

# Die biometrische Bewertung des Univalenten-Verhaltens in konjugationsgestörten Mutanten von *Pisum sativum*

H.-D. Klein und H.-D. Quednau

Institut für Genetik der Universität Bonn (BRD)

Biometrical Evaluation of Univalent Behaviour in Meiotic Mutants of *Pisum sativum*

**Summary.** Asynaptic and desynaptic mutants are characterized by the appearance of univalents in the course of meiosis. Their spatial arrangement in the spindle apparatus of metaphase I was cytologically investigated and the findings were statistically analysed. The great majority of our material could be fitted to a Polya-distribution. For the parameters of this distribution, point- and intervalestimations were performed by the maximum likelihood method, separately for each genotype and each univalent class. From the position of the estimates in the different classes, it can be concluded that in all genotypes under consideration a high number of bivalents increases the probability of the remaining univalents being arranged in the metaphase plate. The mutual interference of the univalents themselves differs from genotype to genotype: when the number of bivalents is low, each univalent that happens to be arranged in the metaphase plate raises the probability that the remaining univalents will migrate into the metaphase plate, too. In some cases, the mutual interference of the univalents is reduced when the number of bivalents increases; in other cases this interference is merely maintained. Finally, we tried to interpret the cytological and statistical findings by structural and functional changes of the spindle apparatus brought about by the existence of univalents.

**Zusammenfassung.** In konjugationsgestörten Mutanten treten im Verlaufe der Meiosis Univalente oder Univalente und Bivalente in wechselnden Häufigkeitsverhältnissen zueinander auf. Ihre räumliche Anordnung im Spindelraum der Metaphase I wurde zytologisch untersucht und die Befunde statistisch ausgewertet. Der überwiegende Teil unseres Materials ließ sich einheitlich durch eine Polya-Verteilung charakterisieren. Für deren Parameter wurden - für jeden Genotyp und für jede Univalentenklasse getrennt - Punkt- und Intervallschätzungen nach der Maximum Likelihood-Methode durchgeführt. Aus der Lage der Schätzwerte konnten wir schließen, daß bei allen untersuchten Mutanten die Wahrscheinlichkeit für die Univalente, sich in der Metaphaseplatte einzuordnen, um so größer wird, je mehr Bivalente in der Zelle vorliegen. Die gegenseitige Beeinflussung der Univalente ist bei unseren Mutanten unterschiedlich. Bei einer geringen Anzahl von Bivalenten erhöht jedes zufällig in der Metaphaseplatte angeordnete Univalent die Wahrscheinlichkeit für die übrigen, sich ebenfalls dort einzuordnen. Ist die Zahl der Bivalente erhöht, so nimmt die gegenseitige Beeinflussung der Univalente in einigen Fällen ab, in anderen Fällen bleibt sie lediglich erhalten.

Es wurde zum Schluß versucht, die erarbeiteten Befunde als univalentenbedingte strukturelle und funktionelle Änderungen im Aufbau des Spindelapparates zu erklären.

## Einleitung

Das Auftreten von Univalenten im Stadienverlauf der Meiosis ist ein im Pflanzen- und Tierreich weitverbreitetes und häufig beschriebenes Phänomen. Dabei sind die Ursachen für ihre Entstehung sehr vielfältig. Univalente lassen sich u. a. in den Meiozyten haploider, autopolyploider und aneuploider Organismen nachweisen. Besonders häufig treten sie in Artbastarden auf. Darüber hinaus sind sie bei diploiden Organismen verhältnismäßig leicht durch künstliche Veränderungen der Umweltverhältnisse während einer besonders sensiblen Periode in den frühen meiotischen Prophasestadien zu erzielen. Als sehr ergiebige Quelle haben sich in diesem Zusammenhang durch mutagene Agenzien induzierte Mutanten mit Einfluß auf das Konjugationsgeschehen erwiesen.

Unabhängig von ihrer Entstehungsursache verursachen Univalente Verteilungsanomalien der Chromosomen während der Meiosis mit dem Ergebnis, daß die gebildeten Gonen genomatisch unausgewogen sind und letztlich zu funktionsunfähigen Keimzellen führen. Die Art der Verteilungsstörungen hängt dabei wesentlich von den Positionen ab, welche die Univalente im Spindelraum der 1. Reifeteilung einnehmen. Diesbezüglich wird in nahezu allen Publikationen - wenn überhaupt - lediglich darauf hingewiesen, daß sie "zufallsmäßig" über den Spindelraum verteilt sind. Nur wenige Autoren haben diese Situation etwas deutlicher charakterisiert, indem sie übereinstimmend feststellten, daß die Univalentenlage von der Bivalentenanzahl innerhalb der Pollenmutterzelle abhängig zu sein scheint (Östergren und Vigfusson 1953, Wagenaar 1961, Henderson 1962, Klein 1968).

Da das Verhalten der Univalente im Spindelapparat bedeutsam ist für das Verständnis der Vorgänge in der Bewegungsphase der Kernteilungen, wird diese Problematik in der vorliegenden Arbeit an einer größeren Zahl konjugationsgestörter Mutanten genauer untersucht. Die dazu notwendigen Berechnungen wurden an der Großrechenanlage IBM 370/165 der GMD, Sitz Birlinghoven, durchgeführt.

#### Material, cytologische Technik und statistische Vorbemerkungen

In Verbindung mit strahlen genetischen Untersuchungen an *Pisum sativum* entstand eine größere Zahl von Mutanten mit monofaktoriellm Erbgang und Rezessivität des betrachteten Merkmals, die durch Störungen während der Konjugationsphase der Meiosis charakterisiert sind. Diese Störungen bestehen entweder in einer teilweisen bis völligen Unterbindung der Homologenpaarung (= Asynapsis) oder in einer unterschiedlich starken Verminderung der Chiasmenhäufigkeit nach normaler Parallelkonjugation (= Desynapsis). In beiden Fällen entstehen entweder ausschließlich Univalente oder Univalente und Bivalente in wechselnden Häufigkeitsverhältnissen zueinander. Die Mutanten, die in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt wurden, sind im folgenden mit ihrer Störungsursache und ihren jeweiligen Univalentenklassen aufgeführt. In runden Klammern ist angegeben, wieviel Metaphaseplatten der entsprechenden Art beobachtet wurden; bei den eckig eingeklammerten Ausdrücken war ein  $\chi^2$ -Anpassungstest an eine 2-parametrische Verteilung nicht möglich, da wegen zu geringen Datenmaterials oder einer zu großen Schiefe der empirischen Verteilung nicht mindestens 3 Klassen mit erwarteten Besetzungszahlen  $\geq 5$  gebildet werden konnten (Tab. 1).

Für die zytologischen Untersuchungen wurden Antheren junger Blütenknospen in Aethanol-Eisessig 3:1 fixiert, in Orcein-Essigsäure gefärbt und zu Quetschpräparaten verarbeitet. Zu Vergleichszwecken dienten schwach gequetschte Präparate und bei einigen Mutanten außerdem Mikrotomschnitte.

Die Charakterisierung der Univalentenlage in der Metaphase I erfolgte in der Weise, daß die Univalente im Äquatorialbereich und in den Polregionen getrennt registriert wurden.

Um zu prüfen, ob die Anzahl der Bivalente bzw. der verbleibenden Univalente einen Einfluß auf das Verteilungsmuster der Univalente ausübt, wurde das vorhandene Zahlenmaterial - für jede Mutante getrennt - in maximal acht Gruppen eingeordnet, wobei jede Gruppe die Gesamtzahl der Zellen mit einer bestimmten Univalentenzahl ( $n = 0, 2, 4, \dots, 14$ ) umfaßt.

Bei der statistischen Analyse wurde zunächst mit Hilfe des  $\chi^2$ -Testes geprüft, ob sich das Datenmaterial an eine der bekannten diskreten Verteilungen (Binomial-, Poisson-, negative Binomial-, Neyman- und Polya-Verteilung) anpassen läßt. Die Parameter der negativen Binomialverteilung wurden nach Bliss (1953) geschätzt und die Einzelwahrscheinlichkeiten der Neyman-Verteilung nach Beall und Rescia (1953) berechnet. Die Schätzung der Parameter erfolgte dabei aus den Momenten.

Da die Polya-Verteilung (Eggenburger und Pólya, 1923) für unsere Untersuchungen besonders wichtig wurde und da sie in der Biologie bisher noch kaum An-

Tabelle 1. Störungsursache und Univalentenklassen von 9 konjugationsgestörten Mutanten

Mutante	Störung	Univalentenklassen
231	Desynapsis	14(244), 12(28), [10(9)]
242	Desynapsis	14(1856)
232	Desynapsis	14(82), 12(126), 10(1207), 8(112), 6(69), 4(33), [2(28)]
211	Asynapsis	14(446), 12(55)
229A	Desynapsis	14(63), [12(7)]
2989	Desynapsis	[14(15), 12(20), 10(14), 8(27), 6(6), 4(3), 2(2)]
239A	Desynapsis	14(53), 12(31), 10(52), 8(105), 6(129), 4(113), [2(43)]
2552	Desynapsis	[14(7), 12(12), 10(22), 8(19), 6(9), 4(10), 2(3)]
240A	Desynapsis	14(69), 12(80), 10(56), [8(16)]

wendung gefunden hat, sei hier kurz das Urnenmodell erläutert, das dieser Verteilung zugrunde liegt:

In einer Urne befinden sich  $N$  Kugeln, davon  $R$  rote und  $(N-R)$  schwarze. Man nimmt eine Stichprobe von  $n$  Kugeln, wobei nach jedem Zug die gezogene Kugel, zusammen mit  $c$  weiteren Kugeln der gleichen Farbe, zurückgelegt wird. Im Falle von  $c = 0$  liegt der Spezialfall der Binomialverteilung vor, bei dem sich die Einzelereignisse nicht gegenseitig beeinflussen; bei  $c = -1$  haben wir die hypergeometrische Verteilung. Die Wahrscheinlichkeit, daß unter  $n$  gezogenen Kugeln sich genau  $k$  rote Kugeln befinden, beträgt

$$P(k; n, N, R, c) = \binom{n}{k} \frac{\prod_{i=0}^{k-1} (R+1 \cdot c) \cdot \prod_{i=0}^{n-k-1} (N-R+1 \cdot c)}{\prod_{i=0}^{n-1} (N+1 \cdot c)}$$

Die gleiche Wahrscheinlichkeitsverteilung wie beim vorliegenden Urnenmodell ergibt sich, wenn der Parameter  $p$  einer Binomialverteilung nicht bei jeder Ziehung konstant ist, sondern nach einer BETA-Verteilung verteilt ist. Eine BETA-Verteilung ist eine kontinuierliche Verteilung mit 2 Parametern  $a$  und  $b$ , die zwischen 0 und 1 konzentriert ist. Ihre Dichtefunktion ist gleich

$$\varphi(X) = \frac{1}{B(a, b)} \cdot \frac{X^{a-1}}{(1+X)^{a+b}}$$

Sie kann, je nach Lage der Parameter, U-, J- oder glockenförmig sein. Die Parameter der BETA-Verteilung ergeben sich aus den Parametern der resultierenden Polya-Verteilung durch:

$$a = \frac{R}{c}, \quad b = \frac{N-R}{c}$$

Die Polya-Verteilung hat also 4 Parameter:  $n, N, R$  und  $c$ . Die Zahl  $n$  war in unserem Falle vorgegeben: sie gibt die Anzahl der Univalente wieder. Wie man aus obiger Formel leicht verifiziert, ist  $P(k; n, N, R, c) = P(k; n, \varphi \cdot N, \varphi \cdot R, \varphi \cdot c)$ , wenn  $\varphi$

eine beliebige Konstante  $\neq 0$  ist. Man kann also den Parameter N beliebig vorgeben; bei der graphischen Darstellung der Parameter in Abb.4 wurde er willkürlich gleich 100 gesetzt. Dadurch werden R und c allerdings festgelegt. Es bleibt mithin die Aufgabe, diese beiden Parameter zu schätzen. Hierzu gibt Brucas (1949) ein Verfahren an, das die ersten 4 Momente benutzt. Da sich auf dieser Methode kein Test aufbauen läßt und sie auch nicht asymptotisch effizient ist, erschien die Schätzung der Parameter nach der Maximum Likelihood-Methode empfehlenswerter. Hierfür benutzen wir ein Programmpaket, das Quednau (1973) zur Punkt- und Intervallschätzung der Parameter beliebiger Verteilungen mit anschließendem  $\chi^2$ -Anpassungstest entwickelt hat. Dieses Programmsystem ist in der Computersprache PL/I-FORMAC (IBM-Corp 1967) geschrieben und verarbeitet Formeln von Wahrscheinlichkeitsverteilungen, die in symbolischer Form eingegeben werden.

Ergebnisse

a) Univalente je PMZ, Häufigkeitsverteilung

Die Häufigkeitsverteilung des Merkmals "Univalente je PMZ" ist für jede Mutante charakteristisch und Ausdruck für die Ausprägungsstärke des desynaptischen bzw. asynaptischen Defektes. Die Variationsbreite kann dabei in Abhängigkeit vom Genotyp alle acht möglichen Univalentenklassen umfassen (Mutante 232: Zellen mit 0, 2, 4, ..., 14 Univalente) oder - im anderen Extremfall - nur durch eine Gruppe repräsentiert sein (Mutante 242: nur Zellen mit 14 Uni-

valenten). Die Verhältnisse sind graphisch als Häufigkeitsverteilung in Abb.1 dargestellt.

Bei einer sich anschließenden statistischen Analyse dieses Datenmaterials ergab sich: Mit Ausnahme der Genotypen 232 und 240A konnten die diesbezüglichen empirischen Daten der übrigen sieben Mutanten an keine der von uns benutzten Verteilungen angepaßt werden. Daraus kann man den Schluß ziehen, daß sich in diesen Fällen die homologen Chromosomen wahrscheinlich nicht einheitlich verhalten, sondern unabhängig in bezug auf die Ausbildung von Chiasmen reagieren.

b) Lage der Univalente in der Metaphase I

Das Verhalten der Univalente während des meiotischen Stadienablaufes wird wesentlich bestimmt durch die Lage, die sie im Spindelraum der Metaphase der ersten Reifeteilung einnehmen. Bei allen bearbeiteten Genotypen war übereinstimmend zunächst festgestellt worden, daß die Chromosomen in Zellen mit hohem Univalentenanteil (12, 14 Univalente) häufig auf die beiden Polbereiche verteilt sind, während die Äquatorialebene chromosomenfrei bleibt. Damit wird eine Verteilungssituation verwirklicht, wie sie für die Anaphase typisch ist (Abb. 2). Lediglich die zu diesem Zeitpunkt noch nicht sichtbare Aufgliederung der Chromosomen in Geschwisterchromatiden beweist den Metaphasencharakter solcher Zel-

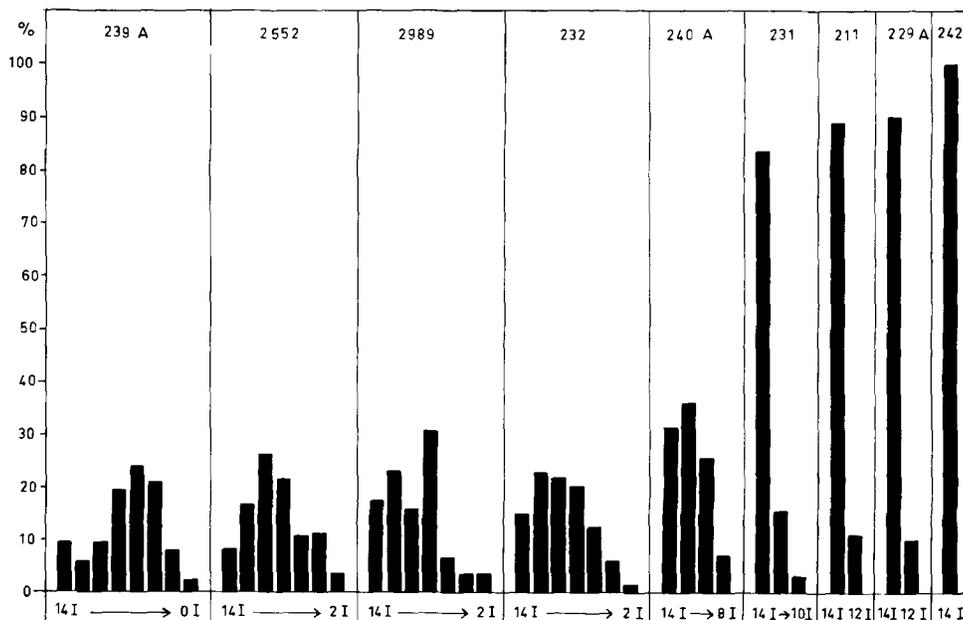


Abb.1. Häufigkeitsverteilung des Merkmals "Univalente je PMZ" in 9 verschiedenen Genotypen von *Pisum*

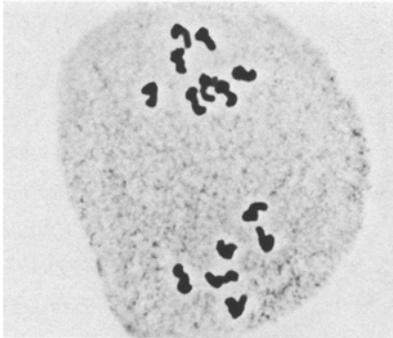


Abb.2. Pollenmutterzelle einer desynaptischen Mutante während der Metaphase I mit 14 Univalenten und "polarer" Verteilung

len. (Bei *Pisum sativum* werden die Chromatiden "schlagartig" mit Beginn der Anaphase sichtbar.) Im Unterschied dazu zeigten Zellen mit geringem Univalentenanteil (2, 4 Univalente) überwiegend eine Anordnung aller Chromosomen in der Metaphaseplatte. Es wurde daher vermutet, daß die Univalentenlage im Spindelraum durch die Anzahl der in einer Zelle vorhandenen Univalente bzw. Bivalente beeinflusst wird. Um diese Beobachtung zu objektivieren, wurde - für jede Mutante und für jede Univalentenklasse getrennt - zunächst der prozentuale Anteil der Univalente im Äquatorialbereich ermittelt und in der Abb.3 in Form eines Säulendiagramms wiedergegeben. Aus ihr geht hervor, daß mit abnehmender Univalentenzahl ein immer größerer Prozentsatz der Univalente im Äquato-

rialbereich liegt, oder, anders ausgedrückt, daß eine abnehmende Bivalentenzahl je Zelle mit einer Polverlagerung der Univalente einhergeht.

c) Statistische Bearbeitung der zytologischen Befunde

Um die vorangegangenen Aussagen auf ihre Stichhaltigkeit hin zu überprüfen und schärfer zu fassen, schloß sich eine detaillierte statistische Analyse an. Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

Die Zahl  $n$  gibt die Anzahl der Univalente je PMZ an; sie ist stets gradzahlig und kann zwischen 2 und 14 schwanken.  $k$  beschreibt die Anzahl der Univalente, die sich in der Metaphaseplatte anordnen. Sie bildet eine diskrete Zufallsvariable, die für  $0 \leq k \leq n$  positive Wahrscheinlichkeiten hat.

Nun wurden die einzelnen empirischen Verteilungen mit Hilfe des  $\chi^2$ -Testes auf Übereinstimmung mit der Binomialverteilung, der negativen Binomialverteilung und 10 Typen der Neyman-Verteilung geprüft. In einigen Fällen, die auch optisch aus dem Rahmen fielen, erhielten wir signifikante Unterschiede zu allen diesen Verteilungen. Im allgemeinen ließ sich jedoch sagen, daß immer dann, wenn die Varianz niedriger oder nur geringfügig höher als der Mittelwert war, Übereinstimmung mit der Binomialverteilung bestand, während in der überwiegenden Zahl der Fälle, in denen die Varianz größer war als der Mittelwert, sowohl die negative Binomialverteilung als auch die Neyman-Ver-

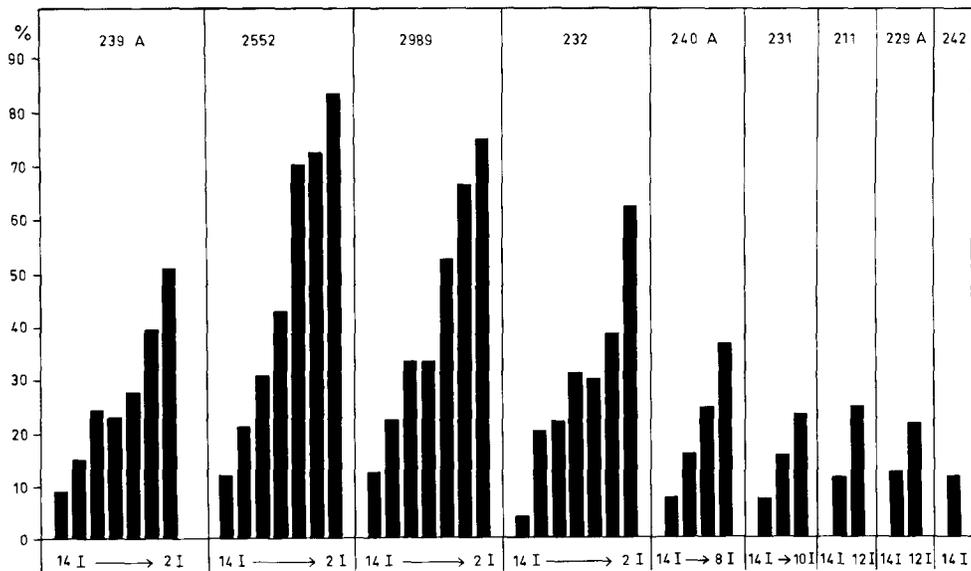


Abb.3. Der prozentuale Anteil der Univalente im Äquatorialbereich an der Gesamtzahl der Univalente je Zelle in den verschiedenen Univalenten-Klassen

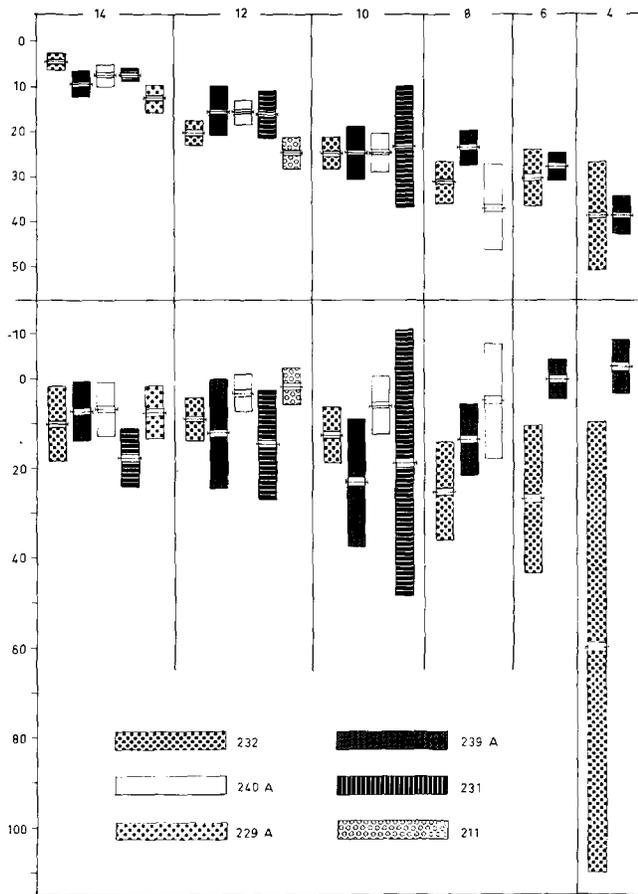


Abb. 4. Vertrauensintervalle der Polya-Verteilungen in 6 Univalentenklassen bei 6 Genotypen von *Pisum*. Oberer Teil: Parameter p; unterer Teil: Parameter c (jeweils normiert mit N = 100)

teilungen paßten. Ein Unterschied in der Anpassung an die negative Binomialverteilung und die Neyman-Verteilungen konnte nicht beobachtet werden.

Eine Interpretation unserer Verteilungen als negative Binomialverteilung oder Neyman-Verteilung erschien uns jedoch etwas gezwungen, da diese Verteilungen für jede natürliche Zahl eine positive Wahrscheinlichkeit besitzen, während in unserem Falle zu fordern ist, daß  $p(k > n)$  exakt gleich 0 ist. Außerdem war es wünschenswert, einen Verteilungstyp zu finden, mit dem sich alle unsere Verteilungen beschreiben ließen, bei dem also die Varianz sowohl größer als auch kleiner als der Mittelwert sein kann, je nach Wahl der Parameter. Aus diesen Gründen erschien es am zweckmäßigsten, die beobachteten Verteilungen auf Übereinstimmung mit der Polya-Verteilung zu prüfen. Dabei ergab es sich, daß die Verteilungen, die entweder mit der Binomialverteilung oder der negativen Bi-

nomialverteilung und den Neyman-Verteilungen verträglich waren, beim  $\chi^2$ -Test keine signifikante Abweichung von der Polya-Verteilung zeigten. Mit Hilfe der Polya-Verteilung läßt sich also der überwiegende Teil des behandelten Mutanten-Materials einheitlich charakterisieren.

In Abb. 4 sind die Schätzwerte der Parameter zusammen mit ihren 95%-Vertrauensintervallen graphisch dargelegt. Aus ihrer Lage können wir folgende Schlußfolgerungen ziehen:

- In allen analysierten Mutanten nimmt der Parameter p mit der Zunahme der Univalentenzahl ab. Dabei beschreibt p die Anfangswahrscheinlichkeit, mit der ein Ereignis unabhängig von den folgenden eintritt. In unserem Fall ergibt sich p durch das Verhältnis k der Univalente im Bereich der Metaphaseplatte zu der Gesamtzahl n der in der Zelle vorhandenen Univalente.
- Die funktionelle Abhängigkeit des Parameters c von der Gesamtzahl der Univalente läßt sich nicht durch eine allgemeingültige Formel wiedergeben; sie ist vielmehr ein charakteristisches Merkmal jeder Mutante. Dabei beschreibt c den Grad der Ansteckung, mit anderen Worten: c gibt an, in welcher Weise sich die Univalente in ihrem Verhalten wechselseitig beeinflussen.

### Diskussion

Über die Bewegungserscheinungen der Chromosomen während der Kernteilungen ist in der Vergangenheit eine große Zahl von Hypothesen entwickelt worden. Es gibt - wie Paweletz (1974) in einer zusammenfassenden Darstellung feststellt - kaum eine denkbare Krafterzeugungs- und Kraftübertragungsmöglichkeit, die nicht zur Deutung der Chromosomenbewegung herangezogen wurde. In neuester Zeit sind 2 Modellgruppen in der Diskussion, die Befunde aus molekularbiologischen und elektronen-mikroskopischen Untersuchungen berücksichtigen. Es handelt sich um die Ein- und Zweikomponenten-Modelle mit einer vielfältigen Anzahl von Modifikationen. Dabei kann jede Modellgruppe zwar eine Reihe von experimentell ermittelten Daten erklären, jedoch ist keine der bisher vorgeschlagenen Hypothesen in der Lage, sämtliche Phänomene zu deuten und so eine einheitliche, allgemeingültige Vorstellung über die Kernteilungsmechanik zu liefern. Das gilt insbesondere dann, wenn man gestör-

te Kernteilungsabläufe mit in die Betrachtung einbezieht. Solche zusätzlichen Komplikationen und Interpretationsschwierigkeiten ergeben sich beispielsweise dann, wenn - wie in der vorliegenden Arbeit dargestellt - neben normalen Bivalenten auch ungepaarte Chromosomen während der meiotischen Teilungen auftreten. Ein erster Versuch, das ungewöhnliche Verhalten solcher Univalente im Spindelraum der ersten meiotischen Metaphase und Anaphase zu erklären, stammt von Östergren (1951) und ist in seiner Theorie "orientation - by - pulling" dargestellt. Sie geht von der Annahme aus, daß die Chromosomenstruktur und insbesondere der Feinbau der Zentromerregion in Mitose- und Meiose-Chromosomen grundsätzlich voneinander verschieden sind. Danach sollen - im Unterschied zu der Situation in der Mitose - die Tochterzentromere in der Meiose eng nebeneinander auf einer Seite des Chromosomenquerschnittes liegen, wodurch sich für die Univalente ein dorsiventraler Aufbau mit einer "bewegungsaktiven Vorderseite" und einer "bewegungspassiven Hinterseite" ergibt. Die Lage der Univalente im Spindelraum ist dann eine Folge der zufälligen Hinwendung der kinetischen Seite zu einem der beiden Pole oder zur Metaphaseplatte. Im ersten Falle erfolgt eine Polverlagerung, im zweiten Falle eine Anordnung im Bereich der Metaphaseplatte. Was die Struktur der Zentromerregion anbelangt, so wurden die Annahmen von Östergren durch elektronenmikroskopische Befunde von Wagenaar und Bray (1973) an verschiedenen Weizenhybriden mit hohem Univalentenanteil bestätigt. Danach liegen die Zentromere von Univalenten während der Metaphase I tatsächlich nebeneinander auf der Chromosomenoberfläche, während sie in der Mitose funktionell und strukturell getrennt sind und jeweils zu entgegengesetzten Polen zeigen. Die Verteilungscharakteristik der Univalente im Spindelraum kommt dann dadurch zustande, daß die polwärts gelagerten Chromosomen einseitig an nur von einem Pol stammenden Mikrotubuli angebunden sind, während die Einordnung in die Metaphaseplatte als Folge der Tatsache zu erklären ist, daß die benachbarten Tochterzentromere aufgrund ihrer Lagebeziehung zur Äquatorialebene Kontakt mit Spindелеlementen von beiden Polen aufnehmen und somit in einer äquatorialen Mittellage fixiert werden. So einleuchtend diese Vorstellungen für die jeweiligen Befunde, auf die sie sich beziehen, auch sein mögen, so wenig reichen sie aus, zusätzliche, z.T. in der vorliegenden Arbeit be-

handelte Verhaltensweisen der Univalente zu verstehen. Dies gilt vor allem für die an einer größeren Zahl asynaptischer und desynaptischer Mutanten unseres Sortimentes abgeleitete Abhängigkeit der Univalentenlage von der Bivalentenhäufigkeit. Es bleibt in diesem Zusammenhang zu erklären, welche Mechanismen dafür sorgen, daß eine Zunahme der Bivalentenzahl offenbar mit entsprechend zunehmender Wirksamkeit die Orientierung der Univalente so beeinflußt, daß sie in zunehmendem Maße Positionen im Äquatorialbereich einnehmen. Eine ähnliche Abhängigkeit wurde u.a. auch von Östergren und Vigfusson (1953), Wagenaar (1961), Henderson (1962) und Klein (1968) beschrieben, aber weder von Östergren noch von Wagenaar bei ihren Überlegungen zur Erklärung des Univalentenverhaltens berücksichtigt.

Wir gehen bei unserem Versuch, die im Ergebnisteil geschilderten Verhältnisse zu erklären, zunächst von den folgenden, im wesentlichen durch empirische Befunde belegten Voraussetzungen aus:

1. Die Zentromerregionen der Chromosomen spielen eine aktive Rolle bei Aufbau und Ausrichtung der Mikrotubuli. Diese Annahme stützt sich auf ein Modell, das von Inoué (1964) und Dietz (1969) entwickelt wurde und in einer Monographie von Luykx ausführlich und kritisch anhand einer großen Zahl von Befunden gewürdigt wird (Luykx 1970, S. 55 ff.).

2. Über diese Modellvorstellung hinausgehend postulieren wir, daß ausgerichtete Mikrotubuli gleichsam als Kristallisationsbahnen für die Anlagerung weiterer Mikrotubuli wirken. Auf diesem Wege kommt es zu einer Bündelung elektronenmikroskopisch nachweisbarer Längselemente, die als lichtoptisch sichtbare Spindel-fasern dargestellt werden können.

3. Eine normale Spindelfunktion bedingt eine normale Spindelstruktur. Sie ist charakterisiert durch eine in Längs- und Querrichtung völlig symmetrische Anordnung sowie durch eine energetisch gleichwertige Ausstattung ihrer Bauelemente.

4. Die dritte Voraussetzung ist nur erfüllt, wenn bikinetisch organisierte chromosomale Elemente vorliegen.

5. Die kinetischen Zentren (Zentromere bei Meiosechromosomen, Tochterzentromere bei Mitosechromosomen) müssen strukturell getrennt sein, jeweils zu entgegengesetzten Polen zeigen und gleich starken Kontakt mit beiden Spindelpolen besitzen. Im Fall der

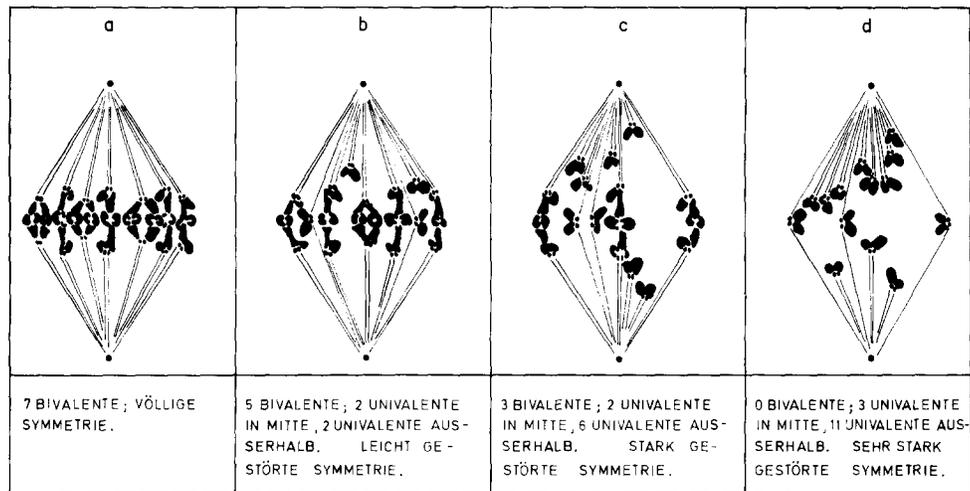


Abb. 5. Spindelstruktur in verschiedenen Pollenmutterzellen konjugationsgestörter Mutanten zur Erklärung des Univalenten-Verhaltens während der 1. meiotischen Metaphase

Meiose ist diese Voraussetzung in vollem Umfang für Bivalente gegeben; für Univalente trifft sie nur dann zu, wenn sie im Äquatorialbereich liegen, ihr kinetisches Zentrum symmetrisch zur Äquatorialebene angeordnet ist und wenn sie gleichgewichtigen Kontakt zu beiden Spindelpolen besitzen.

6. Außerhalb der Metaphaseplatte liegende Univalente sind mit ihrer kinetischen Seite einseitig auf einen Pol hin orientiert. Sie sind verantwortlich dafür, daß eine in Längs- und Querrichtung asymmetrische Spindelstruktur zustande kommt.

7. Normale Bedingungen sind gegeben, wenn ein morphologisch und physiologisch ausbalanziertes Kräftegleichgewicht zwischen den beiden Halbspindeln besteht. Dies wiederum ist unabdingbare Voraussetzung für die Fixierung der chromosomalen Elemente in der Metaphaseplatte.

Bei konjugationsgestörten Genotypen mit Univalenten bzw. Univalenten und Bivalenten sind lediglich die beiden ersten Bedingungen erfüllt, so daß sich zwangsläufig Störungen hinsichtlich Spindelstruktur, Spindelfunktion und Chromosomenverteilung ergeben.

Auf dem Hintergrund dieser Überlegungen entsteht bei der Spindelbildung ein System von Fasersträngen, in das die Bivalente symmetrisch eingebunden sind. Stabilisiert wird dieses Fasengerüst in Längsrichtung durch Spindелеlemente, die - ohne unmittelbaren Kontakt zu den Chromosomen - von Pol zu Pol ziehen und senkrecht dazu - durch faserige Querverstrebungen zwischen den Zentromeren benachbarter Chromoso-

men (Luykx 1970). Diese Querelemente haben offensichtlich die Funktion, die chromosomalen Elemente im Äquatorialbereich in optimaler Entfernung voneinander zu fixieren. Je mehr Bivalente vorliegen, desto kompakter wird diese symmetrisch ausgebildete Faserkonstruktion. Außerdem erfolgt wegen des Konvergierens der Faserelemente eine zunehmende Gefügeverdichtung zu den Polen hin. Dadurch wird - so nehmen wir an - bereits aus räumlichen Gründen eine zunehmende Tendenz zur Verlagerung der verbleibenden Univalente in Richtung auf die "geräumige" Äquatorialebene hin wirksam. In der Abb. 5 wurde versucht, diesen Sachverhalt zeichnerisch in vier verschiedenen PMZ mit unterschiedlichem Univalentenanteil zu verdeutlichen. Es erklärt sich somit aufgrund dieser Überlegungen und Befunde, daß der Parameter  $p$  bei allen untersuchten Mutanten mit steigender Bivalentenzahl sich deutlich erhöht (Abb. 4).

Schwieriger ist die Frage einer Mitwirkung der Univalente bei der Verwirklichung dieses Trends zu beantworten und zu interpretieren. Stimmt die unter Punkt 5 aufgestellte Prämisse, sollten Univalente im Äquatorialbereich zusätzlich zu den Bivalenten an der symmetrischen Gefügeverdichtung teilhaben und damit mitverantwortlich sein für die oben erwähnte Verlagerung der Nicht-Äquator-Univalente. Aus Abb. 4 ist ersichtlich, daß der Parameter  $c$  in den meisten Fällen deutlich größer als 0 ist. Wie zuvor ausführlich erläutert wurde (Kapitel: statistische Vorbemerkungen), können einer Polya-Verteilung mit positivem  $c$  zwei

Modelle zugrunde liegen, die sich jedoch nicht gegenseitig auszuschließen brauchen. Dies würde in unserem Fall bedeuten:

#### Modell 1

Alle Univalente besitzen dieselbe Anfangswahrscheinlichkeit, sich in der Metaphaseplatte anzuordnen; es besteht jedoch eine wechselseitige, positive Beeinflussung zwischen den Chromosomen. Wenn sich ein Univalent durch Zufall in die Metaphaseplatte eingeordnet und über Spindelfasern mit beiden Spindelpolen Kontakt aufgenommen hat, verändert sich die Wahrscheinlichkeit für das Verhalten der übrigen Univalente, ebenfalls in die Äquatorialebene zu wandern.

Überprüft man in diesem Zusammenhang das Verhalten des Parameters  $c$ , so ergeben sich zunächst uneinheitliche Befunde:

- Bei ausschließlichem Vorliegen von Univalenten sind nur diese für den Aufbau einer Spindel verantwortlich, deren beide Halbspindeln wegen der fast immer anzutreffenden unregelmäßigen Verteilung der Chromosomen mehr oder weniger stark unterschiedlich sein werden. Der Grad der Asymmetrie wird um so geringer sein, je mehr Univalente durch Zufall in die Metaphaseplatte zu liegen kommen und eine symmetrische Anordnung der zugeordneten Spindelfasern bewirken. In diesem Falle ist gemäß unserer Hypothese eine positive Ansteckung zu erwarten, d.h. die Äquator-Univalente wirken gewissermaßen als Katalysatoren für eine Einordnung weiterer Univalente in den Äquatorialbereich. Dies steht, wie Abb. 4 zeigt, tatsächlich mit den Werten für  $c$  im Einklang. Die Vertrauensintervalle in der "Klasse 14I" liegen für alle fünf getesteten Genotypen deutlich und ausnahmslos im positiven Bereich.

Treten zusätzlich zu den Univalenten Bivalente auf, so wird die Situation komplexer. Betrachten wir nur die Genotypen, die in allen untersuchten Univalentenklassen vertreten sind (14I bis 4I, entsprechend 0II bis 5II), so ergibt sich folgendes Bild: Es ist zunächst eine deutliche Unterscheidung zwischen den Mutanten 232 und 239A festzustellen. Während bei 232 eine Tendenz für eine Zunahme des Parameters  $c$  mit zunehmender Bivalentenzahl bzw. abnehmender Univalentenzahl vorliegt, ergibt sich für 239A nach anfänglichem Anstieg bis zur 3. Univalentenklasse

ein Abfall von  $c$ . Wir folgern daraus, daß bei 232 auch vier Univalente noch einen beobachtbaren Einfluß auf die Ausbildung der Spindelstruktur haben, während bei der Mutante 239A der Einfluß der Univalente in diesem Fall zu vernachlässigen ist. Um einem möglichen Mißverständnis vorzubeugen, muß in diesem Zusammenhang betont werden: Wenn der Parameter  $p$  größer wird, dann bedeutet eine gleichzeitige Erhöhung von  $c$  nicht etwa, daß eine zunehmende Ansteckung gegeben ist, sondern lediglich, daß eine Ansteckung erhalten bleibt. Dieser Sachverhalt kann aus dem Urnenmodell der Polya-Verteilung abgeleitet werden.

#### Modell 2

Die Wahrscheinlichkeit, mit der sich ein Univalent in die Metaphaseplatte einordnet, ist nicht a priori für alle Pollenmutterzellen gleich, sondern schwankt nach einer BETA-Verteilung. In diesem Fall braucht keine aktive Beeinflussung vorzuliegen, wenngleich sie auch nicht ausgeschlossen werden kann. Die Tatsache, daß bezüglich  $c$  Unterschiede zwischen den Klassen bestehen, deutet allerdings darauf hin, daß die zweite Interpretationsmöglichkeit zumindest nicht ausschließlich für das Verhalten der Univalente verantwortlich sein kann.

#### Literatur

- Beall, G.; Rescia, R.R.: A generalisation of Neyman's contagious distributions. *Biometrics* 9, 354-386 (1953)
- Bliss, C.J.: Fitting the negative Binomial Distribution to biological data. *Biometrics* 9, 176-196 (1953)
- Bricas, M.A.: Le système de courbes de Pearson et le schéma d'urne de Pólya. *Monographies de mathématiques appliquées, Série A*, Athen 1949
- Dietz, R.: Bau und Funktion des Spindelapparates. *Naturwissenschaften* 56, 237 (1969)
- Eggenburger, F.; Pólya, G.: Über die Statistik verketteter Vorgänge. *Z. f. ang. Math. und Mechanik* 3, 279-289 (1923)
- Henderson, S.A.: Temperature and chiasma formation in *Schistocerca gregaria*. II. Cytological effects at 40°C and the mechanism of heat-induced univalence. *Chromosoma (Berl.)* 13, 437-463 (1962)
- IBM-Corp: PL/I-FORMAC Interpreter. New York: Hawthorne 1967
- Inoué, S.: In: *Primitive Motile Systems in Cell Biology*, S. 549-598. New York: Academic Press 1964
- Klein, H.D.: Die Beeinflussung der Meiosis durch mutierte Gene. *Diss. Math.-Nat.-Fak. Universität Bonn*, 1-97 (1968)

- Luykx, P.: Cellular mechanisms of chromosome distribution. Intern. Rev. Cytology, Suppl. 2, New York: Academic Press 1970
- Östergren, G.: The mechanism of co-orientation in bivalents and multivalents. The theory of orientation by pulling. Hereditas 37, 85-156 (1951)
- Östergren, G.; Vigfusson, E.: On position correlations of univalents and quasibivalents formed by sticky univalents. Hereditas 39, 33-50 (1953)
- Paweletz, N.: 100 Jahre Mitoseforschung. Naturw. Rdsch. 27, 359-370 (1974)
- Quednau, H.D.: Maxlike - Ein Programmsystem zur Parameterschätzung beliebiger Verteilungen nach der maximum likelihood-Methode. EDV in Medizin und Biologie 4, 37-41 (1973)
- Wagenaar, E.B.: Cytological studies on the development of metaphase I in *Triticum* hybrids. II. The behaviour of univalents in meiotic cell division. Can. J. Genet. Cytol. 3, 204-225 (1961)
- Wagenaar, E.B.; Bray, D.F.: The ultrastructure of kinetochores of unpaired chromosomes in a wheat hybrid. Can. J. Genet. Cytol. 15, 801-806 (1973)

Eingegangen am 1. Dezember 1975/  
18. März 1976  
Angenommen durch H. Stubbe

Dr. H.D. Klein  
Dr. H.D. Quednau  
Institut für Genetik  
der Universität Bonn  
Kirschallee 1  
D-5300 Bonn (Germany/BRD)