

Phyton (Austria)	Vol. 26	Fasc. 2	193-199	15. 4. 1987
------------------	---------	---------	---------	-------------

Schließzellengröße und Kern-DNA-Gehalt in den Keim- und dritten Folgeblättern von *Silene noctiflora* L.

Von
Helmut GUTTENBERGER *)

Mit 2 Abbildungen

Eingelangt am 15. November 1985

Key words: Guard cells, nuclear-DNA-content, chloroplast number, *Silene noctiflora*

Summary

GUTTENBERGER H. 1987. Size and nuclear-DNA-content of the guard cells in the cotyledons and the third leaves of *Silene noctiflora* L. – *Phyton* (Austria) 26 (2): 193–199, with 2 figures. – German with English summary.

In *Silene noctiflora* L. (= *Melandrium noctiflorum* [L.] FRIES) the guard cells of the cotyledons exceed these of the 3rd leaf by 40% in the length and by 47% in the breadth. The guard cells of the cotyledons number by 30.5% more chloroplasts with diameters exceeding these of the 3rd leaves by 25%. Most of the nuclei show a nuclear-DNA-content corresponding to 4 C, in this reason no difference exists between the both kinds of guard cells investigated. For the first time, guard cells with a nuc-DNA-content exceeding 4 C were found.

Zusammenfassung

GUTTENBERGER H. 1987. Schließzellengröße und Kern-DNA-Gehalt in den Keim- und dritten Folgeblättern von *Silene noctiflora* L. – *Phyton* (Austria) 26 (2): 193–199, mit 2 Abb. – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

Silene noctiflora L. (= *Melandrium noctiflorum* [L.] FRIES) hat in den Keimblättern Schließzellenpaare, die um ca. 40% länger und um 47% breiter sind als die in den dritten Folgeblättern. Die großen Schließzellenpaare der Keimblätter haben um ca. 30,5% mehr Chloroplasten, die einen um ca. 25% längerer Durchmesser haben, als die der dritten Folgeblätter. Der Kern-DNA-Gehalt beider Blattarten unterscheidet sich nicht und beträgt meist 4 C. Erstmals wurden auch Schließzellenkerne mit einem höheren DNA-Gehalt als 4 C gefunden.

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

Einleitung

Wie Messungen von SHANKS 1965, SCHLAYER 1968, TANAKA & NISHIBAYASHI 1982, NISHIBAYASHI 1983 sowie karyologische Untersuchungen von TSCHERMAK-WOESS 1956 ergaben, beträgt der Kern-DNA-Gehalt von Schließzellen 2 C bis 4 C. Riesenschließzellen, die vereinzelt an Blättern neben normal großen auftauchen, haben ebenfalls Kern-DNA-Gehalte von 2 C bis 4 C, obwohl sie bis zu 60% länger und bis 45% breiter sind als die normal großen und bis zu 100% mehr Chloroplasten besitzen (GUTTENBERGER 1985). Die Chloroplastenzahlen in den Schließzellenpaaren der Keim-, Primär- und Sekundärblätter der meisten dikotylen Pflanzen bleiben annähernd gleich, obwohl es Ausnahmen gibt (BUTTERFASS 1979). Bei diesen haben die Primär- und Folgeblätter meist weniger Chloroplasten als die Keimblätter. Der umgekehrte Fall ist selten zu beobachten, ebenso wie Veränderungen zwischen Primär- und Sekundärblättern. Ähnlich verhält es sich auch mit der Größe der Schließzellenpaare (vgl. NAPP-ZINN 1973).

SCHLAYER 1968 und BUTTERFASS 1973, 1979 geben an, daß *Silene noctiflora* in den Keimblättern doppelt so große Schließzellenpaare hätte, deren Kern-DNA-Gehalt mit 4 C doppelt so hoch sei wie in den Primärblättern mit 2 C; die Chloroplastenzahl sinke von 28,8 Chloroplasten in den Schließzellenpaaren der Keimblätter auf 19,8 Chloroplasten im Primärblatt. Da in den genannten Arbeiten keine näheren Angaben gemacht werden, schien es von Interesse, quantitative Kern-DNA-Messungen durchzuführen und mit Chloroplastenzahlen, Chloroplasten- und Schließzellengrößen zu vergleichen.

Material und Methode

Samen von *Silene noctiflora* wurden angekeimt, die Pflanzen wurden nach dem Pikieren 4 Wochen in Erde in Töpfen von 7 cm Durchmesser gezogen. Insgesamt wurden 3 Versuchsserien zu verschiedenen Jahreszeiten mit jeweils 5 Pflanzen zur Untersuchung verwendet. Die Schnitte von der unteren Epidermis wurden den Intercostalfeldern des mittleren Spreitenbereichs der Keim- bzw. der dritten Folgeblätter entnommen. Dadurch wurde vermieden, daß Schließzellenpaare mit abweichenden Chloroplastenzahlen, wie sie am Blattrand der -basis und über Nerven vorkommen (MOCHIZUKI & SUEOKA 1955, FRANSEN 1968, MACCHINI 1975), untersucht wurden.

Nach der Fixierung in Alkohol-Eisessig 3 : 1 (v : v) für 24^h bei 4° C diente die Feulgen-Reaktion zur quantitativen Bestimmung des Kern-DNA-Gehaltes (vgl. NAGL 1976). In 1 N HCl wurde bei 60° C hydrolisiert. Anhand von Extinktionskurven wurde die optimale Hydrolysedauer bestimmt. Für 2^h wurde in dunklen, verschlossenen Behältern bei 23° C mit frisch hergestelltem Schiffschens Reagens gefärbt. Nach dem Auswaschen wurden die Präparate nach der „quickfreeze“-Methode in Alkohol überführt und in Euparal (Chroma 3 C 239) eingebettet.

Die photometrische Auswertung erfolgte nach der Zwei-Wellenlängen-Methode (ORNSTEIN 1952, PATAU 1952). Mit einem Mikroskopphotometer der Fa. Reichert in Verbindung mit dem großen Forschungsmikroskop ZETOPAN der Fa. Reichert wurden die Extinktionsmessungen durchgeführt. Die 2 C bzw. 4 C-Werte wurden anhand von 28 Pro- und 24 Telophasen von Wurzelspitzen bestimmt. Als interner photometrischer Standard und zur Überprüfung der Methode dienten Pro- und Telophasen der Wurzelspitzen von *Allium cepa*.

An den Keimblättern und den dritten Folgeblättern von 15 Pflanzen wurden die Größe und die Chloroplastenzahl von insgesamt 150 Schließzellenpaaren und die Größe von 300 Chloroplasten bestimmt. Für die Messungen wurde ein Zeichenapparat nach TREFFENBERG in Verbindung mit einem Forschungsmikroskop Zetopan der Fa. Reichert benutzt. Die erhaltenen Daten wurden statistisch ausgewertet (Mittelwerte, Standardabweichung, t-Test nach STUDENT). Als Stichprobenzahl diente die Zahl der untersuchten Pflanzen (n = 15).

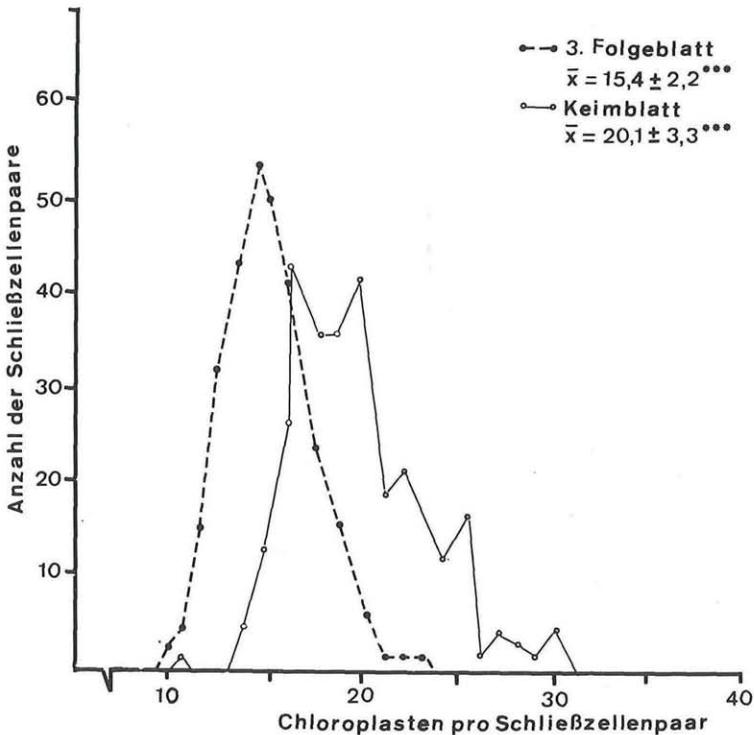


Abb. 1. *Silene noctiflora*; Anzahl der Chloroplasten pro Schließzellenpaar.

*** = $P < 0,001$.

Ergebnisse

Alle drei Versuchsserien, die zu verschiedenen Jahreszeiten (März, August und Oktober 1984) durchgeführt wurden, brachten übereinstimmende Ergebnisse. Daher erscheint es sinnvoll, die Serien nicht einzeln, sondern zusammen zu betrachten.

Die Untersuchungen an Primär- bzw. Folgeblättern verschiedener Insertionshöhen brachten keine signifikanten Unterschiede. Auf eine Wiedergabe der Daten wird daher verzichtet. Zum Vergleich mit den Keimblättern wurden die dritten Folgeblätter herangezogen.

Tabelle 1

Silene noctiflora; Größe der Schließzellenpaare und der Schließzellenchloroplasten (μm)

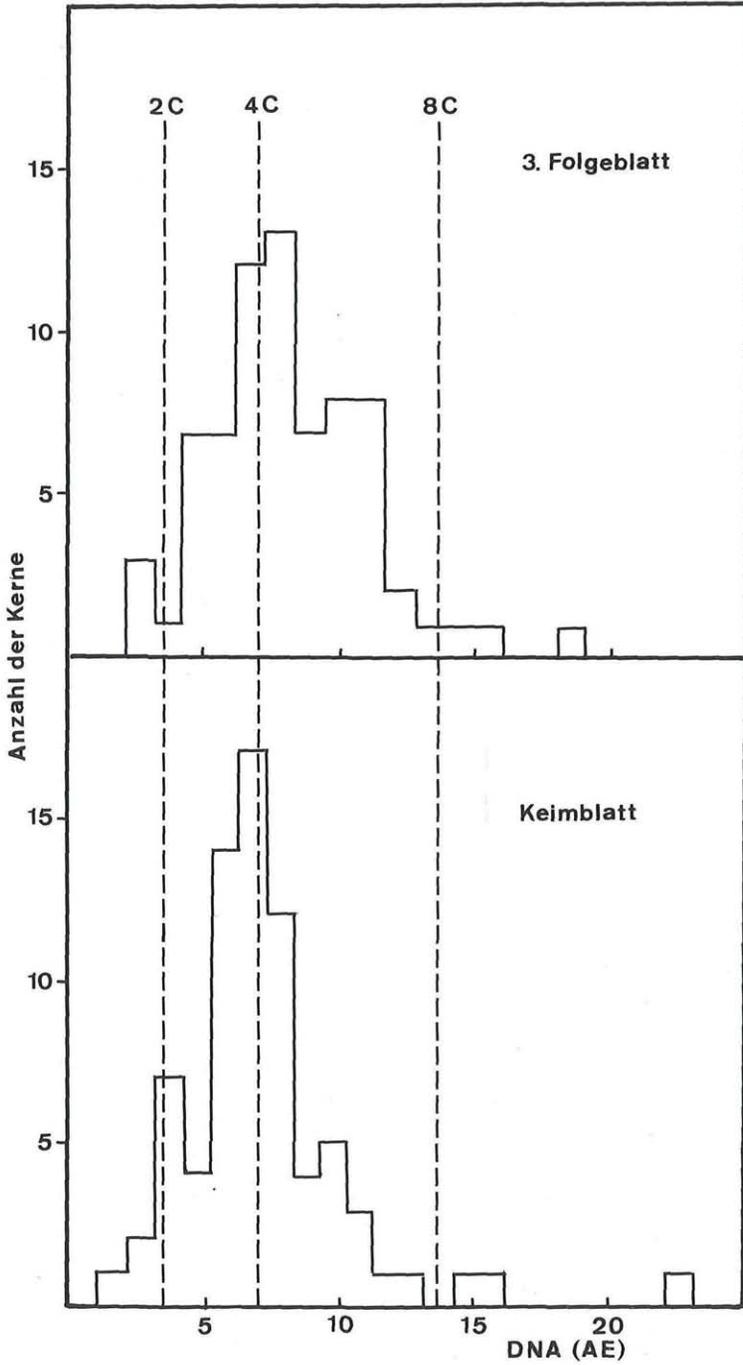
	Keimblatt	3. Folgeblatt	Signifikanz
Länge der Schließzellen	49,4 \pm 7,0	34,5 \pm 3,2	P<0,001
Breite der Schließzellenpaare	31,0 \pm 5,0	21,2 \pm 2,5	P<0,001
Längster Durchmesser der Chloroplasten	4,5 \pm 0,9	3,6 \pm 0,7	P<0,001

Die Schließzellen der Keimblätter sind mit 31,7 bis 66,7 μm Länge und mit 23,3 bis 43,3 μm Breite wesentlich größer als die Schließzellenpaare der 3. Folgeblätter mit einer Länge von 28,3 bis 43,3 μm und einer Breite von 15,0 bis 30,1 μm (siehe Tab. 1). Die großen Schließzellenpaare der Keimblätter besitzen um ca. 30% mehr Chloroplasten mit ca. 25% größeren Durchmessern. Wie Abb. 1 zeigt, bewegen sich die Chloroplastenzahlen der Schließzellenpaare der 3. Folgeblätter in einem eng begrenzten Bereich um den Gipfel bei ca. 15,4 Chloroplasten pro Schließzellenpaar. Bei den Schließzellenpaaren der Keimblätter ist ein Gipfel bei einer Chloroplastenzahl von 20,1 ausgebildet, der bis hin zu einer Zahl von 30 Chloroplasten pro Schließzellenpaar abflacht.

Der DNA-Gehalt der Schließzellenkerne beider Blätter unterscheidet sich nicht (Abb. 2). Beide haben einen ausgeprägten Gipfel bei einem DNA-Gehalt von 4 C und einen kleineren bei einem DNA-Gehalt von 2 C.

Bei beiden Blattsorten ist ein weiterer Gipfel zwischen 4 C und 8 C zu erkennen, einige Kerne weisen einen höheren DNA-Gehalt (8 C und darüber) auf.

Abb. 2. DNA-Häufigkeitsverteilung der Schließzellenkerne von *Silene noctiflora*. 4 C- und 2 C-Werte durch Messung von Pro- bzw. Telophasenkernen der Wurzelspitzen bestimmt, 8 C aus diesen errechnet.



Diskussion

BUTTERFASS 1973, 1979 gibt an, daß die Schließzellenpaare der Keimblätter von *Silene noctiflora* 28,8, die der Primärblätter 19,8 Chloroplasten pro Schließzellenpaar hätten. Die eigenen Zählungen ergaben bei beiden Blattsorten eine geringere Anzahl an Chloroplasten, aber eine hochsignifikante Erhöhung der Chloroplastenzahl der Schließzellenpaare der Keimblätter. Als Ursache der geringeren absoluten Chloroplastenzahlen kommen verschiedene Außenfaktoren, wie z. B. Licht, Temperatur, Wasser- und Nährstoffangebot, die die Chloroplastenzahl beeinflussen können (vgl. BUTTERFASS 1979), in Betracht.

Die beobachteten Unterschiede der Chloroplastenzahlen der Schließzellen zwischen Keim- und Folgeblättern sind ebenso signifikant wie die Abnahme der Schließzellengröße bei den Folgeblättern (siehe Abb. 1 u. Tab. 1).

Messungen des Kern-DNA-Gehaltes von Schließzellen ergaben Werte von 2 C bis 4 C (SHANKS 1965, SCHLAYER 1968, TANAKA & NISHIBAYASHI 1982, NISHIBAYASHI 1983, GUTTENBERGER 1985).

Auch durch Kernvolumsmessungen kam TSCHERMAK-WOESS 1956 zum gleichen Ergebnis. Die meisten Schließzellenkerne haben einen DNA-Gehalt von 2 C, sie gehen von der G_1 -Phase in die G_0 -Phase des Arbeitskernes über. Auch abnorm große Schließzellen mit vermehrter Chloroplastenzahl sind nicht polyploid (GUTTENBERGER 1985).

Weisen zwar einige Kerne einen DNA-Gehalt von 2 C auf, so haben bei der untersuchten *Silene noctiflora* die meisten Schließzellenkerne einen DNA-Gehalt von 4 C. Sie gehen entweder von tetraploid G_1 oder von diploid G_2 in die G_0 -Phase über. Eine Entscheidung zugunsten einer der Möglichkeiten ist mit der angewendeten Methode der quantitativen DNA-Messung nicht möglich. Ein weiterer Gipfel taucht sowohl bei den Schließzellenkernen der Keimblätter als auch bei den Kernen der 3. Folgeblätter zwischen 4 C und 8 C auf. Möglicherweise handelt es sich um Kerne, die einen Amplifikations- oder Unterreplikationszyklus durchmachten. Einige Kerne beider Blattsorten haben einen DNA-Gehalt von 8 C und darüber. Diese Schließzellen müssen polyploid sein. Dies ist das erste Mal, daß Polyploidie bei Schließzellenkernen festgestellt wurde. Die Schließzellenpaare der Keimblätter sind wesentlich größer als die der 3. Folgeblätter. Auch die Chloroplasten sind durchschnittlich um 25% größer. Sämtliche Unterschiede sind hochsignifikant. Berechnet man näherungsweise das Chloroplastenvolumen und das Zellvolumen (Chloroplastenvolumen als Kugel, Schließzellenvolumen als Ellipsoid), so bleibt das relative Chloroplastenvolumen bei den Schließzellen der Keimblätter mit 33,8%, bei den Schließzellen der dritten Folgeblätter mit 30,6% des Zellvolumens annähernd gleich.

Bei *Silene noctiflora* beeinflußt der Kern-DNA-Gehalt weder die Chloroplastenzahl und -größe, noch die Größe der Schließzellenpaare selbst.

Eher scheint das Chloroplastenvolumen mit dem Zellvolumen korreliert zu sein.

Literatur

- BUTTERFASS Th. 1973. Control of plastid division by means of nuclear DNA-amount. – *Protoplasma* 76: 167–195.
- BUTTERFASS Th. 1979. Patterns of chloroplast reproduction. – In: *Cell Biology Monographs* 6. – Springer Verlag Wien, New York.
- FRANSDEN N. O. 1968. Die Plastidenzahl als Merkmal bei der Kartoffel. – *Theor. Appl. Genetics* 38: 153–167.
- GUTTENBERGER H. 1985. DNA-Gehalt der Kerne von Riesenschließzellen. – *Phyton (Austria)* 25: 23–29.
- MACCHINI L. 1975. Die Wirkung von stofflichen Außeneinflüssen auf die ploidieunabhängige Chloroplastenvermehrung. – Diss. Heidelberg.
- MOCHIZUKI A. & SUEOKA N. 1955. Genetic studies on the number of plastid in stomata. I. Effect of autopolyploidie in sugar beets. – *Cytologia* 20: 358–366.
- NAGL W. 1976. Zellkern und Zellzyklen. Molekularbiologische Organisation und Entwicklungsphysiologie der DNS und des Chromatins. – Ulmer Verlag Stuttgart.
- NAPP-ZINN K. 1973. Anatomie des Blattes. II. Blattanatomie der Angiospermen. – In: ZIMMERMANN W., CARLQUIST S., OZENDA P. & WULLFF H. D. (eds.), *Handb. der Pflanzenanatomie VIII/2A/1*. Gebr. Borntraeger Verlag Berlin, Stuttgart.
- NISHIBAYASHI S. 1983. Microspectrophotometrical studies on the nuclear DNA content in the somatic tissues of *Spinacia oleracea* L. – *J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B, Div. 2 (Botany)* 18: 191–233.
- ORNSTEIN L. 1952. The distributional error in microspectrophotometry. – *Lab. Invest.* 1: 250–262.
- PATAU K. 1952. Absorption microphotometry of irregular-shaped objekts. – *Chromosoma* 5: 341–362.
- SCHLAYER G. 1968. Die experimentelle Veränderung des DNS-Gehalts und der Chloroplastenzahl in Epidermis- und Schließzellen der Keimblätter von *Beta vulgaris* L. – Diss. Heidelberg.
- SHANKS R. 1965. Differentiation in leaf epidermis. – *Aust. J. Bot.* 13: 143–151.
- TANAKA R. & NISHIBAYASHI S. 1982. Non-DNA-replicative setting of guard cells in *Spinacia oleracea* L. – *Jpn. J. Genet.* 57: 651–655.
- TSCHERMAK-WOESS E. 1956. Karyologische Pflanzenanatomie. Ein kritischer Überblick. – *Protoplasma* 46: 798–834.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: [26_2](#)

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

Artikel/Article: [Schließzellengröße und DNA-Gehalt in den Keim- und dritten Folgeblättern von *Silene noctiflora* L. 193-199](#)