß die Gruppe "keine natürliche eigene Gruppe" darstellt. Diese Feststellung ließe sich auch im Sinne einer Parallelevolution elaiosomloser, gelbsamiger Arten verstehen, wäre aber zur Zeit auf eine "durch eine Plesiomorphie charakterisierte Gruppe" einzuschränken.

Allerdings kommt auch bei *S. greilhuberi* (x = 5, *S. hohenackeri*-Verwandtschaft) wahrscheinlich nur diese eine phenolische Substanz wie bei *S. siberica* und *S. amoena* vor. Wenn hier tatsächlich ein symplesiomorphes Merkmal vorliegt, scheiden die Möglichkeiten 4) und 5) aus. Von den Varianten 1) — 3) erscheint 2) wegen Fehlens einer Synapomorphie bei *S. mischtschenkoana, S. ingridae* und *S. siberica* weniger wahrscheinlich. Jedenfalls besteht der Konflikt mit der schwarzen Samenfarbe und dem helobialen Endosperm als vermutlichen Primitivmerkmalen bei *S. mischtschenkoana.* Faßt man das komplexe Chromatogramm bei *S. ingridae* und *S. mischtschenkoana* als Plesiomorphie der *S. siberica*-Verwandtschaft auf, dann bleiben die Phylogenien 1), 4) und 5) übrig. Bei 5) vermißt man die Synapomorphie von *S. siberica, S. amoena* und *S. mischtschenkoana.* Schwarze Samen und helobiales Endosperm als Primitivmerkmale sind nur mit Phylogenie 4) kompatibel, die zur Zeit als die wahrscheinlichste betrachtet werden kann, weil sie nur eine Konvergenz erfordert (Abb. 6b; die Phylogenien 1 und 3 entsprechen den Kladogrammen c und d in Abb. 6).

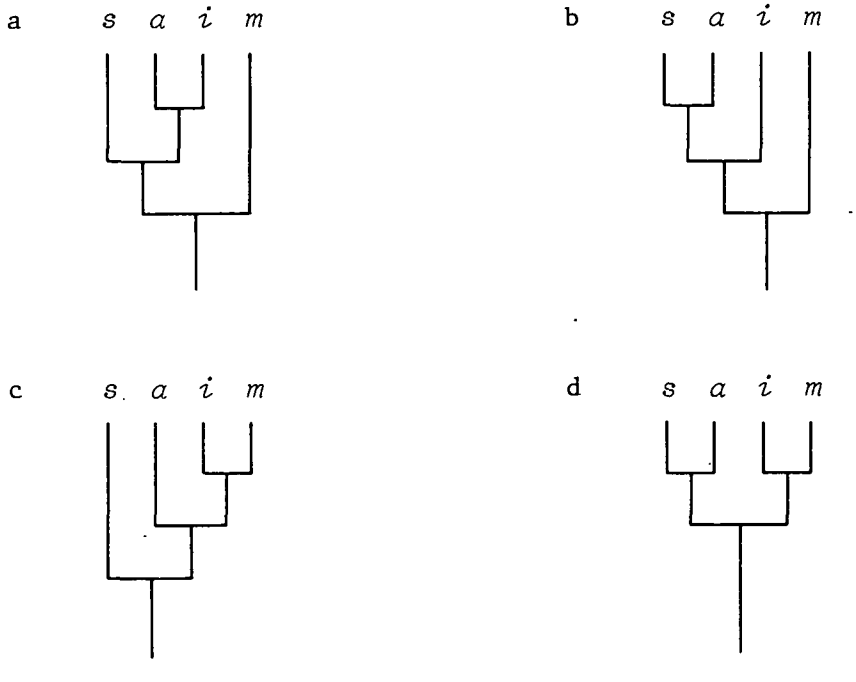


Abb. 6: Einige kladistische Varianten für *Scilla siberica* (s), *S. amoena* (a), *S. ingridae* (i) und *S. mischtschenkoana* (m). Kommentar siehe Text.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.1.4. *Scilla bisotunensis*- und *S. hohenackeri*-Verwandtschaft

Die Karyotypanalysen an den Verwandtschaftsgruppen mit x = 5 haben sehr deutlich gezeigt, daß trotz unterschiedlicher C-Band-Muster und DNA-Mengen eine sehr gute Übereinstimmung der äußeren Karyotypmorphologie besteht. Es ist also ein monophyletischer Ursprung beider Verwandtschaften auch aus karyologischen Gründen anzunehmen. Wenn der postulierte Zusammenhang mit der *S. siberica*-Gruppe richtig ist, dann wäre der DNA-reiche (22,7 pg), schlicht gebänderte Karyotyp von *S. bisotunensis* der ursprünglichste. Die entgegengesetzte Vermutung, die von GREILHUBER & SPETA (1977) aufgrund der größeren Zahl von Arten mit komplex gebänderten, DNA-ärmeren Karyotypen geäußert wurde, erscheint nunmehr viel weniger schlüssig (vgl. STEVENS 1980). Weniger klar sind die phylogenetischen Zusammenhänge dieser Arten insofern, als man nur in der *S. hohenackeri*-Verwandtschaft als ganzer und in der Series *Hohenackerianae* mit einiger Sicherheit eine monophyletische Gruppe erblicken kann, während die Series *Puschkinioides* sowie die *S. bisotunensis*-Verwandtschaft ebensogut paraphyletische Gruppen sein können.

Die *S. hohenackeri*-Verwandtschaft ist durch wahrscheinlich apotypische komplex gebänderte Karyotypen und DNA-Mengen zwischen 10.1 und 12.9 pg (x-Niveau) charakterisiert. *S. greilhuberi, S. hohenackeri* und *S. gorganica* (Ser. *Hohenackerianae*) sind morphologisch sehr ähnlich, wobei *S. hohenackeri* eine karyotypische Apomorphie in Form eines verkürzten Chromosoms no. 2 aufweist. Ihr morphologisch sehr ähnlich ist *S. gorganica,* die als hypotetraploide Art mit 2n = 18 und einem umstrukturierten Karyotyp (DNA Verlust, 1C = 15.9 pg) naturgemäß abgeleitet ist.

3.2. EVOLUTION DER GENOMGRÖSSE

3.2.1. Genomgrößenveränderung als evolutiver Trend.

Die hier diskutierten Arten unterscheiden sich auf dem diploiden Niveau in der Genomgröße bis zum 7.6-fachen. Die Größenspektren der einzelnen Verwandtschaftsgruppen überschneiden sich kaum. Hinweise für eine stufenartige Veränderung der Genomgrößen etwa in Verdopplungsschritten, wie sie in der Frühzeit der Genomgrößenbestimmung mehrfach behauptet wurden, finden sich nicht. Es soll in diesem Kapitel nochmals die Frage gestellt werden, ob die Genomgrößen einem nicht voraussagbaren Wandel unterliegen, also bald steigen, bald sinken — oder ob eine bestimmte Richtung der Verändrung, sei es nach oben oder nach unten, zu verzeichnen ist. Die Antwort ist implizit im vorhergehenden Kapitel bereits enthalten: Die kladistischen Analysen deuten darauf hin, daß Trends vorliegen, die aber bei der einen Gruppe nach oben, bei der anderen nach unten verlaufen können.

Besonders eindrucksvoll ist der Trend zur DNA-Abnahme bei der *Scilla bifolia*-Verwandtschaft (Abb. 2). Selbst bei H-Akkumulation ist quasi nur vorübergehend ein Anstieg der Genomgröße zu verzeichnen, der in der Reihe *S. vindobonensis* — *S. voethorum* — *S. resslii* durch E-Abnahme überkompensiert wird (Abb. 2, Abb. 4). Auch die Scillen mit x = 5 zeigen eher Genomgrößenreduktion, wobei GREILHUBER (1977) gezeigt hat, daß keine Korrelation von Genomgröße und H-Anteil erkennbar ist. Innerhalb der *S. siberica*-Verwandtschaft ist z.Zt. eher ein Trend zu höheren E-Mengen wahrscheinlich. Die publizierten und unveröffentlichten Befunde über die *S. siberica*-Verwandtschaft lassen ebenfalls keine derartige Korrelation von H-Mengen und Genomgröße vermuten. Es spricht also alles dafür, daß E- und H-Mengenänderungen prinzipiell voneinander unabhängig verlaufen. Meine Befunde an *Scilla* widersprechen hierin denen von NARAYAN & REES (1976) an *Lathyrus* und THOMAS (1981) an *Lolium.*

Diese mangelnde Trendkopplung könnte verschiedene Gründe haben (s. auch 3.3.4.). Der Selektionswert einer Genomgrößenveränderung kann durchaus verschieden sein, wenn die Änderung im H oder im E erfolgt. Mit anderen Worten, die funktionelle Bedeutung einer gleichsinnigen Änderung bei der einen Komponente kann eine ganz andere sein als bei der anderen (s. unten). Selbst wenn man eine funktionelle Bedeutung nicht in Betracht

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

zieht und annimmt, daß "entbehrliche" DNA aus "egoistischen" Sequenzen besteht, die einen Akkumulationsmechanismus besitzen und sonst keine Funktion ausüben (ORGEL & CRICK 1980, DOOLITTLE & SAPIENZA 1980), dürfte sich bereits ein sehr unterschiedliches Akkumulations-Tempo bei eu- bzw. heterochromatischer DNA im Fehlen einer Trendkopplung äußern. In der Tat sind heterochromatische Sequenzen nicht nur hochrepetitiv, sondern auch hochgradig tandem-repetiert, was von euchromatischen nicht behauptet wird. Dies könnte primär auf saltatory replication oder einer besonderen Neigung zu inäqualen Austauschen beruhen — wahrscheinlich beidem. Jedenfalls ist diese tandem-Repetition eine hinreichende Voraussetzung für relativ schnelles Zu- oder Abnehmen solcher Sequenzen durch inäquale Austausche. H-Änderung ist bezeichnenderweise in der Regel mit deutlichen Längenänderungen von einzelnen betroffenen Chromosomen verbunden, während gleichgroße E-Änderungen meist so gleichmäßig über den Chromosomensatz verteilt erfolgen, daß auffällige intrakaryotypische Verschiebungen der chromosomalen Längenverhältnisse nicht vorkommen.

3.2.2. Genomgröße als nukleotypischer Parameter.

Die Einsicht, daß die meisten eukaryotischen Organismen weit mehr DNA besitzen als nach der Genzahl, die sich abschätzen läßt, zu erwarten wäre, daß sich weiters nah verwandte Arten mit gleicher Organisationshöhe um ein Vielfaches im DNA-Gehalt unterscheiden können, daß die Anzahl nachweisbarer Strukturgene dennoch gleichbleibt, und daß komplexere Organismen oft eine geringere Genomgröße aufweisen als weniger komplexe, wird mit dem Ausdruck "C-Wert-Paradoxon" zusammengefaßt. VAN'T HOF & SPARROW (1963) zeigten aber, daß zwischen Genomgröße, Zellgröße und Zellzyklusdauer eine positive Korrelation besteht, wobei wenig Zweifel an der Art der kausalen Verknüpfung bestehen kann (siehe BENNETT 1972, CAVALIER-SMITH 1978). Die Genomgröße (der "C-Wert") determiniert das Kernvolumen, und dieses die minimale Zellgröße, die ja nicht unter der des Kerns, sondern nur darüber liegen kann. Die Genomgröße determiniert aber auch die minimale Kernzyklusdauer, da einer gegebenen Anzahl von für die Autoreduplikation notwendigen Genen ein verschieden großes Genom gegenüberstehen kann, das verdoppelt werden will. Die Kernzyklusdauer determiniert aber zusätzlich noch die Zellgröße, da in einem verlängerten Zellzyklus den heterosynthetisch aktiven Genen eben mehr Zeit zur Verfügung steht, was sich als größere Gesamtproduktion und somit größere Zellen niederschlagen muß. Bezeichnenderweise haben Autopolyploide zwar proportional vergrößerte Zellen, aber keinen verlängerten Zellzyklus (VERMA & LIN 1979), da einem vervielfachten Genom auch eine genauso vervielfachte auto- und heterosynthetische Leistungsfähigkeit gegenübersteht. Natürlich kann Zellgröße und -zyklusdauer auch noch anders als durch die Genomgröße reguliert werden. Das ändert aber nichts an der Grundtatsache, daß eine solche Beziehung besteht und daß sie einen nach unten begrenzenden Faktor darstellt.

Es ist also offensichtlich, daß durch diese Relationen auch eine völlig informationsfreie DNA phänotypische Konsequenzen zeitigt, die für die Anpassung eines Organismus von Bedeutung sein müssen, und die somit auch eine Funktion s.l. erfüllen können, wenn diese auch anders ist als die Funktion von Strukturgenen. Der Phänotyp eines Organismus wird also nicht nur durch den Genotyp (Gesamtheit der DNA mit Codierungs- und Regulationsfunktion) und die Umwelt bestimmt, sondern auch durch die physikalisch-mechanischen Parameter des Genoms — den "Nukleotyp" — , deren wichtigsten die Genomgröße darstellt. Dieser theoretische Ansatz wurde von BENNETT (1972) formuliert und in einer breit angelegten Untersuchung von Genomgröße und Mindest-Entwicklungszeit bei krautigen Pflanzen untermauert. Perennierende Pflanzen haben im Durchschnitt mehr DNA als annuelle, und diese mehr als ephemere Pflanzen. Der Zusammenhang von Genomgröße, Zellzyklusdauer und Entwicklungsgeschwindigkeit ist hier evident. En Genom von 32.0 pg (1C), wie es bei *S. siberica* vorliegt, könnte nie einen ephemeren Pflanzenkörper aufbauen, der sich in wenigen Wochen vom Embryo bis zur Samenreife entwickelt — einfach deswegen, weil in der verfügbaren Zeit die Minimalzahl von Zellteilungen nicht erfolgen kann. Andererseits kann ein kleines Genom sehr wohl auch einen langlebigen Pflanzenkörper aufbauen, was z.B. bei sehr vielen Holzgewächsen auch verwirklicht ist. Eine wichtige Abrundung der Nukleotyp-Hypothese erfolgte durch PRICE & BACHMANN

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

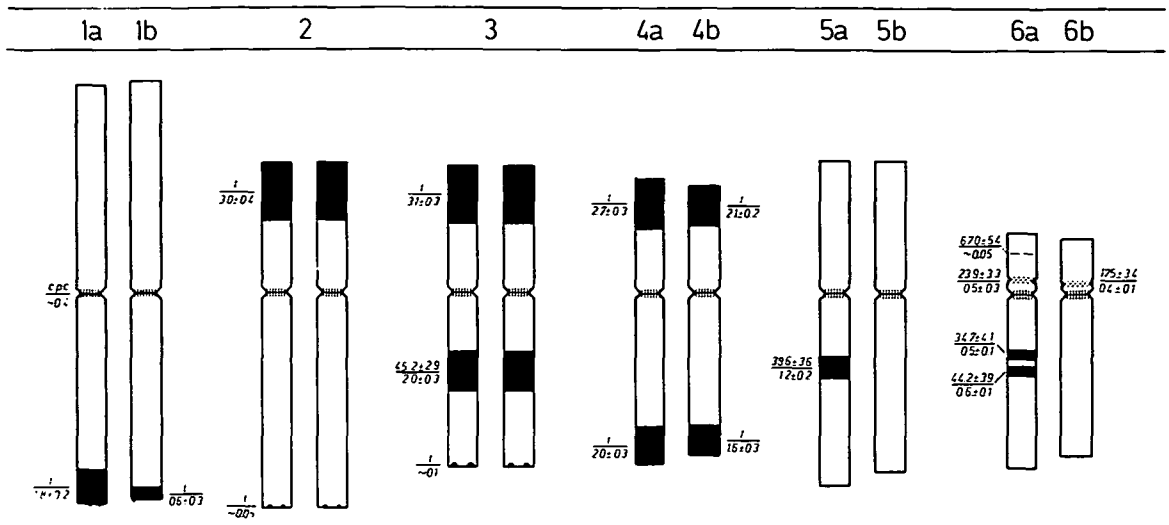
(1976), die an Microseridinen (*Cichoriaceae*) sehr deutlich zeigten, daß höhere Entwicklungsgeschwindigkeit und in der Folge Einjährigkeit auch durch Genomvergrößerung bewerkstelligt werden kann, weil nämlich mit größeren, aber weniger Zellen trotz verlängertem Zellzyklus in kürzerer Zeit ebenfalls ein vollständiger Entwicklungszyklus absolviert werden kann. Genomgröße und Zellvolumen ändern sich nämlich in einem 1 : 1-Verhältnis, während einer Genomgrößenverdopplung (auf diploidem Niveau!) eine Zellzyklusverlängerung von lediglich 18 — 38 % entspricht. Ein gleich großer Pflanzenkörper läßt sich also innerhalb gewisser Grenzen mit großen, sich langsam teilenden Zellen schneller aufbauen als mit kleinen, sich schnell teilenden. Man hat also verschiedene Strategien, mit der das Ziel "schnelle Entwicklung" erreicht werden soll, zu unterscheiden.

Es sei vorweg gesagt, daß bei *Scilla* nukleotypische Korrelate wie Zellzyklusdauer, Zellgröße und -zahl pro Organ noch nicht untersucht sind, daß diese aber für die Einschätzung der evolutiven Bedeutung der Genomgrößenveränderung in dieser Gruppe sehr wichtig sein werden. Genomvergrößerung durch H-Akkumulation sollte durchaus stärker in Richtung Zellzyklusverlängerung wirken als in Richtung Zellkernvergrößerung, weil H langsamer repliziert wird als E (BOSTOCK et al. 1972), aber weniger Volumenzunahme bewirkt als dieses. Es wäre zu untersuchen, wie sich diese Variablen auf die Zellgröße auswirken. Einige Artenpaare der Gattung (Abb. 9, 10) würden in dieser Hinsicht gute Untersuchungssysteme abgeben. Die Frage selbst ist noch fast ununtersucht. Eine Ausnahme bilden die Arbeiten von NAGL (1974a, b) und NAGL & EHRENDORFER (1974) über Genomgröße, Zellgröße, Zellzyklusdauer und H-Gehalt bei Anthemideen *(Asteraceae),* die allerdings zu einem unerwarteten Ergebnis geführt haben: Annuelle Arten haben bei größeren Genomen sogar kürzere Zellzyklusdauer — nach NAGL deswegen, weil viel H vorhanden ist. H müßte also ein Zellzyklus-Verkürzer sein, was mit Berufung auf BOSTOCK et al. (1972) mit der schnelleren Replikation im H erklärt wird. Ich wende hier ein, daß es sich 1. um ein Fehlzitat handelt, da die Autoren ja das Gegenteil gezeigt haben, und daß 2., selbst wenn H schneller als E replizieren würde, eine Zellzyklusverkürzung nur dann resultieren könnte, wenn H früher vorhandenes E verdrängt hätte. Wie gezeigt wird (Abb. 7, 8, 9, 10) ist aber H eher eine additive Komponente des Genoms. Die Resultate an den H-reichen Anthemideen sind also nicht erklärt, sondern müssen vorläufig akzeptiert werden, wie sie sind.

3.2.3 Genomgröße und "egoistische DNA"

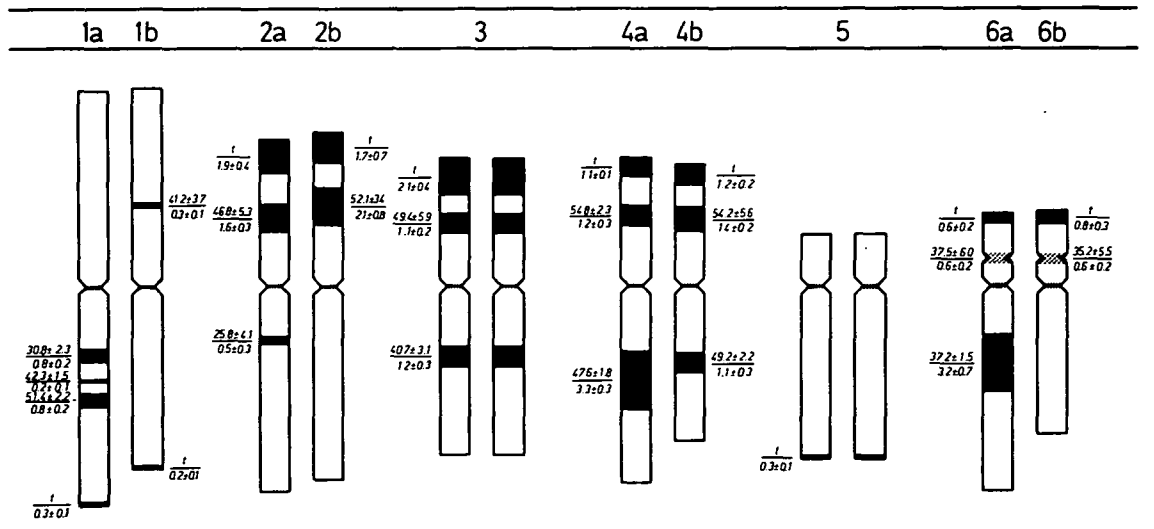
Es läge nahe, in der nukleotypisch wirksamen Akkumulation von ansonsten informationsfreier DNA einen Anpassungsmechanismus der Organismen zu erblicken, der ihnen hilft, eine optimierte Zellgröße, Zellzyklusdauer etc. zu erreichen. Dem ist aber möglicherweise nicht so, wenigstens nicht ganz so. Für die vorliegende Problematik hat — allerdings mit einem anderen Beispiel — bereits ÖSTERGREN (1945) eine relevante Antwort gegeben. Beispielsweise sind B-Chromosomen eine akzessorische Genomkomponente und in der Regel kein positiver Beitrag zum Genom einer Spezies; sie tragen meist keine genetische Information und sind zumindest in erhöhter Anzahl schädlich, indem sie die Fertilität und Vitalität schwächen. Dennoch gibt es Arten, deren Populationen trotz dieser schädlichen Effekte B-Chromosomen in hoher Frequenz aufweisen, und zwar deswegen, weil diese B-Chromosomen einen Akkumulationsmechanismus besitzen, indem sie bei der Megasporogenese bevorzugt in diejenigen Spore gelangen, die zum Embryosack wird, bei Coenomegasporen bevorzugt in den mikropylaren Kern gelangen, der den Eiapparat hervorbringt, bei der Pollenmitose durch non-disjunction im generativen Kern akkumuliert werden, oder bei der Teilung des generativen Kerns in einem Spermakern akkumuliert werden, der die Eizelle befruchtet (JONES 1975). Die Frage, welchen Vorteil bedeuten B-Chromosomen für den Organismus, ist offensichtlich falsch gestellt. Es genügt vollkommen, daß sie sich

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at



	1a	1b	2	3	4a	4b	5a	5b	6a	6b
S	11.1±0.8	11.3±0.6	6.9±0.5	6.8±0.6	6.1±0.5	5.7±0.4	7.1±0.6	7.1±0.6	3.3±0.3	2.9±0.3
L	11.1±0.7	10.9±0.9	11.4±0.8	9.2±0.8	9.0±0.9	8.6±0.6	10.2±0.6	9.4±0.7	9.2±0.8	8.6±0.6
T	22.2±0.9	22.2±1.2	18.3±1.1	16.0±1.1	15.1±1.2	14.2±0.8	17.2±0.9	16.6±1.2	12.5±0.9	11.5±0.6
C_i	50.0±2.6	49.2±2.3	62.2±1.9	57.4±2.2	59.6±2.3	60.1±2.3	59.1±2.2	57.0±2.0	74.0±2.1	74.5±2.2

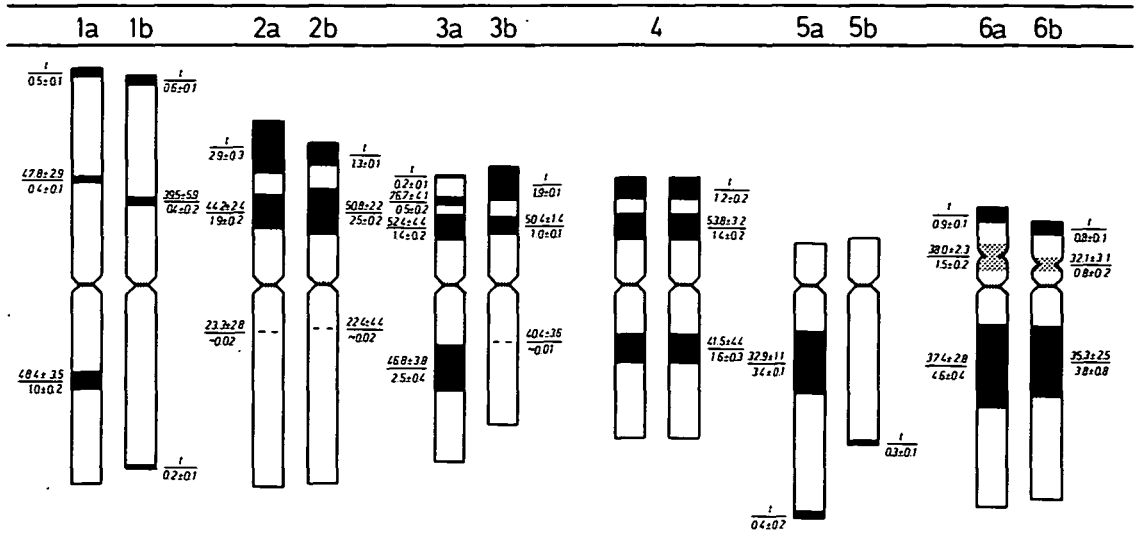
Abb. 7: Karyogramm von *Scilla siberica*, 2 x (Herkunft: Tubergen Ltd., Haarlem, Niederlande). Alle Längen sind normalisiert und beziehen sich auf den diploiden Karyotyp (= 200 %). Bänderpositionen (Abstand der Bandmitte vom Zentromer x 100: Länge des Arms) und Bandbreite werden oberhalb bzw. unterhalb der zugehörigen Linie angegeben. t = terminale Bandposition. cpc = centromerisch - parazentromerische Region. Nukleolus-organisierende Region inclusive assoziiertem Heterochromatin gepunktet dargestellt. S = kurzer Arm, L = langer Arm, T = gesamtes Chromosom, C_i = Centromerposition (L x 100 : T). Angegeben wird Mittelwert ± Standardabweichung. Anzahl der vermessenen Metaphasen (N) = 20.



	1a	1b	2a	2b	3	4a	4b	5	6a	6b
S	10.7±0.9	10.9±1.1	8.1±0.6	8.5±1.0	7.1±0.5	7.1±0.4	6.7±0.6	2.9±0.3	4.0±0.4	4.2±0.6
L	12.0±1.1	10.0±0.7	11.3±1.2	10.6±0.8	9.3±0.7	10.8±0.7	8.5±0.7	9.5±0.7	11.3±0.8	8.1±0.6
T	22.7±1.8	20.8±1.5	19.4±1.7	19.1±1.6	16.3±1.1	17.9±1.0	15.2±1.1	12.4±0.8	15.3±0.8	12.2±0.9
C_i	53.0±2.1	47.9±2.4	58.4±2.1	55.7±2.6	56.7±1.9	60.5±1.6	55.9±1.9	76.6±1.9	73.6±2.6	66.0±3.7

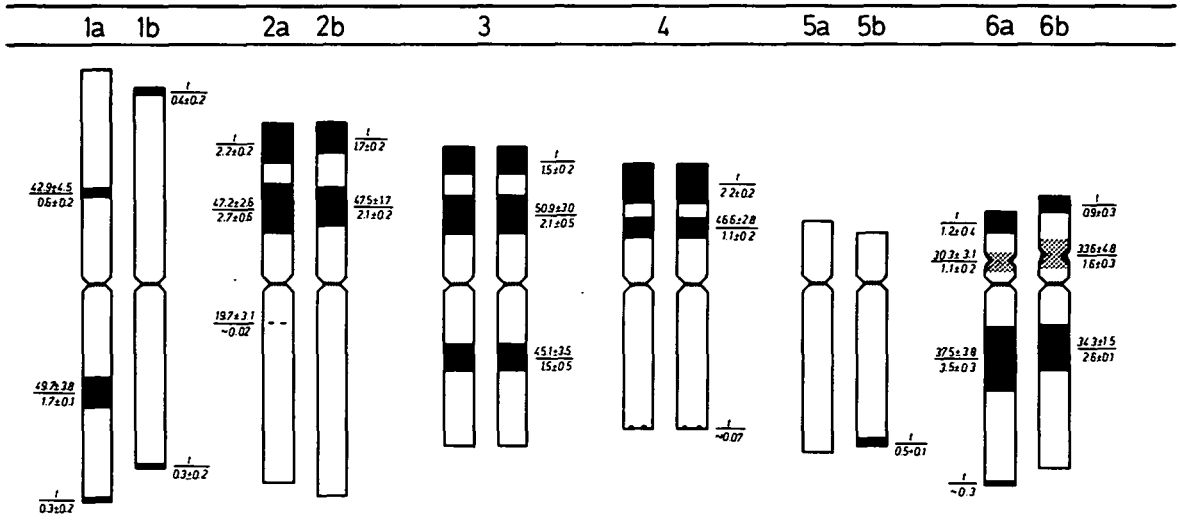
Abb. 8a

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at



	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4	5a	5b	6a	6b
S	11.9±1.2	11.5±1.4	9.0±0.4	7.8±0.5	6.0±0.5	6.5±0.3	5.9±0.6	2.3±0.1	2.6±0.2	4.3±0.4	3.5±0.2
L	10.9±0.8	10.1±1.4	11.1±1.1	10.9±0.6	9.7±0.4	7.7±0.6	8.4±0.8	12.8±1.1	8.7±0.6	12.1±0.8	11.7±2.1
T	22.8±1.9	21.6±2.6	20.1±1.4	18.8±1.0	15.7±0.7	14.2±0.9	14.3±1.3	15.1±1.1	11.4±0.7	16.5±1.0	15.2±2.2
Ci	46.6±3.8	46.8±1.4	55.0±1.6	58.2±1.1	62.2±2.0	54.3±1.0	58.9±2.0	84.9±1.4	76.6±2.1	73.6±1.7	76.3±3.2

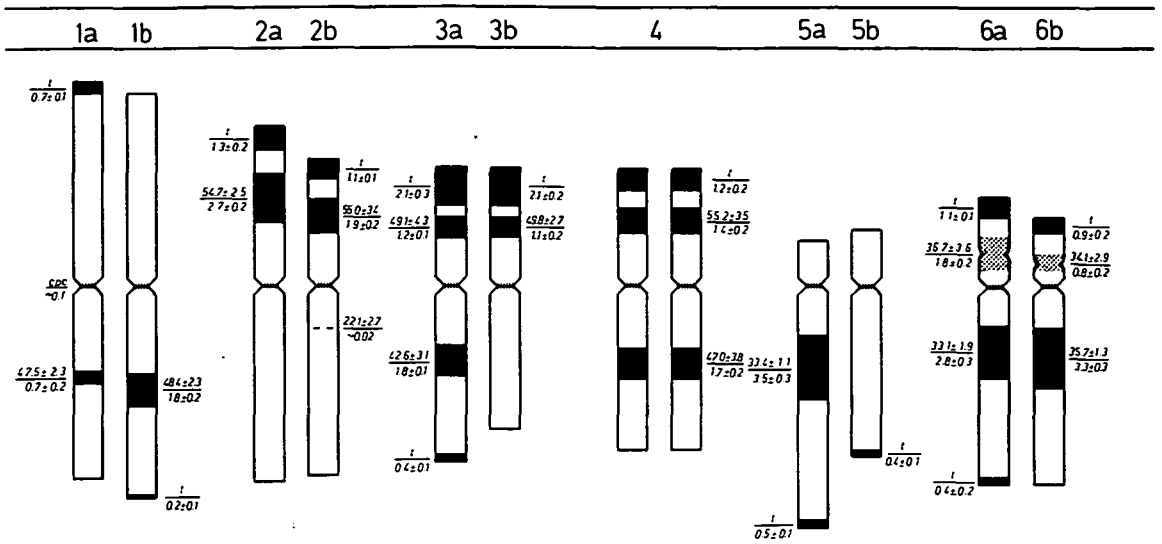
Abb. 8b



	1a	1b	2a	2b	3	4	5a	5b	6a	6b
S	11.7±1.1	10.7±0.6	8.7±0.5	8.8±0.7	7.5±0.9	6.6±0.5	3.4±0.3	2.8±0.3	4.0±0.4	4.8±0.4
L	11.9±0.4	10.1±0.8	10.9±0.4	11.6±1.4	8.9±0.8	7.9±0.7	9.2±0.7	8.9±0.6	11.0±0.5	10.1±0.4
T	23.6±1.4	20.8±1.2	19.5±0.7	20.4±2.0	16.4±1.2	14.4±1.0	12.5±0.7	11.6±0.7	15.1±0.4	14.9±0.7
Ci	50.6±1.7	48.6±1.3	55.6±1.4	56.9±1.0	54.1±3.5	54.5±2.4	73.2±2.5	76.3±2.3	73.3±2.4	68.1±1.6

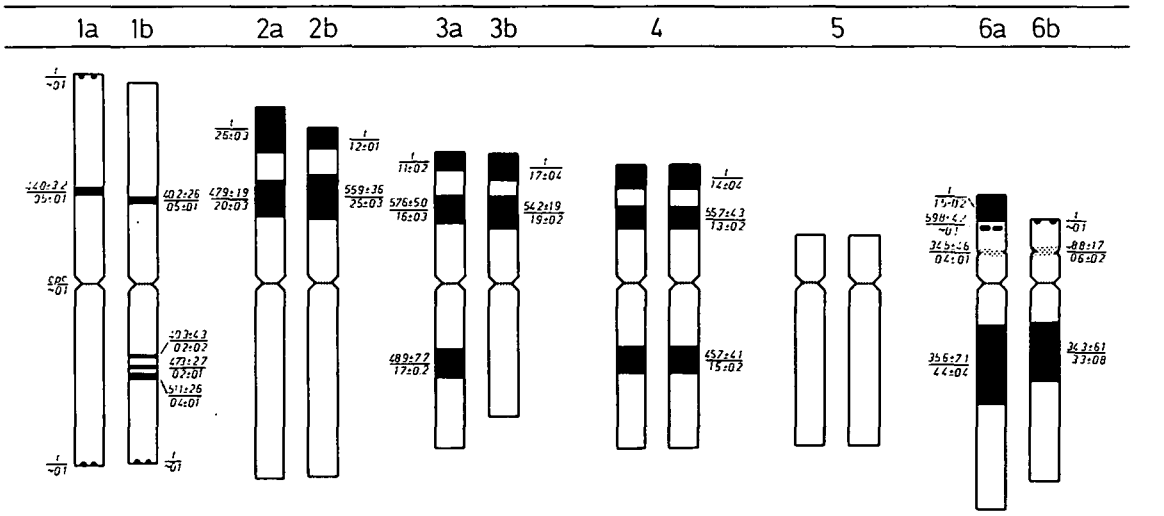
Abb. 8c

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at



	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4	5a	5b	6a	6b
S	11.2±0.6	10.5±0.7	8.7±0.8	6.9±0.5	6.5±0.5	6.5±0.6	6.4±0.4	2.5±0.2	3.1±0.3	4.9±0.4	3.8±0.5
L	10.5±0.8	11.6±1.0	10.7±0.4	10.4±0.7	9.6±0.6	7.8±0.9	8.9±0.7	13.2±0.5	9.3±0.6	10.8±0.5	10.8±0.5
T	21.7±1.1	22.1±1.3	19.3±0.8	17.3±0.9	16.2±0.8	14.4±1.3	15.3±0.8	15.7±0.6	12.5±0.5	15.7±0.6	14.6±0.7
C_i	48.4±1.9	52.3±2.5	55.2±2.4	60.3±2.3	59.7±2.7	54.5±2.7	58.1±2.3	84.1±1.4	74.9±2.1	69.0±1.9	73.8±2.4

Abb. 8d



	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4	5	6a	6b
S	11.6±1.0	11.4±1.5	9.7±1.0	8.6±0.8	7.3±0.8	7.2±0.8	6.6±0.5	2.7±0.3	4.9±0.7	3.6±0.6
L	10.0±0.5	9.9±1.1	10.8±0.9	10.7±1.0	9.1±1.0	7.4±0.9	9.1±0.9	8.9±0.5	12.5±1.1	10.9±1.8
T	21.6±1.4	21.3±2.4	20.5±1.7	19.3±0.9	16.4±0.9	14.5±1.7	15.7±1.2	11.6±0.6	17.4±1.5	14.5±2.3
C_i	46.5±1.6	46.7±2.5	52.6±2.2	55.2±4.0	55.6±5.0	50.7±0.5	58.0±2.3	76.9±2.4	71.7±2.6	75.4±2.1

Abb. 8e

Abb. 8: a — e. Karyogramme von *Scilla ingridae* (Gartenherkünfte). a N = 6, b N = 5, c N = 5, d N = 10, e N = 7. Legende siehe Abb. 7.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

ausbreiten können, indem sie ihren Träger "zwingen", sie weiterzugeben [1, 2]. Es besteht folglich ein Gleichgewicht zwischen phänotypischer Selektion gegen B-Chromosomen und automatischer Akkumulation, was soviel bedeutet wie die Erhaltung eines suboptimalen Zustandes für die Population oder Art.

Was für B-Chromosomen gilt, gilt aber auch für jede DNA-Sequenz, die einen Mechanismus für Akkumulation innerhalb eines Genoms besitzt. ORGEL & CRICK (1980) sowie DOOLITTLE & SAPIENZA (1980) haben darauf hingewiesen, daß die Existenz der meist großen Mengen repetitiver DNA unbekannter Funktion im Eukaryotengenom keiner anderen Erklärung bedarf, als daß es sich dabei um Sequenzen handelt, die sich im Genom ausbreiten können. "Transposable elements", deren Transposition sehr wahrscheinlich mit Replikation und damit Verdopplung im Genom einhergeht (z.B. SHAPIRO 1979, HARSHEY & BUKHARI 1981), sind offenkundige Kandidaten für solche "egoistische DNA", die sich in erster Linie deswegen im Genom akkumulieren, weil sie einen sehr guten Mechanismus dafür besitzen. Es wäre daraus zu folgern, daß die Genomgröße, die für eine Art oder Population charakteristisch ist, im Hinblick auf die Fitness ihrer Träger nicht optimiert ist, sondern einen Kompromiß von phänotypischer Selektion gegen zu hohe DNA-Gehalte und intragenomischer Selbstakkumulation von Sequenzen darstellt. Weiters wäre zu folgern, daß jedes Nachlassen des phänotypischen Selektionsdruckes, wenn z.B. größere Zellen erwünscht werden, zumindest langsam, aber jedenfalls stetig wieder ein überoptimal großes Genom nach sich ziehen würde, da ja ständig ein Mutationsdruck nach oben besteht. So betrachtet ist nicht leicht einzusehen, wie ohne starken phänotypischen Selektionsdruck zugunsten kleinerer Genome ein evolutiver Trend zur DNA-Reduktion entstehen sollte. Man müßte etwa annehmen, daß intragenomische Konkurrenz zwischen gewissen kurzen und gewissen langen Sequenzen in Gang kommt, wobei die kurzen sehr gut darin sind, die langen herauszuschneiden und sich an ihre Stelle zu setzen. Allerdings wäre es verwunderlich, wenn nicht echte Gene aufträten, die darauf spezialisiert sind, mittels ihrer Produkte die "egoistischen" Sequenzen, die eine Last für ihren Träger darstellen, zu eliminieren, dadurch dessen Fitness zu erhöhen, um sich selbst in der Population auszubreiten.

Es scheint also sehr plausibel zu sein, daß es "egoistische" DNA in dem Sinn gibt, daß sie keine spezifische Wirkung auf den Phänotyp ausübt und eine Tendenz zur Selbstakkumulation besitzt (ORGEL & CRICK 1980). Es ist aber keineswegs gesagt, daß sie nur deswegen existiert, weil das Genom sie nicht loswerden kann. Selfish DNA — the useful idiot?

3.3. EVOLUTION DES HETEROCHROMATINS

3.3.1. Heterochromatin als additive, variable Genomkomponente

Die Untersuchung der Verteilung des H bei Tieren und Pflanzen hat von allem Anfang an gezeigt, daß H einer bedeutenden infraspezifischen und intraindividuellen Variation unterworfen sein kann (z.B. DEV et al. 1973, 1975, SCHWEIZER 1973, VOSA 1973). Diese Variabilität ermöglicht es zunächst, zu untersuchen, ob H 1) eine zusätzliche (additive) Komponente des Genoms darstellt, deren Variation eine Genomgrößenvariation bewirken würde, aber keine E-Variation, oder ob H eine Komponente ist, die eliminiertes E ersetzt, sei

---

[1] "I agree (with DARLINGTON and THOMAS) that the existence of fragments in equilibrium shows that they have a use. But it is not necessary that they are useful to the plants. They need only be "useful" to themselves". (ÖSTERGREN 1945).

[2] Wie DAWKINS (1976) allgemeinverständlich klargemacht hat, ist die Gültigkeit dieser Argumentation nicht auf B-Chromosomen beschränkt. Sie gilt für gewöhnliche Allele oder Gene ebenso, für die im Regelfall zutrifft, daß ihr Mechanismus für Akkumulation in der Population darin besteht, die Fitness ihres Trägers zu stärken. Das Wichtige dabei ist, daß dies ein Akkumulationsmechanismus ist. Wenn eine Genakkumulation durch Reduktion der Fitness des Genträgers erreicht werden kann, wird auch das passieren (Ausbreitung eines "Gens" für Altruismus, das die Reproduktionsrate seines Trägers reduziert, aber die Fitness von Individuen, die dieses Gen ebenfalls tragen, damit überkompensiert.)

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

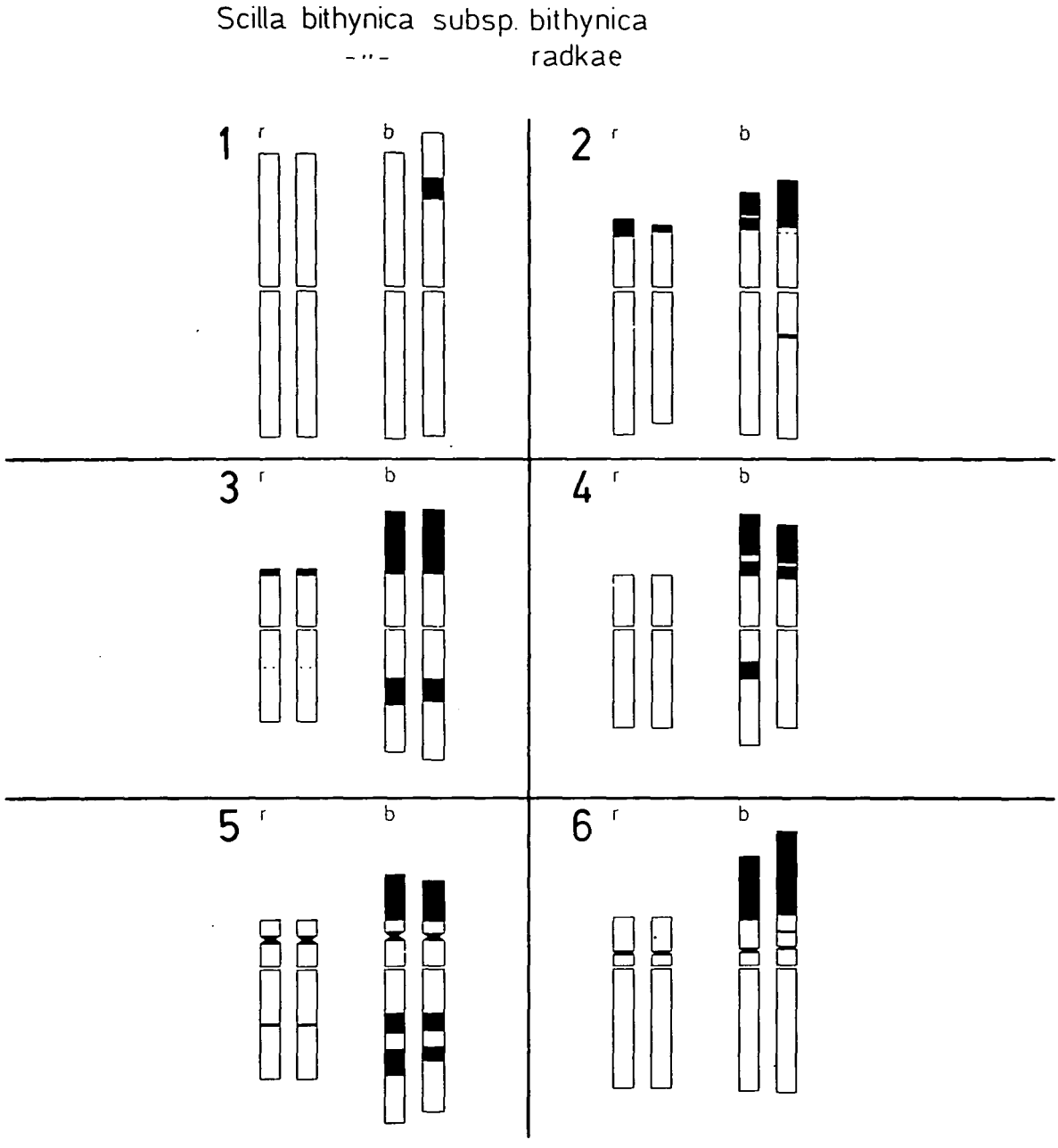


Abb. 9: Genomgrößen-gerechter Vergleich der Karyogramme von *Scilla bithynica* subsp. *radkae* (r) und *S. bithynica* subsp. *bithynica* (b).

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

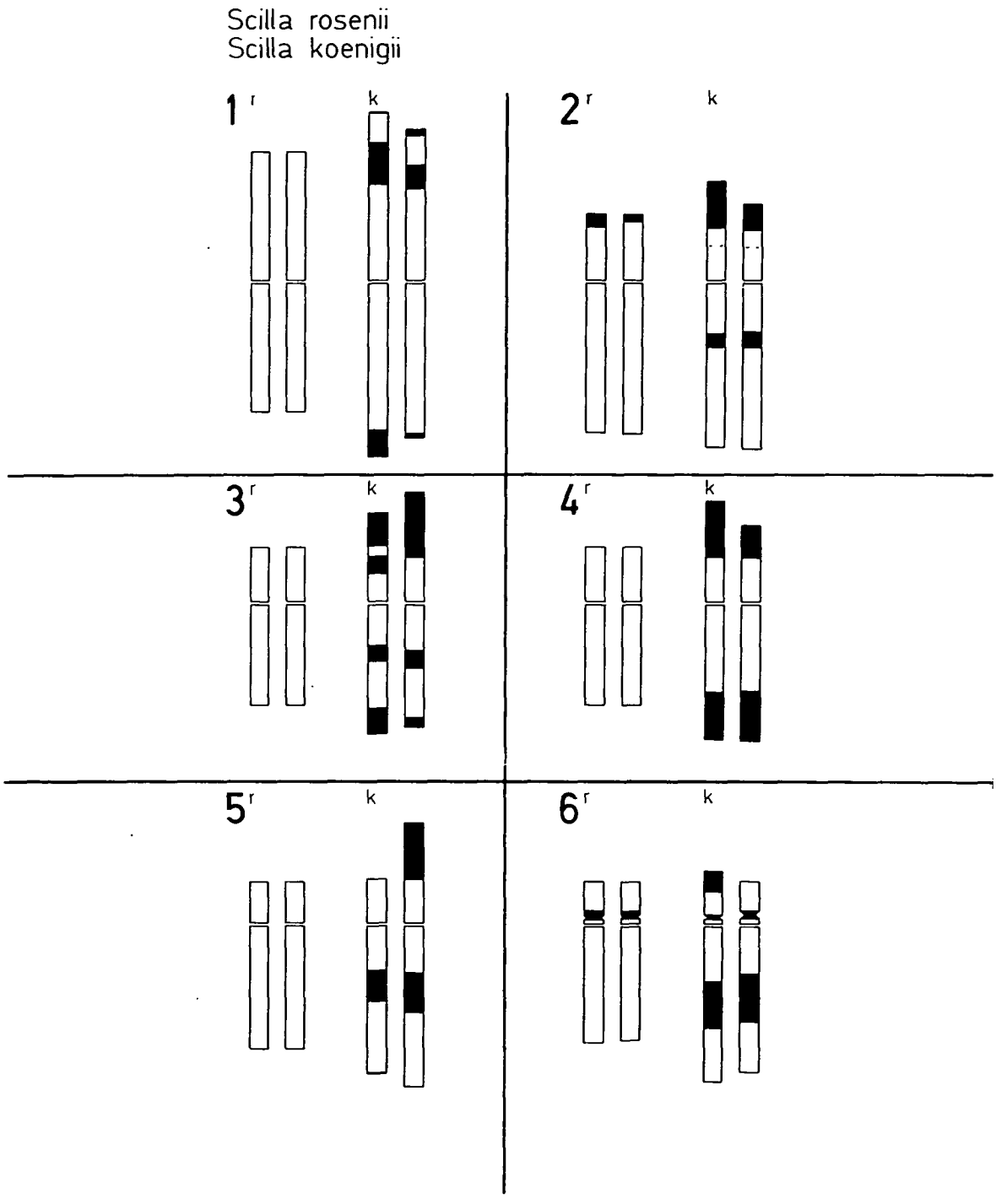


Abb. 10: Genomgrößen-gerechter Vergleich der Karyogramme von *Scilla rosenii* (r) und *S. koenigii* (k).

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

es, daß 2) E in H umgewandelt wird (Heterochromatisierung), sei es, daß 3) E deletiert wird und anschließend als mengenmäßiger Ersatz H (Satelliten-DNA) akkumuliert wird. Da H zumindest in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle Satelliten-DNA, also eine physikalisch separierbare DNA-Fraktion, enthält, ist man von vornherein geneigt, 2) auszuschließen. Es wurde jedoch gezeigt, daß aus jeder beliebigen Sequenz, die nicht der Selektion unterliegt (also nicht für ein wichtiges Produkt codiert oder Regulationsfunktion hat), im Lauf der Zeit hochrepetitive DNA wird, wenn man nur annimmt, daß zufällige Mutationen sowie ungleiche Austausche zwischen zwei Kopien des betreffenden DNA-Stücks (z.B. inäquale Schwesterchromatidenaustausche) vorkommen (SMITH 1976). In der Tat sprechen die chromosomenmorphologischen Befunde an den eu- oder heterochromatischen Geschlechtschromosomen von Schlangen (SINGH et al. 1976) für eine Umwandlung von strukturellem E in H. Nach KING (1980) sprechen die Karyotyp-Befunde an Leptodactyliden (*Amphibia, Anura*) für das Konzept der H-Entstehung durch E-Transformation. VOSA (1973, 1976, 1979) behauptet, daß bei *Scilla siberica* und mehreren *Allium*-Arten H das E ersetzt, zumindest in den meisten Fällen. Andererseits war schon früher an der additiven Natur des H beim Menschen nicht zu zweifeln, da sich bei C-Band-Varianten gewisser Chromosomen das G-Band-Muster streng konservativ verhält. Quantitative Studien stammen von GAEREDTS et al. 1975, und SUMNER 1977.

Ein einfacher Weg, diese Frage zu untersuchen, besteht in einer Vermessung von Karyotypen mit C-Band-Heteromorphismen (siehe Material und Methode). Wenn H eine Komponente ist, die E ersetzt, sollte man in der Metaphase keine Längenunterschiede bei homologen heteromorphen Chromosomen erwarten, konsequenterweise jedoch einen solchen im E. Wenn man annimmt, daß ersetzendes H eine höhere DNA-Dichte aufweist als das ersetzte E, sollte die E-Länge der verglichenen Varianten verschieden sein und die Gesamtlänge der H-reicheren Chromosomenarme kürzer sein als die der H-ärmeren Variante. Wenn H jedoch eine additive Komponente ist, sollte ein H-reiches Chromosom um genau seine zusätzliche C-Band-Länge länger sein als sein H-ärmeres Homologes.

Was man bei *Scilla* findet, ist bei nahezu allen verglichenen Chromosomenpaaren E-Konstanz und Längenvariation im H. Mit anderen Worten, ein größeres C-Band ist in aller Regel mit einem entsprechend verlängerten Chromosomenarm korreliert. Die wenigen Ausnahmen, wo statistisch signifikante Unterschiede im E gefunden wurden, sind demgegenüber entweder als Folgen einer vom H unabhängigen Variation des E (die es bekanntlich auch in weitgehend H-freien Karyotypen gibt) zu werten, oder sie beruhen auf den kleinen, leider unvermeidlichen systematischen Meßfehlern, die eher eine Überschätzung der H-Länge bewirken, insbesondere wenn die fraglichen Differenzen klein sind (GREILHUBER & SPETA 1976, 1978).

Es werden bisher unveröffentlichte Daten über *S. siberica* und *S. ingridae* präsentiert (Abb. 7, 8), die die bisher publizierten Karyogramme und Schlußfolgerungen von GREILHUBER (1979), GREILHUBER & SPETA (1978), und DEUMLING & GREILHUBER (1982) absichern und ergänzen. Die gegenteiligen Schlußfolgerungen von VOSA (1973, 1979) beruhen offensichtlich auf willkürlich hingezeichneten Karyogrammen, bei denen sogar eindeutige Homologisierungsfehler nachweisbar sind (VOSA 1979, Kritik siehe DEUMLING & GREILHUBER 1982). Auch bei *Allium*, bei dem nach VOSA (1976) das H stets das E ersetzen soll, wurde kürzlich die additive Natur des H karyometrisch nachgewiesen (LOIDL 1981).

Wenn verschiedene nah verwandte Taxa, die sich im H stark unterscheiden, verglichen werden, müßte sich aus den Karyogrammen ergeben, ob H eher additiv oder ersetzend ist (z.B. GREILHUBER & SPETA 1977). Ein direkterer Vergleich ist möglich, wenn zusätzlich die Genomgrößen bekannt sind. In der vorliegenden Arbeit werden die Karyogramme von Einzelindividuen der Schwester-Taxa *S. rosenii* — *S. koenigii* aus der *S. siberica*-Gruppe, und *S. bithynica* subsp. *radkae* — *S. bithynica* subsp. *bithynica* aus der *S. bithynica*-Gruppe genomgrößengerecht verglichen (Tabellen 1 — 7, Abb. 9, 10). Es ist direkt zu ersehen, daß weder auf intra- noch interkaryotypischer Ebene etwas anderes angenommen werden kann, als daß H eine additive Komponente des Genoms darstellt, die bei Akkumulation auf jeden Fall eine Genomvergrößerung bewirkt. Außerdem zeigt sich, daß die Annahme einer gleichen

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

DNA-Dichte in E und H sehr vernünftig sein muß. Kleine zwischenartliche Unterschiede im E zeigen sich zwischen *S. rosenii* und *S. koenigii* in den Chromosomen 1, 3, 4 und 6. Eine eingehende Diskussion dieser Arten wird an anderer Stelle erfolgen.

Diese Befunde eliminieren die Möglichkeit einer E- H-Umwandlung im großen Maßstab oder eines konzentrierten E-Verlusts bei H-Akkumulation. Sie sind aber natürlich kein Beweis dafür, daß nicht doch im submikroskopischen Bereich kurze Startsequenzen von Satelliten-DNA durch den von SMITH (1976) vorgeschlagenen Mechanismus entstehen. Hier erlaubt jedoch die Struktur der Satelliten-DNA von *S. siberica, S. amoena* und *S. ingridae,* die kürzlich von DEUMLING (1981) sequenziert wurde, eine Schlußfolgerung. Es handelt sich dabei bei allen drei Arten um dasselbe Palindrom von 33 Basenpaaren (hier nur 1 Strang der Grundsequenz dargestellt):

```
3' GGTGC^CTG  CT^CGGCG_C
   |||  |  ||  ||  ||||
5' CCATG_CAC_CGA_ACCGC^C
```

Nachdem durch das Modell von SMITH keine solchen Palindrome als primäre repeats gebildet werden, dürfte dieses Modell für *Scilla* ausscheiden.

3.3.2. Das Prinzip der "äquilokalen Heterochromatie" und seine kausale Erklärung

Bei *Scilla* folgt die intrakaryotypische Verteilung des H eher bestimmten Mustern als dem Zufall (GREILHUBER & SPETA 1976, 1977, 1978, GREILHUBER et al. 1981). Zum Beispiel findet man bei *Scilla siberica* die DAPI$^+$ Fraktion nur in perizentromerischer Position, die Q$^-$ und DAPI$^-$ Hauptfraktion nur terminal und in gewissen interkalaren Positionen. Besonders einheitlich erscheint die Position der C-Band-Scharen bei *S. mischtschenkoana.* In der *S. bifolia*-Verwandtschaft bietet die Evolutionsreihe der H-reichen Arten *S. vindobonensis — S. voethorum — S. resslii* (Abb. 4) die Möglichkeit, phylogenetisch neue C-Bänder zu identifizieren. Sie treten zunächst in Bezug auf das Zentromer symmetrisch zu einem bereits existierenden C-Band desselben Chromosoms auf. In der Folge werden die Muster C-Band-reicher Chromosomenschenkel von euchromatischen oder C-Band-ärmeren Schenkeln imitiert. Auffällig ist, daß schon bei der relativ wenig H-reichen *S. vindobonensis* das einzige metazentrische Chromosom üppig und symmetrisch bebändert ist. Die prinzipielle Regelmäßigkeit der H-Verteilung im Chromosomensatz einer Art wurde bereits in der Frühzeit der H-Erforschung von HEITZ (1932) entdeckt und als "äquilokale Heterochromatie" als die erste entdeckte Gesetzmäßigkeit der Karyotypstruktur — abgesehen vom Homologieprinzip — bewertet. Den hier erwähnten Beispielen könnten zahlreiche andere hinzugefügt werden (MARKS & SCHWEIZER 1974, SCHWEIZER & EHRENDORFER 1976, LOIDL 1979, 1981, LINDE—LAURSEN et al. 1980).

Die bevorzugten Orte der H-Akkumulation variieren bei verschiedenen Arten beträchtlich. Es gibt keine chromosomale Zone, die nicht ein solcher Ort sein könnte. Allerdings sind Zentromer- und Telomerregionen besonders häufig heterochromatisch. Zentromerregionen sind möglicherweise sogar immer C-Band-positiv, da perfektionierte Techniken nunmehr auch bei Arten positive Resultate gebracht haben, bei denen früher keine C-Bänderung des Zentromers möglich war, wie z.B. bei *S. mischtschenkoana* (GREILHUBER et al. 1981). Die Sequenz der heterochromatischen DNA selbst scheint für den Ort der Akkumulation nicht bedeutend zu sein, da z.B. bei *S. mischtschenkoana* und *S. siberica* dieselbe Sequenz in interkalar-distaler bzw. paracentromerischer Position auftritt. Bei *S. siberica, S. amoena* und *S. ingridae* tritt die Satelliten-DNA-Sequenz der H-Hauptfraktion sowohl interkalar als auch terminal auf.

Die Kausalität, die dem Phänomen der "äquilokalen Heterochromatie" zugrunde liegt, ist immer noch Gegenstand der Diskussion, die bisher allerdings nicht in der notwendigen Breite und Tiefe geführt wurde. Dies liegt wahrscheinlich daran, daß die erwünschte Fülle an quantitativen Daten, die für dieses Thema hauptsächlich bei Nicht-Vertebraten ge-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

wonnen werden müßten — Vertebraten haben meist nur centromerisches H — noch nicht vorliegt. An Konzepten wären zu nennen:

1.) Karyotypische Orthoselektion (WHITE 1973). Erfordernisse der Zell- und Spindelgeometrie sowie Umweltverhältnisse würden einen Selektionsdruck dahingehend ausüben, daß die Chromosomen eines Komplements einander ähnlicher sind, als dem Zufall entsprechen würden. In der Tat kann man sich leicht vorstellen, daß z.B. einzelne zu lange Chromosomen wegselektiert würden, weil sie die Zellteilung stören und deshalb nicht überleben würden. Überdurchschnittlich homomorphe Karyotypen würden bevorzugt auftreten. Umweltfaktoren könnten eine Erhöhung oder Verminderung der Anzahl der Kopplungsgruppen bevorzugen — einheitlich telozentrische oder metazentrische Chromosomensätze könnten resultieren. Falls H die Crossover-Position kausal beeinflußt, was der Fall zu sein scheint (s. 3.3.5), könnte bei geeignetem Selektionsdruck z.B. durch terminale H-Akkumulation die Rekombinationsrate auf das Niveau der interchromosomalen Rekombination gedrückt werden. Es ist jedoch schwer vorstellbar, wie durch äußere Selektion Karyotypen ausgelesen werden sollen, die etwa nach folgender Regel gebändert sind: "Kein C-Band liegt näher am Zentromer als der Länge des kürzesten Chromosomenarms des Karyotyps entspricht", wie das für H-reiche *Allium*-Arten der Sektion *Codonoprasum* von LOIDL (1981) augenfällig herausgearbeitet wurde. Dieselbe Regel läßt sich ohne Schwierigkeiten auch auf alle bisher präsentierten *Scilla*-Karyotypen anwenden.

2.) Das Konzept des "Chromosomen-Feldes" (LIMA-DE FARIA 1954, 1976, 1980). Was es besagt, ist am besten durch folgende Zitate auszudrücken: "The chromosome field is defined as the dynamic system of molecular interactions between the various chromosome regions in which all the parts are interrelated and in equilibrium so that a change in any one chromosome segment will affect the whole. The field concept stresses the ordered organization of the eukaryotic chromosome and the molecular inter-dependence of its chromosome regions as opposed to a mechanical and random relationship between its parts". "The chromosome field became established in the course of evolution when the change took place from proto eukaryotes. The eukaryotic chromosome became so large, that it could not be maintained as a coherent functional unit without systems of intra-chromosomal communication that determined its maximum effective length and the effective location of its component genes". "All eukaryotic chromosomes have the same basic field organization, as the distribution of ribosomal genes is essentially the same in algae and man" (LIMA-DE-FARIA 1976). Ein Ordnungsprinzip wird also behauptet, weil Regelmäßigkeit gefunden wird. Eine Sequenz ist deshalb dort wo sie ist, weil sie nur dort sein und funktionieren können soll. Und wenn dieselbe Sequenz einmal ganz woanders auftritt, wie z.B. die perizentromerische Sequenz von *S. siberica,* die bei *S. mischtschenkoana* interkalar-distal liegt? Die Antwort lautet: "If a given DNA sequence which occupies a specific site in the field is found at a deviating location, it is to be expected that this DNA sequence has not the same molecular constitution as the standard type or its function has been modified. The extent of the two types of changes may depend on the DNA sequence itself and on its neighbouring sequences. A corollary is that the properties and function of a given DNA sequence are dependent on its position within the field" (LIMA-DE-FARIA 1980). Womit das Geheimnis der Chromosomenstruktur und -funktion gelöst wäre.

Ich möchte bescheidener sein und an dieser Stelle die Möglichkeit diskutieren, daß die Regelmäßigkeit der C-Band-Muster dadurch bedingt sein mag, daß die Distribution von Satelliten-DNA-Sequenzen, wie immer der Mechanismus sein mag, in einem **räumlich geordneten Zellkern** erfolgt. Interchromosomale H- bzw. Satelliten-DNA-Verteilung muß sicherlich als stufenweiser Prozeß verstanden werden. Der genaue Mechanismus ist noch nicht identifiziert, könnte aber mittels Nichtschwesterchromatiden-Austauschen (siehe HOEHN & MARTIN 1973) oder Transposition wie bei mobilen genetischen Elementen erfolgen (siehe BRUTLAG 1980). Interchromosomaler C-Band-Transfer infolge von Nichtschwesterchromatiden-Austauschen ist bei Säugetierzellen nach Mitomycin C Behandlung beobachtet wor-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

den, die bekanntlich Schwesterchromatidenaustausche (SCEs) verursacht. Die erhöhte Frequenz von SCEs an der E- H-Grenze könnte ein Phänomen sein, das die interchromosomale C-Band-Verteilung fördert. Transposition als Verteilungsmechanismus liegt hingegen wegen der palindromischen Struktur der meisten Satelliten-DNAs nahe: "The presence of mobile elements within highly repeated arrays suggests that they might be involved in the transposition of sequences from chromosome to chromosome" (BRUTLAG 1980). Die Sequenz von *S. siberica* ist ein Extremfall von palindromischer Struktur (DEUMLING 1981).

Welcher Mechanismus auch immer wirksam sein mag, es ist evident, daß die Verteilung der Sequenzen stark vom physischen Kontakt und damit von der räumlichen Anordnung der Chromosomen im Moment des Sequenz-Transfers abhängt. Es gibt mehrere Regelmäßigkeiten der Zellkern-Organisation, die für diesen Sachverhalt von Bedeutung sind:

1.) Infolge der Anaphasebewegung sind die Chromosomen auch im Interphasekern polarisiert angeordnet, wobei Zentromere und Telomere auf gegenüberliegenden Polen des Kerns zu liegen kommen (RABL 1885).

2.) Chromosomenschenkel, die demselben Chromosom angehören, sind notgedrungen nächstgelegene Nachbarn.

3.) Telomere und oft auch Zentromerregionen sind an der Kernhülle angeheftet, wie sicherlich andere Chromosomenregionen — vielleicht immer dieselben — auch (z.B. COMINGS 1968, GREILHUBER 1972).

Weitere, allerdings weniger gut gesicherte Regelmäßigkeiten der Kernorganisation, die von Bedeutung sein könnten, sind:

4.) Somatische Assoziation homologer bzw. homoeologer Chromosomen (AVIVI & FELDMAN 1980),

5.) somatische Assoziation von nukleolusorganisierenden Chromosomen, die auf der Fusionstendenz der Nukleolen basiert,

6.) präferentielle somatische Assoziation von Chromosomen, die dieselbe Satelliten-DNA bereits enthalten, das sogenannte 'ectopic pairing' (MAYFIELD & ELLISON 1975),

7.) eine noch als hypothetisch zu betrachtende Telomer-Telomer Assoziation der Chromosomen eines haploiden Satzes, wodurch jeder Chromosomenarm mit einem bestimmten anderen in der Interphase assoziiert wäre (ASHLEY & POCOCK 1981). Nimmt man an, daß der Sequenz-Transfer nicht in einer Interphase der Keimbahn, sondern in der meiotischen Prophase erfolgt, sind ganz ähnliche Bedingungen gegeben, da die Bouquet-Orientierung der Chromosomen ähnliche Folgen wie die Rabl-Orientierung haben müßte.

Sobald ein Satelliten-DNA-Segment einmal irgendwo an einem Chromosom etabliert ist, würden häufig oder permanent benachbarte Chromosomenschenkel mit höherer Wahrscheinlichkeit die Sequenz oder ein ganzes C-Band transferiert bekommen als seltener oder gar nie benachbarte. Zentromerische Sequenzen würden wieder auf Zentromerregionen anderer Chromosomen verteilt werden, telomerische Sequenzen auf andere Chromosomenenden oder auf interkalare Regionen anderer Schenkel in einem entsprechenden Abstand vom Zentromer-Pol des Zellkerns. In zweischenkeligen Chromosomen würden Satelliten-DNA-Sequenzen präferentiell von einem Arm auf den anderen transferiert werden, wodurch stark symmetrische Bändermuster entstehen müßten. Die auffallende Symmetrie der vorwiegend metazentrischen Chromosomen von *Anacyclus* wurde mit der ständigen Assoziation der Chromosomenschenkel eines Chromosoms in Zusammenhang gebracht (SCHWEIZER & EHRENDORFER 1976). Der gleichartige Sachverhalt in der *S. bifolia*-Verwandtschaft gewinnt durch die Kenntnis der Richtung, in der die karyotypischen Veränderungen erfolgt sind, zusätzliches Gewicht. Obwohl also die Kerngeometrie als primäre Determinante der C-Band-Evolution erscheint, sei betont, daß die Selektion im Hinblick auf H-Menge (Nukleotyp!) und Orte der Akkumulation (Positionseffekt, Rekombination) auf eine nicht unmittelbar voraussagbare Weise auf die Evolution von Bändermustern Einfluß haben dürfte.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

3.3.3. Phylogenetisch unabhängige Amplifikation der selben Satelliten-DNA-Sequenz

Es war bislang nicht möglich, aus der Basenabfolge einer beliebigen Satelliten-DNA-Sequenz eine Funktion abzulesen (JOHN & MIKLOS 1980). Generell ist nicht ersichtlich, warum eine Satelliten-DNA genau die Sequenz haben sollte, die sie hat, da sie nicht für ein Protein codiert und — soweit man das wissen kann — auch keine Regulationsfunktion ausübt. Es wäre also äußerst unwahrscheinlich, daß zwei genau gleiche Sequenzen phylogenetisch unabhängig voneinander amplifiziert würden. Findet man bei zwei Arten gleiche Sequenzen, wäre auf Gleichheit durch gemeinsame Abstammung zu schließen. Dieser Argumentation kann man sich nicht entziehen, wenn man die spezifischen, aber in ihrer Verteilung prinzipiell ähnlichen in-situ Kreuzhybridisierungsmuster bei *S. siberica, S. amoena* und *S. ingridae* betrachtet. Die gemeinsame Phylogenie versagt aber als Erklärungsmöglichkeit für die Kreuzhybridisierungs-Muster von *S. mischtschenkoana* und *S. siberica.* Die bei *S. mischtschenkoana* dominierende und im interkalar-distalen H lokalisierte Satelliten-DNA-Fraktion kommt auch bei *S. siberica* vor, doch zumindest in hoher Konzentration nur im parazentromerischen H, nicht aber im mengenmäßig viel umfangreicheren interkalar-terminalen. Diese Situation könnte folgendermaßen erklärt werden:

1.) Konzertierte Verlagerung der Sequenzen durch Inversionen. Diese Erklärung ist sehr unwahrscheinlich, besonders wenn man die gruppenweise Anordnung der H-Segmente bei *S. mischtschenkoana* bedenkt, und bedarf zusätzlicher Annahmen, nämlich entweder zusätzliche Inversionen bei *S. mischtschenkoana,* oder Deletion der nicht-parazentromerischen Segmente bei *S. siberica.*

2.) Die gemeinsame Stammform der beiden Arten könnte in beiden Positionen, interkalar-distal als auch parazentromerisch, diesen H-Typ besessen haben. Die phylogenetische Diversifikation wäre von differentieller Elimination in der einen oder der anderen Position begleitet gewesen. Hinweise dafür gibt es nicht, es wäre eine *Scilla* sp. mit der 'primitiven' H-Verteilung aufzufinden, die auch aus anderen Gründen als Stammform in Betracht kommen müßte.

3.) Dieselbe Sequenz wäre unabhängig bei den beiden Arten in verschiedenen Positionen amplifiziert worden. So unwahrscheinlich diese Möglichkeit klingt, so erscheint sie doch real, weil bei entfernt verwandten Nagern, die seit 40 Millionen Jahren phylogenetisch getrennt sind, dieselbe Sequenz gefunden wurde, obwohl näher verwandte Arten diese nicht enthalten. Aufgrund dieser ihrer Befunde formulierten FRY & SALSER (1977) die sogenannte "library hypothesis", deren Grundaussage darin besteht, daß amplifizierte Satelliten-DNAs nicht von zufällig und jedesmal neu ausgewählten Grundsequenzen abstammen, sondern daß im Genom eine "Bibliothek" von potentiellen Satelliten-DNA-Sequenzen vorliegt, deren konkrete Basenabfolge durch Selektion stabil gehalten wird, und die bei "Bedarf" amplifiziert werden. Da jede Funktion von Satelliten-DNA wahrscheinlich durch sequenzspezifische Proteine vermittelt würde, wäre eine parallele "Bibliothek" von Genen für diese "Erkennungsproteine" zu postulieren. Diese Proteine würden auch den Selektionsdruck in Richtung Sequenz-Konservierung liefern. Wenn die Library-Hypothese für *S. siberica* und *S. mischtschenkoana* zutrifft, ergibt sich natürlich für die taxonomischen und phylogenetischen Schlußfolgerungen aus Satelliten-DNA-Befunden eine wesentliche Konsequenz: Wenn dieselbe Sequenz bei verschiedenen Arten unabhängig voneinander in verschiedenen chromosomalen Positionen amplifiziert werden kann, dann kann sie das auch in ähnlichen Positionen werden, was zu schwer entdeckbaren Konvergenzen führen könnte.

3.3.4 Evolutiver Wandel und intrakaryotypische Homogenität von Heterochromatin

Innerhalb eines Karyotyps kommen stets nur wenige cytochemische H-Typen vor, wobei jeder eine charakteristische Verteilung im Chromosomensatz aufweist. So kommt z.B. bei *S. siberica* im parazentromerischen Bereich und nur dort eine $DAPI^+$ Fraktion vor, wogegen eine $DAPI^-$ Fraktion nur interkalar und terminal zu finden ist, usw. Alle H-Abschnitte eines Typs scheinen qualitativ ununterscheidbar zu sein, woraus auf einen sehr gleich-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

artigen molekularen Aufbau zu schließen ist, der sich mit in situ Hybridisierung und DNA-Sequenzierung direkt nachweisen läßt (DEUMLING & GREILHUBER 1982, DEUMLING 1981). Bei nahe verwandten Arten kommen identische Sequenzen in so ähnlicher Verteilung vor, daß man an einer phylogenetischen Kontinuität nur ungern zweifelt. Bei *S. siberica, S. amoena* und *S. ingridae* kommt dieselbe Satelliten-DNA-Sequenz in interkalar-terminalen H-Blöcken vor, und diese Arten zeigen in den betreffenden H-Blöcken eine perfekte Kreuzhybridisierung, die sich von einer Hybridisierung mit endogener Satelliten-DNA nicht unterscheidet. Andererseits wurde gezeigt, daß mit den Fluorochromen DAPI und Quinacrin doch ein zwischenartlicher Unterschied zwischen *S. siberica* einerseits und *S. amoena* und *S. ingridae* andererseits nachgewiesen werden kann (DEUMLING & GREILHUBER 1982; Abb. 5). Die Abhängigkeit mancher Fluoreszenzcharakteristika von der Fixierungsdauer spricht dabei gegen einen ausschließlichen Unterschied in der DNA, der ja z.B. bei gleichbleibender Satelliten-DNA-Sequenz durch eingestreute andere Sequenzen bedingt sein könnte. Vielmehr könnte ein solcher Unterschied durch Proteine hervorgerufen werden, die speziell mit bestimmten H-Typen assoziiert sind. Die Frage, die in diesem Abschnitt zur Diskussion steht, lautet also: Wenn H einem evolutiven Wandel unterworfen ist, warum wandeln sich alle H-Segmente eines bestimmten Typs innerhalb eines Karyotyps gleichsinnig? Ich möchte einige Denkmöglichkeiten erwähnen, die sich an die in Kapitel 3.2.3 diskutierten Vorstellungen anschließen (Lit. siehe dort):

Satelliten DNA könnte aus einer primär funktionslosen Ausgangssequenz entstanden sein, die als direkter Folge ihrer Struktur einen Mechanismus für Transposition und damit für Ausbreitung im Genom besitzt. Es ist anzunehmen, daß das Integrationsereignis mit Replikation verbunden ist, sodaß eine zunächst einmal vorhandene Sequenz nach der Transposition zweifach im Genom vorhanden ist. Gleichzeitig existieren andere, nicht homologe, transpositionsfähige Sequenzen, die sich ebenfalls im Genom ausbreiten. Außerdem entstehen Mutanten der Ausgangssequenz, die u.U. erhöhte Ausbreitungsfähigkeit besitzen. Sobald zwei gleiche Sequenzen auf einem Chromosom nebeneinander zu liegen kommen, was bei der transpositionsfreudigsten Sequenz zuerst geschehen wird, könnten erhöhte Repetitionsgrade durch inäquale Austausche zustande kommen. Dieser Ausbreitung wird jedoch aus nukleotypischen oder genetischen Gründen ein Riegel (natürliche Auslese) vorgeschoben, wenn die Zellzyklen zu lange, die Zellkerne zu groß, die Rekombination zu eingeschränkt oder wichtige Gene funktionell beeinträchtigt werden.

Es wäre denkbar, daß durch intragenomische Selektion die transpositionsfähigste Satelliten-DNA-Sequenz die anderen konkurrierenden Sequenzen weitgehend verdrängt. Es wäre lediglich vorauszusetzen, daß ein Mechanismus für gelegentliche Elimination von bereits existierenden Sequenzen besteht. Allerdings ist die räumliche Organisation des Zellkerns derart, daß auch für eine transpositionsfreudige Sequenz Regionen existieren, wo sie infolge des Verdünnungseffektes geringere Chancen für Insertion besitzt als eine weniger transpositionsfreudige. Genau das ist es, was bei *Scilla siberica* sowie bei vielen anderen Pflanzen zu beobachten ist: sehr wenige, lagemäßig getrennte H-Typen innerhalb eines Karyotyps. Allerdings muß gesagt werden, daß die auf "egoistischer DNA" beruhenden Vorstellungen der Sequenz-Akkumulation unter Bedingungen der phänotypischen Selektion (Nukleotyp) noch nicht mathematisch bearbeitet sind, und allzu weit gehende Spekulationen daher gewagt sind (SMITH 1980).

Zwischenartlicher Wandel könnte also als intragenomischer Selektionsprozeß zugunsten immer transpositionsfreudiger Sequenzen verstanden werden. Nicht erklärt wird dadurch allerdings, warum bei zwei verwandten Arten zwei präsumtiv konkurrierende Sequenzen offenbar eng benachbart nebeneinander vorkommen können, und zwar jede Sequenz bei einer der beiden Arten weitaus dominierend, wie dies bei *S. mischtschenkoana* und *S. siberica* in der H-Hauptkomponente der Fall ist (DEUMLING & GREILHUBER 1981).

Es scheint, daß bei obigem Modell die Rolle der chromosomalen Proteine ungebührlich vernachlässigt wurde. Man weiß mittlerweile, daß Satelliten-DNA mit spezifischen Sequenzerkennenden Proteinen assoziiert ist (BRUTLAG 1980, SCHMIDT & KEYL 1981). Das heißt also, daß für jede Satelliten-DNA auch ein oder mehrere Strukturgene existieren müssen, die das/die zugehörigen Proteine codieren. Genau das wurde ja von der "Library-Hypothese"

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

postuliert. Ich würde spekulieren, daß Satelliten-DNA, die kein Erkennungsprotein bekommt, etwa weil das Gen reprimiert ist, mutiert ist oder deletiert wurde, in kürzester Zeit aus dem Genom herausgeschnitten wird.

Es ist nun evident, daß

1) die Menge an Satelliten-DNA, die ein Genom beinhaltet, durch die Menge an Erkennungsprotein, das produziert wird, limitiert sein könnte,

2) die Sequenzkonservierung oder -variation auch davon abhängt, wie tolerant das Erkennungsprotein ist bzw. wie viele Isoproteine codiert und produziert werden,

3) eine neutrale Erkennungsproteinmutante den cytochemischen Charakter von H pauschal verändern kann, ohne daß sich an der DNA-Sequenz etwas ändern muß,

4) auch mehrere Satelliten-DNA-Sequenzen nebeneinander existieren können, wenn akkumulationslimitierende Mengen der betreffenden Erkennungsproteine vorhanden sind.

Soweit es die H-Mengen betrifft, werden also drei Grundfaktoren unterschieden, die für die Gesetz- oder Regelmäßigkeiten der H-Evolution wesentlich sein dürften:

a) die Eigendynamik transpositionsfähiger, sprunghaft replizierbarer, inäqual rekombinierbarer DNA,

b) die limitierende Rolle sequenzspezifischer Erkennungsproteine,

c) die limitierende Rolle der Selektion durch die Umweltfordernisse.

Nach a) würde ein trotz starker Variationsbreite steter, langsamer Anstieg der mittleren H-Menge/Genom erfolgen, wobei c) einer Mengenzunahme entgegenwirkt bzw. diese beendet, und eine starke Selektion unter den Sequenzen in Gang setzt. Eine Reduktion der H-Menge durch c) ist leicht möglich, da H-ärmere Varianten stets vorliegen (Deletion, inäquale Austausche). Es wäre somit zu erwarten, daß jede Art (Population) einen äquilibrierten H-Gehalt hat, der nicht wesentlich höher, aber doch wohl niedriger sein könnte, ohne die Fitness einzuschränken. Diese Voraussage kann jedoch nur mit Vorbehalt gemacht werden, weil durch b) entschieden wird, ob eine noch so "egoistische" Sequenz überhaupt im Genom erhalten werden kann oder wieder entfernt wird, und wieviel angehäuft wird. Die Parameter von Satelliten-DNA in einem Genom könnten daher u.U. auch weitgehend von neutralen Mutationen einiger weniger Gene für Erkennungsproteine bestimmt werden.

3.3.5. Spezifische Funktion von Heterochromatin?

Es wird weithin angenommen, daß H bzw. Satelliten-DNA keine vitale Funktion ausübt (JOHN 1981). Die starken und erratischen Schwankungen, die man in der Menge dieser Genomkomponente bei *Scilla* wie auch bei vielen anderen Organismengruppen finden kann, erscheint als ein hinreichendes Argument für diese Ansicht. Man sollte jedoch bedenken, daß Chromosomenregionen von sehr vitaler Bedeutung, nämlich Nukleolus-organisierende Regionen sowie Zentromerregionen wahrscheinlich immer C-Band-positiv und damit heterochromatisch sind. Obwohl C-Band-negative Zentromerregionen in der Vergangenheit bei *Scilla* mehrfach registriert worden sind, liegt nach neueren Befunden mit verbesserter Technik der Verdacht nahe, daß methodische Gründe für negative Befunde maßgeblich waren (GREILHUBER & SPETA 1978, GREILHUBER et al. 1981). NORs sind notorisch C-positiv. Man muß allerdings auch hier erwähnen, daß methodische Gründe für negatives oder 'inverses' Färbeverhalten verantwortlich sein können. Die einleitende Behauptung sollte also dahingehend modifiziert werden, daß bei großen H-Mengen wohl der Großteil keine vitale Funktion hat, daß dies aber von den kleinen, obligaten H-Mengen am Zentromer, an der SAT-Zone, vielleicht auch an den Telomeren, nicht mit dieser Sicherheit behauptet werden kann. Es könnte z.B. sein, daß das offenbar stets vorhandene NO-assoziierte H, das nachweislich ribosomale Gene enthalten kann (DOERSCHUG 1976), für die Regulation der NOR wesentlich ist bzw. in bestimmten Entwicklungsstadien aktiviert werden muß oder kann. Es gibt bei *Vicia faba* (KNÄLMANN & BURGER 1977, SCHUBERT et al. 1978),

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Triturus (HUTCHINSON & PARDUE 1975) und *Xenopus* (PARDUE et al. 1973) Hinweise dafür, daß die loci der 5 S rRNA, die bekanntlich nicht mit denen der 18/28 S bzw. 18/25 S rRNA kombiniert sind, mit C-positiven Segmenten in räumlichen Zusammenhang gebracht werden können. Bei *Triturus* sind Histon-Gene mit Satelliten-DNA-Sequenzen interspergiert und werden während der Oogenese gemeinsam transcribiert (GALL et al. 1981). Diese Fakten deuten stark auf eine regulatorische Funktion von Satelliten-DNA.

Zentromerisches H wurde von Anbeginn an mit der Zentromerfunktion in Zusammenhang gebracht (WALKER 1971, HOLMQUIST & DANCIS 1979). Die teilweise beachtlichen Massen von H sind vermutlich mit der Zentromerfunktion nicht in grundsätzlichen Zusammenhang zu bringen, da Zentromere ohne viel H ebenfalls funktionieren. Dies muß aber keineswegs bedeuten, daß nicht eine Mindestmenge von H, z.B. als Spacer und Regulationselement für die aktiven Sequenzen der Kinetochor-organisierenden Region (KOR), vorhanden sein muß (HOLMQUIST & DANCIS 1979). Ähnlich wie beim NO-assoziierten H könnte eine gewisse Menge an parazentromerischem H notwendig sein, wenn in gewissen Entwicklungsstadien (z.B. Meiose) eine modifizierte KOR benötigt würde.

Die Evidenz in Bezug auf die Funktion von zentromerischem H ist besonders spärlich. Immerhin wurde von HEPPICH (1980) und HEPPICH et al. (1982) gezeigt, daß die prämeiotische Genom-Elimination und nachfolgende Duplikation des verbleibenden Genoms beim hybridogenetischen Spezies-Bastard *Rana esculenta* mit einem cytochemisch nachweiswaren molekularen Unterschied im zentromerischen H der elterlichen Genome verbunden ist.

Davon abgesehen, können Effekte von H, die sich aus seiner Akkumulation ergeben, durchaus den Charakter von Funktionen annehmen, und zwar in dem Sinne, daß in bestimmten Situationen eine positive adaptive Bedeutung für H-Akkumulation in bestimmten chromosomalen Positionen postuliert werden kann. Wie verschiedentlich gezeigt wurde, sind Crossover-Frequenz und -Position mit C-Bändern korreliert, sei es, Daß Crossover in H-Nähe vermindert auftreten (MIKLOS & NANKIVELL 1976), sei es, daß Crossover in der Nähe von C-Bändern oder fast ausschließlich an die H-E-Grenzen gebunden auftreten (JONES 1978, LOIDL 1979). In allen Fällen resultiert eine Einschränkung der Rekombination, was eine Fixierung von bestimmten Allelkombinationen bedeutet.

Schließlich sei nochmals betont, daß jede H-Akkumulierung auch den Nukleotyp verändert, und zwar in der Weise, daß Zellzyklus-Verlangsamung und Zell-Vergrößerung zu erwarten ist. Obwohl unter 3.2.3. und 3.3.4. dieser Aspekt als Folge der Selbstakkumulationstendenz von "egoistischer DNA" diskutiert wurde, ist es denkbar, daß unter bestimmten Bedingungen eine positive Selektion zugunsten erhöhter H-Mengen aus nukleotypischen Gründen erfolgt.

Danksagung

Herrn Dr. P.F. YEO, dem Leiter des Botanischen Gartens der Universität Cambridge, möchte ich an dieser Stelle meinen speziellen Dank für die mehrmalige Überlassung von Lebendmaterial aussprechen. Herr cand. phil. Josef LOIDL hat mich bei der DNA-Photometrie, Karyometrie und graphischen Arbeit vorbildlich unterstützt. Herrn Wiss. Oberrat Dr. Franz Speta danke ich für die ständige Zusammenarbeit herzlich. Die Untersuchung wurde von der 'Hochschuljubiläumsstiftung der Stadt Wien' gefördert (Leitz MPV II Cytophotometer).

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

LITERATUR

ARRIGHI, F.E., HSU, T.C. (1971): Localization of heterochromatin in human chromosomes. — Cytogenetics **10**, 81-86.

ASHLEY, T., POCOCK, N. (1981): A proposed model of chromosomal organization in nuclei at fertilization. — Genetica **55**, 161-169.

AVIVI, L., FELDMAN, M. (1980): Arrangement of chromosomes in the interphase nucleus of plants. — Hum. Genet. **55**, 281-295.

BENNETT, M.D. (1972): Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. — Proc. R. Soc. Lond. B **181**, 109-135.

BOSTOCK, C.J., PRESCOTT, D.M., HATCH, F.T. (1972): Timing of replication of the satellite and mainband DNAs in cells of the kangaroo rat (*Dipodomys ordii*). — Exp. Cell Res. **74**, 487-495.

BRUTLAG, D.L. (1980): Molecular arrangement and evolution of heterochromatic DNA. — Ann. Rev. Genet. **14**, 121-144.

CASPERSSON, T., ZECH, L., MODEST, E.J., FOLEY, G.E., WAGH, U., SIMONSSON, E. (1969): DNA-binding fluorochromes for the study of the metaphase nucleus. — Exp. Cell Res. **58**, 141-152.

CAVALIER-SMITH, T. (1978): Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. — J. Cell Sci. **34**, 247-278.

— (1980): How selfish is DNA? — Nature **285**, 617-618.

COMINGS, D.E. (1968): The rationale for an ordered arrangement of chromatin in the interphase nucleus. — Amer. J. Human. Genet. **20**, 440-460.

DAWKINS, R. (1976): The Selfish Gene. — Oxford University Press.

DEUMLING, B. (1981): Sequence arrangement of a highly methylated satellite DNA of a plant, *Scilla*: A tandemly repeated inverted repeat. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78**, 338-342.

— , GREILHUBER, J. (1982): Characterization of heterochromatin in different species of the *Scilla siberica* group (*Liliaceae*) by in situ hybridization of satellite DNAs and fluorochrome banding. — Chromosoma (Berl.), (im Druck).

DEV, V.G., MILLER, D.A., MILLER, O.J. (1973): Chromosome markers in *Mus musculus:* strain differences in C-banding. — Genetics **75**, 663-670.

— , — TANTRAVAHI, R., SCHRECK, R.R., RODERICK, T.H., ERLANGER, B.F., MILLER, O.J. (1975): Chromosome markers in *Mus musculus:* differences in C-banding between the subspecies *M.m. musculus* and *M.m. molossinus.* — Chromosoma **53**, 335-344.

DOERSCHUG, E.B. (1976): Placement of genes for ribosomal RNA within the nucleolar organizing body of *Zea mays.* — Chromosoma (Berl.) **55**, 43-56.

DOOLITTLE, W.F., SAPIENZA, C. (1980): Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. — Nature **284**, 601-603.

FRY, K., SALSER, W. (1977): Nucleotide sequences of HS-$\mathcal{L}$ satellite DNA from kangaroo rat *Dipodomys ordii* and chracterization of similar sequences in other rodents. — Cell **12**, 1069-1084.

GERAEDTS, J.P.M., PEARSON, P.L., PLOEM, M. van der, VOSSEPOEL, A.M. (1975): Polymorphism for human chromosomes 1 and Y: Feulgen and UV DNA measurements. — Exp. Cell Res. **95**, 9—14.

GALL, J.C., STEPHENSON, E.C., ERBA, H.P., DIAZ, M.O., BARSACCHI-PILONE, G. (1981): Histone genes are located at the sphere loci of newt lampbrush chromosomes. — Chromosoma (Berl.) **84**, 159-171.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

GOTTLIEB, L.D. (1981): Gene numbers in species of *Asteraceae* that have different chromosome numbers. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78,** 3726-3729.

GREILHUBER, J. (1972): Karyologische Untersuchungen an Scrophulariaceen, insbesondere Pedicularieen. — Diss. Wien.

— (1973): Differentielle Heterochromatinfärbung und Darstellung von Schraubenbau sowie Subchromatiden an pflanzlichen somatischen Chromosomen in der Meta- und Anaphase. — Österr. Bot. Z. **121,** 1—11.

— (1973): Differential staining of plant chromosomes after hydrochloric acid treatments (Hy bands). — Österr. Bot. Z. **122,** 333-351.

— (1974): Hy-banding: A new quick technique for heterochromatin staining in plant chromosomes. — Naturwissenschaften **61,** 170-171.

— (1975): Heterogeneity of heterochromatin in plants: Comparison of Hy- and C-bands in *Vicia faba.* — Pl. Syst. Evol. **124,** 139-157.

— (1977): Why plant chromosomes do not show G-bands. — Theor. Appl. Genet. **50,** 121-124.

— , SPETA, F. (1976): C-banded karyotypes in the *Scilla hohenackeri* group, *S. persica,* and *Puschkinia* (*Liliaceae*). — Pl. Syst. Evol. **126,** 149-188.

— , — (1977): Giemsa karyotypes and their evolutionary significance in *Scilla bifolia, S. drunensis,* and *S. vindobonensis (Liliaceae).* Pl. Syst. Evol. **127,** 171-190.

— , — (1978): Quantitative analyses of C-banded karyotypes, and systematics in the cultivated species of the *S. siberica* group (*Liliaceae*). — Pl. Syst. Evol. **129,** 63-109.

— , DEUMLING, B., SPETA, F. (1981): Evolutionary aspects of chromosome banding, heterochromatin, satellite DNA, and genome size in *Scilla (Liliaceae).* — Ber. Dtsch. Bot. Ges. **94,** 249-266.

HARMER, M. (1980): Beitrag zur Chemotaxonomie der Gattung *Scilla* s.l. — Diplomarbeit, Wien.

HARSHEY, R.M., BUKHARI, A.I. (1981): A mechanism of DNA transposition. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78,** 1090-1094.

HEITZ, E. (1932): Die Herkunft der Chromozentren. — Planta **18,** 571-636.

HEPPICH, S. (1980): Chromosomenbänder bei Wasserfröschen: Untersuchungen zum Hybridcharakter und zur hybridogenetischen Fortpflanzung von *Rana esculenta (Anura, Amphibia).* — Diss. Wien.

HEPPICH, S., TUNNER, H.G., GREILHUBER, J. (1982, im Druck): Premeiotic chromosome doubling after genome elimination during spermatogenesis of the species hybrid *Rana esculenta.* — Theor. Appl. Genet.

HOEHN H., MARTIN, G.M. (1973): Clonal variants of constitutive heterochromatin of human fibroblasts after recovery from mitomycin treatment. — Chromosoma (Berl.) **43,** 203-210.

HOLM, P.B. (1976): The C and Q banding patterns of the chromosomes of *Lilium longiflorum* (THUNB.) — Carlsberg Res. Commun. **41,** 217-224.

HOLMQUIST, G. (1979): The mechanism of C-banding: depurination and ß-elimination. — Chromosoma (Berl.) **72,** 203-224.

— , DANCIS, B. (1979): Telomere replication, kinetochore organizers, and satellite DNA evolution. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76,** 4566-4570.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

HUTCHINSON, N., PARDUE, M.L. (1975): The mitotic chromosomes of *Notophthalmus* (= *Triturus*) *viridescens:* Localization of C-banding regions and DNA sequences complementary to 18 S, 28 S, and 5 S ribosomal RNA. — Chromosoma (Berl.) **53,** 51-69.

JOHN, B. (1981): Heterochromatin variation in natural populations. — Chromosomes today **7,** 128-137.

— , MIKOS, G.L.G. (1979): Fuctional aspects of satellite DNA and heterochromatin. — Intern. Rev. Cytol. **58,** 1-114.

JONES, G.H. (1978): Giemsa C-banding of rye meiotic chromosomes and the nature of "terminal" chiasmata. — Chromosoma (Berl.) **66,** 45-57.

JONES, R.N. (1975): B-chromosome systems in flowering plants and animal species. — Intern. Rev. Cytol. **40,** 1—100.

KING, M. (1980): C-banding studies on Australian hylid frogs: secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. — Chromosoma (Berl.) **80,** 191-217.

KNÄLMANN, M., BURGER, E.-C. (1977): Cytologische Lokalisation von 5 S und 18/25 S RNA Genorten in Mitose-Chromosomen von *Vicia faba.* — Chromosoma (Berl.) **61,** 177-192.

KONGSUWAN, K., SMYTH, D.R. (1977): Q-bands in *Lilium* and their relationship to C-banded heterochromatin. — Chromosoma (Berl.) **60,** 169-178.

— , — (1980): Late labelled regions in relation to Q- and C-bands in chromosomes of *Lilium longiflorum* and *L. pardalinum.* — Chromosoma (Berl.) **76,** 151-164.

LIMA-DE-FARIA, A. (1954): Chromosome gradient and chromosome field in *Agapanthus.* — Chromosoma **6,** 330-370.

— (1976): The chromosome field. I. Prediction of the location of ribosomal cistrons. — Hereditas **83,** 1-22.

— (1980): Classification of genes, rearrangements and chromosomes according to the chromosome field. — Hereditas **93,** 1-46.

LINDE-LAURSEN, I., BOTHMER, R.v., JACOBSEN, J. (1980): Giemsa C-banding in Asiatic taxa of *Hordeum* section *Stenostachys* with notes on chromosome morphology. — Hereditas **93,** 235-254.

LOIDL, J. (1979): C-band proximity of chiasmata and absence of terminalisation in *Allium flavum (Liliaceae).* — Chromosoma (Berl.) **73,** 45-51.

— (1981): Das Heterochromatin einiger *Allium*-Arten: Cytochemische Charakterisierung und cytogenetische Aspekte. — Diss. Wien.

MARKS, G.E., SCHWEIZER, D. (1974): Giemsa banding: karyotype differences in some species of *Anemone* and *Hepatica nobilis.* — Chromosoma (Berl.) **44,** 405-416.

MATSUI, S. (1974): Structural proteins associated with ribosomal cistrons in *Xenopus laevis* chromosomes. — Exp. Cell Res. **88,** 88-94.

MAYFIELD, J.E., ELLISON, J.R. (1975): The organization of interphase chromatin in *Drosophilidae.* The self adhesion of chromatin containing the same DNA sequence. — Chromosoma (Berl.) **52,** 37-48.

MIKLOS, G.L., NANKIVELL, R.N. (1976): Telomeric satellite DNA functions in regulating recombination. — Chromosoma (Berl.) **56,** 143-167.

NAGL, W. (1974): Role of heterochromatin in the control of cell cycle duration. — Nature **249,** 53-54.

— (1974): Mitotic cycle time in perennial and annual plants with various amounts of DNA and heterochromatin. — Developm. Biol. **39,** 342-346.

— , EHRENDORFER, F. (1974): DNA content, heterochromatin, mitotic index, and growth in perennial and annual *Anthemideae (Asteraceae).* — Pl. Syst. Evol. **123,** 35-54.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

ÖSTERGREN, G. (1945): Parasitic nature of extra fragment chromosomes. — Bot. Not. 1945, 157-163.

OKADA, T.A., COMINGS, D.E. (1974): Mechanisms of chromosome banding. III. Similarity between G-bands of mitotic chromosomes and chromomeres of meiotic chromosomes. — Chromosoma **48,** 65-71.

ORGEL, L.E., CRICK, F.H.C. (1980): Selfish DNA: the ultimate parasite. — Nature **284,** 604-607.

ORNSTEIN, L. (1952): The distributional error in microspectrophotometry. — Lab. Invest. **1,** 250-262.

PÄTAU, K. (1952): Absorption microspectrophotometry in irregularly shaped objects. — Chromosoma **5,** 341-362.

PARDUE, M.L., GALL, J.G. (1971): Chromosomal localization of mouse satellite DNA. — Science **168,** 1356-1358.

— , BROWN, D.D., BIRNSTIEL, M.L. (1973): Location of the genes for 5 S ribosomal RNA in *Xenopus laevis.* — Chromosoma (Berl.) **42,** 191-203.

PRICE, H.J., BACHMANN, K. (1976): Mitotic cycle time and DNA content in annual and perennial *Microseridinae (Compositae, Cichoriaceae).* — Pl. Syst. Evol. **126,** 323-330.

— , — CHAMBERS, K.L., RIGGS, J. (1980): Detection of intraspecific variation in nuclear DNA content in *Microseris douglasii.* — Bot. Gaz. **141,** 195-198.

RABL, C. (1885): Über Zelltheilung. — Morph. J. **10,** 214-330.

ROOSE, M.L., GOTTLIEB, L.D. (1978): Stability of structural gene number in diploid species with different amounts of nuclear DNA and different chromosome numbers. — Heredity **40,** 159-163.

SCHMIDT, E.R., KEYL, H.-G. (1981): In situ binding of AT-rich repetitive DNA to the centromeric heterochromatin in polytene chromosomes of chironomids. — Chromosoma (Berl.) **82,** 197-204.

SCHUBERT, I., BÄUMLEIN, H., WOBUS, U. (1978): In situ hybridization of iodinated 5 S and 18/25 S RNA to *Vicia faba* metaphase chromosomes. — Biol. Zbl. **97,** 129-135.

SCHWARZACHER, T., AMBROS, P., SCHWEIZER, D. (1980): Application of Giemsa banding to orchid karyotype analysis. — Pl. Syst. Evol. **134,** 293-297.

SCHWEIZER, D. (1973): Differential staining of plant chromosomes with Giemsa. — Chromosoma (Berl.) **40,** 307-320.

— (1976a): DAPI fluorescence of plant chromosomes prestained with actinomycin D. — Exp. Cell Res. **102,** 408-413.

— (1976b): Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. — Chromosoma (Berl.) **58,** 307-324.

— (1980): Fluorescent chromosome banding in plants: applications, mechanisms, and implications for chromosome structure. In: DAVIES, D.R., HOPWOOD, R.A. (Eds.), Proc. 4th John Innes Symp., Norwich 1979: The Plant Genome. — John Innes Charity, Norwich, pp. 61-72.

— (1981): Counterstain-enhanced chromosome banding. — Hum. Genet. 57, 1—14.

— , NAGL, W. (1976): Heterochromatin diversity in *Cymbidium,* and its relationship to differential DNA replication. — Exp. Cell Res. **98,** 411-423.

SHAPIRO, J.A. (1979): Molecular model for the transposition and replication of bacteriophage Mu and other transposable elements. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76,** 1933-1937.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

SINGH, L., PURDOM, I.F., JONES, K.W. (1976): Satellite DNA and evolution of sex chromosomes. — Chromosoma (Berl.) **59**, 43-62.

SMITH, G.P. (1976): Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover. — Science **191**, 528-535.

SMITH, T.F. (1980): Occam's razor. — Nature (News and Views) **285**, 620.

SPETA, F. (1971): Beitrag zur Systematik von *Scilla* L. subgen. *Scilla* (incl. *Chionodoxa* BOISS.). — Österr. Bot. Z. **119**, 6-18.

— (1972): Entwicklungsgeschichte und Karyologie von Elaiosomen an Samen und Früchten. — Naturk. Jahrb. Stadt Linz **18**, 9-65.

— (1974a): Cytotaxonomische und arealkundliche Untersuchungen an der *Scilla bifolia* — Gruppe in Oberösterreich, Niederösterreich und Wien. — Naturk. Jahrb. Stadt Linz **19** (1973), 9-54.

— (1974b): *Scilla messeniaca* BOISS. *(Liliaceae)* und ihre verwandtschaftlichen Beziehungen. — Ann. Mus. Goulandris **2**, 59-67.

— (1975): Vier neue *Scilla*-Arten aus dem Bereich der "Flora Iranica".— Linzer biol. Beitr. **7**, 249-256.

— (1976a): Cytotaxonomischer Beitrag zur Kenntnis der *Scilla nivalis*-Gruppe. — Linzer Biol. Beitr. **8**, 293-322.

— (1976b): Über *Chionodoxa* BOISS., ihre Gliederung und Zugehörigkeit zu *Scilla* L. — Naturk. Jahrb. Stadt Linz **21** (1975), 9-79.

— (1977a): Cytotaxonomischer Beitrag zur Kenntnis der *Scilla*-Arten Ungarns und Siebenbürgens. — Naturk. Jahrb. Stadt Linz **22** (1976), 9-63.

— (1977b): Neue *Scilla*-Arten aus dem östlichen Mittelmeerraum. — Naturk. Jahrb. Stadt Linz **22**, 65-72.

— (1979): Karyological investigations in *"Scilla"* in regard to their importance for taxonomy. — Webbia **34**, 419-431.

— (1980): Die frühjahrsblühenden *Scilla*-Arten des östlichen Mittelmeerraumes. — Naturk. Jahrb. Stadt Linz **25** (1979), 19-198.

STEVENS, P. F. (1980): Evolutionary polarity of character states. — Ann. Rev. Ecol. Syst. **11**, 333-358.

SUMNER, A.T. (1977): Estimation of the sizes of polymorphic C-bands in man by measurement of DNA content of whole chromosomes. — Cytogenet. Cell Genet. **19**, 250-255.

SVOMA, E. (1981): Zur systematischen Embryologie der Gattung *Scilla* L. *(Liliaceae).* — Stapfia **9**.

THOMAS, H.M. (1981): The Giemsa C-band karyotypes of six *Lolium* species. — Heredity **46**, 263-267.

VAN'T HOF, J., SPARROW, A.H. (1963): A relationship between DNA content, nuclear volume, and minimum mitotic cycle time. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **49**, 897-902.

VERMA, R.S., LIN, M.S. (1979): The duration of DNA synthetic (S) period in *Zea mays:* a genetic control. — Theor. Appl. Genet. **54**, 277-282.

VOSA, C.G. (1973): Heterochromatin recognition and analysis of chromosome variation in *Scilla sibirica.* — Chromosoma (Berl.) **43**, 269-278.

— (1976): Heterochromatic banding patterns in *Allium* II. Heterochromatin variation in species of the *paniculatum* group. — Chromosoma (Berl.) **57**, 119-133.

— (1979): Chromosome banding patterns in the triploid *Scilla sibirica* Harv. var. "Spring Beauty". — Nucleus **22**, 32-33.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

WALKER, P.M.B. (1971): Origin of satellite DNA. — Nature **229**, 306-308.

WHITE, M.J.D. (1973): Animal Cytology and Evolution. 3d ed. — Cambridge University Press.

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Doz. Dr. Johann GREILHUBER
Institut für Botanik der Universität Wien
Rennweg 14
A-1030 Wien, Austria

Tabellen 1 - 4. Genomgrößen (1C Werte) von *S. bithynica* subsp. *radkae*, *S. bithynica* subsp. *bithynica*, *S. rosenii* und *S. koenigii*. *Allium cepa* diente als innerer Standard. Angegeben werden Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) aus je N Kernen pro Präparat sowie das gewichtete Mittel und die gewichtete Standardabweichung ($\bar{x}_{gew} \pm s_{gew}$) aus der gesamten Probe.

Präparat	N	*A. cepa* cv. "Ailsa Craig"	*S. bithynica* subsp. *radkae*	
		% ($\bar{x} \pm s$)	% ($\bar{x} \pm s$)	pg ($\bar{x} \pm s$)
1	11	100.00 ± 3.06	137.40 ± 4.40	23.01 ± 0.74
2	11	100.00 ± 3.76	129.98 ± 4.17	21.77 ± 0.70
3	11	100.00 ± 2.26	131.83 ± 4.22	22.08 ± 0.71
4	11	100.00 ± 3.56	141.39 ± 7.89	23.68 ± 1.33
5	11	100.00 ± 2.17	142.99 ± 5.29	23.95 ± 0.89
1-5	55	100.00 ± 2.92	136.72 ± 7.31	22.90 ± 1.23

Tabelle 1. Genomgrößenbestimmung bei *Scilla bithynica* subsp. *radkae*.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Präparat	N	*A. cepa* cv.	*S. bithynica* subsp. *bithynica*	
		% ($\bar{x} \pm s$)	% ($\bar{x} \pm s$)	pg ($\bar{x} \pm s$)
1	10	100.00 ± 4.11	174.38 ± 3.89	29.21 ± 0.65
2	10	100.00 ± 2.59	174.39 ± 4.22	29.21 ± 0.71
3	10	100.00 ± 3.33	172.34 ± 2.52	28.87 ± 0.42
4	10	100.00 ± 1.28	173.07 ± 2.56	28.99 ± 0.43
5	10	100.00 ± 2.42	176.01 ± 3.15	29.48 ± 0.53
1-5	50	100.00 ± 2.78	174.04 ± 3.44	29.15 ± 0.58

Tabelle 2. Genomgrößenbestimmung bei *Scilla bithynica* subsp. *bithynica*.

Präparat	N	*A. cepa* cv. "Centennial"	*S. rosenii*	
		% ($\bar{x} \pm s$)	% ($\bar{x} \pm s$)	pg ($\bar{x} \pm s$)
1	10	100.00 ± 2.86	139.39 ± 2.78	23.35 ± 0.47
2	10	100.00 ± 3.55	147.00 ± 1.62	24.62 ± 0.27
3	11	100.00 ± 1.90	142.43 ± 3.22	23.96 ± 0.54
4	11	100.00 ± 1.98	146.04 ± 3.50	24.46 ± 0.59
5	11	100.00 ± 3.02	133.89 ± 3.49	22.43 ± 0.59
6	11	100.00 ± 2.77	141.57 ± 2.68	23.71 ± 0.45
7	11	100.00 ± 1.38	146.47 ± 4.70	24.53 ± 0.79
8	11	100.00 ± 3.38	142.72 ± 3.65	23.91 ± 0.61
9	11	100.00 ± 3.68	139.05 ± 3.81	23.29 ± 0.64
1-9	97	100.00 ± 2.70	142.04 ± 5.16	23.80 ± 0.87

Tabelle 3. Genomgrößenbestimmung bei *Scilla rosenii*.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Präparat	N	*A. cepa* cv. "Keep Well"	*S. koenigii*	
		% ($\bar{x} \pm s$)	% ($\bar{x} \pm s$)	pg ($\bar{x} \pm s$)
1	11	100.00 ± 1.68	204.85 ± 3.26	34.31 ± 0.55
2	11	100.00 ± 2.29	197.53 ± 7.82	33.09 ± 1.31
3	11	100.00 ± 2.48	205.81 ± 3.31	34.47 ± 0.55
4	11	100.00 ± 2.04	195.43 ± 5.04	32.73 ± 0.85
5	11	100.00 ± 1.46	204.66 ± 5.94	34.28 ± 0.99
6	11	100.00 ± 2.09	195.10 ± 6.46	32.68 ± 1.08
7	11	100.00 ± 2.19	199.14 ± 4.43	33.36 ± 0.73
8	11	100.00 ± 1.29	206.78 ± 4.74	34.64 ± 0.80
9	11	100.00 ± 2.05	205.65 ± 4.94	34.45 ± 0.69
10	11	100.00 ± 2.07	203.04 ± 3.33	34.01 ± 0.54
1-10	110	100.00 ± 1.91	201.80 ± 6.54	33.80 ± 1.09

Tabelle 4. Genomgrößenbestimmung bei *Scilla koenigii*.

	Genomgröße	Heterochromatinanteil	
	pg	pg	% des Genoms
S. bithynica subsp. *radkae*	22.90	0.87	3.78
S. bithynica subsp. *bithynica*	29.15	7.52	25.81
S. rosenii	23.80	0.46	1.93
S. koenigii	33.80	10.10	29.87

Tabelle 5. Genomgröße und Heterochromatinanteil bei *Scilla bithynica* subsp. *radkae*, *S. bithynica* subsp. *bithynica*, *S. rosenii* und *S. koenigii*.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

	S. bithynica subsp. *radkae*	*S. bithynica* subsp. *bithynica*
Genomgröße	103.95	132.32
Heterochromatin	3.95	34.14
Euchromatin	100.00	98.18

Tabelle 6. Nachweis der Konstanz der Euchromatinmenge bei *Scilla bithynica* subsp. *radkae* und *S. bithynica* subsp. *bithynica*. Die Werte sind auf die Euchromatinmenge von *S. bithynica* subsp. *radkae* (100.00 %) bezogen.

	S. rosenii	*S. koenigii*
Genomgröße	101.97	144.82
Heterochromatin	1.97	43.27
Euchromatin	100.00	101.54

Tabelle 7. Nachweis der Konstanz der Euchromatinmenge bei *Scilla rosenii* und *S. koenigii*. Die Werte sind auf die Euchromatinmenge von *S. rosenii* (100.00 %) bezogen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Stapfia

Jahr/Year: 1982

Band/Volume: 0010

Autor(en)/Author(s): Greilhuber Johann

Artikel/Article: Trends in der Chromosomenevolution von Scilla (Liliaceae) 11-51