

Das Giemsa-Bandenmuster mitotischer und meiotischer Chromosomen des Roggens (*Secale cereale* L.)

VON ROLF SCHLEGEL, PETER DÖBEL und WOLF-DIETER BLÜTHNER

Lehrstuhl Pflanzenzüchtung der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und
Zentralinstitut für Genetik und Kulturpflanzenforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR
in Gatersleben

Mit 4 Abbildungen

Mit Hilfe der Giemsa-banding-Technik ist es in den letzten Jahren bei einer Reihe zoologischer und botanischer Objekte gelungen, heterochromatische Chromosomenbereiche selektiv anzufärben. Erste Ergebnisse sind inzwischen auch bei Getreide erzielt worden. Insbesondere an den Chromosomen des Roggens ließ sich dabei eine deutliche Längsdifferenzierung nachweisen. Besonders die heterochromatischen Telomeren treten in Form charakteristischer Blöcke bzw. Banden hervor (SARMA und NATARAJAN 1973, TSCHAPOVA 1974, VERMA und REES 1974). Auch bei Weizen und Mais gelang es neuerdings, heterochromatische Regionen entlang der Mitosechromosomen mehr oder weniger gut erkennbar darzustellen (MERKER 1973, GILL und KIMBER 1974, POKHMELJHYCH 1974). Ergebnisse an Meiosechromosomen wurden dagegen noch nicht bekannt.

In der vorliegenden Untersuchung an mitotischen und meiotischen Chromosomen des Kulturroggens (Sorte „Danae“) wurde zur Darstellung des Giemsa-Bandenmusters eine Standardprozedur angewendet, die einer Kombination der von DÖBEL, RIEGER und MICHAELIS (1973) sowie TSCHAPOVA (1974) beschriebenen Methoden entspricht.

Die mit Äthanol-Eisessig fixierten Wurzelspitzen und Antheren wurden in 0,2 N HCl bei 60°C 5 Minuten hydrolysiert. Vor der Hydrolyse der Wurzelspitzen erfolgte eine 4stündige Behandlung mit einer 5%igen Cellulase-Pectinase-Lösung. Die luftgetrockneten Quetschpräparate wurden mit einem 10:1-Gemisch von 7%iger Bariumhydroxyd- und 6 M Harnstofflösung bei Zimmertemperatur 5 Minuten bis mehrere Stunden (je nach gewünschter Differenzierung des Bandenmusters) behandelt.

Die sorgfältig ausgewaschen und luftgetrockneten Präparate wurden anschließend 1 Stunde in eine 2 · SCC-Lösung bei 60°C eingestellt. Die Färbung erfolgte in einer 4%igen Giemsa-Lösung von pH 6,7.

Nach dieser Behandlung tritt das charakteristische Telomeren-Heterochromatin des Roggens in Form der intensiv gefärbten terminalen Banden in den Chromosomen 1, 3, 4 und 7 (Nomenklatur nach HENEEN 1962) auf beiden, in den Chromosomen 2, 5 und 6 dagegen nur auf dem kurzen Arm hervor (Abb. 1 und 2). Außerhalb der Telomer-Region finden sich interstitielle Banden von meist schwächerer Ausprägung. In der erstgenannten Chromosomengruppe zeigt das Chromosom 7 eine interstitielle Bande in bzw. unmittelbar neben der SAT-Zone nahe der Telomerbande auf dem kurzen Arm, das Chromosom 3 eine terminal gelegene interstitielle Bande auf dem langen Arm. Die Chromosomen 1 und 4 zeigen dagegen keine interstitiellen Banden und lassen sich nur an der submedianen Centromerinsertion des Chromosoms 4 unter-



Abb. 1. Karyogramm des Roggens nach Giemsa-Färbung der Chromosomen (Nomenklatur nach HENEEN 1962, modifiziert nach BALKANDSCHIEWA und METTIN 1974)

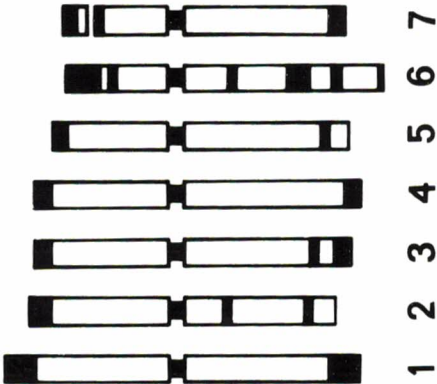


Abb. 2. Schematische Darstellung der Giemsa-Bandenverteilung im Genom des diploiden Roggens



Abb. 3. Metaphase-I-Konfiguration von diploidem Roggen mit 6I ring + 1II stab nach Giemsa-Färbung der Chromosomen



Abb. 4. Metaphase-I-Konfiguration von tetraploidem Roggen mit $6^{II} + 4^{IV}$ nach Giemsa-Färbung der Chromosomen

scheiden. In der zweiten Chromosomengruppe weist das Chromosom 6 mit vier interstitiellen Banden die stärkste Differenzierung von allen Roggenchromosomen auf. Das Chromosom 2 hat zwei interstitielle Banden auf einem Arm, und das submetacentrische Chromosom 5 besitzt eine interstitielle Bande auf dem langen Arm. Bei allen Chromosomen wird darüber hinaus die Centromerregion gefärbt. An sehr gut differenzierten Chromosomen war dabei zu erkennen, daß beiderseits des Centromers je eine band- bis punktförmige färbbare Struktur liegt.

In Übereinstimmung mit der Differenzierung mitotischer Chromosomen weisen in der Meiose vier Bivalente terminale Giemsa-Banden (G-Banden) an beiden Chromosomenarmen und 3 Bivalente terminale Blöcke nur an einem Arm auf (vgl. Abb. 3 und 4). Interstitielle Banden waren vor allem für das SAT-Chromosom in Paarungskonfigurationen mit ungepaarten Chromosomenarmen nachzuweisen. Auf Grund dieses Bandenmusters lassen sich somit auch einige Roggenchromosomen in der Meiose unterscheiden.

Die beschriebene Giemsa-Bandenverteilung stimmt weitgehend mit den von SARMA und NATARAJAN (1973), TSCHAPOVA (1974) sowie VERMA und REES (1974) publizierten Befunden überein. Abweichungen zeigen sich darin, daß SARMA und NATARAJAN (1973) sowie VERMA und REES (1974) keine Giemsa-gefärbten Strukturen in den Centromerbereichen nachweisen konnten und TSCHAPOVA im Chromosom 7 noch zwei weitere interstitielle Banden feststellte, die in unserem Material nicht vorhanden waren.

Die größeren G-Banden der mitotischen Metaphase-Chromosomen korrespondieren in ihrer Position weitgehend mit entsprechenden knobs in dem von LIMA DE FARIA (1952) analysierten Chromomerenmuster des Pachytäns. Möglicherweise sind die Differenzen, die besonders hinsichtlich interstitieller Banden vorliegen, auf Materialunterschiede zurückzuführen. Mit den Ergebnissen von LIMA DE FARIA (1952) sowie LIMA DE FARIA und SARVELLA (1958) stimmen auch die in der vorliegenden Arbeit sowie von TSCHAPOVA (1974) nachgewiesenen Giemsa-gefärbten Centromerregionen der Roggenchromosomen überein. Die aus dem Fehlen centromernaher G-Banden in den Untersuchungen von VERMA und REES (1974) abgeleitete Annahme, daß das von

LIMA DE FARIA beschriebene Centromer-Heterchromation nicht im strengen Sinne heterochromatisch sei, kann somit nicht unterstützt werden.

Die mit der Giemsa-banding-Technik gegebene Möglichkeit zur Identifizierung von Mitose- und Meiosechromosomen bietet somit eine Reihe aussichtsreicher Wege zur exakteren Paarungsanalyse der Chromosomen des di- und polyploiden Roggens sowie für eine vereinfachte Identifizierung von Roggenchromosomen in spontanen und experimentellen Weizen-Roggen-Bastarden oder deren Abkömmlingen.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der Giemsa-banding-Technik ist es in den letzten Jahren auch bei pflanzlichen Objekten gelungen, heterochromatische Chromosomenbereiche selektiv anzufärben. Im Verlauf der vorliegenden Untersuchungen am Roggen konnte ebenfalls eine deutliche Längsdifferenzierung der mitotischen Metaphase-Chromosomen nachgewiesen werden, die durch parallel durchgeführte Versuche an Meiosechromosomen weitgehend bestätigt werden konnte. Mit Ausnahme der Chromosomen 1 und 4 besitzen alle übrigen Chromosomen eine spezifische Giemsa-Bandenverteilung. Giemsa-gefärbte Strukturen wurden auch in Centromernähe beobachtet. Die Ergebnisse werden mit entsprechenden Pachytänanalysen verglichen und diskutiert. Auf die mögliche Nutzung dieser Ergebnisse wird hingewiesen.

Summary

The Giemsa Banding Pattern of Mitotic and Meiotic Chromosomes of *Secale cereale* L.

Localisation of heterochromatic regions in plant chromosomes has been achieved by the Giemsa banding technique in some cases. In course of the present investigations on mitotic rye chromosomes also a specific Giemsa banding pattern could be pointed out largely confirmed by meiotic findings. With the exception of chromosomes 1 and 4 the remaining were characterized by individual distribution of Giemsa bands or Giemsa stained blocks of telomeric heterochromatin. The method used brought about stained centromeric regions. The results were discussed and compared with related analyses in pachytene, and the practical use of these findings was referred to.

Schriftenverzeichnis

- BALKANDSCHIEWA, J., und D. METTIN, 1974, Morphologie und Zytologie der primären Trisomie der Winterroggensorte „Danae“. Arch. Züchtungsforsch. 4: 19–28.
- DÖBEL, P., R. RIEGER and A. MICHAELIS, 1973, The Giemsa banding patterns of the Standard and four Reconstructed Karyotypes of *Vicia faba*. Chromosoma 43: 409–422.
- GILL, D. S., and G. KIMBER, 1974, A Giemsa C-banding technique for cereal chromosomes. CRC 2: 87–94.
- HENEEN, W. K., 1962, Chromosome morphology in inbred rye. Hereditas 48: 182–200.
- LIMA DE FARIA, A., 1952, Chromomere analysis of the chromosome complement of rye. Chromosoma 5: 1–68.
- and P. SARVELLA, 1958, The organization of telomeres in species of *Solanum*, *Salvia*, *Scilla*, *Secale*, *Agapanthus* and *Ornithogalum*. Hereditas 44: 337–346.

- MERKER, A., 1973, A Giemsa technique for rapid identification of chromosomes in *Triticale*. *Hereditas* 75: 280–282.
- POKHMEJHYCH, G. H., 1974, On the nature of heterochromatic knob regions in maize chromosomes. 1. Comparative study of chromosomes of somatic cells stained with the Giemsa dye and pachytene chromosomes of a maize line characterized by a multitude of knobs (russ.). *Genetika* (Moskau) 10: 16–24.
- SARMA, N. P., and A. T. NATARAJAN, 1973, Identification of heterochromatic regions in the chromosomes of rye. *Hereditas* 74: 233–237.
- TSCHAPOVA, A. I., 1974, Differential staining of rye chromosomes (russ.). *Citologija* (Kiew) 3: 170–173.
- VERMA, S. C., and H. REES, 1974, Giemsa staining and the distribution of heterochromatin in rye chromosomes. *Heredity* 32: 118–122.

Anschrift der Verfasser: Dr. R. SCHLEGEL und W.-D. BLÜTHNER, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, DDR-4104 Hohenthurm, Berliner Str. 2, und Dr. P. DÖBEL, Zentralinstitut für Genetik und Kulturpflanzenforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR, DDR-4325 Gatersleben Kreis Aschersleben.

