

Beziehungen zwischen Genomgröße, Basenzusammensetzung und Endopolyploidie bei Samenpflanzen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

**Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**

von

Martin Barow

geboren am 24.10.1969 in Delmenhorst

Termin der Verteidigung: 27.08.2003

Gutachter:

1. Prof. Jaroslav Dolezel (Olomouc/Tschechien)
2. Dr. habil. Armin Meister (Gatersleben)
3. Prof. Martin Röser (Halle)

urn:nbn:de:gbv:3-000005414

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000005414>]

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Die Genomgröße	1
1.2	Das Basenverhältnis (AT/GC-Verhältnis) in der DNA	3
1.3	Endopolyploidie	4
2.	Zielstellungen	5
2.1	Untersuchung des AT/GC-Verhältnisses bei Samenpflanzen	6
2.2	Die Endopolyploidie bei Samenpflanzen	7
3.	Material und Methoden	8
3.1	Pflanzenmaterial	8
3.2	Durchflusszytometrie	10
3.2.1	Probenbereitung und –messung	11
3.2.2	Referenzarten	12
3.2.3	Auswertung der Messdaten	13
3.2.3.1	Analyse der Histogramme	13
3.2.3.2	Berechnung von Genomgröße und AT/GC-Verhältnis	14
3.2.3.3	Vergleich von DAPI und HO	15
3.2.3.4	Berechnung des Endopolyploidisierungsgrades	16
3.2.4	Kernsortierung und Fluoreszenzmikroskopie	16
3.3	Statistik	17
3.4	Analyse des AT/GC-Verhältnisses mittels HPLC	17
3.4.1	Gerät, Säule und Laufmittel	17
3.4.2	Probenbereitung	18
3.4.3	Messung	19
4.	Ergebnisse	19
4.1	Das AT/GC-Verhältnis	19
4.1.1	Bei Spermatophyten besteht keine Beziehung zwischen der Genomgröße und dem Farbstofffaktor für DAPI (FF_{DAPI})	20
4.1.2	Die Pflanzenfamilien unterscheiden sich im AT/GC-Verhältnis	24
4.1.3	Der Vergleich der Farbstofffaktoren für DAPI und HO führt zu	26

	uneinheitlichen Ergebnissen	
4.1.4	Die Ergebnisse der HPLC verdeutlichen eine gute Übereinstimmung zwischen dem Farbstofffaktor für DAPI (FF_{DAPI}) und dem AT/GC-Verhältnis der DNA	27
4.2	Die Endopolyploidie ist bei Samenpflanzen mit der Phylogenie der Arten, dem Organtyp, der Lebensform und Lebensdauer und der Genomgröße unterschiedlich eng korreliert	29
4.2.1	Aus der Gesamtheit der Daten resultiert eine schwache negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung	29
4.2.2	Die Endopolyploidisierung ist in den verschiedenen Familien unterschiedlich ausgeprägt	35
4.2.3	Die Endopolyploidisierung ist in Arten mit verschiedener Lebensform und Lebensdauer unterschiedlich ausgeprägt	37
4.2.4	Die verschiedenen Organe weisen unterschiedliche Endopolyploidisierungsgrade auf	40
4.2.5	Der Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Familienzugehörigkeit, Organtyp, Lebensform und Lebensdauer sowie Genomgröße ist unterschiedlich eng	42
5.	Diskussion	45
5.1	Das Basenverhältnis (AT/GC-Verhältnis) bei Spermatophyten	45
5.1.1	Bei Spermatophyten besteht keine Beziehung zwischen dem Farbstofffaktor für DAPI (FF_{DAPI}) und der Genomgröße, sondern vielmehr zwischen dem Farbstofffaktor und der phylogenetischen Position der untersuchten Arten	45
5.1.2	Ursache für die uneinheitlichen Ergebnisse aus dem Vergleich des Farbstofffaktors für DAPI und HO ist die nicht zufällige Basenverteilung im Genom	48
5.1.3	Die Durchflusszytometrie stellt trotz des Einflusses der nicht zufälligen Basenverteilung auf die Fluoreszenzintensität basenspezifischer Farbstoffe eine verlässliche Methode zur Ermittlung des AT/GC-Verhältnisses dar	53
5.2	Endopolyploidie bei Spermatophyten	55

5.2.1	Das Auftreten der Endopolyploidie in Spermatophyten ist genetisch bestimmt	55
5.2.2	Die Endopolyploidie ist in den verschiedenen Organen endopolyploider Arten unterschiedlich stark ausgeprägt	57
5.2.3	Ursache der negativen Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße ist der Zusammenhang zwischen der Lebensform und Lebensdauer und der Genomgröße sowie die Proportionalität zwischen dem DNA-Gehalt des Zellkerns und dem Zellvolumen	58
5.2.4	Die Lebensstrategie der Pflanzenarten überlagert wahrscheinlich die Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Lebensform und Lebensdauer bzw. Genomgröße	63
5.2.5	Wahrscheinlich führen ähnliche Lebensstrategien von Arten einer Familie zu der starken Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Familienzugehörigkeit	71
6.	Zusammenfassung	73
7.	Literaturverzeichnis	76

Abkürzungsverzeichnis

A	: Adenin
Abb.	: Abbildung
C	: Cytosin
DAPI	: 4'-6-Diamidino-2-Phenylindol
G	: Guanin
HO	: Hoechst 33342
n	: Bindungslänge
N	: Anzahl
P	: Irrtumswahrscheinlichkeit
pg	: Picogramm
PI	: Propidiumjodid
r	: Korrelationsfaktor
T	: Thymin
Tab.	: Tabelle

1. Einleitung

Die vorliegende Arbeit umfasst zwei Sachbereiche, das DNA-Basenverhältnis des Genoms und die Endopolyploidie bei Spermatophyten.

Sowohl das DNA-Basenverhältnis als auch die Endopolyploidie sind bei Spermatophyten Vermutungen zufolge mit der Genomgröße korreliert. Diese beiden Korrelationen sowie mögliche Zusammenhänge des DNA-Basenverhältnisses und der Endopolyploidie mit phylogenetischen sowie der Endopolyploidie mit physiologischen, morphologischen und ökologischen Parametern werden in dieser Arbeit untersucht und diskutiert.

1.1 Die Genomgröße

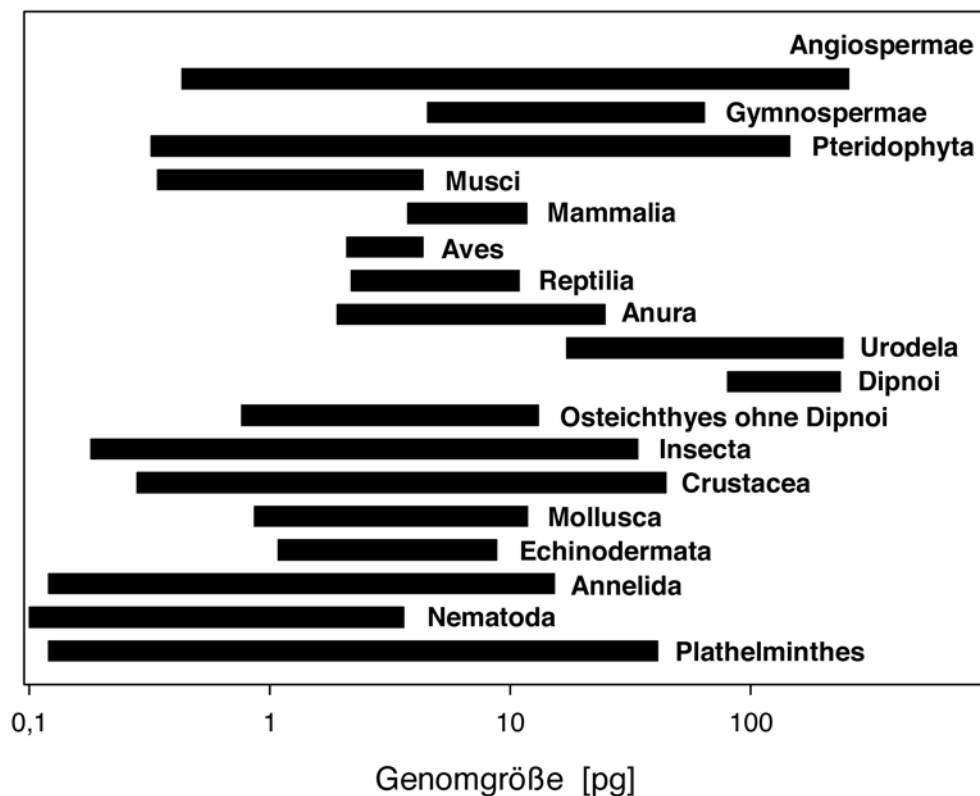
Bei Eukaryoten wird die Genomgröße durch die Masse der Zellkern-DNA des reduzierten unreplizierten haploiden Chromosomensatzes bestimmt und als C-Wert in Picogramm (pg) angegeben. Ein Picogramm entspricht nach Doležel et al. (2003) $0,98 \times 10^9$ Basenpaaren. In dieser Arbeit erfolgt ausschließlich die Angabe des 2C-Wertes.

Zwischen verschiedenen Organismenarten, auch solchen, die der gleichen Klasse angehören, bestehen teilweise erhebliche Genomgrößenunterschiede (Abb.1). Unter den mehrzelligen Eukaryoten finden sich die kleinsten Genome bei den Anneliden, Plathelminthen und Nematoden mit 0,10-0,12 pg. Die größten Genome weisen die Urodela (Schwanzlurche), Dipnoi (Lungenfische) und Angiospermen (Bedecktsamer) mit über 240 pg auf. Nach den Protozoen (0,006 pg - 1395,83 pg) umspannen die Angiospermen den weitesten Genomgrößenbereich, wobei Bennett und Leitch (2001) zufolge *Cardamine amara* mit 0,11 pg das kleinste und *Fritillaria assyriaca* mit 254,8 pg das größte Genom besitzt.

Die Tatsache, dass kein Zusammenhang zwischen Genomgröße und Komplexität sowie vermuteter Anzahl von Genen der untersuchten Organismen besteht (Li und Graur 1991), wird im allgemeinen als C-Wert-Paradoxon (C-value paradox) bezeichnet (Thomas 1971). Da jedoch bekannt ist, dass die Genomgrößenunterschiede nicht durch eine unterschiedliche Anzahl von Genen, sondern v. a. durch nicht-kodierende DNA verursacht sind, liegt nach Gregory (2001a) kein Paradoxon vor. Deshalb führt er stattdessen den Begriff C-Wert-Rätsel (C-value enigma) ein, da unklar ist, ob von der Genomgröße Funktionen abhängen oder welche diese sein könnten. Tatsächlich wurden u. a. bei Angiospermen Korrelationen zwischen dem C-Wert und ökologischen bzw. physiologischen Parametern gefun-

den, z. B. dem Artvorkommen in unterschiedlichen geographischen Breiten und Höhen über dem Meeresspiegel (Levin and Funderburg 1979, Bennett 1976, Reeves et al. 1998, Tensch und Greilhuber 2001), der Zellzyklus-, Meiose- und Pollenreifungsdauer (Bennett 1972, Price und Bachmann 1976), der Lebensdauer (ein- bis zweijährige gegenüber mehrjährigen krautigen Arten; Bennett 1972, Bennett et al. 1998, Vinogradov 2001), der Zellkern- und Zellgröße (Price et al. 1973), der Basenzusammensetzung der DNA (Vinogradov 1994) sowie dem Auftreten und der Ausprägung der Endopolyploidisierung (Nagl 1976). Insbesondere die Berechnung einer Korrelation der Basenzusammensetzung sowie des Endopolyploidisierungsgrades mit der Genomgröße basieren jedoch auf einer sehr geringen Anzahl von Daten und werden deshalb in vorliegender Arbeit anhand umfangreichen Probenmaterials überprüft.

Abb. 1 Genomgrößenbereich (2C-Wert) ausgewählter Eukaryotengruppen

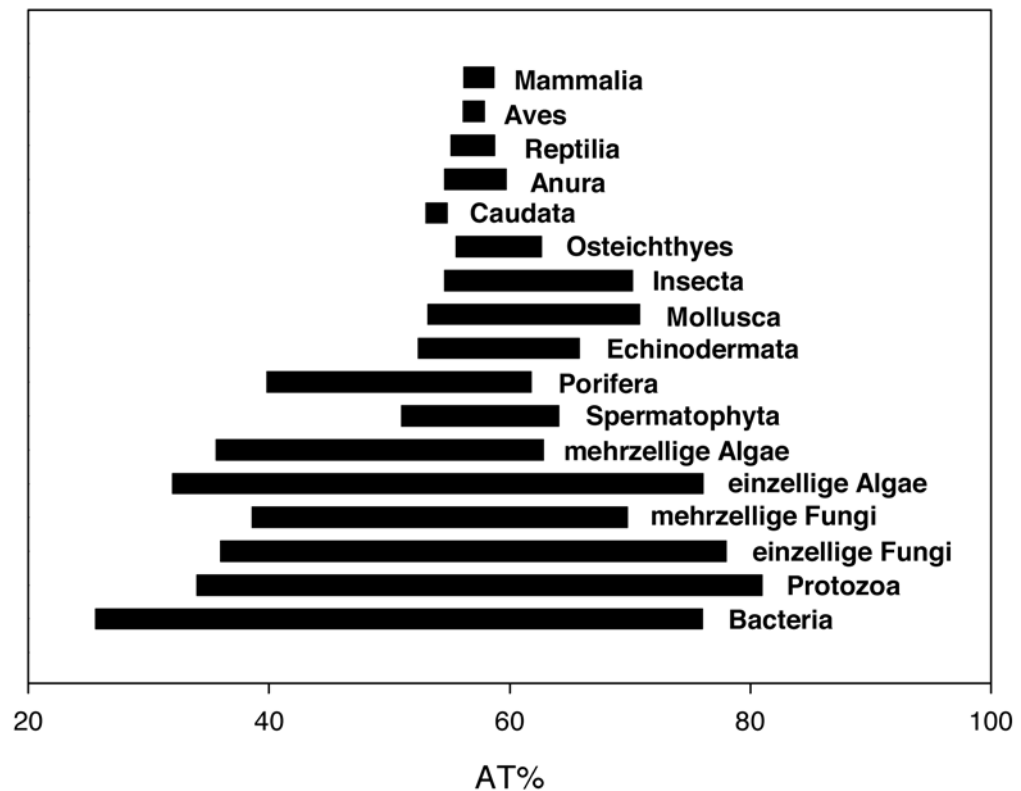


Zusammengetragen nach Bennett und Leitch (2001; Angiospermae), Gregory (2001b; Tiergruppen), Leitch et al. (2001; Gymnospermae), Obermayer et al. (2002; Pteridophyta), Voglmayr (2000; Musci)

1.2 Das Basenverhältnis (AT/GC-Verhältnis) in der DNA

Die komplementären DNA-Basen Adenin (A) und Thymin (T) bzw. Guanin (G) und Cytosin (C) einschließlich Methylcytosin sind im wesentlichen zu jeweils gleichen Teilen in der DNA vertreten, so dass sowohl das Verhältnis von A zu T als auch das Verhältnis von G zu C nahezu eins ist (Chargaff 1950). Andererseits differiert nicht nur der DNA-Gehalt des Genoms zwischen den Arten, sondern auch das Verhältnis der Basenpaare AT versus GC (AT/GC-Verhältnis, Abb. 2). Während der AT-Anteil bei Bakterien und Einzellern zwischen 25 und 80% liegt, beträgt er bei Wirbeltieren und höheren Pflanzen 50 bis 70%. Eine Ursache für diese großen Unterschiede zwischen den einzelnen Organismengruppen mag teilweise in deren unterschiedlichem phylogenetischen Alter liegen, das eine verschieden starke Diversifikation erlaubte (Li und Graur 1991).

Abb. 2 Die Bereiche möglicher AT-Anteile genomischer DNA in ausgewählten Organismengruppen



Zusammengetragen nach Shapiro (1970, 1976; Bacteria bis Insecta) und Vinogradov (1998; Vertebrata)

1.3 Endopolyploidie

Endopolyploidie ist das Vorkommen verschiedener Ploidiestufen in Zellen eines Organismus, das durch Verdopplung des Kern-DNA-Gehaltes ohne Auflösung der Kernhülle entsteht (Joubès und Chevalier 2000, Edgar und Orr-Weaver 2001). Die Ploidiestufen werden, da sie Potenzen von 2 darstellen, mit 2C, 4C, 8C usw. gekennzeichnet. Endopolyploidie liegt in vielen Artengruppen vor. Im Tierreich wurde sie vor allem in Insekten und Crustaceen untersucht, aber auch in Cnidarien, Nematelminthen, Anneliden, Mollusken, Vögeln und Säugern beobachtet (Geitler 1953, Nagl 1978, Beaton und Hebert 1989). Bei Angiospermen ist Endopolyploidie ebenfalls eine weitverbreitete Erscheinung (Tschermak-Woess 1956, Czeika 1956, Nagl 1978), während sie bei Gymnospermen noch nicht beobachtet wurde (Nagl 1978).

Während bei Tieren Endopolyploidie meist durch Endomitose entsteht, bei der verschiedene Stadien der Mitose erreicht werden (Edgar und Orr-Weaver 2001), nicht aber der Spindelapparat gebildet wird, ist bei Pflanzen die Endoreduplikation ohne Chromatinkondensation die häufigste Art der Endopolyploidisierung (Geitler 1953, Joubès und Chevalier 2000).

Endoreduplikation findet direkt im Anschluss an die letzte vorangegangene Mitose statt (Jacqumard et al. 1999) und steht in Verbindung mit Zellstreckung und –differenzierung (Tschermak-Woess 1956, Kudo und Kimura 2002). Für den Übergang vom Zell- zum Endoreduplikationszyklus ist anscheinend nur die Einstellung der Aktivität mitotischer CDKs (cyclin dependent kinase) bei Fortbestehen der Aktivität von CDKs der Synthesephase nötig (Larkins et al. 2001, Joubès und Chevalier 2000, Jacqumard et al. 1999, Grafi und Larkins 1995). Allerdings zeigt die Trennung der einzelnen Endoreduplikationszyklen durch eine Gap-Phase, dass anscheinend die CDK-Aktivität periodisch abnehmen muss, um durch Bildung des Präreplikationskomplexes eine erneute DNA-Reduplikation zu ermöglichen (Larkins et al. 2001, Edgar und Orr-Weaver 2001). Gene, die die CDK-Aktivität regulieren, sind bereits für Hefe und *Medicago sativa* beschrieben worden (Joubès und Chevalier 2000).

Die Funktion der Endopolyploidie ist unklar. Bei Pflanzen ist Endopolyploidisierung v. a. in kleingenomigen Arten wie *Arabidopsis thaliana* (Galbraith et al. 1991), *Cucumis sativus* (Gilissen et al. 1993), *Lycopersicon esculentum* (Smulders et al. 1994), *Medicago sativa* und *M. truncatula* (Kondorosi et al. 2000) sowie *Brassica oleracea* (Kudo und Kimura 2001a,b) gefunden worden. Auch bei Sukkulente n weisen Arten mit kleinen Genomen

(z. B. *Mesembryanthemum crystallinum*) ausgeprägte Endopolyploidie auf, großgenomige hingegen nicht (De Rocher et al. 1990). Nagl (1976) hat für einige Tier- und Pflanzenarten eine negative Korrelation zwischen dem höchsten erreichbaren Endopolyploidisierungsgrad und der Genomgröße nachgewiesen, allerdings nur anhand weniger Arten. Aufgrund dieses Zusammenhangs wurde vermutet, Endopolyploidie könne für kleingenomige Arten eine Möglichkeit darstellen, einen Mangel an DNA-Menge auszugleichen, um, zumindest in bestimmten Zellen, eine hohe Synthesekapazität zu gewährleisten oder regulatorische Funktionen zu erfüllen (Nagl 1976, 1978, De Rocher et al. 1990, Galbraith et al. 1991).

Vorkommen und Ausprägung der Endopolyploidisierung scheinen aber nicht nur von der Genomgröße der jeweiligen Arten abzuhängen, sondern auch charakteristisch für bestimmte taxonomische Gruppen zu sein (Tschermak-Woess 1956, D'Amato 1964, Olszewska und Osiecka 1982). Nagl (1978) berichtet z. B., dass bei Asteraceen (mit zwei Ausnahmen) und Apiaceen bis zum damaligen Zeitpunkt keine Endopolyploidie beobachtet worden sei. Weiterhin scheint in Pflanzen die Endopolyploidisierung in den verschiedenen Organen unterschiedlich ausgeprägt zu sein (De Rocher et al. 1990, Galbraith et al. 1991, Kudo und Kimura 2001 a,b).

Da die Endopolyploidie bei Samenpflanzen somit anscheinend von vielen Faktoren bedingt ist, wird in der vorliegenden Arbeit der Zusammenhang der Endopolyploidie bei Spermato-phyten mit dem Organtyp, der Genomgröße, der phylogenetischen Position sowie ökologischen Eigenschaften der einbezogenen Arten untersucht.

2. Zielstellungen

Die Genomgröße ist kein eigener Gegenstand dieser Arbeit, sondern wird als möglicher Einflussfaktor auf das Basenverhältnis (AT/GC-Verhältnis) und die Endopolyploidisierung in die Untersuchung einbezogen. Für die meisten der für diese Arbeit untersuchten Arten lagen bereits Werte für die Genomgröße in der Datenbank von Bennett und Leitch (2001) vor. Diese Datenbank stellt allerdings nur eine Zusammenstellung der Ergebnisse vieler verschiedener Autoren dar, so dass die Werte teilweise erheblich voneinander abweichen. Um einheitliche Daten aus einer Quelle zu erhalten, wurde deshalb für jede der untersuchten Arten die Genomgröße gemessen.

In den folgenden Abschnitten 2.1 und 2.2 wird der Zusammenhang und Rahmen beschrieben, in dem die beiden Gegenstände der Arbeit, das AT/GC-Verhältnis und die Endopolyploidie in Samenpflanzen, untersucht werden.

2.1 Untersuchung des AT/GC-Verhältnisses bei Samenpflanzen

Bei Tetrapoden wurde eine positive Korrelation zwischen der Genomgröße und dem Anteil der Basen Guanin und Cytosin (GC-Anteil) am Gesamtbasengehalt der DNA gefunden (Vinogradov 1994, 1998, Vinogradov und Borkin 1993). Nach Vinogradov (1998) ist dieser zunehmende GC-Anteil in größeren Genomen mit der Notwendigkeit einer größeren physikalischen Stabilität der DNA-Doppelhelix zu erklären, da die Mutationsrate eines Genoms proportional zur Genomgröße zunimmt. Durch die Ausbildung von drei Wasserstoffbrücken sind GC-Paare stabiler als AT-Paare, zwischen denen nur zwei Wasserstoffbrücken bestehen. Zudem sind Thyminidimere das häufigste Produkt nach Schädigung der DNA durch UV-Strahlen (Li und Graur 1991). Neben der Stabilisierung der DNA-Struktur könnte Vinogradov (1998) zufolge die Funktion von Guanin und Cytosin in repetitiven Sequenzen, insbesondere in der Zellkernperipherie, auch der Schutz kodierender DNA durch das Abfangen chemischer Mutagene sein, die in der Regel eine höhere Affinität zu GC- als zu AT-Paaren besitzen („bodyguard“-Funktion).

Eine positive Korrelation zwischen der Genomgröße und dem GC-Anteil der DNA liegt nach Vinogradov (1994) auch in Angiospermen vor. Da diese Annahme auf Daten von lediglich sechs Arten beruht, die zudem aus verschiedenen Quellen stammen, wurden in dieser Arbeit Genomgröße und AT/GC-Verhältnis von 49 Angiospermen- und 5 Gymnospermenarten aus insgesamt 17 Familien bestimmt, um eine größere Datenbasis aus einer Quelle zu schaffen. Für derartige Genomuntersuchungen hat sich aufgrund ihrer Schnelligkeit, Genauigkeit und vergleichsweise einfachen Handhabung in den letzten Jahren die Durchflusszytometrie etabliert (Doležel 1991, Galbraith et al. 1997), welche auch in dieser Arbeit zur Anwendung kommt. Zur Analyse des AT/GC-Verhältnisses wurde das Adenin/Thymin-basenspezifische (AT-spezifische) 4'-6-Diamidino-2-Phenylindol (DAPI; Doležel et al. 1992) verwendet. Da das Bindungsverhalten von DAPI an die DNA noch nicht eindeutig geklärt ist (es werden zur Bindung eines DAPI-Moleküls drei bis vier aufeinanderfolgende AT-Basen benötigt; Portugal und Waring 1988, Larsen et al. 1989, Loontjens et al. 1991), wird ein Vergleich mit dem ebenfalls AT-spezifischen Hoechst 33342 (HO)

vorgenommen, für dessen Bindung an die DNA genau fünf aufeinanderfolgende AT-Basen notwendig sind (Godelle et al. 1993).

Zusätzlich wurde wegen der unklaren Beziehung zwischen AT-Anteil und DAPI-Fluoreszenzintensität bei der durchflusszytometrischen Analyse das AT/GC-Verhältnis auf anderem Wege untersucht, wozu die HPLC (high performance liquid chromatography) als hochempfindliche und präzise Methode diente. Hierfür wurden 15 der durchflusszytometrisch untersuchten Arten herangezogen. Die Arten sollten einen möglichst weiten Bereich des in Spermatophyten vertretenen AT/GC-Verhältnisses abdecken, was durch die Wahl der Alliaceen *Allium cepa*, *A. ledebourianum*, *A. ampeloprasum* und *A. ursinum* mit sehr hohen AT-Anteilen und die Poaceen *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Triticum aestivum* und *Zea mays* mit geringsten AT-Anteilen innerhalb der untersuchten Arten gewährleistet war. Zudem wurden die beiden sequenzierten pflanzlichen Arten *Arabidopsis thaliana* und *Oryza sativa* einbezogen. *Brassica napus*, *Sinapis arvensis*, *Glycine max*, *Pisum sativum* und *Vicia faba* stellen Arten mit in Samenpflanzen durchschnittlichen AT/GC-Verhältnissen dar.

2.2 Die Endopolyploidie bei Samenpflanzen

Um den Zusammenhang der Faktoren ‚Genomgröße‘, ‚phylogenetische Position‘ und ‚Organ‘ mit der Endopolyploidisierung in Pflanzen zu ermitteln, wurden bis zu 12 Organe von 54 Pflanzenarten aus 16 Familien (im wesentlichen identisch mit den für die Untersuchung des AT/GC-Verhältnisses herangezogenen Arten) mittels Durchflusszytometrie auf Endopolyploidisierung untersucht. Diese 54 Arten sollten einen möglichst weiten Bereich von Genomgrößen innerhalb der untersuchten Familie und innerhalb der Spermatophyta abdecken.

Aufgrund des Zusammenhangs zwischen Ein- und Mehrjährigkeit und der Genomgröße bei Samenpflanzen (einjährige Arten besitzen in der Regel kleinere Genome, Bennett 1972, Vinogradov 2001) und der oben beschriebenen negativen Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung (Nagl 1976) lässt sich eine Beziehung zwischen Endopolyploidie und Lebensdauer in Pflanzen vermuten. Auch diese Annahme wird anhand der zu ermittelnden Daten geprüft.

Weiterhin werden ökologische Eigenschaften der untersuchten mitteleuropäischen Arten berücksichtigt, da Grime und Mowforth (1982) und Grime et al. (1985) ein unterschiedli-

ches Wuchsverhalten groß- und kleingenomiger und somit groß- und kleinzelliger Arten (Price et al. 1973) aufgrund unterschiedlicher Beeinträchtigung von Zellteilung und Zell-expansion bei niedrigen Temperaturen beschreiben. Diese unterschiedliche Beeinträchtigung könnte für Arten mit Endopolyploidie von Bedeutung sein, da durch Endopolyploidisierung neben der Genomgröße auch das Volumen der endopolyploiden Zellen in Abhängigkeit von der Ploidiestufe modifiziert wird (Melaragno et al. 1993) und möglicherweise eine jeweilige Anpassung des Wachstumsverhaltens an veränderliche Temperaturbedingungen ermöglicht.

3. Material und Methoden

Es wurden 54 Arten hinsichtlich AT/GC-Verhältnis bzw. Endopolyploidie und Genomgröße durchflusszytometrisch untersucht. Die Genomgröße wurde mittels des DNA-interkalierenden Farbstoffs Propidiumjodid (PI) gemessen. Zur durchflusszytometrischen Ermittlung des AT-Anteils wurde als basenspezifischer Farbstoff 4'-6-Diamidino-2-Phenylindol (DAPI) verwendet. Da für diesen Farbstoff das Verhältnis zwischen basenspezifischer Fluoreszenz und AT-Anteil noch nicht eindeutig geklärt ist, wurden keine absoluten AT-Anteile bestimmt. Stattdessen wurde anhand basenspezifischer (DAPI-) und basenun-spezifischer (PI-) Fluoreszenz ein Faktor errechnet, der den AT-Anteil charakterisiert. Für einige Arten wurden außerdem zur Klärung des Verhältnisses zwischen der DAPI-Fluoreszenzintensität und dem AT-Anteil vergleichende Messungen mit Hoechst 33342 (HO) durchgeführt, für das dieses Verhältnis zwischen Fluoreszenzintensität und AT-Anteil bekannt ist. Zusätzlich wurde das AT/GC-Verhältnis für eine Auswahl von Arten mittels HPLC untersucht.

3.1 Pflanzenmaterial

52 Arten wurden hinsichtlich beider Fragestellungen untersucht (AT/GC-Verhältnis und Endopolyploidisierung, Tab. 1 und 4). In *Sophora japonica* und *Parietaria officinalis* hingegen wurde nur die Endopolyploidisierung ermittelt und in *Asparagus officinalis* und *Lathyrus articulatus* nur das AT/GC-Verhältnis.

Sowohl innerhalb der untersuchten Familien als auch insgesamt sollten die Arten einen möglichst weiten Genomgrößenbereich umspannen. Zur Artenauswahl wurde daher die Genomgrößen-Datenbank von Bennett und Leitch (2001) herangezogen. Es wurden 26 ein- und zweijährige Arten (unter den einjährigen sowohl Therophyten als auch Winterannuelle) sowie 17 mehrjährige krautige Arten (Hemikryptophyten, Geophyten, Chamaephyten) und 11 Gehölzarten (Phanerophyten) auf Endopolyploidisierung untersucht.

Die Pflanzen wurden im Gewächshaus in Blumentöpfen in Blumenerde unter Standardbedingungen herangezogen. Lediglich zur Untersuchung der einbezogenen Rosaceen, Fagaceen, Gymnospermen, der Arten *Sophora japonica* (Fabaceae), *Alliaria petiolata* (Brassicaceae), *Allium ursinum* und *Anemone ranunculoides* wurde im wesentlichen Material von Freilandexemplaren entnommen. Das Saatgut der im Gewächshaus kultivierten Arten entstammt der Genbank des IPK Gatersleben.

Für die Ermittlung der Genomgröße und des AT/GC-Verhältnisses war möglichst junges Material erforderlich, da dieses die besten Messergebnisse liefert. In der Regel wurde Blattmaterial präpariert; nur von *Fagus sylvatica*, den Rosaceen *Physocarpus opulifolius* und *Cydonia oblonga* sowie den Gymnospermen wurden Blatt- bzw. Blütenknospen zur Analyse verwendet.

Zur Untersuchung der Endopolyploidisierung wurden voll ausdifferenzierte (ausgewachsene) Organe herangezogen, da man davon ausgehen kann, dass in diesen die Endopolyploidisierungsphase abgeschlossen ist (De Rocher et al. 1990, Gilissen et al. 1993). Soweit verfügbar wurden Kotyledonen, untere Blätter (in der Regel die Primärblätter einer Pflanze), obere Blätter sowie die jeweiligen Blattstiele von drei bis fünf Exemplaren jeder Art untersucht. Bei den Poaceen verlässt das Keimblatt die Karyopse bei der Keimung nicht und ist nach der Keimung in der Regel kaum ausreichend vom übrigen Gewebe der Karyopse zu trennen, um eine eindeutige Analyse zu gewährleisten. Daher wurden bei den einbezogenen Poaceen-Arten statt der Kotyledonen, die bei den meisten der übrigen untersuchten Arten die ersten Fotosynthese betreibenden Organe der Pflanze darstellen, analog die Primärblätter untersucht und entsprechend an Stelle der Primärblätter der meisten übrigen Arten das zweite Blatt einer Poaceen-Pflanze. Die Auswertung der Daten zu den Primärblättern der Poaceen erfolgte aber zusammen mit denen zu den Kotyledonen der anderen hier untersuchten Arten. Deshalb sind sie im folgenden bei der Erwähnung der Kotyledonen die Poaceen-Primärblätter mit eingeschlossen. Entsprechendes gilt für die zweiten Blätter der untersuchten Poaceen und die untersten bzw. unteren Blätter der übrigen Arten. Obere Blätter und Blattstiele stammten meist von Sprosstielen direkt unterhalb der Inflo-

reszenz oder zumindest von den obersten Sprossabschnitten. Zusätzlich wurden von mindestens einer Art aus jeder Familie (außer den Gymnospermen-Familien) verschiedene Blütenteile, der obere Stängelabschnitt und Wurzeln untersucht. Die Blütenorgane wurden kurz nach Freisetzung der Pollen aus den Staubbeuteln analysiert, so dass vermutlich alle untersuchten Blütenorgane bereits vollständig ausdifferenziert, aber noch frisch waren. Die Fruchtknoten wurden damit wahrscheinlich in der Regel kurz vor oder kurz nach der Befruchtung entnommen. Von den Staubblättern sind in diesem Stadium vor allem die Kerne der Staubfäden gemessen worden, da die Staubbeutel bei der Pollenfreisetzung bereits im wesentlichen vertrocknet und somit deren Zellkerne nicht mehr messbar sind. Die Wurzelproben bestanden im wesentlichen aus ausdifferenziertem Gewebe, können aber zu geringen Anteilen auch Meristem enthalten haben, da die Wurzelspitzen nicht entfernt worden waren.

3.2 Durchflusszytometrie

In der Durchflusszytometrie werden optische Eigenschaften wie Lichtstreuung, Eigenfluoreszenz oder Fluoreszenz nach Anfärben in Lösung suspendierter Partikel, z. B. Zellkerne, gemessen. Die Partikelsuspension wird unter Druck und inmitten eines Hüllstroms mit hoher Geschwindigkeit an definierter Position (hydrodynamische Fokussierung) an einer Anregungslichtquelle vorbeigeführt. Die Anregung erfolgt in der Regel mittels eines Laserstrahls oder des Lichtstrahls einer Quecksilberdampfampe. Die durch die Partikel verursachte Lichtstreuung und Fluoreszenz werden durch ein Linsensystem gesammelt, mit Hilfe dichroischer Spiegel und optischer Filter aufgetrennt und anschließend von optischen Sensoren (Fotomultiplier, Photodiode) erfasst. Das so erzeugte analoge Signal wird digitalisiert und durch einen Computer verarbeitet.

In der Durchflusszytometrie können nur vergleichende Messungen durchgeführt werden. Zur Bestimmung der Genomgröße und des AT/GC-Verhältnisses bedarf es daher einer Referenzart mit bekannter Genomgröße und bekanntem AT/GC-Verhältnis als Bezugsgröße. Material von Standard und zu untersuchender Pflanze sollten zusammen zu einer Probe verarbeitet werden (interne Standardisierung), um gleiche Bedingungen für Standard und Untersuchungsobjekt zu gewährleisten. Nach Anfärben der Zellkern-DNA mit einem basenspezifischen bzw. basenspezifischen DNA-Fluorochrom werden die Fluoreszenzintensitäten gemessen, die proportional dem DNA-Gehalt bzw. AT/GC-Verhältnis der DNA

der Kerne sind. Das Messergebnis wird in einem Histogramm dargestellt, in dem die Peakpositionen der einzelnen Zellkernfraktionen deren Fluoreszenzintensität entsprechen. Um bei der Genomgrößenmessung die Peaks den beiden Arten zuordnen zu können, muss vorher in Einzelmessungen für jede der beiden Arten die ungefähre Peakposition getrennt festgestellt werden.

Bei der Bestimmung der Endopolyploidie ist ein Standard nicht notwendig, da nur die Mengenverhältnisse der Peaks der einzelnen Ploidiestufen zueinander bestimmt werden, um den Grad der Endopolyploidisierung zu ermitteln.

3.2.1 Probenbereitung und -messung

Zur Bereitung der Zellkernsuspensionen wurden bis zu 100 mg Pflanzenmaterial in vorgekühlten Petrischalen in 1 ml eiskaltem Puffer mit einer Rasierklinge gehackt und durch ein Nylonnetz mit 35 µm Maschenweite filtriert. Der Puffer wurde nach Angaben von Galbraith et al. (1983) angefertigt (45 mM Magnesiumchlorid, 30 mM Natriumcitrat, 20 mM MOPS [4-Morpholinpropansulfonsäure], 0,1% [w/v] Triton X-100) und zusätzlich mit 5% (w/w) Polyvinylpyrrolidon (PVP) versetzt. Für einige Pflanzenarten (z. B. Rosaceen, Fagaceen) war es notwendig, dem Puffer 50 - 100 mM Kaliumdisulfit (Antioxidationsmittel) hinzuzufügen und die Tritonkonzentration auf 0,5% oder 1% zu erhöhen. Bei interner Standardisierung ist zu erwarten, dass Untersuchungsobjekt und Standard durch eine Modifikation des Puffers in gleicher Weise beeinflusst werden, so dass sich das Gesamtergebnis nicht ändert. Dies wurde durch einen Vergleich der Ergebnisse von vier Labors bestätigt, in denen die Genomgrößen von neun Pflanzenarten mit unterschiedlichen Methoden (Gerätetyp, Puffer) bestimmt wurden (Doležel et al. 1998).

Für die Genomgrößenmessung wurde die Zellkernsuspension mit 50 µl/ml PI versetzt. Da PI doppelsträngige Nukleinsäuren färbt, war zudem der Zusatz von 50 µl/ml DNase-freier RNase nötig, um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch doppelsträngige RNA zu vermeiden.

Zur Bestimmung des relativen AT-Anteils der DNA wurde der Kernsuspension 1 µg/ml DAPI zugegeben. Für die Messungen mit HO wurde die gleiche Farbstoffkonzentration benutzt.

Zur Ermittlung der Endopolyploidisierung war die Wahl des Farbstoffs unerheblich, da innerhalb einer Pflanzenart die verschiedenen Ploidiestufen durch die vollständige Ver-

doppelung des DNA-Gehalts des Zellkerns während der Endoreduplikation das gleiche AT/GC-Verhältnis aufweisen. Dass die Endoreduplikation die gesamte DNA des Zellkerns erfasst, lässt sich an dem Verhältnis der Peakpositionen der einzelnen Endopolyploidiestufen erkennen.

Die Zellkernsuspensionen wurden mit dem Durchflusszytometer FACStar^{Plus} (Becton Dickinson, San José, Kalifornien) analysiert, das mit zwei Argon-Lasern INNOVA 90-5 (Coherent, Palo Alto, Kalifornien) ausgerüstet ist. Die Datenverarbeitung und -auswertung erfolgte mit dem Programm CellQuest. Die Propidiumjodidfluoreszenz wurde mit 500 mW und der Wellenlänge von 514 nm angeregt und im FL1-Kanal unter Benutzung eines 630 nm-Bandpassfilters detektiert. Die DAPI-Fluoreszenz wurde mit 200 mW im UV-Bereich angeregt und im FL1-Kanal unter Verwendung eines 450 nm-Bandpassfilters gemessen.

Der Variationskoeffizient der Histogrammpeaks (CV = coefficient of variation), der ein Maß für die Güte einer Messung darstellt, hing stark vom Messobjekt (Pflanzenart, Organ, Alter der Pflanze und des Organs) und auch vom Farbstoff ab. In der Regel waren die Messwerte nach Anfärben mit PI besser als nach Anfärben mit DAPI. Da für die Genomgrößen- und AT-Anteil-Messungen junges Pflanzenmaterial genutzt wurde, lagen hier die CV-Werte zwischen 3,0-5,0%. Nur in wenigen Fällen (z. B. *Quercus robur*) konnte der CV auch bis zu 7% betragen. Bei der Messung der Endopolyploidisierung konnte der CV in einigen Fällen auch höher sein, da hier auch Zellkerne aus alten Organen gemessen wurden. So betrug der CV für einige Gymnospermen, z. B. *Larix decidua*, bis zu 10,5%.

3.2.2 Referenzarten

Als Referenzarten wurden *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Secale cereale*, *Pisum sativum*, *Glycine max* und *Raphanus sativus* genutzt, da diese den in Spermatophyten vorherrschenden Bereich der Genomgröße abdecken (Leitch et al. 1998) und in der Durchflusszytometrie gute Ergebnisse liefern. *Pisum sativum* diente als primärer Standard, für den durch Messung gegen menschliche Leukozyten eine Genomgröße von 9,07 pg angenommen (Doležel et al. 1992) und der FF_{DAPI} (siehe Abschnitt 3.2.3.2) gleich 1 gesetzt wurde. Da vormals an diesem Durchflusszytometer die Peakverhältnisse zwischen den verschiedenen Referenzarten gemessen worden waren (Doležel et al. 1998, Tabelle 5, Labor 1), konnten mittels der

Werte für *Pisum sativum* Genomgröße und FF_{DAPI} der übrigen Referenzarten anhand der Gleichungen (1) bzw. (4) in Abschnitt 3.2.3.2 berechnet werden.

3.2.3 Auswertung der Messdaten

3.2.3.1 Analyse der Histogramme

In einem Punktediagramm (Dot Plot) mit logarithmischer x-Achse, in dem die Fluoreszenzintensität (entspricht dem DNA-Gehalt) gegen die Seitwärtsstreuung (entspricht der Zellkerngröße) dargestellt ist, wurde durch das Setzen von Rahmen die Punktemenge bestimmt, die bei der Darstellung und Auswertung der Histogramme einbezogen wurde. Dieses Vorgehen erlaubt das Ausblenden unspezifischer, im Diagramm zufällig verteilter Fluoreszenz durch autofluoreszierende Zelltrümmer, da die Zellkerne im Punktediagramm durch klar abgegrenzte Regionen erkennbar sind. Innerhalb eines Rahmens wurden 10 000 Kerne gemessen.

Um eine möglichst große Genauigkeit zu erzielen, wurden die Messergebnisse zu Genomgröße und AT/GC-Verhältnis im Histogramm mit linearer x-Achse ausgewertet, wobei die Peakposition der beiden jeweils miteinander gemessenen Arten für die Berechnung herangezogen wurde.

Die Messdaten zur Endopolyploidisierung wurden im Histogramm mit logarithmischer x-Achse ausgewertet. Damit haben alle Peaks einer Messung, für die der gleiche CV vorausgesetzt werden kann, die gleiche Breite (Givan 2001). Auf diese Weise ist die Höhe der Peaks der Anzahl der Kerne einer Ploidiestufe direkt proportional und kann zur Berechnung der Endopolyploidisierung genutzt werden.

Bei einigen Arten zeigte sich im Histogramm ein sehr kleiner Peak an der 4C-Position, der nur um wenig höher als das Hintergrundrauschen war und ca. 3% der Kerne einer Messung umfasste. Um zu prüfen, ob dieser Peak durch verklebte 2C-Kerne hervorgerufen wurde, wurden Kerne dieses Peaks aus Blättern von vier Arten (*Chrysanthemum multicolor*, *Ginkgo biloba*, *Hyssopus officinalis* und *Haplopappus gracilis*) durchflusszytometrisch sortiert und ihre Fluoreszenzintensität nochmals mittels eines Fluoreszenzmikroskops gemessen. Als Referenz dienten ebenfalls sortierte 2C-Kerne der jeweiligen Art.

3.2.3.2 Berechnung von Genomgröße und AT/GC-Verhältnis

Nach Anfärben der Kernsuspension mit PI lässt sich die Genomgröße $2C$ der zu messenden Art aus dem Verhältnis R der Peakposition von zu untersuchender Art und Referenzart berechnen:

$$2C_{\text{Probe}} = R_{\text{PI}} \cdot 2C_{\text{Referenz}} \quad (1)$$

Die gleiche Vorgehensweise ist nach Anfärben mit DAPI zur Ermittlung des AT/GC-Verhältnisses nicht möglich, da dieses Fluorochrom nicht stöchiometrisch an AT-Basen bindet (Doležel et al. 1992), sondern drei bis vier aufeinanderfolgender AT-Basen zur Bindung eines Farbstoffmoleküls notwendig sind (Portugal und Waring 1988). Diese zur Bindung eines Farbstoffmoleküls notwendige Anzahl aufeinanderfolgender Basen wird im folgenden Bindungslänge genannt. Die Fluoreszenz basenspezifischer Farbstoffe ist zwar ebenfalls der Genomgröße proportional, aber modifiziert durch den basenspezifischen Faktor $f(\text{AT}\%)$. Damit ergibt sich für R_{DAPI}

$$R_{\text{DAPI}} = f(\text{AT}\%_{\text{Probe}}) / f(\text{AT}\%_{\text{Referenz}}) \cdot 2C_{\text{Probe}} / 2C_{\text{Referenz}} \quad (2)$$

Daraus folgt zusammen mit Gleichung (1)

$$R_{\text{DAPI}} = f(\text{AT}\%_{\text{Probe}}) / f(\text{AT}\%_{\text{Referenz}}) \cdot R_{\text{PI}} \quad (3)$$

Zonneveld und Van Iren (2000) haben den Quotienten aus nach DAPI- und PI-Messung berechneten Genomgrößen von *Hosta*-Akzessionen benutzt, um deren AT-Anteile miteinander vergleichen zu können. Es wird hier in ähnlicher Weise ein Farbstofffaktor FF für basenspezifische Fluorochrome, beispielsweise DAPI, definiert:

$$FF_{\text{DAPI}} = R_{\text{DAPI}} / R_{\text{PI}} \quad (4)$$

Aus diesem folgt mit Gleichung (3):

$$FF_{\text{DAPI}} = f(\text{AT}\%_{\text{Probe}}) / f(\text{AT}\%_{\text{Referenz}}) \quad (5)$$

FF hängt ausschließlich von der basenspezifischen Fluoreszenz ab und ist unabhängig von der Genomgröße.

Godelle et al. (1993) haben zur Berechnung des AT/GC-Verhältnisses nach DNA-Färbung mit basenspezifischen Farbstoffen wie HO oder Mithramycin folgende Gleichung vorgeschlagen, die von vielen Autoren angewandt worden ist:

$$AT\%_{\text{Probe}} = (R_{\text{DAPI}}/R_{\text{PI}})^n \cdot AT\%_{\text{Referenz}} \quad (6)$$

n = zur Bindung eines Moleküls notwendige Anzahl aufeinanderfolgender Basen

Da diese Gleichung lediglich eine Näherung darstellt, von der Annahme einer zufälligen Verteilung der Basen im Genom ausgeht und zudem die Größe des Exponenten n nicht eindeutig ist, wurde in dieser Arbeit lediglich FF_{DAPI} für weitere Analysen berechnet. Dieser ist unabhängig von Modellvorstellungen bezüglich der Bindungslänge des Farbstoffs und zudem Teil der Gleichung (6). FF_{DAPI} erlaubt die Bestimmung des AT-Anteils, sobald eine verlässliche Beziehung zwischen der DAPI-Fluoreszenz und dem AT-Gehalt gefunden wurde.

3.2.3.3 Vergleich von DAPI und HO

Da zur Bindung eines HO-Moleküls fünf aufeinanderfolgende AT-Basen notwendig sind (Godelle et al. 1993), müsste sich durch den Vergleich von DAPI- und HO-Ergebnissen die tatsächlich zur DAPI-Bindung notwendige Anzahl n_{DAPI} ermitteln lassen. Die Berechnung von n_{DAPI} soll nach der folgenden aus Gleichung (6) hervorgehenden Beziehung erfolgen:

$$n_{\text{DAPI}} = n_{\text{HO}} \cdot \ln(FF_{\text{DAPI}}) / \ln(FF_{\text{HO}}) \quad (7)$$

Um brauchbare Ergebnisse mit dieser Gleichung erzielen zu können, müssen sich die FF-Werte klar von 1 unterscheiden. Ansonsten können äußerst ungenaue Werte für n_{DAPI} resultieren. Aus den oben erwähnten Arten wurden daher sieben Paare aus Arten gewählt, deren FF-Werte um wenigstens 10% differieren. FF_{DAPI} und FF_{HO} wurden nicht relativ zu

Pisum sativum berechnet, sondern innerhalb des Paares relativ zwischen den beiden Arten. Schließlich wurde die Werte-Reihenfolge für die Bildung des Quotienten so gewählt, dass $FF > 1$ galt. Auf diese Weise müsste FF für den Farbstoff mit größerem n größer sein, FF_{HO} also größer sein als FF_{DAPI} .

3.2.3.4 Berechnung des Endopolyploidisierungsgrades

Als Maß für die Endopolyploidisierung haben Engelen-Eigles et al. (2000) und Mishiba und Mii (2000) den mittleren C-Wert berechnet. Durch den exponentiellen Charakter der Endopolyploidisierung führt dieser jedoch zu einer Überbewertung der höheren Ploidiestufen und erschwert damit Vergleiche zwischen Organen oder Arten sehr unterschiedlicher Endopolyploidisierung.

Anschaulicher für diesen Zweck ist der Zyklus-Wert, der die mittlere Anzahl der Endoreduplikationszyklen pro Kern angibt. Er wird berechnet aus der Anzahl der Kerne jeder vertretenen Ploidiestufe, multipliziert mit der Anzahl der zum Erreichen der jeweiligen Ploidiestufe notwendigen Endoreduplikationszyklen. Die Summe der Produkte wird durch die Gesamtzahl der gemessenen Kerne dividiert.

$$\text{Zyklus-Wert} = (0 \cdot n_{2C} + 1 \cdot n_{4C} + 2 \cdot n_{8C} + 3 \cdot n_{16C} \dots) / (n_{2C} + n_{4C} + n_{8C} + n_{16C} \dots)$$

$n_{2C}, n_{4C}, n_{8C} \dots$ Anzahl der Kerne mit dem entsprechenden C-Wert (2C, 4C, 8C, ...)

Ein Organ mit einem Zyklus-Wert kleiner als 0,1 (Endopolyploidiegrenzwert) wurde als nicht-endopolyploid angesehen.

Da bei der Präparation der Zellkernsuspension ganze Teile von Organen gehackt werden, kann nicht zwischen einzelnen Geweben unterschieden werden.

3.2.4 Kernsortierung und Fluoreszenzmikroskopie

Je 100 mit PI gefärbte Zellkerne des 4C-Peaks der vier in Abschnitt 3.2.3.1 genannten fluoreszenzmikroskopisch untersuchten Arten *Chrysanthemum multicolor*, *Ginkgo biloba*, *Hyssopus officinalis* und *Haplopappus gracilis* wurden im Normal-R-Modus unter Verwendung der Hüllflüssigkeit FACSSlow (Becton Dickinson) durchflusszytometrisch auf

Objektträger sortiert und mit einem Deckgläschen abgedeckt. Die Sortierung erfolgte mit einem Macrosort-Modul (Becton Dickinson) und einer zugehörigen 100 µm-Düse unter Nutzung des Sort-Enhancement-Moduls mit einer Frequenz von 15 000 s⁻¹. Um eine möglichst reine Sortierung der Kerne zu gewährleisten, wurden sowohl im Histogramm als auch im Punktediagramm Rahmen zur Auswahl der Zellkernfraktion gesetzt, wodurch unspezifisch fluoreszierende Partikel weitestgehend von der Sortierung ausgeschlossen wurden. Zur Prüfung der durchflusszytometrisch ermittelten relativen Fluoreszenz der sortierten Kerne wurde diese nochmals mittels einer Photometereinheit MPM 400 in Verbindung mit einem Axioskop-Mikroskop (Carl Zeiss, Oberkochen) gemessen.

3.3 Statistik

Die statistische Analyse der Daten zum AT/GC-Verhältnis und zur Genomgröße erfolgte mit dem Programm Statistica für MacIntosh (Statsoft Inc., Tulsa, Oklahoma).

Da die Daten zur Endopolyploidisierung nicht normal verteilt sind, wurden Korrelationen mittels Spearman-Test mit dem Programm SigmaStat berechnet. Die parameterfreie Varianzanalyse wurde mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests durchgeführt. Der anschließende paarweise Vergleich erfolgte mit dem Dunn-Test.

Eine dreifaktorielle Varianzanalyse mit Kovarianz (ANCOVA) wurde mit dem Programm SPSS 10.0 durchgeführt. Nach Lindman (1974) ist diese Analyse zulässig, da der F-Test robust gegen Abweichungen von der Normalverteilung sei. Da es nicht möglich war, in allen Arten alle Organe zu messen, sind nicht alle möglichen Kombinationen erfüllt. Deshalb konnten nur die Haupteffekte und nicht die Wechselwirkungen analysiert werden, da letztere gegen fehlende Kombinationen anfällig sind. Es wurde der Typ IV der Quadratsumme benutzt, der in solchem Fall empfohlen wird (SPSS Inc. 1999).

3.4 Analyse des AT/GC-Verhältnisses mittels HPLC

3.4.1 Gerät, Säule und Laufmittel

Die HPLC wurde an einer Waters-Anlage (LC Modul I, Waters Corporation, Milford, Massachusetts) durchgeführt. Die Auftrennung erfolgte mit einer ProntoSIL 120-5-18 ace-

EPS-Säule (Bischoff Analysetechnik und -geräte GmbH, Leonberg) mit einer Länge von 150 mm und einem Innendurchmesser von 4,6 mm. Füllmaterial war eine C18-Umkehrphase, die eine eingebundene polare Gruppe in der hydrophoben C18-Kette aufweist, durch die bei hoher Hydrophobie eine hohe polare Selektivität erzielt wird. Als Vorsäule diente eine MCP-Säule (14 mm lang, Innendurchmesser 4,6 mm, Hersteller siehe oben) mit dem gleichen Füllmaterial wie die Hauptsäule. Zur Elution bei Raumtemperatur diente ein $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -Puffer (10 mM, pH 3,0; Ko et al. 1977). Der Puffer wurde vor der Benutzung mit einer Nalgene Filtereinheit, Porengröße 0,2 μm , steril filtriert (Nalge Nunc International Corporation, Rochester, New York).

3.4.2 Probenbereitung

Von 15 der durchflusszytometrisch getesteten Arten, die einen möglichst weiten FF_{DAPI} -Bereich umspannen sollten, wurden, um reine Zellkern-DNA zu erhalten, aus Blattmaterial je nach Genomgröße ca. 200 000 (*Allium ursinum*) bis 3 Mio. (*Arabidopsis thaliana*) Kerne (entsprechen ca. 1-15 μg DNA) durchflusszytometrisch in Eppendorfgläser sortiert (zur Methode siehe Abschnitt 3.2.4) und in einer Kühl-Tischzentrifuge bei 4°C mit 14 000 U/min pelletiert. Das Pellet wurde in 100 μl eiskalter 100%iger Ameisensäure aufgenommen und zur Freisetzung der Basen aus der DNA in Gewinde-Präparategläsern (35x12 mm) mit Aluminium-Schraubkappe (Schütt Labortechnik, Göttingen) in einem Trockenschrank bei 125°C hydrolysiert (Ko et al. 1977). Versuche mit pflanzlicher DNA bei Temperaturen zwischen 120 und 150°C und Hydrolysezeiten zwischen 30 und 120 min ergaben keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den einzelnen Hydrolysebedingungen. Zudem konnten nach einer Hydrolyse pflanzlicher DNA bzw. synthetischer Nukleoside nach 30 min bei 125°C keine Nukleoside mehr detektiert werden, was zeigt, dass die Hydrolyse vollständig war.

Im Anschluss an die Hydrolyse wurde der pH-Wert der Lösung mit ca. 10%iger Ammoniaklösung auf pH = 3,0 eingestellt. Vorversuche mit wässrigen Lösungsmitteln hatten bei diesem pH-Wert die insgesamt beste Löslichkeit der vier Basen ergeben. Nach Lagerung der Proben über Nacht bei 4°C wurden ausgefällte Partikel in einer Kühl-Tischzentrifuge mit 16 000 U/min pelletiert und der Überstand anschließend mittels HPLC analysiert.

3.4.3 Messung

Auf die Säule wurden je 20 µl eines Hydrolysats aufgetragen. Eluiert wurden die Basen im isokratischen Lauf mit dem erwähnten 10 mM NH₄H₂PO₄-Puffer bei einer Fließrate von 1 ml/min. Die Detektion erfolgte mit einem Fluoreszenzdetektor (RF-551, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) bei einer Wellenlänge von 263 nm und die Analyse mit dem Programm Millennium³² (Waters Corporation). Nach jeder Messung wurden zur Reinigung der Säule je drei mal 100 µl 100%iges Acetonitril aufgetragen.

Zur Standardisierung der Methode dienten synthetische Nukleoside, die unter den erwähnten Bedingungen hydrolysiert wurden. Die anschließende HPLC-Analyse ergab für Adenosin und Guanosin die höchsten Wiederfindungsraten. Für Adenosin war die Wiederfindungsrate mehr als doppelt so hoch wie für Thymidin. Cytosin, das Komplementärnukleosid des Guanosins, wurde kaum detektiert. Daher wurden zur Auswertung lediglich die Adenin- und Guanin-Werte herangezogen.

4. Ergebnisse

4.1 Das AT/GC-Verhältnis

Die von Vinogradov (1994) angenommene negative Korrelation zwischen Genomgröße und AT-Anteil können anhand der hier ermittelten Werte nicht bestätigt werden. Hingegen zeigt sich, dass der Farbstofffaktor FF_{DAPI} zwischen Arten einer Familie oftmals ähnlicher ist als zwischen Arten unterschiedlicher Familien.

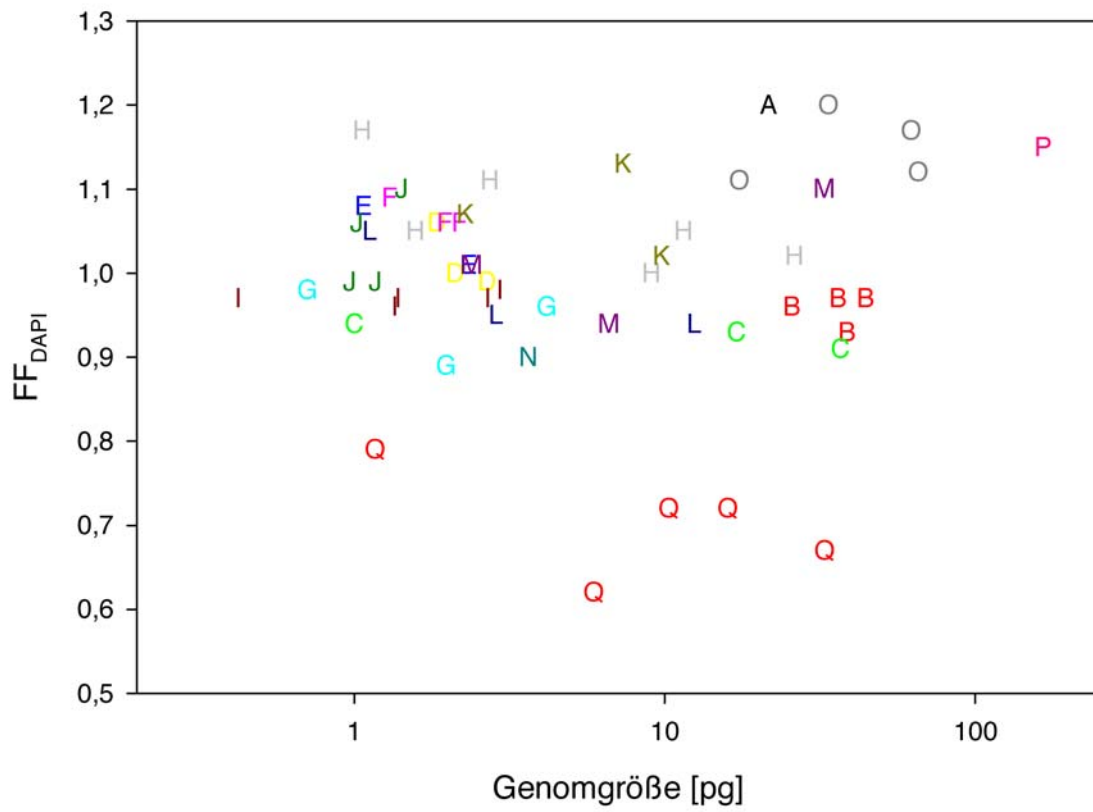
Der Vergleich der Farbstofffaktoren für HO und DAPI führt zu uneinheitlichen Ergebnissen, während die Ergebnisse der HPLC eine relativ gute Übereinstimmung mit den durchflusszytometrischen Werten zum AT-Anteil aufweisen.

4.1.1 Bei Spermatophyten besteht keine Beziehung zwischen der Genomgröße und dem Farbstofffaktor für DAPI (FF_{DAPI})

Die Genomgrößen und FF_{DAPI} der einzelnen Arten sind in Tab. 1 aufgeführt. Die Beziehung zwischen beiden Größen zeigt die Abb. 3. Es ist keine Korrelation erkennbar. Der mit dem Spearman-Test berechnete Korrelationsfaktor ist sehr klein und nicht signifikant ($r = 0,19$, $P = 0,16$). Um die Erwartungen nach Vinogradov (1994) zu erfüllen, hätte der Korrelationsfaktor zudem ein negatives Vorzeichen aufweisen müssen. Da größere Genome einen höheren GC-Anteil aufweisen sollten, hätte FF_{DAPI} negativ mit der Genomgröße korreliert sein sollen.

In Abb. 3 ist auch innerhalb der einzelnen Familien keine Tendenz zu erkennen, obwohl die Arten jeweils einen weiten Genomgrößenbereich der Familie repräsentieren. Das Fehlen einer Korrelation innerhalb der Familien konnte durch die Berechnung der „pooled within-groups“ Korrelation bestätigt werden. Bei deren Berechnung wird vom FF_{DAPI} einer Art der mittlere FF_{DAPI} der jeweiligen Familie subtrahiert und somit der Familieneinfluss eliminiert. Auch hier ergab sich ein sehr kleiner, nicht signifikanter Korrelationskoeffizient ($r = -0,09$).

Abb. 3 Korrelation zwischen Genomgröße und FF_{DAPI}



A: Ginkgoaceae, B: Pinaceae, C: Ranunculaceae, D: Chenopodiaceae, E: Urticaceae, F: Fagaceae, G: Rosaceae, H: Fabaceae, I: Brassicaceae, J: Cucurbitaceae, K: Solanaceae, L: Lamiaceae, M: Asteraceae, N: Asparagaceae, O: Alliaceae, P: Liliaceae, Q: Poaceae

Tab. 1 Genomgröße, FF_{DAPI} und die daraus berechneten AT-Anteile

Familie	Art	2C-Wert [pg]	FF _{DAPI}	AT-Anteil (%)*
Ginkgoaceae	<i>Ginkgo biloba</i> L.	21,58	1,20	65,3
Pinaceae	<i>Abies concolor</i> (Gord. et Glend.) <i>Lind. ex Hildebrandt.</i>	36,12	0,97	60,9
	<i>Larix decidua</i> Mill.	25,73	0,96	60,7
	<i>Picea abies</i> (L.) Karsten	38,63	0,93	60,1
	<i>Pinus sylvestris</i> L.	44,22	0,97	60,9
	<i>Anemone ranunculoides</i> L.	36,83	0,91	59,7
Ranunculaceae	<i>Anemone sylvestris</i> L.	17,02	0,93	60,1
	<i>Aquilegia vulgaris</i> L.	1,01	0,94	60,3
Chenopodiaceae	<i>Atriplex rosea</i> L.	2,12	1,00	61,5
	<i>Beta vulgaris</i> L.	1,84	1,06	62,7
	<i>Spinacia oleracea</i> L.	2,69	0,99	61,3
Urticaceae	<i>Urtica dioica</i> L.	2,34	1,01	61,7
	<i>Urtica urens</i> L.	1,07	1,08	63,1
Fagaceae	<i>Castanea sativa</i> Mill.	1,96	1,06	62,7
	<i>Fagus sylvatica</i> L.	1,30	1,09	63,3
	<i>Quercus robur</i> L.	2,18	1,06	62,7
Rosaceae	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	1,98	0,89	59,2
	<i>Duchesnea indica</i> Focke	4,19	0,96	60,7
	<i>Physocarpus opulifolius</i> (L.) Maxim.	0,71	0,98	61,1
Fabaceae	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	2,73	1,11	63,6
	<i>Lathyrus articulatus</i> L.	11,5	1,05	62,5
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1,58	1,05	62,5
	<i>Pisum sativum</i> L.	9,07	1,00	61,5
	<i>Trifolium pratense</i> L.	1,06	1,17	64,8
	<i>Vicia faba</i> L.	26,21	1,02	61,9
Brassicaceae	<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.)	2,70	0,97	60,9
	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	0,43	0,97	60,9
	<i>Brassica napus</i> L.	2,95	0,98	61,1
	<i>Raphanus sativus</i> L.	1,38	0,97	60,9
	<i>Sinapis arvensis</i> L.	1,35	0,96	60,7

*berechnet aus FF_{DAPI} nach Gleichung (6)

Fortsetzung Tab. 1

Familie	Art	2C-Wert [pg]	FF _{DAPI}	AT-Anteil (%)*
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i> L.	1,03	1,06	62,7
	<i>Cucurbita moschata</i> (Duch. ex Lam.) Duch. ex Poir.	0,97	0,99	61,3
	<i>Cucurbita pepo</i> L.	1,18	0,99	61,3
	<i>Momordica charantia</i> L.	1,43	1,10	63,5
Solanaceae	<i>Capsicum frutescens</i> L.	7,37	1,13	64,0
	<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i> (Jusl.) Mill.	2,29	1,07	62,9
	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	9,77	1,02	61,9
Lamiaceae	<i>Hyssopus officinalis</i> L.	1,12	1,05	62,5
	<i>Stachys grandiflora</i> (Willd.) Benth.	12,47	0,94	60,3
	<i>Teucrium scorodonia</i> L.	2,86	0,95	60,5
Asteraceae	<i>Chrysanthemum multicolor</i> Hyl.	32,55	1,10	63,5
	<i>Haplopappus gracilis</i> (Nutt.) A.Gray	2,39	1,01	61,7
	<i>Lactuca sativa</i> L.	6,61	0,94	60,3
Asparagaceae	<i>Asparagus officinalis</i>	3,63	0,90	59,4
Alliaceae	<i>Allium cepa</i> L.	33,69	1,20	65,3
	<i>Allium ledebourianum</i> Schult. et Schult. f.	17,46	1,11	63,6
	<i>Allium ampeloprasum</i> L. s.l.	65,48	1,12	63,8
	<i>Allium ursinum</i> L.	62,08	1,17	64,8
Liliaceae	<i>Fritillaria uva-vulpis</i> Rix	165,82	1,15	64,4
Poaceae	<i>Hordeum vulgare</i> L.	10,27	0,72	55,3
	<i>Oryza sativa</i> L.	1,18	0,79	57,0
	<i>Secale cereale</i> L.	16,01	0,72	55,4
	<i>Triticum aestivum</i> L.	32,82	0,67	54,1
	<i>Zea mays</i> L.	5,92	0,62	52,8

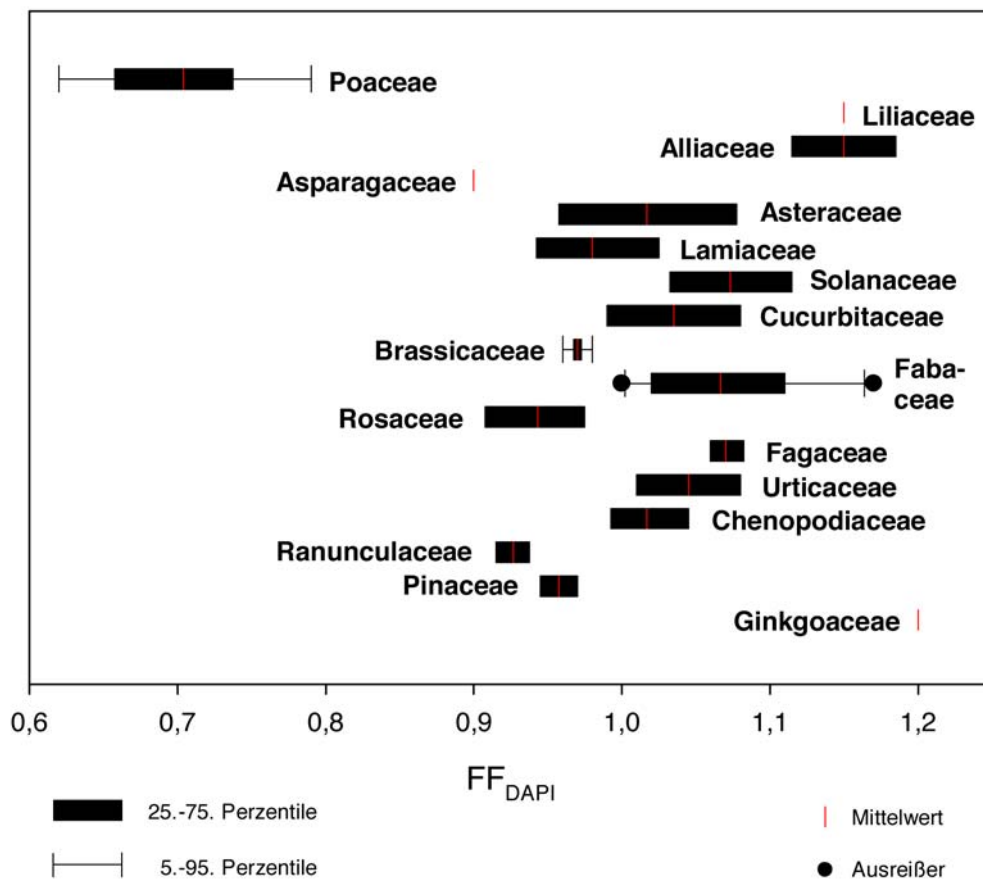
*berechnet aus FF_{DAPI} nach Gleichung (6)

4.1.2 Die Pflanzenfamilien unterscheiden sich im AT/GC-Verhältnis

Aus Abb. 4 ist zu ersehen, dass innerhalb der meisten Familien nur ein begrenzter Bereich der gemessenen FF_{DAPI} -Werte und damit des in höheren Pflanzen möglichen AT-Anteils vertreten ist. Zudem offenbart Abb. 4 deutliche FF_{DAPI} -Unterschiede zwischen einigen Familien. So haben z. B. die Poaceen kleinere FF_{DAPI} und somit geringere AT-Anteile als die übrigen untersuchten Arten, während die untersuchten Alliaceen diesbezüglich insgesamt deutlich über dem Durchschnitt liegen.

In Tab. 2 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen für FF_{DAPI} der einzelnen Familien sowie signifikante Unterschiede zwischen einigen Familien angegeben. Trotz der geringen Zahl untersuchter Arten innerhalb jeder Familien lassen sich viele signifikante Unterschiede feststellen.

Abb. 4 Der Farbstofffaktor für DAPI innerhalb der untersuchten Familien



Tab. 2 Unterschiede zwischen den mittleren FF_{DAPI}-Werten der verschiedenen Familien

Familie	FF _{DAPI} -Mittelwert mit Standardabweichung	Signifikanz ^b
Poaceae	0.70 ± 0.06	a
Asparagaceae	0.90 ^a	b
Ranunculaceae	0.93 ± 0.02	bc
Rosaceae	0.94 ± 0.05	bc
Pinaceae	0.96 ± 0.02	bc
Brassicaceae	0.97 ± 0.01	bc
Lamiaceae	0.98 ± 0.06	bc
Chenopodiaceae	1.02 ± 0.04	bcd
Asteraceae	1.02 ± 0.08	bcd
Cucurbitaceae	1.04 ± 0.05	bcd
Urticaceae	1.05 ± 0.05	bcd
Solanaceae	1.07 ± 0.06	cd
Fagaceae	1.07 ± 0.02	cde
Fabaceae	1.07 ± 0.06	cde
Liliaceae	1.15 ^a	de
Alliaceae	1.15 ± 0.04	de
Ginkgoaceae	1.20 ^a	e

^a nur eine Art der Familie untersucht

^b gleiche Buchstaben zeigen das Fehlen signifikanter Unterschiede an (Student-Newman-Keuls-Test mit $P < 0,05$)

4.1.3 Der Vergleich der Farbstofffaktoren für DAPI und HO führt zu uneinheitlichen Ergebnissen

Die innerhalb der Artenpaare ermittelten FF_{DAPI} und FF_{HO} und daraus nach Gleichung (7) berechneten n_{DAPI} sind in Tab. 3 aufgeführt. Die Ergebnisse sind sehr uneinheitlich. Außer für das Paar *Vicia faba/Secale cereale* sind alle n_{DAPI} kleiner als $n_{\text{HO}} = 5$. Für *V. faba/S. cereale* zeigt die fehlende Signifikanz, dass sich n_{DAPI} in diesem Fall kaum von n_{HO} unterscheidet. Auch für das Paar *Allium cepa/Vicia faba* ist der n_{DAPI} -Wert kaum verschieden von n_{HO} . Für die übrigen Paare liegt n_{DAPI} zwischen 2,77 und 4,57. Der Mittelwert für n_{DAPI} beträgt 4,22, womit der nächste ganzzahlige Wert 4 ist.

Tab. 3 Vergleich der Farbstofffaktoren für HO und DAPI innerhalb ausgewählter Artenpaare

Artenpaar	Farbstofffaktor		Differenz ^a	n_{DAPI} (mit Standardabweichung)
	HO (mit Standardabweichung)	DAPI (mit Standardabweichung)		
1. <i>Glycine max/ Lactuca sativa</i>	1,307 (±0,013)	1,160 (±0,007)	+0,147*	2,77 (±0,15)
2. <i>Pisum sativum/ Secale cereale</i>	1,463 (±0,016)	1,416 (±0,008)	+0,047*	4,57 (±0,15)
3. <i>Allium ledebourianum/ Secale cereale</i>	1,770 (±0,026)	1,557 (±0,022)	+0,213*	3,88 (±0,16)
4. <i>Raphanus sativus/ Oryza sativa</i>	1,278 (±0,005)	1,249 (±0,009)	+0,029*	4,53 (±0,16)
5. <i>Allium cepa/ Vicia faba</i>	1,236 (±0,011)	1,235 (±0,004)	+0,001	4,98 (±0,22)
6. <i>Glycine max/ Raphanus sativus</i>	1,297 (±0,020)	1,190 (±0,015)	+0,107*	3,34 (±0,31)
7. <i>Vicia faba/ Secale cereale</i>	1,378 (±0,061)	1,420 (±0,010)	-0,042	5,47 (±0,76)

^aDifferenz = $FF_{\text{HO}} - FF_{\text{DAPI}}$

* Signifikanz gemäß Mann-Whitney-Test mit $P = 0,05$

4.1.4 Die Ergebnisse der HPLC verdeutlichen eine gute Übereinstimmung zwischen dem Farbstofffaktor für DAPI (FF_{DAPI}) und dem AT/GC-Verhältnis der DNA

Für einige Arten waren die Abweichungen zwischen den Einzelergebnissen der HPLC sehr hoch. Dieses galt auch für die beiden sequenzierten Arten *Arabidopsis thaliana* und *Oryza sativa*, die als Referenz für die übrigen Arten dienen sollten. Aus diesem Grunde wurde von der Berechnung des absoluten AT/GC-Verhältnisses anhand der beiden Referenzarten abgesehen. Stattdessen wurde das Verhältnis aus den Peakflächen von Adenin und Guanin als Ergebnis der HPLC zum FF_{DAPI} in Beziehung gesetzt (Abb. 5).

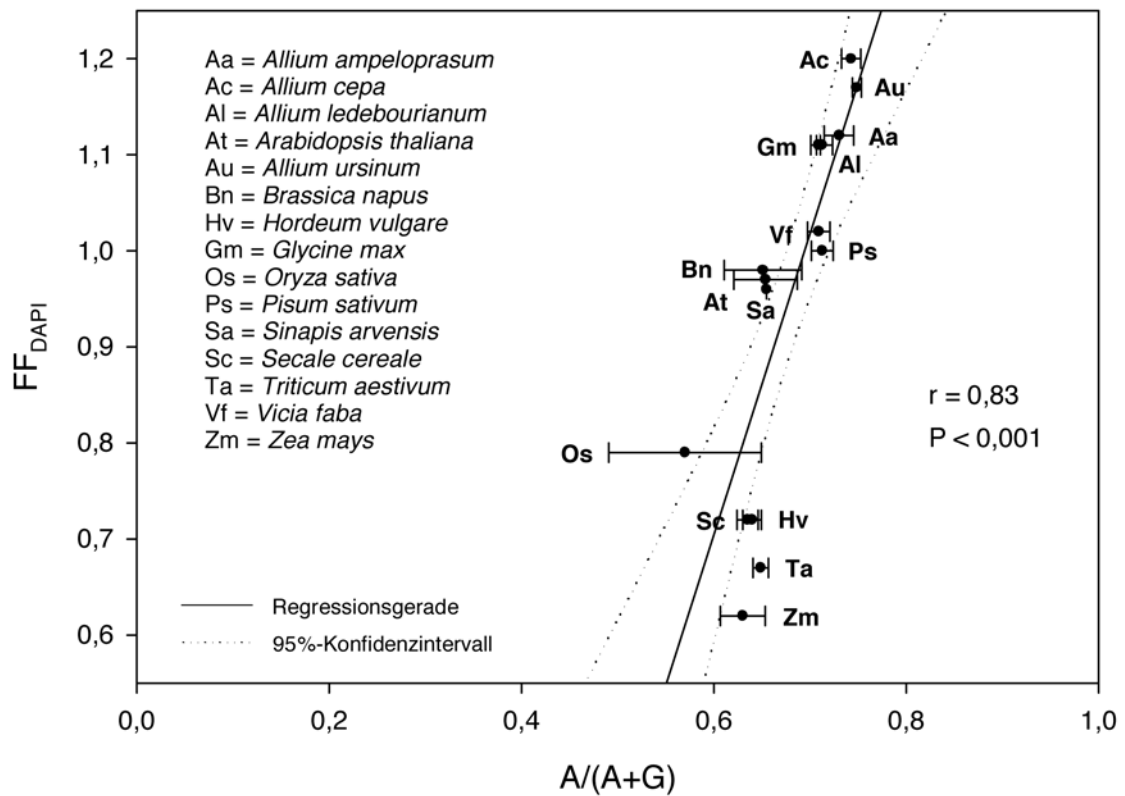
Für acht der untersuchten Arten konnten Standardabweichungen von 0,6 bis 1,6 % erreicht werden, für eine Art betrug sie 2,1%. Von zwei weiteren Arten wurde nur je eine DNA-Probe präpariert, so dass keine Standardabweichung errechnet wurde. Für vier Arten lag die Standardabweichung deutlich über 3,5%. Zu diesen gehörten auch die sequenzierten Arten *Arabidopsis thaliana* und *Oryza sativa* mit einer Standardabweichung von 5,1 bzw. 13,9%.

Es liegt eine signifikante, gute Korrelation zwischen HPLC-Ergebnissen und dem FF_{DAPI} vor ($r = 0,83$, $P < 0,001$). Sieben der 15 Werte liegen innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls, die übrigen Mittelwerte liegen knapp außerhalb.

Der Grund für die teilweise sehr starke Streuung der Werte ist unklar, zumal die Probenbereitung nur wenige, einfache Schritte enthielt. Möglich ist jedoch eine leicht variierende Präzipitation eines Teils der Probensubstanz, d. h. einer oder einiger Basen. Der ungewöhnlich schnelle Verschleiß der Säulen deutet darauf hin, dass dies während einzelner Messungen geschah. Die ersten Säulen, bei denen noch mit relativ hohen Konzentrationen der reinen synthetischen Basen experimentiert wurde, lieferten schon nach ein bis zwei Monaten unscharfe Peaks. Da die Säulen ansonsten nicht beschädigt worden sein können und dieser Effekt regelmäßig auftrat, kann eine Beschädigung des Füllmaterials durch ausgefallene Probensubstanz angenommen werden (Stefan Lamotte, Bischoff Analysetechnik und -geräte GmbH, Leonberg, persönliche Mitteilung). Während der Vorarbeit zu den Versuchen hatten Lösungsexperimente mit verschiedenen Konzentrationen der Basen in Wasser bei unterschiedlichen pH-Werten eine relativ schlechte Löslichkeit der Basen in wässrigen Lösungsmitteln offenbart. Die optimale Löslichkeit für alle vier Basen zusammen ergab sich bei einem pH-Wert von 3,0. Dies wurde durch Wiederholung der Versuche mit dem benutzten Puffer bestätigt. Zudem zeigte sich eine hohe Empfindlichkeit der Ba-

sen hinsichtlich ihrer Löslichkeit gegenüber einem Wechsel des pH-Milieus. Auch Ko et al. (1977) betonen, dass die Einhaltung des pH-Wertes wichtig ist.

Abb. 5 Beziehung zwischen durchflusszytometrischen und chromatografischen Ergebnissen



4.2 Die Endopolyploidie ist bei Samenpflanzen mit der Phylogenie der Arten, dem Organtyp, der Lebensform und Lebensdauer und der Genomgröße unterschiedlich eng korreliert

Die Ergebnisse offenbaren einen sehr engen Zusammenhang zwischen der Familienzugehörigkeit und der Endopolyploidisierung der untersuchten Arten. Weiterhin zeigen sie einen weniger engen Zusammenhang zwischen Endopolyploidie und Organtyp sowie der Lebensform und Lebensdauer der untersuchten Arten. Die von Nagl (1976) angenommene Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße ist nur sehr schwach aber ebenfalls signifikant.

4.2.1 Aus der Gesamtheit der Daten resultiert eine schwache negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung

Die Zyklus-Werte als Maß der Endopolyploidisierung aller untersuchten Organe der Arten sind in Tab. 4 aufgeführt. Ein Organ mit einem Zyklus-Wert kleiner als 0,1 (Endopolyploidiegrenzwert) wurde als nicht-endopolyploid angesehen. Die fluoreszenzmikroskopische Kontrolle des DNA-Gehalts sortierter Kerne sehr kleiner 4C-Peaks konnte für die vier daraufhin untersuchten Arten (siehe Abschnitt 3.2.3.1) für lediglich 50-70% der Kerne den entsprechenden DNA-Gehalt bestätigen. Die übrigen Kerne des 4C-Peaks hatten den DNA-Gehalt von 2C-Kernen. Damit stellten nur 1,5-2% der Kerne der entsprechenden Histogramme tatsächlich 4C-Kerne dar. Wegen dieses geringen Anteils wurden Arten, die einen derart kleinen 4C-Peak aufwiesen (alle untersuchten Lamiaceen und Asteraceen, sowie je zwei Ranunculaceen und Rosaceen) als nicht-endopolyploid angesehen. Außer verklebten 2C-Kernen könnten diese 4C-Peaks auch G2-Kerne meristematischer Zellen enthalten (Jacquard et al. 1999). Wenn eine Art Endopolyploidie aufwies, so meist in allen Organen außer in Fruchtknoten. Diese Arten werden im folgenden als endopolyploid bezeichnet. Nur in *Duchesnea indica* beschränkte sich die Endopolyploidisierung auf Blatt- und Blütenstiele, wo sie in geringem Maße ausgeprägt war. Die kleinen 4C-Peaks von Primärblättern von *Fagus sylvatica* und *Quercus robur* sind evtl. nicht durch endopolyploide sondern durch G2-Zellkerne hervorgerufen worden, da es sich um sehr junges Untersuchungsmaterial handelte. Diese Blätter könnten also nicht vollständig ausdifferenziert gewesen sein und somit noch meristematisches Gewebe enthalten haben. Der Zyklus-Wert

der oberen Blätter von *Sophora japonica* lag nur knapp über dem Endopolyploidiegrenzwert, so dass auch diese Art als nicht-endopolyploid angesehen werden kann. Die oberen Blätter der endopolyploiden Arten *Glycine max*, *Capsicum frutescens*, *Allium ursinum* und *Triticum aestivum* zeigten gleichfalls keine Endopolyploidie. Für *Triticum aestivum* traf dieses auch auf die Wurzel zu. Die unteren Blätter von *Vicia faba* als auch die Petalen und Stamina von *Aquilegia vulgaris* waren nicht-endopolyploid.

Der Blick auf die Gesamtheit der Werte enthüllt ein Bild, das dem ähnelt, welches Vinogradov (1998) „triangular relationship“ nennt (Abb. 6). Die Daten zeigen v. a. für kleingenomige Arten, z. B. Brassicaceen, Cucurbitaceen und Chenopodiaceen, eine Tendenz zu starker Endopolyploidisierung (Abb. 6). Allerdings weisen auch einige Arten mit kleinem Genom keine oder eine sehr geringe Endopolyploidie auf (z. B. *Haplopappus gracilis*, *Hyssopus officinalis*, *Aquilegia vulgaris*, *Oryza sativa* sowie die untersuchten Rosaceen und Fagaceen), während andere Arten wie z. B. Alliaceen, einige Fabaceen und Poaceen trotz ihres großen Genoms endopolyploid sind (Tab. 4, Abb. 6).

Insgesamt resultiert aus dem gesamten Datensatz eine schwache aber signifikante, negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung ($r = -0,253$, $P < 0,001$).

Tab. 4 Endopolyploidie (Zyklus-Wert) in verschiedenen Organen, Genomgröße, Lebensform und Lebensdauer von 54 Spermatophyten

Familie	Art	Genomgröße (2C) [pg]	Lebensform und Lebensdauer	Zyklus-Wert												
				Blütenkelch	Blütenkrone bzw. Perigon	Staubblatt	Fruchtknoten	Blütenstiel	oberer Stängelabschnitt	oberes Blatt	unteres Blatt	oberer Blattstiel	unterer Blattstiel	Wurzel	Keimblatt*	
Ginkgoaceae	<i>Ginkgo biloba</i> L.	21,58	P, p								0,00	0,00				
Pinaceae	<i>Larix decidua</i> Mill.	25,73	P, p								0,00			0,00		
	<i>Abies concolor</i> (Gord. et Glend.) Lind. ex Hildebrandt	36,12	P, p								0,00					
	<i>Picea abies</i> (L.) Karsten	38,63	P, p								0,00			0,00		
	<i>Pinus sylvestris</i> L.	44,22	P, p								0,00					
Ranunculaceae	<i>Aquilegia vulgaris</i> L.	1,01	H, p		0,06	0,06	0,14	0,12			0,22	0,22	0,49	0,40	0,20	0,20
	<i>Anemone sylvestris</i> L.	17,02	H, p		0,02	0,00	0,08	0,06			0,01	0,00	0,01	0,00		0,00
	<i>Anemone ranunculoides</i> L.	36,83	G, p		0,04			0,06	0,03	0,02		0,02			0,07	
Chenopodiaceae	<i>Beta vulgaris</i> L.	1,84	H, b								0,34	1,56	0,86	1,83	0,54	1,75
	<i>Atriplex rosea</i> L.	2,12	T, a								0,22	0,56	1,14	0,90		0,81
	<i>Spinacia oleracea</i> L.	2,69	T, a			2,30	0,53		1,58	0,38	0,94	1,36	1,42	1,45	1,45	
Urticaceae	<i>Urtica urens</i> L.	1,07	T, a								0,92	0,75	1,27	1,10		1,54
	<i>Parietaria officinalis</i> L.	1,13	H, p							0,60	0,58	0,79	0,71	0,86		0,84
	<i>Urtica dioica</i> L.	2,34	H, p							0,14	0,10	0,34	0,20	0,53	0,24	0,31
Fagaceae	<i>Fagus sylvatica</i> L.	1,30	P, p			0,00	0,11	0,01			0,00	0,24			0,05	0,03
	<i>Castanea sativa</i> Mill.	1,96	P, p			0,06	0,04	0,02			0,07					
	<i>Quercus robur</i> L.	2,18	P, p				0,12	0,06			0,03	0,13		0,06		0,00
Rosaceae	<i>Physocarpus opulifolius</i> (L.) Maxim.	0,71	P, p	0,02	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00			0,03
	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	1,98	P, p	0,05	0,02	0,03	0,09	0,06			0,00		0,00			
	<i>Duchesnea indica</i> Focke	4,19	H, p	0,04	0,05						0,02		0,15			

grau unterlegt: als endopolyploid angesehene Arten; Lebensform: T = Therophyt, H = Hemikryptophyt, G = Geophyt, P = Phanerophyt, C = Chamaephyt; Lebensdauer: a = Sommer- und Winterannuelle, b = Bienne, p = Plurienne; Zahlen in schwarz: Zyklus-Werte unterhalb des Grenzwertes von 0,1; * bzw. Primärblatt bei den Poaceen

Tab. 4 (Fortsetzung)

Familie	Art	Genomgröße (2C) [pg]	Lebensform und Lebensdauer	Zyklus-Wert												
				Blütenkelch	Blütenkrone bzw. Perigon	Staubblatt	Fruchtknoten	Blütenstiel	oberer Stängelabschnitt	oberes Blatt	unteres Blatt	oberer Blattstiel	unterer Blattstiel	Wurzel	Keimblatt*	
Fabaceae	<i>Trifolium pratense</i> L.	1,06	H, p								0,15	0,20	0,49	0,80		1,01
	<i>Sophora japonica</i> L.	1,34	P, p	0,07	0,05	0,06	0,14				0,11		0,05			
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1,58	T, a							0,60	0,25	0,31	0,87	0,87		1,36
	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	2,73	T, a								0,08	0,11	0,12	0,26		1,05
	<i>Pisum sativum</i> L.	9,07	T, a	0,44	0,75	1,01	0,24	0,64	0,47	0,14	0,17	0,43	0,54	0,65	1,78	
	<i>Vicia faba</i> L.	26,21	T, a	0,24	0,86	0,74	0,18	0,44	0,55	0,21	0,08	0,69	0,59		1,77	
Brassicaceae	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	0,43	T/H, a	0,49	0,34			0,72	0,99	1,44	1,66		2,08	1,25	2,00	
	<i>Sinapis arvensis</i> L.	1,35	T, a	0,49	0,48	0,71	0,26	0,80	0,71	0,13	0,78	1,09	1,53		1,71	
	<i>Raphanus sativus</i> L.	1,38	T, a	0,98	1,05	1,78	0,32	0,98	0,95	0,14	0,95	0,74	1,33	0,68	1,43	
	<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara et Grande	2,70	H/C, b	0,32	0,18	0,76	0,21				0,30	0,46	0,76	0,79		
	<i>Brassica napus</i> L.	2,95	T, a	0,68	0,43	0,67	0,26	0,85	0,79	0,13	0,93	0,48	1,39		1,27	
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita moschata</i> (Duch. ex Lam.) Duch. ex Poir.	0,97	T, a				0,88			0,30	0,62	1,34	1,30		1,65	
	<i>Cucumis sativus</i> L.	1,03	T, a	1,26	1,09	1,55		1,43		0,42	1,35		1,98		1,74	
	<i>Cucurbita pepo</i> L.	1,18	T, a	1,37	1,12	1,51		1,47		0,58	0,29	1,70	1,25		1,24	
	<i>Momordica charantia</i> L.	1,43	H, p	0,63	0,63	1,21			1,06	0,88	1,23	1,15	1,59	1,23	1,67	
Solanaceae	<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i> (Jusl.) Mill.	2,29	T, a	0,49	0,37	0,91	0,34	0,52	0,73	0,18	0,70	1,06	1,10	1,00	0,83	
	<i>Capsicum frutescens</i> L.	7,37	T, a							0,07	0,13	0,26	0,51		0,13	
	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	9,77	T, a	0,22	0,29	0,53	0,27	0,49		0,11	0,23				0,72	
Lamiaceae	<i>Hyssopus officinalis</i> L.	1,12	C, p							0,06	0,00	0,07	0,03		0,01	
	<i>Teucrium scorodonia</i> L.	2,86	C, p							0,08	0,02	0,06	0,04		0,01	
	<i>Stachys grandiflora</i> (Willd.) Benth.	12,47	H, p	0,02	0,05	0,00	0,00			0,08	0,02	0,04	0,05	0,02	0,04	

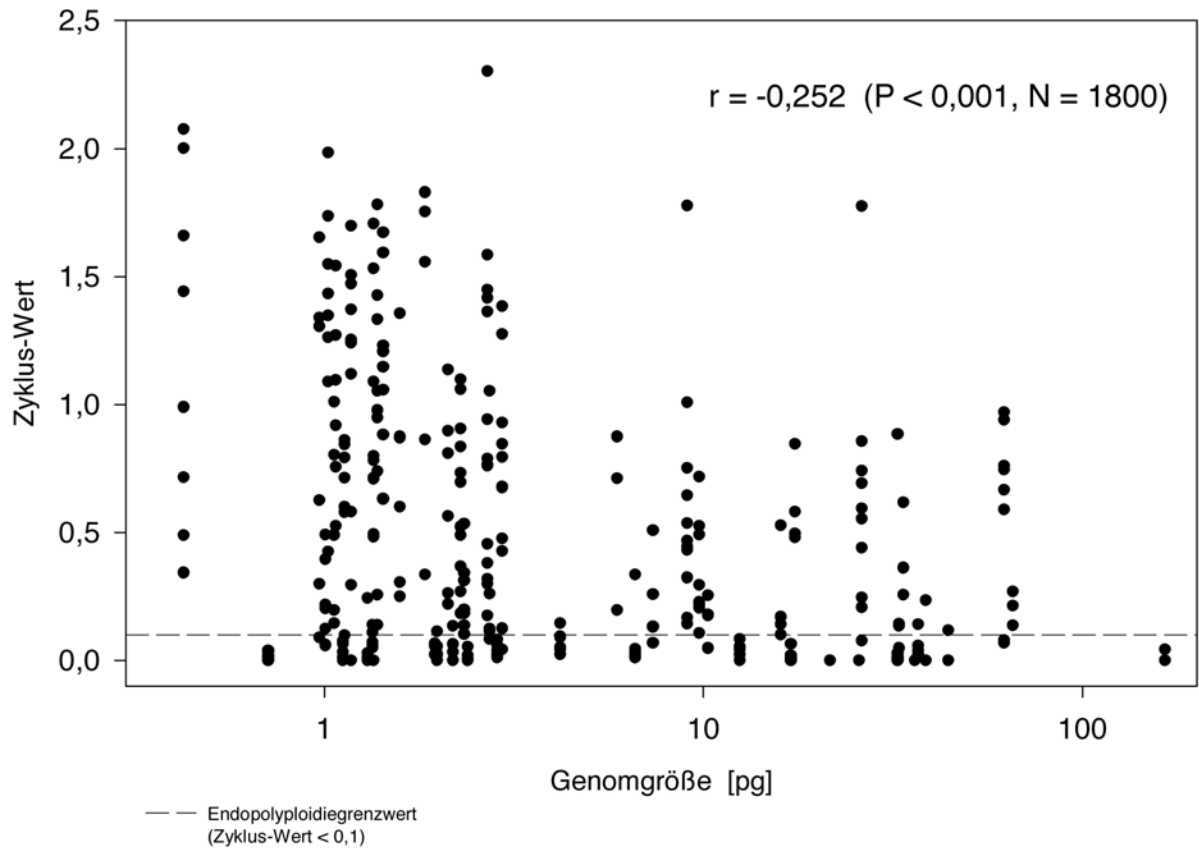
grau unterlegt: als endopolyploid angesehene Arten; Lebensform: T = Therophyt, H = Hemikryptophyt, G = Geophyt, P = Phanerophyt, C = Chamaephyt; Lebensdauer: a = Sommer- und Winterannuelle, b = Bienne, p = Plurienne; Zahlen in schwarz: Zyklus-Werte unterhalb des Grenzwertes von 0,1; * bzw. Primärblatt bei den Poaceen

Tab. 4 (Fortsetzung)

Familie	Art	Genomgröße (2C) [pg]	Lebensform und Lebensdauer	Zyklus-Wert												
				Blütenkelch	Blütenkrone bzw. Perigon	Staubblatt	Fruchtknoten	Blütenstiel	oberer Stängelabschnitt	oberes Blatt	unteres Blatt	oberer Blattstiel	unterer Blattstiel	Wurzel	Keimblatt*	
Asteraceae	<i>Haplopappus gracilis</i> (Nutt.) A.Gray	2,39	T, a		0,02					0,05	0,05	0,01			0,03	0,00
	<i>Lactuca sativa</i> L.	6,61	T, a		0,02	0,01	0,05			0,05	0,02	0,03			0,03	0,02
	<i>Chrysanthemum multicolor</i> Hyl.	32,55	T, a		0,00					0,01	0,03	0,01			0,01	0,00
Alliaceae	<i>Allium ledebourianum</i> Schult. et Schult. f.	17,46	G, p								0,48	0,49				0,85
	<i>Allium cepa</i> L.	33,69	H, p								0,26	0,36			0,48	0,62
	<i>Allium ursinum</i> L.	62,08	G, p		0,76	0,67	0,58	0,59	0,97	0,07			0,74	0,94	1,15	
	<i>Allium ampeloprasum</i> L. s.l.	65,48	G, p								0,14	0,21				0,27
Liliaceae	<i>Fritillaria uva-vulpis</i> Rix	165,82	G, p		0,04	0,00	0,09				0,00					
Poaceae	<i>Oryza sativa</i> L. ssp. <i>japonica</i>	1,18	H, p								0,00	0,00				0,00
	<i>Zea mays</i> L.	5,92	T, a				0,53				0,20	0,71				0,87
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	10,27	T, a								0,26	0,18				0,18
	<i>Secale cereale</i> L.	16,01	T, a							0,10	0,14	0,17				0,17
	<i>Triticum aestivum</i> L.	32,82	T, a								0,05	0,14			0,08	0,13

grau unterlegt: als endopolyploid angesehene Arten; Lebensform: T = Therophyt, H = Hemikryptophyt, G = Geophyt, P = Phanerophyt, C = Chamaephyt; Lebensdauer: a = Sommer- und Winterannuelle, b = Bienne, p = Plurienne; Zahlen in schwarz: Zyklus-Werte unterhalb des Grenzwertes von 0,1; * bzw. Primärblatt bei den Poaceen

Abb. 6 Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung auf der Basis aller ermittelten Werte



4.2.2 Die Endopolyploidisierung ist in den verschiedenen Familien unterschiedlich ausgeprägt

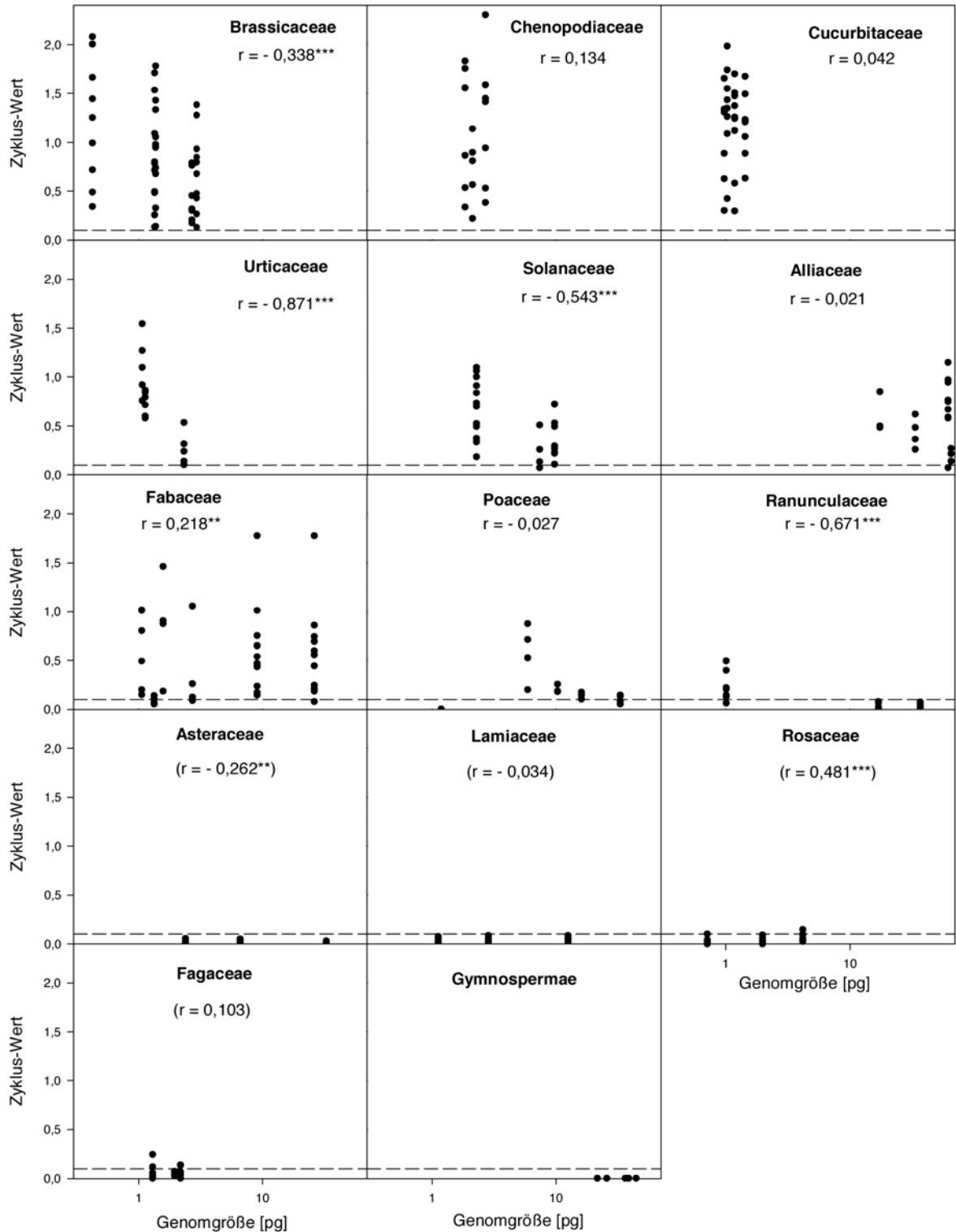
In Abb. 7 ist die Beziehung zwischen Endopolyploidisierung und Genomgröße der Arten getrennt nach Familienzugehörigkeit dargestellt. Außer bei den Ranunculaceen, Rosaceen, Fabaceen und Poaceen sind entweder alle untersuchten Arten einer Familie endopolyploid oder keine, und zwar unabhängig von der Genomgröße. Von den untersuchten Ranunculaceen und Rosaceen weist nur jeweils eine Art Endopolyploidie in geringem Maße auf (*Aquilegia vulgaris* bzw. *Duchesnea indica*). Von den fünf untersuchten Poaceen bildet lediglich *Oryza sativa* keine Endopolyploidisierung aus, obwohl sie das kleinste Genom dieser fünf Arten besitzt. Der Phanerophyt *Sophora japonica* ist die einzige analysierte Fabacee ohne deutliche Endopolyploidisierung. Diese Daten legen einen engen Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Phylogenese der Arten nahe.

Um die Überlagerung des Zusammenhangs zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung durch die phylogenetische Position auszuschließen, wurde die Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidie für jede Familie einzeln berechnet (Abb. 7). Das Ergebnis offenbart eine signifikante, negative Korrelation in fünf Familien. Jedoch war in einer dieser Familien (Asteraceen) keine und in einer weiteren (Ranunculaceen) nur eine Art eindeutig endopolyploid, da in beiden Familien verklebte 2C-Kerne oder G2-Kerne meristematischen Gewebes in beträchtlichem Maße zu den jeweils sehr kleinen 4C-Peaks beigetragen haben können (siehe Abschnitt 4.2.2). Aus diesem Grunde ist für beide Familien die Korrelation zweifelhaft, so dass nur für drei der Familien (Brassicaceen, Urticaceen und Solanaceen) tatsächlich eine negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidie angenommen werden kann. Für die Rosaceen ergab der Spearman-Test eine schwache positive Korrelation, da die einzige Art mit (mäßiger) Endopolyploidie (*Duchesnea indica*) diejenige mit dem größten Genom ist (siehe dazu auch folgenden Abschnitt 4.2.3). Bei den Fabaceen wird die schwache signifikante, positive Korrelation durch die kleingenomige, nicht-endopolyploide *Sophora japonica* hervorgerufen.

Die Ergebnisse der fünf untersuchten Gymnospermen sind in Abb. 7 in einem Diagramm zusammengefasst, da in ihnen keine Endopolyploidisierung erkennbar war. Da die einzige untersuchte Liliacee, *Fritillaria uva-vulpis*, keine Endopolyploidisierung aufwies, wurde auf eine Abbildung der Ergebnisse verzichtet.

Abb. 7 Endopolyploidie und Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße innerhalb der untersuchten Familien

(zweifelhafte Korrelationsfaktoren - siehe Abschnitt 4.2.2 - in Klammern; für Gymnospermen (Pinaceae und Ginkgoaceae) wurde wegen fehlender Endopolyploidie keine Korrelation berechnet.)



gestrichelte Linie: Endopolyploidiegrenzwert (Zyklus-Wert < 0,1)

Signifikanzniveau: * ≤ 0,05, ** ≤ 0,01, *** ≤ 0,001

Werte in Klammern: durch Endopolyploidisierung unterhalb des Grenzwertes keine tatsächliche Korrelation
Für die Liliaceen wurde auf eine Abbildung verzichtet, da die einzige untersuchte Art nicht endopolyploid ist.

4.2.3 Die Endopolyploidisierung ist in Arten mit verschiedener Lebensform und Lebensdauer unterschiedlich ausgeprägt

Der Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem paarweisen Vergleich (Dunn-Test) zeigte, dass sich Arten mit verschiedener Lebensform und Lebensdauer hinsichtlich der Endopolyploidisierung teilweise signifikant unterscheiden (Tab. 5, $P < 0,05$). Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich zwischen Therophyten und winterannuellen und zweijährigen Arten, zwischen Geophyten und mehrjährigen Hemikryptophyten sowie zwischen Chamaephyten und Phanerophyten. Aufgrund der sehr ähnlichen Endopolyploidisierung ein- und zweijähriger Arten wurden diese in Abb. 8 in einem Diagramm zusammengefasst. Die beiden Chamaephyten *Teucrium scorodonia* und *Hyssopus officinalis* wurden mit den Geophyten und mehrjährigen Hemikryptophyten den mehrjährigen Kräutern in Abb. 8 zugeordnet, von denen einige ebenfalls keine Endopolyploidie zeigten, da sie aufgrund fehlender bzw. schwacher Verholzung nicht mit den Gehölzarten zu einer Gruppe zusammengefasst werden können.

Von den 26 ein- bis zweijährigen Arten erwiesen sich 23 als endopolyploid, während dies nur auf 10 der 17 mehrjährigen krautigen Arten zutraf. Alle drei nicht-endopolyploiden, einjährigen Arten gehören zu den Asteraceen. Zwei der mehrjährigen Hemikryptophyten (*Aquilegia vulgaris*, *Duchesnea indica*) waren nur zu einem sehr geringen Grad endopolyploid. Keine der untersuchten Gehölzarten zeigte Endopolyploidisierung (Fagaceen, Gymnospermen, die zwei Rosaceen *Cydonia oblonga* und *Physocarpus opulifolius* und die Fabacee *Sophora japonica*).

Für die ein- bis zweijährigen Arten ließ sich eine signifikante, negative Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße nachweisen ($r = -0,585$, $P < 0,001$, $N = 984$), während der Korrelationskoeffizient für die mehrjährigen Kräuter sowie für die untersuchten Phanerophyten nahezu Null und nicht signifikant war ($r = -0,078$, $N = 562$ bzw. $r = 0,028$, $N = 224$).

Tab. 5 Endopolyploidisierung in Arten mit unterschiedlicher Lebensform und Lebensdauer

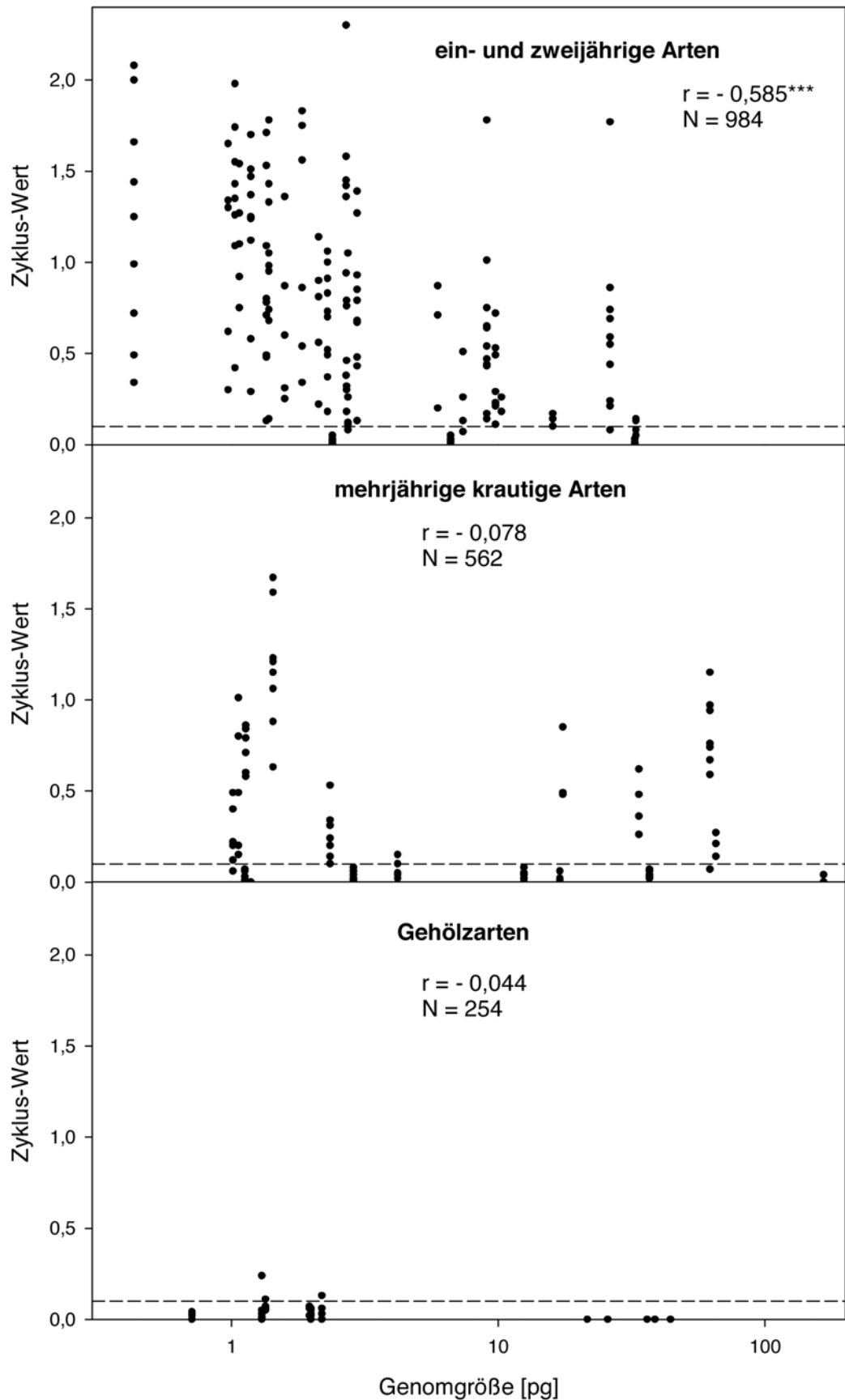
Lebensform	Lebensdauer	Zyklus-Wert (Median)	Artenzahl	Gruppierung*
Therophyten ^a	einjährig	0,58	24	a
Hemikryptophyten ^b	zweijährig	0,57	2	a
Hemikryptophyten	mehrjährig	0,14	10	b
Geophyten	mehrjährig	0,14	5	b
Chamaephyten	mehrjährig	0,04	2	c
Phanerophyten	mehrjährig	0,00	11	c

*verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an

^a einschließlich *Arabidopsis thaliana*

^b einschließlich *Alliaria petiolata*

Abb. 8 Endopolyploidie und Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße in Arten mit verschiedener Lebensform und Lebensdauer



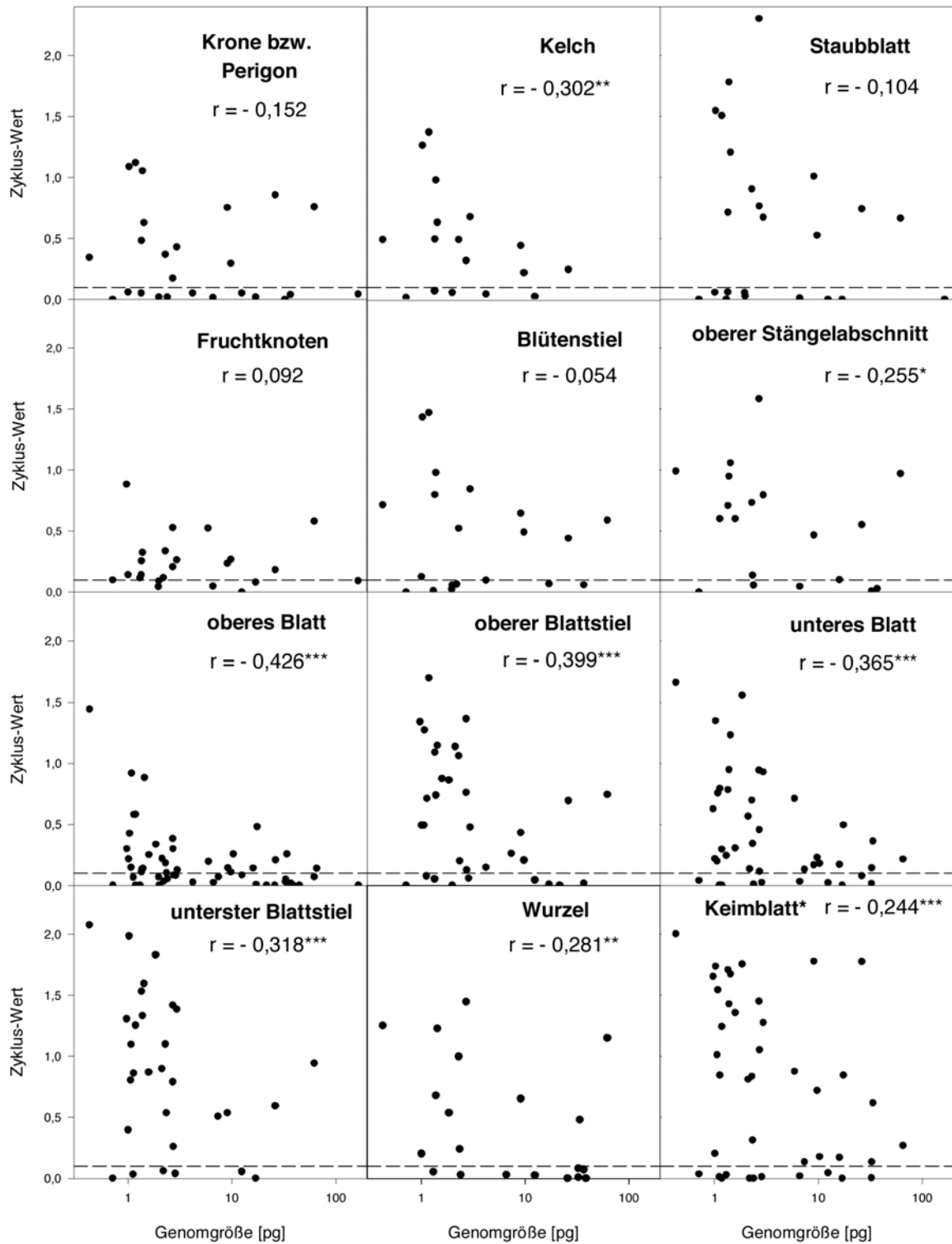
gestrichelte Linie: Endopolyploidie-Grenzwert (Zyklus-Wert < 0,1)
Signifikanzniveau: $*** \leq 0,001$

4.2.4 Die verschiedenen Organe weisen unterschiedliche Endopolyploidisierungsgrade auf

Im Durchschnitt wiesen Kotyledonen und Blattstiele den höchsten Endopolyploidisierungsgrad auf (Abb. 9). Untere Blätter und Blattstiele sind in stärkerem Maße endopolyploid als obere. Karpelle sind vermutlich trotz eines Zyklus-Wertes, der bei vielen Arten oberhalb des Endopolyploidiegrenzwertes liegt, als nicht-endopolyploid anzusehen. Bei der Untersuchung der Fruchtknoten fast aller Arten zeigten sich hohe 2C- und niedrige 4C-Peaks. Mit Hilfe des Programms ModFit (Verity Software House) für Zellzyklusanalysen konnte nachgewiesen werden, dass bei der Messung auch Kerne einer S-Phase erfasst worden waren. Die Existenz dieser Kerne weist darauf hin, dass der 4C-Peak mitotisch aktive G2-Kerne enthält und daher nicht unbedingt Rückschlüsse auf Endopolyploidie in diesen Organen zulässt. Bei der Fruchtbildung hingegen findet in Kernen des ehemaligen Fruchtknotens bei einigen Arten Endoreduplikation statt. Zum Beispiel wurden in den Wänden reifender Hülsen (die Samenanlagen waren vor der Präparation entfernt worden) von *Vicia faba* und *Pisum sativum* Kerne oberhalb der 4C-Endopolyploidiestufe gefunden.

Für alle Organe außer den Karpellen lässt sich eine schwache bis mäßige negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung feststellen, die nur in Petalen, Stamina und Blütenstielen nicht signifikant ist. Die signifikanten Korrelationskoeffizienten liegen zwischen -0,426 und -0,244 und sind für Blätter, Blattstiele und Sepalen am höchsten (Abb. 9).

Abb. 9 Endopolyploidie und Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße in den untersuchten Organen der analysierten Arten



gestrichelte Linie: Endopolyploidiegrenzwert (Zyklus-Wert < 0,1)

Signifikanzniveau: * ≤ 0,05, ** ≤ 0,01, *** ≤ 0,001

*bei den untersuchten Poaceen das Primärblatt

4.2.5 Der Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Familienzugehörigkeit, Organtyp, Lebensform und Lebensdauer sowie Genomgröße ist unterschiedlich eng

Um die Beziehungen der Faktoren ‚Familienzugehörigkeit‘, ‚Lebensform und Lebensdauer‘, ‚Organ‘ und ‚Genomgröße‘ zur Endopolyploidisierung zu quantifizieren, wurde eine dreifaktorielle Varianzanalyse mit Kovarianz (ANCOVA) durchgeführt. Das Ergebnis bestätigt den engen Zusammenhang zwischen Familienzugehörigkeit und Auftreten und Ausmaß der Endopolyploidisierung sowie deren schwachen Zusammenhang mit der Genomgröße (Tab. 6). Organ und Lebensform und Lebensdauer weisen einen schwächeren Zusammenhang mit der Endopolyploidisierung auf als die Familienzugehörigkeit, aber einen deutlich engeren als die Genomgröße.

Tab. 6 Dreifaktorielle Varianzanalyse mit Kovarianz zur Quantifizierung des Zusammenhangs der Endopolyploidie mit den Faktoren ‚Familienzugehörigkeit‘, ‚Organ‘, ‚Genomgröße‘ und ‚Lebensform und Lebensdauer‘

Parameter	Freiheitsgrade	F
Familienzugehörigkeit	15	108,8***
Organ	11	52,5***
Lebensform und Lebensdauer	2	39,6***
Genomgröße (Kovarianz)	1	5,8*

Signifikanzniveau: * $\leq 0,05$, *** $\leq 0,001$

Bei der Beurteilung des Ergebnisses der Varianzanalyse ist zu berücksichtigen, dass die getesteten Faktoren nicht unabhängig voneinander sind:

1. Lebensdauer und Genomgröße sind in der Form miteinander verbunden, dass ein- bis zweijährige Arten in der Regel kleinere Genome besitzen als mehrjährige (Bennett 1972, Vinogradov 2001).
2. Je näher Arten miteinander verwandt sind, desto geringer fallen meist die Unterschiede in der Genomgröße aus (Grif 2000), so dass innerhalb jeder der getesteten

Familien nur ein bestimmter und bei einigen Familien relativ enger Genomgrößenbereich vertreten ist.

3. Die hier erfassten Arten einer Familie weisen meist die gleiche oder eine sehr ähnliche Lebensform und Lebensdauer auf. Ausnahmen bilden *Urtica urens* bei den Urticaceen, *Duchesnea indica* bei den Rosaceen, *Sophora japonica* und *Trifolium repens* bei den Fabaceen, *Momordica charantia* bei den Cucurbitaceen und *Oryza sativa* bei den Poaceen.

Durch die Wahl von Arten, die innerhalb einer Familie und einer Lebensform und Lebensdauer möglichst unterschiedlich große Genome besitzen, sollte eine Verzerrung oder fehlerhafte Tendenz des statistischen Ergebnisses minimiert werden, die sich dadurch ergeben kann, dass die Genomgröße nicht vollständig unabhängig von den Faktoren Familienzugehörigkeit und Lebensform und Lebensdauer der Arten ist.

Die Tatsache, dass ein- und zweijährige Arten tendenziell kleinere Genome besitzen als mehrjährige und eine, wenn auch schwache, negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierungsgrad besteht, lässt die Vermutung zu, dass der enge Zusammenhang der Familienzugehörigkeit mit dem Endopolyploidisierungsgrad primär durch die Lebensform und Lebensdauer verursacht ist. Dieser möglicherweise primäre Zusammenhang könnte bei der ANCOVA dadurch überdeckt worden sein, dass bei den meisten Familien durch die hier untersuchten Arten nur eine bestimmte Lebensform und Lebensdauer vertreten ist. Das Ergebnis wäre dann nicht richtig. Falls dies der Fall wäre, müsste der Faktor ‚Familie‘ bei der statistischen Analyse überflüssig sein und das Aussparen desselben deren Ergebnis nicht wesentlich verändern. Dies trifft jedoch nicht zu, vielmehr ergibt eine ANCOVA ohne den Faktor ‚Familie‘ insgesamt einen F-Wert, der nur noch ungefähr halb so groß ist, und dementsprechend eine ca. doppelt so hohe nicht erklärte Restvarianz. Somit scheint die Familienzugehörigkeit neben der Lebensform und Lebensdauer eine wichtige Größe zur Erklärung der Endopolyploidisierung zu sein. Einige Ausnahmen vom Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Lebensform und Lebensdauer unterstützen die Annahme, dass in manchen Arten v. a. die Familienzugehörigkeit die Ausprägung von Endopolyploidisierung bedingt. So sind alle untersuchten Asteraceen einjährig, jedoch im Gegensatz zu den übrigen untersuchten einjährigen Arten ohne Endopolyploidie. Die untersuchten Alliaceen hingegen sind mehrjährig und im Gegensatz zur Mehrheit der ausdauernden Kräuter endopolyploid. Zudem sind alle drei untersuchten Cucurbitaceen und Urticaceen endopolyploid, wobei eine Art bzw. zwei Arten der beiden Familien mehr-

jährig sind. Alle der hier untersuchten krautigen Fabaceen weisen Endopolyploidie auf, also auch die mehrjährige Art *Trifolium pratense*. In all diesen Fällen scheint somit die Ausprägung der Endopolyploidie unabhängig von der Lebensform und Lebensdauer eher ein familienspezifisches Merkmal zu sein.

5. Diskussion

5.1 Das Basenverhältnis (AT/GC-Verhältnis) bei Spermatophyten

Da das Verhältnis der DAPI-Fluoreszenz zum AT-Anteil der untersuchten DNA nicht eindeutig bekannt ist, wurde in dieser Arbeit statt des absoluten AT-Gehalts ein Farbstofffaktor für die untersuchten Arten bestimmt, der das Verhältnis der basenspezifischen Fluoreszenz zweier Arten bezogen auf deren Genomgröße wiedergibt. Der Vergleich der Farbstofffaktoren für die basenspezifischen Fluorochrome DAPI und HO mit unterschiedlicher Bindungslänge führt jedoch zu uneinheitlichen Ergebnissen, die wahrscheinlich in der nicht zufälligen Basenverteilung der DNA begründet sind, wie in Abschnitt 5.1.2 gezeigt wird. Daher ergeben sich Zweifel an der Durchflusszytometrie als verlässliche Methode zur Analyse des AT/GC-Verhältnisses der DNA. Diese Zweifel können jedoch anhand der Ergebnisse der HPLC und anhand von Literaturdaten erheblich relativiert werden.

5.1.1 Bei Spermatophyten besteht keine Beziehung zwischen dem Farbstofffaktor für DAPI (FF_{DAPI}) und der Genomgröße, sondern vielmehr zwischen dem Farbstofffaktor und der phylogenetischen Position der untersuchten Arten

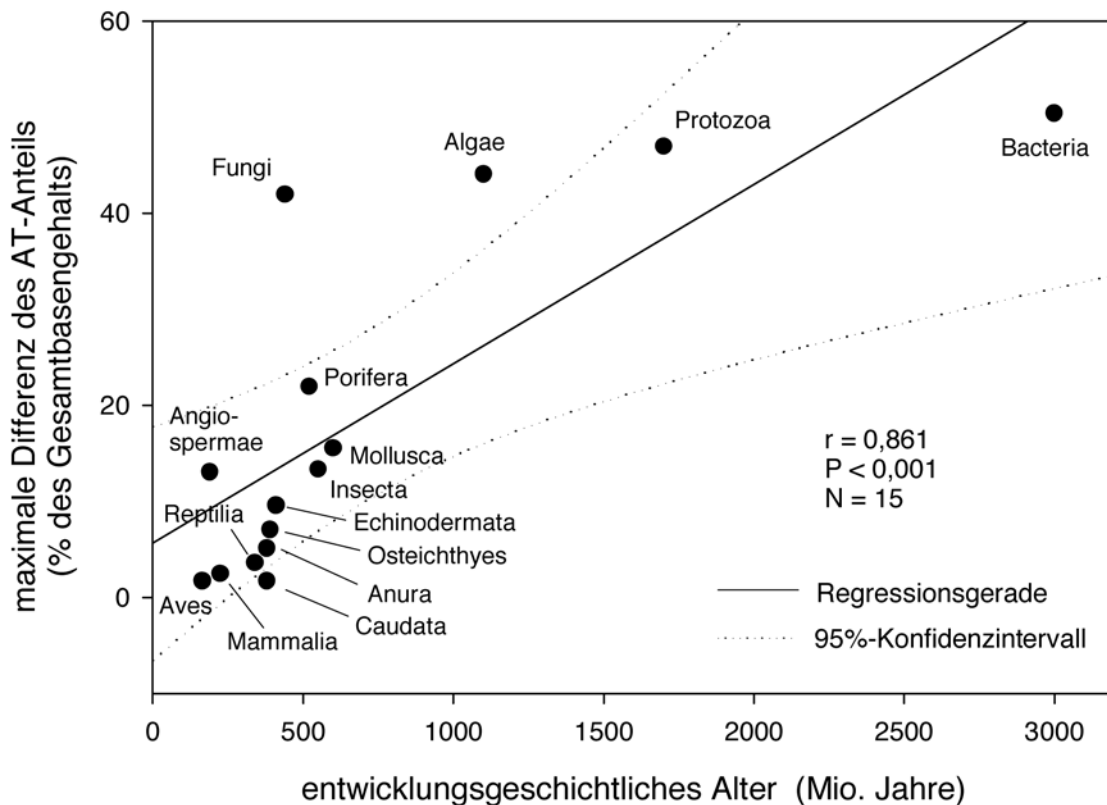
Das Fehlen einer Beziehung zwischen Genomgröße und AT/GC-Verhältnis in Samenpflanzen wird durch Ergebnisse an Koniferen (Miksche und Hotta 1973) sowie den Gattungen *Pennisetum* (Martel et al. 1997) und *Hydrangea* (Cerbah et al. 2001) bestätigt. Lediglich für die Gattungen *Lathyrus* (Ali et al. 2000) und *Lactuca* in Kombination mit einigen nahe verwandten Arten (Koopman 2002) ließ sich in Übereinstimmung mit Vinogradovs Annahme eine signifikante, negative Korrelation zwischen Genomgröße und AT-Anteil feststellen. Für die von Koopman (2002) untersuchten Arten ist sie allerdings sehr schwach ausgeprägt ($r = -0,30$) und Ali et al. (2000) haben in lediglich 7 Arten das AT/GC-Verhältnis ermittelt. Die von Vinogradov (1994) zwischen GC-Anteil und Genomgröße ermittelte positive Korrelation ($r = 0,90$, $P < 0,02$) vermindert sich erheblich und erweist sich als nicht signifikant ($r = 0,55$, $P = 0,26$), wenn man zur Berechnung die jüngsten und vermutlich genaueren Werte für die Genomgröße der von Vinogradov betrachteten Arten (Bennett und Leitch 2001) heranzieht.

Die Ergebnisse zeigen also, dass in Spermatophyten im wesentlichen keine Beziehung zwischen der Genomgröße und dem AT/GC-Verhältnis der DNA besteht.

Generell ist der umfangreiche Genomgrößenbereich in Samenpflanzen günstig, um eine solche Korrelation zu untersuchen (Abb. 1, Abschnitt 1.1). Dieser Vorteil wird jedoch durch den verhältnismäßig engen Bereich möglicher AT/GC-Verhältnisse relativiert (Abb. 2, Abschnitt 2.2). Der enge Bereich von AT/GC-Verhältnissen sollte allerdings kein Hindernis darstellen, da für Knochenfische (ohne Lungenfische), Amphibien, Reptilien, Vögel und Säuger mit sehr engen Genomgrößenbereichen und/oder sehr engen AT/GC-Bereichen (Abb. 1 bzw. 2) der Nachweis einer Korrelation möglich war (Vinogradov 1998, Bernardi und Bernardi 1990a). Eine mögliche Ursache für die relativ geringen Unterschiede im AT/GC-Verhältnis von Arten der Samenpflanzen könnte das geringe entwicklungsge- schichtliche Alter insbesondere der Angiospermen sein, da anscheinend in einzelnen Ar- tengruppen die Diversifizierung des AT/GC-Verhältnisses in Abhängigkeit von deren phy- logenetischem Alter unterschiedlich weit vorangeschritten ist (Abb. 10). Entsprechend ergibt sich für die dargestellten Gruppen eine klare Korrelation zwischen entwicklungsge- schichtlichem Alter und dem Bereich möglicher AT/GC-Verhältnisse ($r = 0,861$, $P < 0,001$, $N = 15$). Allerdings liegt der FF_{DAPI} der entwicklungsge- schichtlich viel älteren Pinaceen nahezu zentral im Bereich möglicher FF_{DAPI} -Werte der Spermatophyten (Abb. 4, Abschnitt 4.1.2), und auch der FF_{DAPI} für *Ginkgo biloba* ist nur von ungefähr 60% der mitt- leren FF_{DAPI} der hier untersuchten Familien signifikant verschieden (Tab. 2, Abschnitt 4.1.2). Die mittleren FF_{DAPI} der beiden Monokotylenfamilien Alliaceae und Poaceae zeigen andererseits, dass selbst nahe verwandte Familien der Spermatophyten innerhalb des mög- lichen Bereichs von AT/GC-Verhältnissen dieser Organismenabteilung nahezu entgegen- gesetzte Werte annehmen können. Der Vergleich der mittleren FF_{DAPI} der übrigen Familien offenbart ebenfalls, dass diese nicht die Phylognese der Familien widerspiegeln.

Auch unter der Berücksichtigung des vergleichsweise geringen phylogenetischen Alters der Angiospermen, das eine umfangreichere Diversifizierung des AT/GC-Verhältnisses noch nicht erlaubte, scheint die relativ geringe Spannbreite vertretener AT/GC-Verhält- nisse in dieser Unterabteilung der Spermatophyten ein konserviertes und damit evtl. adap- tives Merkmal zu sein. Obwohl sich die Vorfahren der Ginkgogewächse, Nadelhölzer und Bedecktsamer vermutlich schon vor 390 Mio. Jahren auseinanderentwickelten und die starke Radiation letzterer erst in der Kreidezeit einsetzte, schließt die Spanne der FF_{DAPI} der Bedecktsamer die FF_{DAPI} -Werte der untersuchten Gymnospermen mit ein (Tab. 2, Ab- schnitt 4.1.2).

Abb. 10 Diversifizierung der Basenzusammensetzung während der biologischen Entwicklungsgeschichte



Die Arten einer Familie weisen ähnliche AT/GC-Verhältnisse auf (Tab. 1, Abschnitt 4.1.1 und Tab. 2, Abschnitt 4.1.2). Diese Ähnlichkeit ist zu erwarten unter der Annahme, dass die unterschiedlichen Genomgrößen innerhalb einer Familie im wesentlichen durch Amplifikation von in Arten dieser Familien in sehr ähnlicher Form vorliegenden DNA-Sequenzen zustande kommen. Demgegenüber spiegelt aber das in den untersuchten Familien vorherrschende AT/GC-Verhältnis nicht unbedingt deren phylogenetische Beziehungen zueinander wider, wie z. B. die große Differenz zwischen den AT/GC-Verhältnissen von Alliaceen und Poaceen zeigt. Die Differenzen hinsichtlich des AT/GC-Verhältnisses haben sich also unabhängig von der phylogenetischen Beziehung zwischen den Familien herausgebildet. Vergleichbar mit den Verhältnissen bei Samenpflanzen ist für verschiedene Ordnungen der Knochenfische jeweils nur ein begrenzter Bereich der in Knochenfischen ermittelten AT/GC-Verhältnisse zu erkennen, der ebenfalls die phylogenetische Beziehung dieser Ordnungen nicht widerspiegelt (Bernardi und Bernardi 1990b).

Die erwähnten Extrema bei den untersuchten Monokotylen (Alliaceae und Poaceae) sind evtl. durch „molecular drive“ zu erklären (Dover 2002, Vinogradov 1998), durch den ein gegebenes repetitives Element der DNA innerhalb entwicklungsgeschichtlich kurzer Zeit einen relativ großen Anteil DNA repräsentieren und damit deren AT/GC-Verhältnis tendenziell beeinflussen kann. Eine solche Entwicklung ist v. a. in großgenomigen Arten zu erwarten, zu denen insbesondere die Alliaceen und teilweise auch die Poaceen (z. B. die Triticeen) gehören, da solche einen stärkeren Basenaustausch durch Amplifikationen und Deletionen aufweisen als kleingenomige Arten (Flavell 1986). Bernardi et al. (1988) vermuten, dass der hohe GC-Anteil in Triticeen und in *Zea mays* eine Anpassung an aride Gebiete mit extremen Tageshöchsttemperaturen darstellt, da er eine höhere Stabilität der DNA, RNA und der Proteine gewährleistet. Codons für hitzestabile Aminosäuren wie Alanin und Arginin sind GC-reich, während die für hitzelabile Aminosäuren wie Serin und Lysin GC-arm sind (Li und Graur 1991).

Eine mögliche Ursache für die fehlende Korrelation zwischen Genomgröße und AT/GC-Verhältnis in Samenpflanzen könnte in der Polyploidisierung liegen, die in Samenpflanzen eine weitverbreitete Erscheinung ist und bei der Artbildung eine bedeutende Rolle spielt (Leitch und Bennett 1997). Polyploidisierungen könnten die Ausbildung der Korrelation behindern unter der Voraussetzung, dass von der oftmals auf die Polyploidisierung folgenden DNA-Eliminierung (Ozkan et al. 2001) nicht vornehmlich Sequenzen betroffen sind, die vom durchschnittlichen AT/GC-Verhältnis abweichen. Bei Knochenfischen stellen Ordnungen mit hohem Anteil an polyploiden Arten die extremen Ausnahmen von der Korrelation dar (Bernardi und Bernardi 1990a). Im Tierreich sind polyploide Arten wesentlich seltener als bei Pflanzen. Bei Vögeln und Säugern sind sie sogar extrem selten, weshalb eine Korrelation zwischen Genomgröße und AT/GC-Verhältnis bei Tieren möglicherweise eher in Erscheinung tritt als bei Pflanzen.

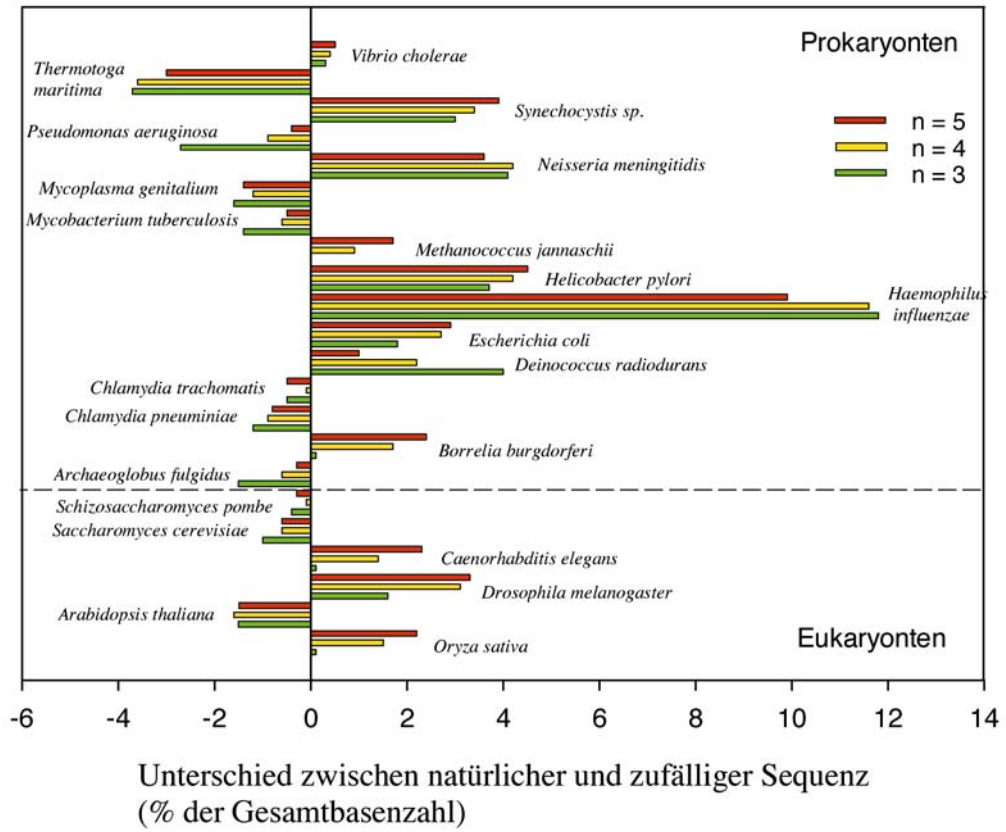
5.1.2 Ursache für die uneinheitlichen Ergebnisse aus dem Vergleich des Farbstofffaktors für DAPI und HO ist die nicht zufällige Basenverteilung im Genom

Die wahrscheinliche Ursache für die geringe Übereinstimmung der Ergebnisse aus dem Vergleich der Fluoreszenzen nach DNA-Färbung mit HO und DAPI ist die nicht zufällige Verteilung der Basen in der DNA-Sequenz (Leemann und Ruch 1982). Diese Annahme findet Bestätigung durch Vergleich der Anzahl von Farbstoffmolekülen, die von einer

DNA mit natürlicher und damit nicht zufälliger Basenverteilung auf der einen und DNA gleicher Basenzusammensetzung aber zufälliger Basenverteilung auf der anderen Seite gebunden wird. Für diesen Vergleich wurden den Websites <http://www.tigr.org/> und <http://www.pseudomonas.com/> (für *Pseudomonas aeruginosa*) die Sequenzen verschiedener Eukaryoten und Prokaryoten entnommen (Tab. 7). Die gegebene Sequenz einer Art wurde mit einer mittels Computer generierten Sequenz gleicher Basenzusammensetzung aber zufälliger Basenverteilung hinsichtlich der Anzahl von Farbstoffmolekülen verglichen, die gebunden werden können (Tab. 7, Abb. 11). Die jeweilige Anzahl gebundener Farbstoffmoleküle wurde ebenfalls durch ein Computerprogramm ermittelt. Hierbei wurden drei bzw. vier aufeinanderfolgende AT-Basen für die Bindung eines DAPI- und fünf für die Bindung eines HO-Moleküls zugrunde gelegt (Bindungslänge).

Tab. 7 und Abb. 11 offenbaren für einige Arten in beiden Richtungen große Unterschiede zwischen zufälliger und natürlicher Basensequenz in der Anzahl der an der Farbstoffbindung beteiligten AT-Basen. Die größten Differenzen ergeben sich bei den untersuchten Sequenzen in der einen Richtung mit 11,8% des gesamten Basengehalts für die Bindungslänge 3, für die Bindungslänge 4 waren es 11,6% und 9,9% für die Bindungslänge 5 (alle Werte für *Haemophilus influenzae*). In der anderen Richtung betragen die Differenzen maximal -3,7%, -3,6% bzw. -3,0% (für *Thermotoga maritima*). Bei Eukaryoten fällt im Durchschnitt die Abweichung zwischen natürlicher und zufälliger Sequenz in der Anzahl gebundener Farbstoffmoleküle etwas geringer aus als bei Prokaryoten. Dieser Unterschied ist allerdings nicht signifikant. Grund für den Unterschied dürfte der große Anteil nichtkodierender DNA im Eukaryotengenom sein. In nicht-kodierender DNA ergibt sich vermutlich eher eine zufällige Basenverteilung als in kodierender, da in ihr wahrscheinlich keine sequenzabhängige Funktion besteht. Interessant ist auch die unterschiedliche Differenz zwischen natürlicher und zufälliger Sequenz im Anteil farbstoffbindender Basen für einzelne Chromosomen, vermutlich verursacht durch chromosomenspezifische repetitive Elemente (The Arabidopsis Genome Initiative 2000). So zeigt sich bei Chromosom II von *Arabidopsis thaliana* für die Bindungslänge 5 lediglich eine Abweichung von -1,3%, während sie für Chromosom IV -6,9% beträgt. Für das gesamte Genom wiederum ergibt sich eine Abweichung von -1,5% durch sich im wesentlichen anscheinend aufhebende gegenläufige Tendenzen in den einzelnen Chromosomen. Da sich letztlich aber auch in Pflanzen die nicht zufällige Basensequenz auf die basenspezifische Fluoreszenzintensität auswirkt (Tab. 7), ist die Ermittlung der genauen Bindungslänge von DAPI durch einen Vergleich der Fluoreszenzintensitäten von DAPI und HO nicht möglich.

Abb. 11 Unterschiede zwischen natürlicher und zufälliger Basensequenz im Anteil farbstoffbindender Basen



Tab. 7 Die unterschiedliche Fluoreszenzintensität bei zufälliger und tatsächlicher Basensequenz

Art	Sequenzlänge (Mbp)	angenommene Fluorochrombindungslänge	Anteil der farbstoffbindenden Basen am Gesamtbasengehalt (%)		Differenz*
			bei natürlicher Basensequenz	bei zufälliger Basensequenz	
<i>Oryza sativa</i>	360,86	3	28,6	28,5	0,1
		4	21,1	19,6	1,5
		5	15,3	13,1	2,2
<i>Arabidopsis thaliana</i>	116,35	3	36,9	38,4	-1,5
		4	27,5	29,1	-1,6
		5	20,2	21,7	-1,5
<i>Drosophila melanogaster</i>	121,55	3	31,7	30,1	1,6
		4	24,1	21,0	3,1
		5	17,7	14,4	3,3
<i>Caenorhabditis elegans</i>	95,45	3	39,2	39,1	0,1
		4	31,2	29,8	1,4
		5	24,6	22,3	2,3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12,07	3	34,3	35,3	-1,0
		4	25,4	26,0	-0,6
		5	18,2	18,8	-0,6
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	13,06	3	37,9	38,3	-0,4
		4	28,8	28,9	-0,1
		5	21,3	21,6	-0,3
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2,18	3	21,4	22,9	-1,5
		4	14,0	14,6	-0,6
		5	8,8	9,1	-0,3
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1,52	3	49,9	49,8	0,1
		4	42,6	40,9	1,7
		5	35,7	33,3	2,4
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,23	3	31,1	32,3	-1,2
		4	22,2	23,1	-0,9
		5	15,4	16,2	-0,8
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,08	3	32,2	32,7	-0,5
		4	23,4	23,5	-0,1
		5	16,1	16,6	-0,5
<i>Deinococcus radiodurans</i>	3,28	3	7,7	3,7	4,0
		4	3,4	1,2	2,2
		5	1,4	0,4	1,0

Fortsetzung Tab. 7

Art	Squenz -länge (Mbp)	angenommene Fluorochrom- bindungslänge	Anteil der farbstoffbindenden Basen am Gesamtbasengehalt (%)		Diffe- renz*
			bei natürlicher Basensequenz	bei zufälliger Basensequenz	
<i>Escherichia coli</i>	4,64	3	22,4	20,6	1,8
		4	15,4	12,7	2,7
		5	10,4	7,5	2,9
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,83	3	35,5	23,7	11,8
		4	26,2	14,6	11,6
		5	19,0	9,1	9,9
<i>Helicobacter pylori</i>	1,67	3	38,2	34,5	3,7
		4	29,4	25,2	4,2
		5	22,6	18,1	4,5
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1,74	3	45,1	45,1	0,0
		4	36,8	35,9	0,9
		5	30,0	28,3	1,7
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4,40	3	6,9	8,3	-1,4
		4	3,1	3,7	-0,6
		5	1,1	1,6	-0,5
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,58	3	42,9	44,5	-1,6
		4	34,1	35,3	-1,2
		5	26,3	27,7	-1,4
<i>Neisseria meningitidis</i>	2,27	3	24,0	19,9	4,1
		4	16,2	12,0	4,2
		5	10,7	7,1	3,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,26	3	5,1	7,8	-2,7
		4	2,5	3,4	-0,9
		5	1,0	1,4	-0,4
<i>Synechocystis sp.</i>	3,57	3	26,9	23,9	3,0
		4	18,8	15,4	3,4
		5	13,6	9,7	3,9
<i>Thermotoga maritima</i>	1,86	3	21,8	25,5	-3,7
		4	13,2	16,8	-3,6
		5	7,9	10,9	-3,0
<i>Vibrio cholerae</i>	4,03	3	24,4	24,1	0,3
		4	16,0	15,6	0,4
		5	10,4	9,9	0,5

* Die Unterschiede sind in fast allen Fällen hochsignifikant ($P \leq 0,001$); nur bei *Borrelia burgdorferi* und *Methanococcus jannaschii* sind sie für $n = 3$ und bei *Chlamydia trachomatis* für $n = 4$ nicht signifikant

5.1.3 Die Durchflusszytometrie stellt trotz des Einflusses der nicht zufälligen Basenverteilung auf die Fluoreszenzintensität basenspezifischer Farbstoffe eine verlässliche Methode zur Ermittlung des AT/GC-Verhältnisses dar

Der geschilderte Einfluss der nicht zufälligen Basenverteilung im Genom auf die Anzahl gebundener basenspezifischer Farbstoffmoleküle lässt Zweifel an der Durchflusszytometrie als exakter Methode zur Bestimmung des AT/GC-Verhältnisses aufkommen. Die Ergebnisse der HPLC zeigen allerdings, dass der FF_{DAPI} das AT/GC-Verhältnis recht gut widerspiegelt ($r = 0,83$, $P < 0,001$, $N = 15$). Auch mit den von Ingle et al. (1973) angegebenen Schwebedichten ergibt sich ein guter Zusammenhang ($r = 0,90$, $P < 0,001$, $N = 14$). Die Umrechnung des FF_{DAPI} in prozentuale AT-Anteile (Gleichung (6) mit $n = 4$, Abschnitt 3.2.3.2) führt ebenfalls zu Werten, die nur bedingt von bei Shapiro (1976) angeführten zusätzlich der Sequenzdaten für *Arabidopsis thaliana* und *Oryza sativa* abweichen ($r = 0,58$, $P < 0,05$, $N = 18$, Tab. 8). Die bei Shapiro (1976) aufgeführten Werte stellen Ergebnisse verschiedener Autoren dar und wurden mit verschiedenen Methoden ermittelt (Papierchromatografie, Schmelzpunktbestimmung, Ultrazentrifugation). Daher unterscheiden sie sich für einige Arten um bis zu drei bis vier Prozent voneinander. Da zur Berechnung der Korrelation die Mittelwerte herangezogen wurden, ist diese relativ gering. Das von Salinas et al. (1988) mittels Dichtegradientenzentrifugation bestimmte AT/GC-Verhältnis in *Oryza sativa* weicht mit 55% AT stärker als der hier durchflusszytometrisch ermittelte (57,0% AT) vom Sequenzwert von 56,8% (Goff et al. 2002) ab. Demnach gibt der FF_{DAPI} trotz des relativ engen AT/GC-Bereichs in Spermatophyten im wesentlichen sinnvolle Größenverhältnisse zwischen den getesteten Arten wieder, ohne dass die Durchflusszytometrie allerdings zur exakten Ermittlung des AT/GC-Verhältnisses in Pflanzen geeignet wäre.

Tab. 8 FF_{DAPI} und die daraus berechneten AT-Anteile, sowie AT-Angaben nach Shapiro (1976) und gemäß Sequenzierung^a und Schwebedichte^b

Art	FF_{DAPI}	AT-Anteil (%)		Schwebedichte ^b [g/cm ³]	AT-Anteil (%) berechnet aus der Schwebedichte ^c
		berechnet aus FF_{DAPI} nach Gleichung (6)	nach Shapiro (1976) bzw. gemäß Sequenzierung		
<i>Ginkgo biloba</i>	1,20	65,3	65,1		
<i>Pinus sylvestris</i>	0,97	60,9	60,6		
<i>Atriplex rosea</i>	1,00	61,5	65,0		
<i>Beta vulgaris</i>	1,06	62,7	58,8	1,693	66,3
<i>Spinacia oleracea</i>	0,99	61,3	62,5	1,695	64,3
<i>Phaseolus vulgaris</i>	1,05	62,5	59,2	1,693	66,3
<i>Pisum sativum</i>	1,00	61,5	58,2	1,695	64,3
<i>Trifolium pratense</i>	1,17	64,8	58,7		
<i>Vicia faba</i>	1,02	61,9		1,694	65,3
<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,97	60,9	64,0 ^a		
<i>Raphanus sativus</i>	0,97	60,9		1,700	59,2
<i>Cucumis sativus</i>	1,06	62,7	57,8	1,696	63,3
<i>Cucurbita pepo</i>	0,99	61,3	58,4	1,697	62,2
<i>Nicotiana tabacum</i>	1,02	61,9	60,1	1,697	62,2
<i>Allium cepa</i>	1,20	65,3	63,2	1,691	68,4
<i>Hordeum vulgare</i>	0,72	55,3	58,2	1,701	58,2
<i>Oryza sativa</i>	0,79	57,0	56,8 ^a		
<i>Secale cereale</i>	0,72	55,4	54,2	1,702	57,1
<i>Triticum aestivum</i>	0,67	54,1	54,9	1,703	56,1
<i>Zea mays</i>	0,62	52,8	52,9	1,701	58,2

^a *Arabidopsis thaliana*: The Arabidopsis Genome Initiative (2000);

Oryza sativa: Goff et al. (2002)

^b Ingle et al. (1973)

^c Berechnung gemäß folgender Beziehung: Mol(%) GC = [(Schwebedichte-1,66)/0,098] 100 (Schildkraut et al. 1962) ohne Berücksichtigung von Basenmodifikationen

5.2 Endopolyploidie bei Spermatophyten

Die von Nagl (1976) postulierte negative Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Genomgröße kann in Pflanzen nicht als allgemeine Erscheinung angesehen werden. Die Endopolyploidiewerte für verschiedene Organe von 54 Pflanzenarten offenbaren vielmehr, dass vornehmlich eine Beziehung zwischen Endopolyploidisierung und phylogenetischer Stellung der untersuchten Arten besteht (Tab. 4; Abschnitt 4.2.1, Abb. 7, Abschnitt 4.2.2). In einigen taxonomischen Gruppen weisen viele Arten stark endopolyploide Gewebe auf, während in anderen Gruppen für keine der untersuchten Arten eine Endopolyploidisierung nachgewiesen werden kann. Eine eindeutige negative Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Genomgröße ergab sich nur in drei der 16 untersuchten Familien.

Die Endopolyploidisierung ist innerhalb einer Art in einigen Organen deutlich höher als in anderen. Eine nach Organen getrennte Auswertung der Daten ergibt außer für Karpelle eine negative Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Genomgröße.

Zudem lässt sich ein Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Lebensform und Lebensdauer der einzelnen Arten herstellen. Endopolyploidisierung findet sich regelmäßig in ein- und zweijährigen sowie in einigen mehrjährigen krautigen Arten, scheint hingegen in Gehölzen vollständig zu fehlen. Innerhalb der ein- und zweijährigen Arten zeigt sich eine signifikante, negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidie.

5.2.1 Das Auftreten der Endopolyploidie in Spermatophyten ist genetisch bestimmt

Der bereits von Tschermak-Woess (1956), D'Amato (1964), Nagl (1976) und Olszewska und Osiecka (1982) angenommene und in dieser Arbeit nachgewiesene enge Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und phylogenetischer Stellung legt eine genetische Determinierung der Fähigkeit zur Endopolyploidisierung nahe. Diese Annahme wird bestätigt durch die Endopolyploidisierung in di- und tetraploiden Akzessionen von *Solanum tuberosum* (Pijnacker et al. 1989), *Zea mays* (Biradar et al. 1993), *Lycopersicon esculentum* (Smulders et al. 1994), *Portulaca grandiflora* (Mishiba und Mii 2000) und einer tetraploiden Linie des Cap Verde-Ökotyps von *Arabidopsis thaliana* (Gendreau et al. 1998). Diploide und tetraploide Akzessionen einer Art zeigten gleiche Endopolyploidisierungs-

muster, d. h. die gleiche Anzahl von Endopolyploidiestufen mit jeweils ungefähr gleichen Anteilen an Zellkernen. Die tetraploiden Akzessionen von *Zea mays*, *Lycopersicon esculentum* und *Portulaca grandiflora* wiesen allerdings geringfügig weniger Kerne der höheren Ploidiestufen auf als die diploiden. Die F1-Generation aus der Kreuzung zweier *Zea mays*-Linien mit unterschiedlicher Endopolyploidisierung der Blattepidermis zeigten in dieser eine intermediäre Endopolyploidisierung (Cavallini et al. 1997). Im Endosperm sind die Ergebnisse aus Kreuzungen nicht eindeutig, da die genetische Vererbung durch starke maternale Effekte überdeckt wird (z. B. Lemontey et al. 2000).

Trotz der genetischen Fixierung der Endopolyploidie und der daraus resultierenden Ähnlichkeiten innerhalb der Familien können sich zu einer Klasse gehörende Familien hinsichtlich der Endopolyploidisierung vollkommen gegensätzlich verhalten, so z. B. Solanaceae und Lamiaceae, Fagaceae und Cucurbitaceae sowie Rosaceae und Fabaceae.

Je näher Arten miteinander verwandt sind, desto wahrscheinlicher ist es, dass sie eine ähnliche Endopolyploidisierung aufweisen. So gehört die einzige in dieser Arbeit untersuchte Fabaceen-Art ohne Endopolyploidisierung, *Sophora japonica*, zu dem relativ ursprünglichen, vor allem aus tropischen und subtropischen Gehölzen bestehenden Tribus Sophoreae, während die übrigen untersuchten und endopolyploiden Fabaceen-Arten den Triben Viciaeae, Trifolieae und Phaseoleae mit vorwiegend krautigen Arten der temperaten Zone angehören. Innerhalb der untersuchten Poaceen gehören die drei Arten mit sehr ähnlicher Endopolyploidisierung hinsichtlich deren Ausprägung und Muster, *Triticum aestivum*, *Secale cereale* und *Hordeum vulgare*, den Pooideae an, während *Zea mays* und *Oryza sativa* zwei anderen Unterfamilien zugerechnet werden und eine deutlich höhere bzw. keine Endopolyploidisierung aufweisen.

Unter der Annahme, dass die Endopolyploidisierung hinsichtlich Auftreten und Ausprägung genetisch determiniert ist, ist es verständlich, dass die Endopolyploidisierung nahe verwandter Arten und somit in der Regel in Arten einer Familie ähnlich ist. Ein phylogenetischer Zusammenhang zwischen den Familien hinsichtlich der in deren Arten vorherrschenden Endopolyploidisierung besteht aber nicht.

Die Annahme einer im wesentlichen familienspezifischen Ausprägung der Endopolyploidisierung wird durch weitere eigene durchflusszytometrische Daten von Arten gestützt, deren Endopolyploidisierung lediglich während der Genomgrößenmessung erfasst und daher nicht eingehender untersucht wurde. So zeigten die oberen Blätter von fünf Lamiaceen (*Glechoma hederacea* L., *Lamium purpureum* L., *Ocimum basilicum* L., *Galeobdolon luteum* Huds. und *Betonica officinalis* L.), einer Asteraceae (*Bellis perennis* L.), zwei Ra-

nunculaceen (*Ranunculus ficaria* L., *Caltha palustris* L.) und zwei Rosaceen (*Potentilla reptans* L., *Fragaria viridis* [Duchesne] Weston) keine Endopolyploidisierung. Dies entsprach aufgrund der Endopolyploidiedaten von Arten dieser Familien (Tab. 4, Abschnitt 4.2.1, und Abb. 7, Abschnitt 4.2.2) den Erwartungen. Blätter von zehn Brassicaceen (fünf *Arabidopsis*-Arten ungerechnet *A. thaliana*, deren Endopolyploidisierung bereits in Tab. 4 aufgeführt ist, *Teesdalia nudicaulis* [L.] R. Br., *T. coronopifolia* [J. P. Bergeret] Thell., *Cardamine amara* L., *Capsella rubella* Reuter, *Erysimum pulchellum* J. Gray) und *Allium scorodoprasum* L. (Alliaceae) wiesen Endopolyploidie auf, was mit den Ergebnissen in Tab. 4 und Abb. 7 zu diesen zwei Familien übereinstimmt.

Allerdings verdeutlichen zwei Arten, dass es auch Ausnahmen von der vornehmlichen Tendenz einer Familie hinsichtlich der Endopolyploidisierung geben kann. So konnte in oberen Blättern der Brassicacee *Erysimum helveticum* Jacq. entgegen der Erwartung keine Endopolyploidie nachgewiesen werden, wohingegen obere Blätter der Rosacee *Fragaria vesca* L. zumindest geringfügig endopolyploid waren.

5.2.2 Die Endopolyploidie ist in den verschiedenen Organen endopolyploider Arten unterschiedlich stark ausgeprägt

Der unterschiedliche Endopolyploidisierungsgrad der verschiedenen Organe, der von einigen Autoren beschrieben wurde (De Rocher et al. 1990, Galbraith et al. 1991, Gilissen et al. 1993, Smulders et al. 1994), wird durch die Messergebnisse bestätigt. Weiterhin scheint auch das unterschiedliche Ausmaß der Endopolyploidisierung in verschiedenen Organen des gleichen Typs in *Arabidopsis thaliana*, nämlich die stärkere Endopolyploidisierung der unteren Blattstiele und Blätter im Vergleich zu den oberen (Galbraith et al. 1991), eine allgemeine Erscheinung in Angiospermen zu sein (Abb. 9, Abschnitt 4.2.4). Diese Differenzen sind nicht durch das unterschiedliche Alter der Organe zu erklären, sondern sind durch die Position an der Sprossachse bedingt und damit anscheinend genetisch fixiert. Die genetische Fixierung dieser unterschiedlichen Endopolyploidisierungsgrade ist anzunehmen, da nur ausgewachsene Organe untersucht wurden, in denen keine weitere Endopolyploidisierung zu erwarten ist (De Rocher et al. 1990, Gilissen et al. 1993). Eine fortschreitende Endopolyploidisierung in ausgewachsenen Organen wäre aufgrund der positiven Korrelation zwischen dem DNA-Gehalt des Zellkerns und dem Zellvolumen ohnehin unwahrscheinlich (Bradley 1954, v. Witsch 1955, Melaragno et al. 1993).

Die Endopolyploidisierung in Blütenorganen ist nicht ausgeschlossen, um die Entstehung polyploider Gameten zu verhindern, wie Galbraith et al. (1991) annahmen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Galbraith et al. (1991) an *Arabidopsis thaliana*-Blütenknospen weisen die hier von *A. thaliana* und anderen endopolyploiden Arten untersuchten ausdifferenzierten Blütenorgane (außer den Karpellen) Endopolyploidie auf.

5.2.3 Ursache der negativen Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße ist der Zusammenhang zwischen der Lebensform und Lebensdauer und der Genomgröße sowie die Proportionalität zwischen dem DNA-Gehalt des Zellkerns und dem Zellvolumen

Der Ausgleich eines kleinen Genoms durch Endopolyploidisierung zur Gewährleistung metabolischer, synthetischer oder regulatorischer Zellfunktionen (Nagl 1976) ist aufgrund der Proportionalität von DNA-Gehalt des Zellkerns und Zellvolumen in endopolyploiden Zellen sehr unwahrscheinlich. Dieses Verhältnis zwischen Zellvolumen eines Zelltyps einer Art und DNA-Gehalt wurde an endopolyploiden Markzellen von *Nicotiana tomentosa* mit Ploidiestufen zwischen 4C und 16C (Bradley 1954) und an Blatt- und Stängel-epidermiszellen von *Arabidopsis thaliana* mit Ploidiestufen zwischen 2C und 16C bzw. 2C und 8C nachgewiesen (Melaragno et al. 1993). Die Größe der *Arabidopsis thaliana*-Trichome variiert in Abhängigkeit von der Ploidiestufe ebenso wie die Anzahl ihrer Zweige (Hülkamp et al. 1994). Die Expression des CDK-Inhibitors ICK1/KRP1 in *Arabidopsis thaliana*-Trichomen führt zu geringerer Endopolyploidisierung und kleineren Trichomen (Schnittger et al. 2002). Weiterhin hat in *Medicago truncatula* eine verminderte Transkription des am Wechsel vom Zellzyklus zur Endoreduplikation beteiligten Gens *ccs52* eine geringere Endopolyploidisierung und Zellgröße in Wurzeln, Kotyledonen, Blattstielen und Hypokotylen zur Folge (Kondorosi et al. 2000).

Andererseits fanden aber Beemster et al. (2002) beim Vergleich des mittleren Endopolyploidisierungsgrades und der mittleren Größe ausgewachsener Wurzelkortexzellen in 18 verschiedenen Ökotypen von *Arabidopsis thaliana* selbst innerhalb einer Art variierende Verhältnisse zwischen Zellgröße und Ploidiestufe. Zudem weisen *Arabidopsis thaliana*-Pflanzen, bei denen durch Überexpression des CDK-Inhibitors KRP2 Zellteilung und Endoreduplikation gehemmt sind, trotz eines etwas geringeren Endopolyploidisierungsgrades im Durchschnitt größere Zellen als der Wildtyp auf (De Veylder et al. 2001). Auf ähnliche

Weise führte die Überexpression des *Arabidopsis thaliana*-Zellzyklusregulatorgens Cdc2a in Tabakblättern zu einer geringeren Anzahl vergrößerter Zellen, während sich die mittlere Endopolyploidisierung nicht von der des Wildtyps unterschied (Hemerly et al. 1995). Die Ursache dieser Erscheinungen ist sicherlich, dass primär eine enge Beziehung zwischen dem DNA-Gehalt des Zellkerns und dem Zytoplasmavolumen besteht und erst sekundär zwischen DNA-Gehalt und Zellvolumen. Durch den beträchtlichen Anteil der Vakuole am Zellvolumen kann dieses nämlich in verschiedenen Zelltypen, Geweben, Organen, Wildtypen und Mutanten erheblich variieren, ohne dass das Verhältnis von DNA-Gehalt zu Zytoplasmamenge davon betroffen wäre. Auf dieses Problem hatte bereits Tschermak-Woess (1956) hingewiesen. Dementsprechend lässt sich für die nicht vakuolisierten Meristemzellen von Angiospermen eine sehr enge Beziehung zwischen DNA-Gehalt und Zellvolumen nachweisen (Messwerte zur Zellfläche von Strasburger 1893 in Kombination mit 2C-Werten bei Bennet und Leitch 2001, Price et al. 1973). Innerhalb der Gattung *Scilla* ist diese Beziehung für Meristemzellen wesentlich enger als für ausdifferenzierte vakuolisierte Zellen (Greilhuber 1995). Daher fügen sich vermutlich auch auf die von Beemster et al. (2002), De Veylder et al. (2001) und Hemerly et al. (1995) untersuchten Ökotypen und Mutanten in die Korrelation zwischen DNA-Gehalt und Zytoplasmavolumen ein und weichen lediglich von der Korrelation des DNA-Gehalts mit dem Zellvolumen ab. Unter der Annahme, dass das Verhältnis zwischen DNA-Gehalt des Zellkerns, Zytoplasmavolumen und Zellvolumen innerhalb eines Zelltyps der einzelnen Ökotypen und Mutanten jedoch immer gleich ist, würde sich auch bei diesen die Korrelation zwischen DNA-Gehalt und Zellvolumen für die einzelnen Endopolyploidiestufen bewahrheiten. Aufgrund dieser Vermutung und der verschiedentlich nachgewiesenen Korrelation zwischen DNA-Gehalt und Zellvolumen in Meristemzellen und endopolyploiden Zellen von Spermatophyten wird diese Korrelation im folgenden als im allgemeinen zutreffend angesehen.

Endopolyploidisierung bewirkt eine Modulation der Genomgröße auf der Ebene somatischer Zellen. Daher mag eine Betrachtung der nukleotypischen Effekte, d. h. der Effekte, die die DNA eines Zellkerns unabhängig von kodierenden Sequenzen einzig aufgrund ihrer Menge v. a. auf Ontogenese und Phänologie einer Art ausübt (Bennett 1972, Grime und Mowforth 1982, Grime et al. 1985), zum Verständnis der Funktion der Endopolyploidie beitragen. Große bzw. kleine Genome scheinen aufgrund der nukleotypischen Effekte für unterschiedliche Lebensstrategien von Vorteil zu sein.

1. Vorteile eines kleinen Genoms

Ein- und zweijährige Pflanzenarten besitzen vornehmlich kleine Genome (Bennett 1972, Vinogradov 2001). Dementsprechend weisen kleingenomige Arten in der Regel kurze Generationszeiten auf. Diese kurzen Generationszeiten sind anscheinend eine Folge höherer Zellzyklusraten kleingenomiger Arten (Bennett 1972, Evans et al. 1972, Price und Bachmann 1976, Vinogradov 1999), durch die unter günstigen Bedingungen, z. B. ausreichend hohen Temperaturen, aufgrund quasi-exponentieller Zellteilung und darauffolgender Zellstreckung kleingenomige Arten höhere Wachstumsraten erreichen als großgenomige. Zusätzlich wird in kleingenomigen Arten eine zügige generative Vermehrung durch kürzere Meiose- und Pollenreifungszeiten gefördert (Bennett 1972).

2. Vorteile eines großen Genoms

Pflanzenarten höherer Breiten besitzen im Durchschnitt ein größeres Genom (Levin und Funderburg 1979, Bennett 1976). Ursache hierfür ist vermutlich die unterschiedliche Wirkung niedriger Temperaturen auf Zellteilung und Zellstreckung, denn im Gegensatz zur Zellstreckung ist die Zellteilung bei geringen Temperaturen oft gehemmt. Voraussetzung dafür, dass eine der möglichen Funktionen eines großen Genoms in der ausgiebigen Zellstreckung liegt, ist die erwähnte positive Korrelation zwischen Genomgröße und Zellvolumen (Price et al. 1973, Greilhuber 1995). Nur wenn dieses Verhältnis zutrifft, geht mit einem hohen DNA-Gehalt auch ein großes Volumen einher, und nur dann wird durch ausgiebige Zellstreckung relativ weniger Zellen ein erhebliches Wachstum erzielt.

Grime und Mowforth (1982) konnten für die britische Flora zeigen, dass Pflanzenarten, deren Hauptwachstumsraten auf das Frühjahr beschränkt sind, durchschnittlich größere Genome besitzen als sich später entwickelnde Arten. Innerhalb einer Grünlandgesellschaft Sheffields wiesen relativ großgenomige Arten bis Mai eine höhere Wachstumsrate auf als Arten mit kleinerem Genom (Grime et al. 1985), während im Juni kein Unterschied mehr zwischen den beiden Gruppen festzustellen war. Die Autoren vermuten, dass sich das im Frühjahr ermittelte Verhältnis der Wachstumsraten kleingenomiger gegenüber dem großgenomiger Arten im Hochsommer bei höheren Temperaturen umkehrt aufgrund der höheren Zellzyklusraten kleingenomiger Arten. Für die Gattung *Allium* wurde eine negative Korrelation zwischen Genomgröße und Blühtermin festgestellt (großgenomige Arten blühen früher als kleingenomige; Labani und Elkington 1987), die nach Baranyi und Greilhuber (1999) allerdings nur für diploide Arten signifikant ist.

Ohri und Pistrick (2001) konnten anhand von 75 *Allium*-Arten diese Korrelation nicht bestätigen. Sie ermittelten einen sehr kleinen, nicht signifikanten Korrelationsfaktor ($r = -0,15$, $P = 0,21$). Allerdings ist mehr als ein Viertel der von Ihnen einbezogenen Arten polyploid. Zudem haben sie aufgrund der hohen Artenzahl ein im Vergleich zu den anderen Autoren hinsichtlich der ökologischen Anpassung sehr inhomogenes Pflanzenmaterial untersucht. Neben europäischen und nordamerikanischen dehnte sich ihre Untersuchung auch auf ostasiatische Arten aus, u. a. auf solche, deren Hauptverbreitungsgebiet der West-Himalaya und Südwest-China sind oder die östliche Transbaikalregion, die Ost-Mongolei und Nord-China, also Lebensräume mit teilweise extremen Bedingungen. Die Blühzeiträume hingegen wurden alle in Sachsen-Anhalt bestimmt. Es ist jedoch denkbar, dass die verschiedenen Arten aufgrund ihrer sehr unterschiedlichen ökologischen Anpassung an ein und demselben Standort äußerst unabhängig von der Genomgröße auf den selben Umweltreiz sehr verschieden mit Wachstum und Blühtermin reagieren. Für 28 Arten der Gattung *Scilla* (davon 24 diploid) ließ sich keine Beziehung zwischen Genomgröße und Blühtermin nachweisen (Greilhuber 1995). Brandham und West (1993) konnten an 12 *Tulipa*-, 13 *Hyacinthus* und 16 *Narcissus*-Akzessionen zeigen, dass zumindest einige nicht näher verwandte, aber an sehr ähnliche ökologische Nischen angepasste Arten eine ähnliche Genomgröße besitzen, die sich während der Evolution anscheinend als vorteilhaft erwiesen hat. In diesem Fall handelt es sich um große Genome, die bei den während der Hauptwachstumsphase der drei Gattungen vorherrschenden niedrigen Temperaturen durch umfangreiche Zellstreckung ein wirkungsvolles Wachstum mit einem geringen Zellbestand ermöglichen. Das ist vorteilhaft, da wie erwähnt die Zellteilung anders als die Zellstreckung bei niedrigen Temperaturen gehemmt ist.

Endopolyploide Arten kombinieren vermutlich die geschilderten Vorteile kleiner und großer Genome, um sich schneller entwickeln zu können. In endopolyploiden Arten folgt auf das Zellteilungswachstum ein erhebliches Streckungswachstum, das durch Endopolyploidisierung ermöglicht wird und das Wachstum der Pflanze beschleunigt. Bei geringen Temperaturen dürften kleingenomige endopolyploide Arten die gleiche Wachstumsgeschwindigkeit erreichen wie großgenomige ohne Endopolyploidisierung, da ihre Zellen durch Endopolyploidie im Durchschnitt die gleiche Größe erlangen können. Bei für die Zellteilung optimalen Temperaturen dürften sie sogar schneller wachsen, da ein schnelleres Teilungswachstum von starkem Streckungswachstum gefolgt ist. Diese Hypothese bedarf

noch der Prüfung durch Vergleich der Wachstumsgeschwindigkeit endopolyploider und nicht-endopolyploider Arten verschiedener Genomgrößen bei unterschiedlichen Temperaturen.

Die schnellere ontogenetische Entwicklung endopolyploider Arten gegenüber nicht-endopolyploiden vergleichbarer Genomgröße wird unterstützt durch einen geringeren Bedarf an Zellwandmaterial aufgrund größerer Zellen (Barlow 1978), das Entfallen der Spindelbildung, der Chromosomenkondensation und -dekondensation und des Kernhüllenabbaus und -wiederaufbaus sowie möglicherweise durch die Aufrechterhaltung der Transkription während der Endoreduplikation (Nagl 1978). Zudem ist in diesen Arten die Generationszeit vermutlich durch eine schnellere Meiose und Pollenreifung verkürzt (Bennett 1972).

Ein Nachweis der Bedeutung der Endopolyploidisierung für hohe Wachstumsraten ist die unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeit des Hypokotyls im Dunkeln bzw. bei Licht herangezogener Keimlinge einiger Arten. So sind Hypokotyle im Dunkeln herangewachsener Keimlinge von *Lupinus albus* bei gleicher Zellzahl aber erhöhtem Gesamt-DNA-Gehalt des Hypokotyls viermal länger als die im Licht herangezogener Keimlinge, was offensichtlich auf eine stärkere Endopolyploidisierung zurückzuführen ist (Giles und Myers 1964). Auch in etiolierten Hypo- bzw. Epikotylen von *Arabidopsis thaliana* (Gendreau et al. 1998) und *Pisum sativum* (Van Oostveldt und Van Parijs 1975) ließ sich ein höherer Endopolyploidisierungsgrad feststellen als in nicht etiolierten. Bei *Lupinus albus* und *Pisum sativum* hatten die etiolierten Keimlinge bereits nach zwei bis drei Tagen die doppelte Länge der nicht etiolierten erreicht, bei *Arabidopsis thaliana* sogar die zehnfache. Somit scheint beschleunigtes Wachstum durch Endopolyploidisierung unter natürlichen Bedingungen für etiolierende Keimlinge von großer Bedeutung zu sein, da es ein schnellstmögliches Durchdringen der Boden- und/oder Streuschicht ermöglicht, um an das für die Photosynthese unerlässliche Licht zu gelangen.

Die Annahme einer Erhöhung der Wachstumsrate bei niedrigen Temperaturen mittels ausgedehnter Zellstreckung durch Endopolyploidisierung könnte auch den unterschiedlichen Endopolyploidisierungsgrad in unteren und oberen Sprosssteilen erklären, da sich die unteren Sprosssteile vieler Arten der temperaten Zone schon zu Beginn der Wachstumsperiode bei noch geringen Temperaturen entwickeln.

Da die Endopolyploidisierung bei einigen Arten nicht in allen Organen und nur zu einem sehr geringen Grad ausgeprägt war, scheint sie in diesen Fällen nicht dem Wachstum zu dienen. Die genaue Lokalisierung der endopolyploiden Zellen dieser Arten könnte Hinweise auf weitere Funktionen der Endopolyploidie geben, die im Einzelfall zum Beispiel zur

Bildung bestimmter morphologischer Strukturen, z. B. einer bestimmten Blattform (Pyke et al. 1991), zur Bildung von Wurzelknöllchen (Kondorosi et al. 2000), Transferzellen (Gunning und Pate 1974) bzw. Blattsukkulenz (v. Witsch 1955) oder zum Erreichen einer hohen metabolischen Aktivität (Nagl 1978) notwendig sein mag.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die schwache Korrelation zwischen Endopolyploidisierungsgrad und Genomgröße einen echten Zusammenhang wiedergibt, dessen Hintergrund aber nicht wie von Nagl (1976) angenommen der Ausgleich eines geringen DNA-Gehalts zur Aufrechterhaltung bestimmter Zellfunktionen ist. Stattdessen verbinden endopolyploide Arten vermutlich ein meist kleines Genom mit einem hohen DNA-Gehalt in endopolyploiden Zellen und kombinieren so die erwähnten Vorteile kleiner und großer Genome (hohe Zellzyklusraten sowie kurze Meiose- und Pollenreifungsdauer bzw. ausge dehnte Zellstreckung).

5.2.4 Die Lebensstrategie der Pflanzenarten überlagert wahrscheinlich die Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Lebensform und Lebensdauer bzw. Genomgröße

Unter der Annahme, dass sich die Endopolyploidisierung beschleunigend auf Wachstum und Entwicklung in Pflanzen auswirkt, ist der schwache Zusammenhang zwischen Endopolyploidie und Genomgröße bzw. Lebensform und Lebensdauer verwunderlich, da vor allem die kleingenomigen, kurzlebigen Arten von der Endopolyploidie profitieren könnten. Dieser Widerspruch erklärt sich wahrscheinlich durch die Überlagerung der Korrelation zwischen Endopolyploidie und Genomgröße bzw. Lebensform und Lebensdauer durch die Lebensstrategie der entsprechenden Arten, die mehr Eigenschaften als nur die Lebensform und Lebensdauer umfasst und den Arten einen erfolgreichen Wettbewerb um ökologische Nischen gewährleistet.

Im Tierreich lassen sich zwei entgegengesetzte Lebensstrategien erkennen, die *r*-Strategie und die *K*-Strategie. *r*-Strategen zeichnen sich durch eine schnelle Entwicklung, eine frühe Fortpflanzung, hohe Fortpflanzungsraten, geringe Körpergröße und kurze Lebensdauer aus, während *K*-Strategen eine langsamere Entwicklung, höhere Konkurrenzkraft, verzögerte Fortpflanzung, umfangreichere Körpergröße und längere Lebensdauer aufweisen und geringere Umweltansprüche stellen (Pianka 1970). Nach Cavalier-Smith (1978) findet die grundlegendste Anpassung an die beiden entgegengesetzten Lebensstrategien im Tierreich,

die *r*- und die *K*-Strategie, über die Ausbildung einer bestimmten Zellgröße und Wachstumsrate statt. Zellgröße und Wachstumsrate wiederum sind positiv bzw. negativ mit der Genomgröße korreliert. Aufgrund dieser Korrelation besitzen *r*-Strategen kleine und *K*-Strategen große Genome (Cavalier-Smith 1978). Für die meisten Arten besteht ein spezifischer Kompromiss zwischen beiden Strategien, aus dem ein Kontinuum von Genomgrößen resultiert. Für das Pflanzenreich werden nach der C-S-R-Theorie (Grime 1977) drei grundlegende Strategien angenommen (C = Competitive, S = Stress tolerant, R = Ruderal), die sich als Reaktion auf die Selektionsfaktoren ‚Konkurrenz‘, ‚Stress‘ bzw. ‚Störungen‘ herausgebildet haben (siehe Abb. 12). Dabei entsprechen die R-Strategen den *r*-Strategen und die S-Strategen den *K*-Strategen, während die C-Strategen zwischen diesen beiden angesiedelt sind und sich im Wettbewerb um ein begrenztes Licht-, Nährstoff- und Wasserangebot als erfolgreich erweisen, also konkurrenzkräftig sind.

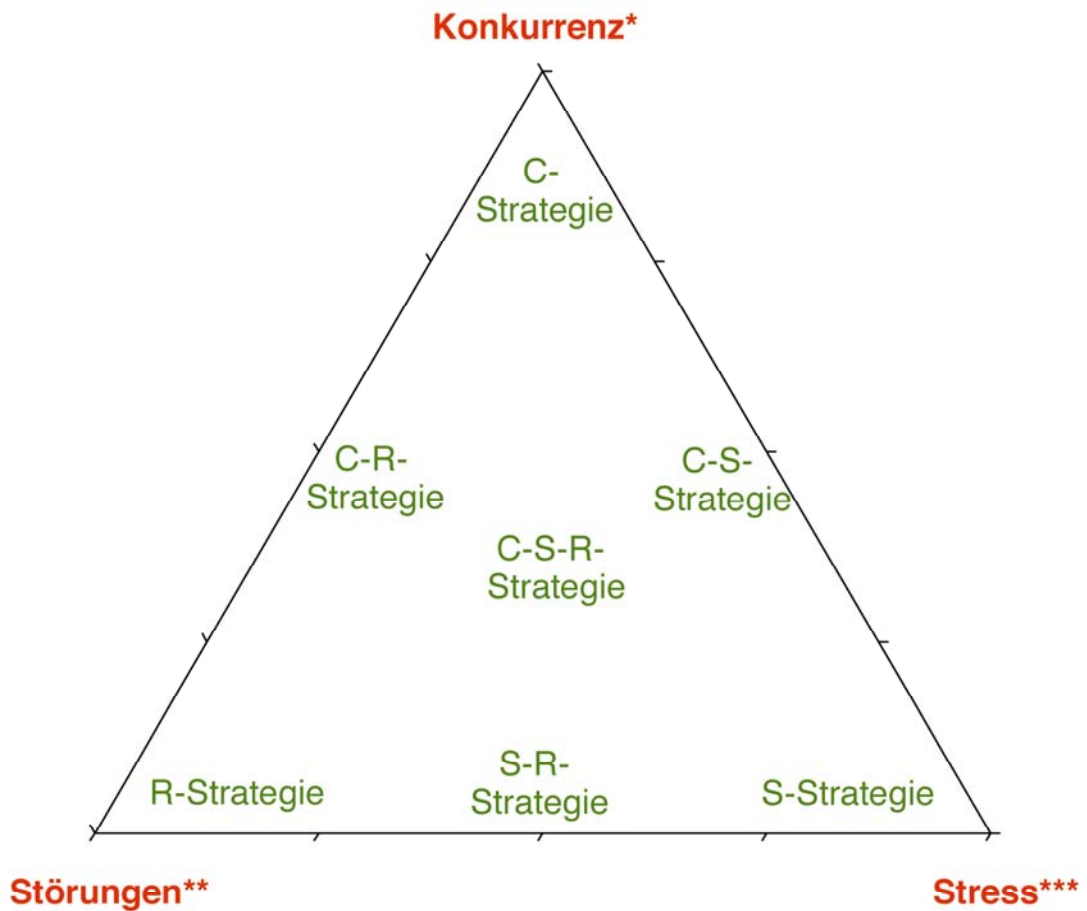
Die Annahme einer Anpassung an eine der Lebensstrategien über das Zellvolumen und die Wachstumsrate und damit über die Genomgröße (Cavalier-Smith 1978) stimmt mit den oben dargestellten Zusammenhängen zwischen Genomgröße und Lebensform und Lebensdauer überein, da Lebensform und Lebensdauer Teil der Lebensstrategie sind. Dass die Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierungsgrad schwach ist, obwohl davon ausgegangen werden kann, dass Endopolyploidie vor allem für kurzlebige Arten von Vorteil ist, die wiederum überwiegend kleine Genome aufweisen, liegt vermutlich an den Übergängen, die auch im Pflanzenreich zwischen den einzelnen Strategien bestehen. Durch diese Übergänge ergibt sich eine Dreiecksbeziehung zwischen den drei Strategien (Abb. 12), bei der es auch die intermediäre Form der C-S-R-Strategie gibt (Grime 1977). Die Betrachtung der Lebensstrategie der einzelnen Arten führt daher zur Erklärung der Funktion der Endopolyploidisierung für die ökologische Anpassung. Dreiundzwanzig der 26 untersuchten ein- bis zweijährigen Arten weisen Endopolyploidie auf, während diese in allen untersuchten Gehölzarten fehlt. Ein- bis zweijährige Arten sind vornehmlich R-Strategen und die meisten Gehölzarten der temperaten Zone C-Strategen (Grime 1977). Bei diesen Arten entspricht also jeweils eine Lebensform und Lebensdauer einer bestimmten Lebensstrategie, so dass sich bei den untersuchten ein- bis zweijährigen Arten und Gehölzarten neben einem engen Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Lebensform und Lebensdauer auch ein Zusammenhang zwischen Endopolyploidisierung und Lebensstrategie ergibt. Andererseits waren aber nicht nur die untersuchten ein- bis zweijährigen Arten, sondern auch zehn der siebzehn untersuchten ausdauernden Kräuter endopolyploid. Somit ist Endopolyploidie anscheinend nicht nur für ein- bis zweijährigen Arten von Vorteil, die

ihren gesamten Lebenszyklus von der Keimung bis zur Samenreife innerhalb einer oder zweier Wachstumsperioden abschließen müssen, sondern auch für ausdauernde, in deren Nische günstige Wachstumsbedingungen innerhalb einer Vegetationsperiode durch Störungen zeitlich eng begrenzt sind. In diesen Fällen ist es die Lebensstrategie insgesamt und nicht die Lebensform und Lebensdauerdauer im speziellen, für die die Endopolyploidie von Nutzen ist. Tatsächlich sind vier der fünf untersuchten mitteleuropäischen endopolyploiden mehrjährigen Kräuter vornehmlich an regelmäßig gestörten Standorten zu finden (Tab. 9). So wächst *Trifolium pratense* hauptsächlich auf Wiesen, Weiden und Rasen, *Parietaria officinalis* und *Urtica dioica* in Stickstoff-Krautfluren (Ellenberg et al. 1992) und *Aquilegia vulgaris* oftmals an Säumen (Oberdorfer 1994) und auf Wiesen und Halbtrockenrasen (Rothmaler 2002). Diese Arten müssen an solchen Standorten ähnlich wie Therophyten innerhalb einer durch mechanische Störungen begrenzten Zeit Wachstumsphase, Blüte und Samenproduktion abgeschlossen haben oder in der Lage sein, nach einer solchen Störung schnell zu regenerieren. Die fünfte dieser ausdauernden Arten, *Allium ursinum*, weist sowohl ein großes Genom (62,1 pg) als auch einen hohen Endopolyploidisierungsgrad auf. Sie muss sich gleichfalls schnell entwickeln, um der Beschattung ihres Standortes durch ergrünende Laubbäume zuvorzukommen. *Anemone ranunculoides*, die ähnliche Standorte besiedelt und ebenfalls ein großes Genom (36,8 pg) aber keine Endopolyploidie aufweist, ergrünt und blüht in einem ähnlichen Zeitraum wie *Allium ursinum*, bildet aber wesentlich weniger Biomasse.

Der Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem paarweisen Vergleich zum Zusammenhang zwischen mittlerem Endopolyploidisierungsgrad der in Tab. 9 angeführten Arten und der Pflanzengesellschaftsklasse, in der jede einzelne dieser Arten vornehmlich auftritt, offenbart signifikant unterschiedliche Endopolyploidie zwischen Arten der verschiedenen Pflanzengesellschaftsklassen ($P < 0,05$, Tab. 10). Problematisch ist für eine detaillierte Beurteilung die geringe Artenzahl in einigen Klassen. Deutlich werden aber die Unterschiede zwischen dem mittleren Endopolyploidisierungsgrad der Arten mit Verbreitungsschwerpunkt in Wäldern, Staudensäumen bzw. Magerrasen auf der einen Seite und solchen mit Verbreitungsschwerpunkt an Meeresspülsäumen, in lockeren Sand- und Felsrasen, Hackunkraut- und Ruderalgesellschaften, Getreideunkrautgesellschaften, Mähwiesen- und Weidegesellschaften bzw. Stickstoffkrautfluren auf der anderen. Auffallend ist auch der insgesamt hohe Endopolyploidisierungsgrad von Arten mit Vorkommen an Meeresspülsäumen, in lockeren Sand- und Felsrasen, Hackunkraut- und Ruderalgesellschaften sowie Getreideunkrautgesellschaften, welche alle regelmäßige, starke Störungen aufweisen.

Abb. 12 Das C-S-R-Modell (Grime 1977)

Die Dreiecksbeziehung zwischen den Selektionsfaktoren (rot) und den daraus resultierenden Strategien (grün)



- * Nutzung des gleichen Licht-, Wasser- Nährstoff- und/oder Platzangebots
- ** Störungen durch Fressfeinde, Pathogene, physikalischen Einfluss (z. B. Bodenerosion), menschlichen Einfluss
- *** Beschränkung der Primärproduktion durch Licht-, Wasser und/oder Nährstoffmangel, suboptimale Temperaturen, Gifte

Tab. 9 Endopolyploidie, Lebensform, Lebensdauer, Nährstoffanspruch und typische Pflanzengesellschaftsklasse der untersuchten mitteleuropäischen Arten (Gruppierungen nach Ellenberg et al. 1992)

Art	Endo- poly- ploidie	Lebensform und Lebensdauer	Nähr- stoff- anspruch	Pflanzengesellschaftsklasse
<i>Beta vulgaris</i>	+	H, b	9	Meeresspülsäume
<i>Urtica dioica</i>	+	H, p	9	Stickstoffkrautfluren
<i>Alliaria petiolata</i>	+	H/C, b	9	Stickstoffkrautfluren
<i>Allium ursinum</i>	+	G, p	8	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Urtica urens</i>	+	T, a	8	Hackunkraut- und Ruderalgesellschaften
<i>Atriplex rosea</i>	+	T, a	7	Hackunkraut- und Ruderalgesellschaften
<i>Parietaria officinalis</i>	+	H, p	7	Stickstoffkrautfluren
<i>Sinapis arvensis</i>	+	T, a	6	Getreideunkrautgesellschaften
<i>Arabidopsis thaliana</i>	+	T/H, a	4	lockere Sand- und Felsrasen
<i>Trifolium pratense</i>	+	H, p	**	Mähwiesen- und Weidegesellschaften
<i>Aquilegia vulgaris</i>	gering	H, p	4	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Anemone ranunculoides</i>	-	G, p	8	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Lactuca sativa</i>	-	T, a	4*	**
<i>Anemone sylvestris</i>	-	H, p	3	Staudensäume an Gehölzen
<i>Teucrium scorodonia</i>	-	C, p	3	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Hyssopus officinalis</i>	-	C, p	3	Kalk-Magerrasen
<i>Cydonia oblonga</i>	-	P, p	4	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Larix decidua</i>	-	P, p	3	saure Nadelwälder
<i>Picea abies</i>	-	P, p	**	saure Nadelwälder
<i>Pinus sylvestris</i>	-	P, p	**	**
<i>Castanea sativa</i>	-	P, p	**	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Quercus robur</i>	-	P, p	**	Eichen- und Buchenmischwälder
<i>Fagus sylvatica</i>	-	P, p	**	Eichen- und Buchenmischwälder

* Wert für *Lactuca serriola* als Ausgangsart, ** keine Zuordnung

Lebensform: T = Therophyt, H = Hemikryptophyt, G = Geophyt, P = Phanerophyt, C = Chamaephyt;

Lebensdauer: a = Sommer- und Winterannuelle, b = Bienne, p = Plurienne (nach Rothmaler 2002)

Nährstoffanspruch:

1 = stickstoffärmste Standorte anzeigend

2 = zwischen 1 und 3 stehend

3 = auf stickstoffarmen Standorten häufiger als auf mittelmäßigen und nur ausnahmsweise auf reicheren

4 = zwischen 3 und 5 stehend

5 = mäßig stickstoffreiche Standorte anzeigend, auf armen und reichen seltener

6 = zwischen 5 und 7 stehend

7 = an stickstoffreichen Standorten häufiger als auf mittelmäßigen und nur ausnahmsweise auf ärmeren

8 = ausgesprochener Stickstoffzeiger

9 = an übermäßig stickstoffreichen Standorten konzentriert

Tab. 10 Durchschnittlicher Endopolyploidisierungsgrad von Arten unterschiedlicher Pflanzengesellschaftsklassen

Pflanzengesellschaftsklasse (Ellenberg et al. 1992)	Zyklus- Wert (Median)	Anzahl untersuc hter Arten	Gruppie- rung*
Meeresspülsäume	1,27	1	a
lockere Sand- und Felsrasen	1,18	1	a
Hackunkraut- und Ruderalgesellschaften	0,93	2	a b
Getreideunkrautgesellschaften	0,93	1	a b c
Mähwiesen- und Weidegesellschaften	0,51	1	b c
Stickstoffkrautfluren	0,40	3	c
Eichen- und Buchenmischwälder	0,07	8	d
Kalk-Magerrasen	0,03	1	d e
Staudensäume an Gehölzen	0,00	1	e
saure Nadelwälder	0,00	2	e

*verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an

Warum aber zeigen nicht alle Arten oft gestörter Lebensräume Endopolyploidie (z. B. die untersuchten Asteraceen und Lamiaceen), wenn sie derart vorteilhaft ist? Der Nährstoffanspruch der einzelnen Arten bzw. die Fähigkeit, ein großes Nährstoffangebot effektiv zu nutzen, scheint ein weiterer die Endopolyploidisierung bestimmender Faktor zu sein. Ellenberg et al. (1992) haben Pflanzenarten Mitteleuropas hinsichtlich ihrer Nährstoffansprüche in neun Gruppen unterteilt. Diese Einteilung offenbart für die meisten der für diese Arbeit untersuchten endopolyploiden Arten Mitteleuropas höhere Nährstoffansprüche als für die nicht-endopolyploiden (Tab. 9). Für *Trifolium pratense* wird von Ellenberg et al. (1992) kein Wert angegeben. Es kann jedoch für diese Art aufgrund der Symbiose mit stickstofffixierenden Knöllchenbakterien eine gute Nährstoffversorgung angenommen werden. *Arabidopsis thaliana* ist die einzige der untersuchten endopolyploiden mitteleuropäischen Arten mit geringen Nährstoffansprüchen.

Vier der untersuchten krautigen mitteleuropäischen Arten ohne Endopolyploidie sind vor allem auf nährstoffarmen Standorten anzutreffen (unter der Voraussetzung, dass *Lactuca sativa* von *L. serriola* abstammt und damit beide Arten im wesentlichen gleiche Nährstoffansprüche besitzen). Dies trifft auch auf *Aquilegia vulgaris* zu, die in nur geringem Maße Endopolyploidisierung zeigt. *Anemone ranunculoides* ist die einzige der untersuchten

nicht-endopolyploiden mehrjährigen mitteleuropäischen Arten, die hohe Nährstoffansprüche aufweist.

Das Ergebnis des Kruskal-Wallis-Tests zum Zusammenhang zwischen Nährstoffanspruch und Endopolyploidisierungsgrad mit anschließendem paarweisen Vergleich (Dunns Test, Tab. 11) offenbart einen signifikant unterschiedlichen mittleren Endopolyploidisierungsgrad der den verschiedenen Nährstoffansprüchen zugeordneten in Tab. 9 aufgeführten Arten ($P < 0,05$). Die Interpretation des Ergebnisses ist schwierig, da es teilweise widersprüchlich zu sein scheint. Die Arten mit dem Nährstoffanspruch 8 weisen einen mittleren Endopolyploidisierungsgrad auf, der zwischen dem der Arten mit den Nährstoffansprüchen 7 und 9 liegt. Dennoch zeigt der paarweise Vergleich signifikant unterschiedliche Endopolyploidisierungsgrade der Arten mit Nährstoffanspruch 8 und 7 aber nicht der Arten mit Nährstoffanspruch 7 und 9 bzw. 8 und 9 (Tab. 11). Dies kommt vermutlich dadurch zustande, dass bei dem angewandten Test die Rangfolge (nach Größe der Werte geordnet) der in die Analyse eingehenden Zyklus-Werte verglichen wird. Unter den Arten mit dem Nährstoffanspruch 8 befindet sich neben zwei endopolyploiden auch eine nicht-endopolyploide Art (*Anemone ranunculoides*), so dass die Ränge der Zyklus-Werte dieser Artengruppe sehr weit auseinander liegen. Teilweise sind sie mehr oder weniger gleichrangig mit den Zyklus-Werten der Arten mit den Nährstoffansprüchen 7 und 9, teilweise liegen sie aber erheblich darunter. Vermutlich führt diese Konstellation beim paarweisen Vergleich der Rangdifferenzen zu den widersprüchlichen Ergebnissen. Die Mittelwerte der Zyklus-Werte der Arten mit Nährstoffanspruch 8 und 9 sind nahezu gleich. Eine Varianzanalyse mit anschließendem paarweisen Vergleich (Student-Newman-Keuls Methode) führt zu einer anderen Gruppierung der Artengruppen. Die mittlere Endopolyploidisierung der Arten mit dem Nährstoffanspruch 6 und 7 und die der Arten mit dem Nährstoffanspruch 7, 8 und 9 sind danach nicht signifikant verschieden. Somit ergibt sich sowohl beim nicht-parametrischen als auch beim parametrischen Test eine Überlappung bei der Gruppierung dieser vier Artengruppen, die allerdings für beide Tests unterschiedlich aussieht. Insgesamt kann daher vermutlich davon ausgegangen werden, dass sich die mittleren Endopolyploidisierungsgrade der Arten mit den Nährstoffansprüchen 6 bis 9 insbesondere im Vergleich zu denen der Arten mit dem Nährstoffanspruch 3 und 4 geringfügig voneinander unterscheiden. Verwunderlich ist allerdings der genau entgegen der Erwartung zunehmende mittlere Endopolyploidisierungsgrad von Arten mit dem Nährstoffanspruch 9 hin zu jenen mit dem Nährstoffanspruch 6, wohingegen sich die Arten mit den Nährstoffansprüchen 3 und 4 mit geringerem mittleren Endopolyploidisierungsgrad deutlich von den ande-

ren abheben. Grund hierfür ist vermutlich die geringe Anzahl untersuchter Arten insgesamt und insbesondere in einigen Gruppen (Nährstoffanspruch 6 und 7). Die geringen Unterschiede im Endopolyploidisierungsgrad der Arten mit den Nährstoffansprüchen 6 bis 9 lassen sich wahrscheinlich so erklären, dass sich höhere Nährstoffgaben nicht verstärkend auf die Endopolyploidisierung auswirken, sobald ein bestimmtes Nährstoffangebot gewährleistet ist.

Tab. 11 Der Durchschnittliche Endopolyploidisierungsgrad (Zyklus-Wert) von Arten mit unterschiedlichen Nährstoffansprüchen

Nährstoff- anspruch	Zyklus-Wert		Arten- zahl	Gruppierung*	
	(Median)	(Mittel- wert)		(gemäß para- meterfreiem Test)	(gemäß para- metrischem Test)
9	0,38	0,57	3	a b	a
8	0,63	0,58	3	a	a
7	0,78	0,73	2	b	a b
6	0,93	0,96	1	b	b
4	0,08	0,35	4	c	c
3	0,00	0,03	4	d	d

*verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an

Wichtig ist es zu berücksichtigen, dass anscheinend v. a. die Kombination der beiden Faktoren ‚gestörter Standort‘ und ‚Nährstoffanspruch‘ ein sinnvolles Bild zur Erklärung der Endopolyploidisierung liefert. Offensichtlich sind vor allem Arten auf regelmäßig gestörten, nährstoffreichen Standorten endopolyploid.

Zur Quantifizierung des Zusammenhangs zwischen der Endopolyploidisierung und den Faktoren ‚Lebensform und Lebensdauer‘, ‚Nährstoffanspruch‘ und ‚Pflanzengesellschaft‘ wurde eine dreifaktorielle Varianzanalyse mit den Arten aus Tab. 9 durchgeführt, bei denen für alle drei Faktoren eine Angabe existiert. Das Ergebnis offenbart einen engeren Zusammenhang der Endopolyploidie mit der Pflanzengesellschaft als mit den beiden anderen Faktoren, und den geringsten mit der Lebensform und Lebensdauer (Tab. 12). Dieses Ergebnis ist allerdings wenig aussagekräftig, da die getesteten Faktoren nicht unabhängig voneinander sind. Das Nährstoffangebot ist ein Teil der Standortbedingungen, die für die Ausbildung einer Pflanzengesellschaft verantwortlich sind. In vielen Pflanzengesellschaft-

ten können sich nur bestimmte Lebensformen behaupten (z. B. Therophyten in Ackerunkrautgesellschaften).

Tab. 12 Dreifaktorielle Varianzanalyse für den Zusammenhang zwischen Endopolyploidie und Pflanzengesellschaft, Nährstoffanspruch und Lebensform und Lebensdauer der getesteten Arten

Faktor	Freiheitsgrad	F-Wert
Pflanzengesellschaftsklasse	3	34,6***
Nährstoffanspruch	5	16,3***
Lebensform und Lebensdauer	2	6,1**

Signifikanzniveau: ** $\leq 0,01$, *** $\leq 0,001$

Deutlich wird dennoch der Zusammenhang zwischen Standortfaktoren wie Störungen und Nährstoffangebot, die für die Ausbildung einer Pflanzengesellschaft mit verantwortlich sind, und dem Endopolyploidisierungsgrad, den Pflanzenarten dieser Standorte aufweisen. Schließlich scheint es unter der Annahme, dass endopolyploide Pflanzenarten tatsächlich eine höhere Wachstumsrate aufweisen als nicht-endopolyploide (wie bereits Melaragno et al. 1993 zur Diskussion stellten) logisch zu sein, dass diese vor allem auf Standorten zu finden sind, die einen schnellen Abschluss der Entwicklung bis hin zur Samenbildung erfordern und dies durch ein ausreichendes Nährstoffangebot unterstützen. Anscheinend sind endopolyploide Arten eher in der Lage als nicht-endopolyploide, durch beschleunigtes Wachstum Nutzen aus einem guten Nährstoffangebot zu ziehen und so nährstoffreiche und regelmäßig gestörte Standorte als Nische zu nutzen.

Endopolyploidie scheint aber nicht nur für R-Strategen, sondern auch für C-Strategen, also konkurrenzkräftige Arten, von Nutzen zu sein. Die endopolyploide Art *Urtica dioica* wird von Grime et al. (1989) als reiner C-Strategie angesehen. *Urtica dioica* vermag an überdüngten Standorten Dominanzbestände zu bilden. Ähnliches scheint für die Arten der Cucurbitaceen zu gelten, die in dieser Untersuchung hohe Endopolyploidisierungsgrade aufweisen (Tab. 4, Abschnitt 4.2.1 und Abb. 7, Abschnitt 4.2.2). Die in Mitteleuropa kultivierten Arten benötigen hohe Nährstoffgaben, sind sehr schnellwüchsig und bilden viel Blattmasse. Schnellwüchsigkeit in Verbindung mit einer hohen Blattmasseproduktion ist typisch für C-Strategen (Grime et al. 1989).

5.2.5 Wahrscheinlich führen ähnliche Lebensstrategien von Arten einer Familie zu der starken Korrelation zwischen Endopolyploidisierung und Familienzugehörigkeit

Verwandte Arten und somit auch Arten einer Familie weisen oft ähnliche ökologische Eigenschaften auf und wachsen deshalb oft in ähnlichen Habitaten (Hodgson 1986). Die Auswertung der Auflistung bei Ellenberg et al. (1992) offenbart, dass in Mitteleuropa A-ckerrandstreifen z. B. den Standort darstellen, der die meisten Brassicaceen-, Chenopodiaceen- und Solanaceenarten aufweist, also Arten aus Familien, die in der vorliegenden Untersuchung ein hohes Maß an Endopolyploidisierung zeigten. Demgegenüber sind Laub- und Mischwälder der Standort, der die meisten Ranunculaceen-, Rosaceen- und viele Lamiaceenarten beherbergt, die nach den hier ermittelten Ergebnissen alle keine oder eine nur sehr geringe Endopolyploidisierung aufweisen. Ähnliche ökologische Vorzüge der Arten einer Familie legen die Vermutung nahe, dass vielmehr die in einer Familie überwiegende Lebensstrategie als die Familienzugehörigkeit selbst die gute Korrelation zwischen Familienzugehörigkeit und Endopolyploidisierung verursachte. Falls dies zutrifft, müssten Arten, die von der vorherrschenden Lebensstrategie einer Familie abweichen, auch eine abweichende Endopolyploidisierung zeigen. Dies scheint tatsächlich der Fall zu sein. *Sophora japonica* ist die einzige der untersuchten Fabaceen, die keine Endopolyploidie aufweist. Gleichzeitig ist sie der einzige Phanerophyt innerhalb der untersuchten Arten dieser Familie. Der umgekehrte Fall liegt bei den untersuchten Rosaceen vor. Hier ist die einzige untersuchte krautige Art (*Duchesnea indica*) im Gegensatz zu den beiden anderen, die Gehölze sind, endopolyploid.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beziehung des AT/GC-Verhältnisses bzw. der Endopolyploidie bei Spermatophyten zur Genomgröße und Familienzugehörigkeit der Arten untersucht. Zudem wurde geprüft, ob die Endopolyploidisierung für bestimmte Pflanzenorgane und die Lebensform und Lebensdauer der verschiedenen Arten typisch ausgeprägt ist. Als Methode diente die Durchflusszytometrie unter Verwendung des AT-basenspezifischen Fluorochroms 4'-6-Diamidino-2-Phenylindol (DAPI) und des DNA-interkalierenden und damit basenunspezifischen Fluorochroms Propidiumjodid (PI).

Zur Charakterisierung der basenspezifischen Fluoreszenz von DAPI (und anderen basenspezifischen Farbstoffen) wurde ein Farbstofffaktor definiert, der die relative Fluoreszenzintensität angibt, bezogen auf gleiche absolute Genomgrößen von Proben- und Referenzart. Der DAPI-Farbstofffaktor ist mit dem AT/GC-Verhältnis der DNA korreliert. Die Berechnung des Farbstofffaktors war notwendig, weil das genaue Verhältnis zwischen DAPI-Fluoreszenzintensität und AT/GC-Verhältnis der DNA noch nicht bekannt ist.

Anhand der untersuchten Arten ließ sich nachweisen, dass bei Spermatophyten keine Korrelation zwischen dem DAPI-Farbstofffaktor und damit dem AT/GC-Verhältnis und der Genomgröße besteht. Auch innerhalb der untersuchten Spermatophyten-Familien existiert keine solche Beziehung. Es zeigte sich aber, dass sich die mittleren DAPI-Farbstofffaktoren vieler der untersuchten Familien signifikant voneinander unterscheiden.

Für AT-basenspezifische Farbstoffe ist eine bestimmte Anzahl aufeinanderfolgender A- bzw. T-Basen zur Bindung eines Farbstoffmoleküls an die DNA notwendig (Bindungslänge), die für Hoechst 33342 (HO) fünf und für DAPI drei bis vier beträgt. Um das genaue Bindungsverhältnis von DAPI mit der DNA zu ermitteln, wurde für geeignete Artenpaare die Fluoreszenzintensität von DAPI mit der von HO verglichen.

Der Vergleich der Fluoreszenzintensität von DAPI und HO führte zu uneinheitlichen Ergebnissen. Diese bestätigen aber, dass die HO-Bindungslänge größer ist als die von DAPI. Zudem legen sie nahe, dass die Bindungslänge vier für DAPI wahrscheinlicher ist als die Bindungslänge drei.

Die wahrscheinliche Ursache für die uneinheitlichen Ergebnisse des DAPI-HO-Vergleichs ist die nicht zufällige Verteilung der Basen in der DNA. Diese führt dazu, dass die Ermittlung des exakten AT/GC-Verhältnisses in Pflanzen mittels Durchflusszytometrie nicht möglich ist.

Um zu prüfen, ob die Durchflusszytometrie trotz des Einflusses der nicht zufälligen Basenverteilung der DNA auf die Fluoreszenzintensität basenspezifischer Farbstoffe eine verlässliche Methode zur näherungsweisen Charakterisierung des AT/GC-Verhältnisses darstellt, wurden 15 der zuvor durchflusszytometrisch untersuchten Arten mittels Hochleistungschromatografie (HPLC) hinsichtlich des AT/GC-Verhältnisses analysiert. Der Vergleich der durchflusszytometrischen Ergebnissen mit denen der HPLC zeigen eine gute Übereinstimmung. Demnach geben die durchflusszytometrischen Ergebnisse im wesentlichen die tatsächlichen Größenordnungen der AT/GC-Verhältnisse bei Pflanzen wieder.

Zur Quantifizierung der Endopolyploidisierung wurde ein Zyklus-Wert berechnet, der die durchschnittliche Zahl durchlaufener Endoreduplikationszyklen pro Kern eines Organs angibt.

Die Ergebnisse zeigen, dass Endopolyploidie bei Spermatophyten ein familienspezifisches Merkmal ist. Zudem unterscheiden sich die Pflanzenorgane hinsichtlich des durchschnittlichen Endopolyploidisierungsgrades. Weiterhin ist die Endopolyploidie in Abhängigkeit von der Lebensform und Lebensdauer der untersuchten Arten ausgeprägt. Fast alle einjährigen Arten waren endopolyploid, während dies für weniger als die Hälfte der mehrjährigen krautigen Arten galt. In den untersuchten Gehölzarten war Endopolyploidie nicht vertreten. Bei Berücksichtigung aller Werte ergibt sich eine schwache, aber signifikante, negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung. Eine nach Familien getrennte Analyse ergibt nur für drei der untersuchten Familien eine signifikante, negative Korrelation innerhalb der Familie. Die separate Analyse zeigt für acht der zwölf untersuchten Organe ebenfalls eine signifikante, negative Korrelation zwischen Genomgröße und Endopolyploidisierung.

Eine dreifaktorielle Variananalyse mit der Genomgröße als Kofaktor zur Quantifizierung des Zusammenhangs der vier Faktoren ‚Familienzugehörigkeit‘, ‚Organ‘, ‚Lebensform und Lebensdauer‘ und ‚Genomgröße‘ mit der Endopolyploidie zeigt einen sehr engen Zusammenhang zwischen Endopolyploidie und Familienzugehörigkeit der untersuchten Arten, einen weniger engen mit dem Organtyp und der Lebensform und Lebensdauer und einen vergleichsweise schwachen mit der Genomgröße.

Um zu einer Erklärung der Funktion der Endopolyploidie bei Spermatophyten zu gelangen, wurde die Lebensstrategie der untersuchten mitteleuropäischen Arten näher betrachtet, die neben der Lebensform und Lebensdauer unter anderem auch durch den Standort und den

Nährstoffanspruch einer Art charakterisiert werden kann. Diese Betrachtung ergab, dass vor allem Arten regelmäßig gestörter, nährstoffreicher Standorte Endopolyploidie aufweisen. Grund hierfür ist anscheinend, dass die Endopolyploidisierung aufgrund der positiven Korrelation des DNA-Gehalts mit dem Zellvolumen in endopolyploiden Zellen zu erheblicher Zellstreckung führt und damit das Wachstum einer Pflanze beschleunigt. Dieses schnelle Wachstum bedarf der Unterstützung durch ein gutes Nährstoffangebot des Bodens. Es ist besonders vorteilhaft für Arten regelmäßig gestörter Standorte oder an Standorten mit starker Konkurrenz, weshalb Endopolyploidie v. a. bei Arten solcher Standorte ausgeprägt ist.

Ähnliche Lebensstrategien nahe verwandter Arten sind wahrscheinlich die eigentliche Ursache für den engen Zusammenhang zwischen der Familienzugehörigkeit der untersuchten Arten und der Endopolyploidisierung.

7. Literaturverzeichnis

1. Ali, H. B. M., Meister, A. und I. Schubert (2000) DNA content, rDNA loci, and DAPI bands reflect the phylogenetic distance between *Lathyrus* species. *Genome* 43, 1027-1032.
2. Baranyi, M. und J. Greilhuber (1999) Genome size in *Allium*: in quest of reproducible data. *Annals of Botany* 83, 687-695.
3. Barlow, P. W. (1978) Endopolyploidy: Towards an understanding of its biological significance. *Acta Biotheoretica* 27, 1-18.
4. Beaton, M. J. und P. D. N Hebert (1989) Miniature genomes and endopolyploidy in cladoceran crustaceans. *Genome* 32, 1048-1053.
5. Beemster, G. T. S., De Vusser, K., De Tavernier, E., De Bock, K. und D. Inzé (2002) Variation in growth rate between *Arabidopsis* ecotypes is correlated with cell division and A-type cyclin-dependent kinase activity. *Plant Physiology* 129, 854-864.
6. Bennett, M. D. (1972) Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 181, 109-135.
7. Bennett, M. D. (1976) DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environmental and Experimental Botany* 16, 93-108.
8. Bennett, M. D. und I. J. Leitch (2001) Angiosperm DNA C-values database (release 3.1, Sept. 2001). <http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>.
9. Bennett, M. D., Leitch, I. J. und L. Hanson (1998) DNA amounts in two samples of angiosperm weeds. *Annals of Botany, Supplement A*, 121-134.
10. Bernardi, G. und G. Bernardi (1990a) Compositional patterns in the nuclear genome of cold-blooded vertebrates. *Journal of Molecular Evolution* 31, 265-281.
11. Bernardi, G. und G. Bernardi (1990b) Compositional transitions in the nuclear genomes of cold-blooded vertebrates. *Journal of Molecular Evolution* 31, 282-293.

12. Bernardi, G., Mouchiroud, D., Gautier, C. und G. Bernardi (1988) Compositional patterns in vertebrate genomes: conservation and change in evolution. *Journal of Molecular Evolution* 28, 7-18.
13. Biradar, D. P., Rayburn, A. L. und D G Bullock (1993) Endopolyploidy in diploid and tetraploid maize (*Zea mays* L.). *Annals of Botany* 71, 417-421.
14. Bradley, M.V. (1954) Cell and nuclear size in relation to polysomaty and the nuclear cycle. *American Journal of Botany* 41, 398-402.
15. Brandham, P. E. und J. P. West (1993) Correlation between nuclear DNA values and differing optimal ploidy levels in *Narcissus*, *Hyacinthus* and *Tulipa* cultivars. *Genetica* 90, 1-8.
16. 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. *Journal of Cell Science* 43, 247-278.
17. Cavallini, A., Natali, L., Cionini, G., Balconi, C. und F. D'Amato (1997) Inheritance of nuclear DNA content in leaf epidermal cells of *Zea mays* L. *Theoretical and Applied Genetics* 94, 782-787.
18. Cerbah, M., Mortreau, E., Brown, S., Siljak-Yakovlev, S., Bertrand, H. und C. Lambert (2001) Genome size variation and species relationships in the genus *Hydrangea*. *Theoretical and Applied Genetics* 103, 45-51.
19. Chargaff, E. (1950) Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia* 6, 201-209.
20. Czeika, G. (1956) Strukturänderungen endopolyploider Ruhekerne im Zusammenhang mit wechselnder Bündelung der Tochterchromosomen und karyologisch-anatomische Untersuchungen an Sukkulente. *Österr. Bot. Z.* 103, 536-366.
21. D'Amato, F (1964) Endopolyploidy as a factor in plant tissue development. *Caryologia* 17, 41-52.
22. De Rocher, E. J., Harkins, K. R., Galbraith, D. W. und H. J. Bohnert (1990) Developmentally regulated systemic endopolyploidy in succulents with small genomes. *Science* 250, 99-101.

23. De Veylder, L., Beeckman, T., Beemster, G.T.S., Krols, L., Terras, F., Landrieu, I., Van Der Schueren, E., Maes, S., Naudts, M. und D. Inzé (2001) Functional analysis of cyclin-dependent kinase inhibitors of *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 13, 1653-1667.
24. Doležel, J. (1991) Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. *Phytochemical Analysis* 2, 143-154.
25. Doležel, J., Bartoš, J., Voglmayr, H. und J. Greilhuber (2003) Letter to the editor: nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry Part A* 51A, 127-128.
26. Doležel, J., Greilhuber, J., Lucretti, S., Meister, A., Lysák, M. A., Nardi, L. und R. Obermayer (1998) Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. *Annals of Botany* 82 (Suppl. A), 17-26.
27. Doležel, J., Sgorbati, S. und S. Lucretti (1992) Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum* 85, 625-631.
28. Dover, G. (2002) Molecular drive. *Trends in Genetics* 18, 587-589.
29. Edgar, B. A. und T. L. Orr-Weaver (2001) Endoreplication cell cycles: More for less. *Cell* 105, 297-306.
30. Ellenberg, H., Weber, H. E., Düll, R., Wirth, V., Werner, W. und D. Paulißen (1992) Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa, 3. Aufl. (Scripta Geobotanica ; 18). Göttingen: Golze.
31. Engelen-Eigles, G., Jones, R. J. und R. L. Phillips (2000) DNA endoreduplication in maize endosperm cells: the effect of exposure to short-term high temperature. *Plant, Cell and Environment* 23, 657-663.
32. Evans, G. M., Rees, H., Snell, C. L. und S. Sun (1972) The relationship between nuclear DNA amount and the duration of the mitotic cycle. In: Darlington, C. D. und K. R. Lewis (Hrsg.): *Chromosomes Today* 3, 24-31. New York: Hafner.
33. Flavell, R. B. (1986) Repetitive DNA and chromosome evolution in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 312, 227-242.

34. Galbraith, D. W., Harkins, K. R. und S. Knapp (1991) Systemic endopolyploidy in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 96, 985-989.
35. Galbraith, D. W., Harkins, K. R., Maddox, J. .M., Ayres, N. M., Sharma, D. P. und E. Firoozabady (1983) Rapid flow cytometric analysis of cell cycle in intact plant tissues. *Science* 220, 1049-1051.
36. Galbraith, D. W., Lambert, G. M., Macas, J. und J. Doležel (1997) Analysis of nuclear DNA content and ploidy in higher plants. *Current Protocols in Cytometry* 7.6.1.-7.6.22. Hrsg. Robinson, J. P., Darzynkiewicz, Z., Dean, P. N., Orfao, A., Rabinovitch, P. S., Stewart, C. C., Tanke, H. J. und L. L. Wheeless.
37. Geitler, L. (1953) Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. *Protoplasmatologia* 6, 1-89. Wien: C. Springer.
38. Gendreau, E., Höfte, H., Grandjean, O., Brown, S. und J. Traas (1998) Phytochrome controls the number of endoreduplication cycles in the *Arabidopsis thaliana* hypocotyl. *Plant Journal* 13, 221-230.
39. Giles, K. W. und A. Myers (1964) The role of nucleic acids in the growth of the hypocotyl of *Lupinus albus* under varying light and dark regimes. *Biochimica et Biophysica Acta* 87, 460-477.
40. Gilissen, L. J. W., van Staveren, M. J., Creemers-Molenaar, J. und H. A. Verhoeven (1993) Development of polysomaty in seedlings and plants of *Cucumis sativus* L. *Plant Science* 91, 171-179.
41. Givan, A. L. (2001) Principles of flow cytometry: an overview. *Methods in Cell Biology* 63, 19-50.
42. Godelle, B., Cartier, D., Marie, D., Brown, S. C. und S. Siljak-Yakovlev (1993) Heterochromatin study demonstrating the non-linearity of fluorometry useful for calculating genomic base composition. *Cytometry* 14, 618-626.
43. Goff, S. A., Ricke, D., Lan, T.-H., Presting, G., Wang, R., Dunn, M., Glazebrook, J., Sessions, A., Oeller, P., Varma, H., Hadley, D., Hutchison, D., Martin, C., Katagiri, F., Lange, B. M., Moughamer, T., Xia, Y., Budworth, P., Zhong, J., Miguel, T., Paszkowski, U., Zhang, S., Colbert, M., Sun, W.-l., Chen, L., Cooper, B., Park, S., Wood, T. C., Mao, L., Quail, P., Wing, R., Dean, R., Yu, Y., Zharkikh, A., Shen, R., Sahasrabudhe, S., Thomas,

- A., Cannings, R., Gutin, A., Pruss, D., Reid, J., Tavtigian, S., Mitchell, J., Eldredge, G., Scholl, T., Miller, R. M., Bhatnagar, S., Adey, N., Rubano, T., Tusneem, N., Robinson, R., Feldhaus, J., Macalma, T., Oliphant, A. und S. Briggs (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* 296, 92-100.
44. Grafi, G. und B. A. Larkins (1995) Endoreduplication in Maize endosperm: Involvement of M phase-promoting factor inhibition and induction of S phase-related kinases. *Science* 269, 1262-1264.
 45. Gregory, T. R. (2001a) Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma. *Biological Reviews* 76, 65-101.
 46. Gregory, T. R. (2001b) Animal genome size database.
<http://www.genomesize.com/>.
 47. Greilhuber, J. (1995) Chromosomes of the monocotyledons (general aspects). In: Rudall, P. J., Cribb, P. J., Cutler, D. F. und C. J. Humphries (Hrsg.): *Monocotyledons: systematics and evolution, volume II*. Kew: Royal Botanic Gardens, 379-414.
 48. Grif, V. (2000) Some aspects of plant karyology and karyosystematics. *International Review of Cytology* 196, 131-175.
 49. Grime, J. P. (1977) Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist* 111, 1169-1194.
 50. Grime, J. P., Hodgson, J. G. und R. Hunt (1989) *Comparative Plant Ecology*. London: Unwin Hyman.
 51. Grime, J. P. und M. A. Mowforth (1982) Variation in genome size - an ecological interpretation. *Nature* 299, 151-153.
 52. Grime, J. P., Shacklock, J. M. L. und S. R. Brand (1985) Nuclear DNA contents, shoot phenology and species co-existence in a limestone grassland community. *New Phytologist* 100, 435-445.
 53. Gunning, B. E. S. und J. S. Pate (1974) Transfer cells. In: Robards, A. W. (Hrsg.) *Dynamic aspects of plant ultrastructure*. London: McGraw-Hill, 441-480.

54. Hemerly, A., de Almeida Engler, J., Bergounioux, C., Van Montagu, M., Engler, G., Inzé, D. und P. Ferreira (1995) Dominant negative mutants of the Cdc2 kinase uncouple cell division from iterative plant development. *The EMBO Journal* 14, 3925-3936.
55. Hodgson, J. G. (1986) Commonness and rarity in plants with special reference to the sheffield flora; Part III: Taxonomic and evolutionary aspects. *Biological Conservation* 36, 275-296.
56. Hülskamp, L., Miséra, S. und G. Jürgens (1994) Genetic Dissection of Trichome Cell Development in *Arabidopsis*. *Cell* 76, 555-566.
57. Ingle, J., Pearson G. G. und J. Sinclair (1973) Species distribution and properties of nuclear satellite DNA in higher plants. *Nature New Biology* 242, 193-197.
58. Jacquard, A., De Veylder, L., Segers, G., de Almeida Engler, J, Bernier, G., Van Montagu, M. und D. Inzé (1999) Expression of *CKS1At* in *Arabidopsis thaliana* indicates a role for the protein in both the mitotic and the endoreduplication cycle. *Planta* 207, 496-504.
59. Joubès, J. und C. Chevalier (2000) Endoreduplication in higher plants. *Plant Molecular Biology* 43, 735-745.
60. Ko, C. Y., Johnson, J. L., Barnett, L. B., McNair, H. M. und J. R. Vercellotti (1977) A sensitive estimation of the percentage of guanine plus cytosine in deoxyribonucleic acid by High Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry* 80, 183-192.
61. Kondorosi, E., Roudier, F. und E. Gendreau (2000) Plant cell-size control: growing by ploidy? *Current Opinion in Plant Biology* 3, 488-492.
62. Koopman, W. J. M. (2002) Zooming in on the lettuce genome. Dissertation an der Universität Wageningen, Niederlande.
63. Kudo, N. und Y. Kimura (2001a) Flow cytometric evidence for endopolyploidization in cabbage (*Brassica oleraceae* L.) flowers. *Sexual Plant Reproduction* 13, 279-283.

64. Kudo, N. und Y. Kimura (2001b) Patterns of endopolyploidy during seedling development in cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Annals of Botany* (London) 87, 275-281.
65. Kudo, N. und Y. Kimura (2002) Nuclear DNA endoreduplication during petal development in cabbage: relationship between ploidy levels and cell size. *Journal of Experimental Botany* 53, 1017-1023.
66. Labani, R. M. und T. T. Elkington (1987) Nuclear DNA variation in the genus *Allium* L. (Liliaceae). *Heredity* 59, 119-128.
67. Larkins, B. A., Dilkes, B. P., Dante, R. A., Coelho, C. M., Woo, Y. und Y. Liu (2001) Investigating the hows and whys of DNA endoreduplication. *Journal of Experimental Botany* 52, 183-192.
68. Larsen, T. A., Goodsell, D. S., Cascio, D., Grzeskowiak, K. und R. E. Dickerson (1989) The structure of DAPI bound to DNA. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics* 7, 477-491.
69. Leemann, U. und F. Ruch (1982) Cytofluorometric determination of DNA base content in plant nuclei and chromosomes by the fluorochromes DAPI and chromomycin A3. *Experimental Cell Research* 140, 275-282.
70. Leitch, I. J. und M. D. Bennett (1997) Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2, 470-476.
71. Leitch, I. J., Chase, M. W. und M. D. Bennett (1998) Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. *Annals of Botany* 82 (Supplement A), 85-94.
72. Leitch, I. J., Hanson, L., Winfield, M., Parker, J. und M. D. Bennett (2001) Nuclear DNA C-values complete familial representation in gymnosperms. *Annals of Botany* 88, 843-849.
73. Lemontey, C., Mousset-Déclas, C., Munier-Jolin, N. und J.-P. Boutin (2000) Maternal genotype influences pea seed size by controlling both mitotic activity during early embryogenesis and final endoreduplication level/cotyledon cell size in mature seed. *Journal of Experimental Botany* 51, 167-175.

74. Levin, D. A. und S. W. Funderburg (1979) Genome size in angiosperms: Temperate versus tropical species. *American Naturalist* 114, 784-795.
75. Li, W.-H. und D. Graur (1991) *Fundamentals of molecular evolution*. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates, Inc.
76. Lindman, H. R. (1974) *Analysis of variance in complex experimental designs*. San Francisco: Freeman & Co.
77. Loontjens, F. G., McLaughlin, L. W., Diekmann, S. und R. M. Clegg (1991) Binding of Hoechst 33258 and 4',6-diamidino-2-phenylindole to self-complementary decadeoxynucleotides with modified exocyclic base substituents. *Biochemistry* 30, 182-189.
78. Martel, E., De Nay, D., Siljak-Yakovlev, S., Brown, S. und A. Sarr (1997) Genome size variation and basic chromosome number in the pearl millet and fourteen related *Pennisetum* species. *The Journal of Heredity* 88, 139-143.
79. Melaragno, J. E., Mehrotra, B. und A. W. Coleman (1993) Relationship between endopolyploidy and cell size in epidermal tissue of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 5, 1661-1668.
80. Miksche, J. P. und Y. Hotta (1973) DNA base composition and repetitious DNA in several conifers. *Chromosoma* 41, 29-36.
81. Mishiba, K. und M. Mii (2000) Polysomaty analysis in diploid and tetraploid *Portulaca grandiflora*. *Plant Science* 156, 213-219.
82. Nagl, W. (1976) DNA endoreduplication and polyteny understood as evolutionary strategies. *Nature* 261, 614-615.
83. Nagl, W. (1978) *Endopolyploidy and polyteny in differentiation and evolution*. Amsterdam-New York-Oxford: North-Holland Publishing Company.
84. Oberdorfer, E. (1994) *Pflanzensoziologische Exkursionsflora*. Stuttgart (Hohenheim): UTB für Wissenschaft.
85. Obermayer, R., Leitch, I. J., Hanson, L. und M. D. Bennett (2002) Nuclear DNA C-values in 30 species double the familial representation in pteridophytes. *Annals of Botany* 90, 209-217.
86. Ohri, D. und K. Pistrick (2001) Phenology and genome size variation in *Allium* L. – a tight correlation? *Plant Biology* 3, 654-660.

87. Olszewska, M. J. und R. Osiecka, (1982) The relationship between 2C DNA content, life cycle type, systemic position, and the level of DNA endoreplication in nuclei of parenchyma cells during growth and differentiation of roots in some monocotyledonous species. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 177, 319-336.
88. Ozkan, H., Levy, A. A. und M. Feldman (2001) Allopolyploidy-induced rapid genome evolution in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. *Plant Cell* 13, 1735-1747.
89. Pianka, E. R. (1970) On *r*- and *K*-selection. *American Naturalist* 104, 592-597.
90. Pijnacker, L. P., Sree Ramulu, K., Dijkhuis, P. und M. A. Ferwerda (1989) Flow cytometric and karyological analysis of polysomaty and polyploidization during callus formation from leaf segments of various potato genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 77, 102-110.
91. Portugal J. und M. J. Waring (1988) Assignment of DNA binding sites for 4',6-diamidino-2-phenylindol and bisbenzimidazole (Hoechst 33258). A comparative footprinting study. *Biochimica et Biophysica Acta* 949, 158-168.
92. Price, H. J. und K. Bachmann (1976) Mitotic cycle time and DNA content in annual and perennial Microseridinae (Compositae, Cichoriaceae). *Plant Systematics and Evolution* 126, 323-330.
93. Price, H. J., Sparrow, A. H. und A. F. Nauman (1973) Correlations between nuclear volume, cell volume and DNA content in meristematic cells of herbaceous angiosperms. *Experientia* 29, 1028-1029.
94. Pyke, K. A., Marrison, J. L. und R. M. Leech (1991) Temporal and spatial development of the cells of the expanding first leaf of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Journal of Experimental Botany* 42, 1407-1416.
95. Reeves, G., Francis, D., Davies, M. S., Rogers, H. J. und T. R. Hodgkinson (1998) Genome size is negatively correlated with altitude in natural populations of *Dactylis glomerata*. *Annals of Botany* 82, Supplement A, 99-105.
96. Rothmaler, W (2002) *Exkursionsflora von Deutschland*. Hrsg: Jäger, E. J. und K. Werner. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.

97. Salinas, J., Matassi, G., Montero, L. M. und G. Bernardi (1988) Compositional compartmentalization and compositional patterns in the nuclear genomes of plants. *Nucleic Acids Research* 16, 4269-4285.
98. Schildkraut, C. L., Marmur, J. und P. Doty (1962) Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its buoyant density in CsCl. *Journal of Molecular Biology* 4, 430-443.
99. Schnittger, A., Weinl, C., Schöbinger, U., Bouyer, D. und M. Hülskamp (2002) Expression of the CDK inhibitor ICK1/KRP1 in *Arabidopsis* trichomes reduces endoreduplication levels and cell size and leads to cell death. *Cell biology, Abstracts of the XIV. International Conference on Arabidopsis Research 2002*, 7/40.
100. Shapiro, H. S. (1970) Distribution of purines and pyrimidines in deoxyribonucleic acids. In: Sober, H. A., Harte, R. A. und Sober, E. K. (Hrsg.): *Handbook of Biochemistry*, 2nd edition. Cleveland: The Chemical Rubber Co.
101. Shapiro, H. S. (1976) Distribution of purines and pyrimidines in deoxyribonucleic acids. In: Fasman, G. D.: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd edition. Cleveland: CRC Press.
102. Smulders, M. J. M., Rus-Kortekaas, W. und L. J. W. Gilissen (1994) Development of polysomaty during differentiation in diploid and tetraploid tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants. *Plant Science* 97, 53-60.
103. SPSS Inc (1999) *SPSS Base 10.0 User's Guide*, 274-275.
104. Strasburger, E. (1893) Ueber die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgröße. *Histologische Beiträge*, Heft 5, 95-124. Jena: Verlag von Gustav Fischer.
105. Temsch, E. M. und J. Greilhuber (2001) Genome size in *Arachis duranensis*: a critical study. *Genome* 44, 826-830.
106. The Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408, 796-815.
107. Thomas, C. A. (1971) The genetic organization of chromosomes. *Annual Review of Genetics* 5, 237-256.
108. Tschermak-Woess, E. (1956) Karyologische Pflanzenanatomie. *Protoplasma* 46, 798-834.

109. Van Oostveldt, P. und R. Van Parijs (1975) Effect of light on nucleic-acid synthesis and polyploidy level in elongating epicotyl cells of *Pisum sativum*. *Planta* 124, 287-295.
110. Vinogradov, A. E. (1994) Measurement by flow cytometry of genomic AT/GC ratio and genome size. *Cytometry* 16, 34-40.
111. Vinogradov, A. E. (1998) Genome size and GC-percent in vertebrates as determined by flow cytometry: the triangular relationship. *Cytometry* 31, 100-109.
112. Vinogradov, A (1999) Genome *in toto*. *Genome* 42, 361-362.
113. Vinogradov, A. (2001) Mirrored genome size distributions in monocot and dicot plants. *Acta Biotheoretica* 49, 43-51.
114. Vinogradov, A. E. und L. J. Borkin (1993) Allometry of basepair-specific DNA contents in Tetrapoda. *Hereditas* 118,155-163.
115. Voglmayr, H. (2000) Nuclear DNA amounts in mosses (musci). *Annals of Botany* 85, 531-546.
116. Witsch, v., H. (1955) Experimentelle Chromosomenvermehrung in Pflanzenteilen? *Umschau* 8, 234-235.
117. Zonneveld, B. J. M. und F. Van Iren (2000) Flow cytometric analysis of DNA content in *Hosta* reveals ploidy chimera. *Euphytica* 111:105-115

Publikationen

1. Barow, M. und A. Meister (2002) Lack of correlation between AT frequency and genome size in higher plants and the effect of nonrandomness of base sequences on dye binding. *Cytometry* 47, 1-7.
2. Barow, M. und A. Meister (2003) Endopolyploidy in higher plants is correlated to systematics, life strategy and genome size. *Plant, Cell and Environment* 26, 571-584.

Danksagung

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich an dieser Stelle herzlich danken:

Ich danke Herrn Prof. Martin Röser und Herrn Prof. Jaroslav Doležel für die freundliche Bereitschaft, die Begutachtung dieser Arbeit zu übernehmen sowie für hilfreiche Kritik und Anregungen.

Herrn Prof. Ingo Schubert danke ich für die Zeit, die er immer wieder erübrigt hat, um zu begutachten und zu kritisieren, sowie für die immerwährende und fürsorgende Unterstützung.

Meinem „Mentor“ Herrn Dr. habil. Armin Meister danke ich für die geduldige und anschauliche Einführung in die Geheimnisse der Durchflusszytometrie und der Statistik, für die enge und wunderbare Zusammenarbeit und für die fortwährende Bereitschaft zu vielfältiger Unterstützung und zum Verständnis nicht nur im wissenschaftlichen Bereich.

Herrn Dr. Hans-Peter Mock und seinen Mitarbeitern danke ich für die Unterstützung und den Rat bei der HPLC.

Allen Mitarbeitern der Ag ‚Karyotypevolution‘ danke ich für die guten Arbeitsbedingungen und die angenehme Arbeitsatmosphäre sowie für Rat und ständige Hilfsbereitschaft.

Meinen Eltern und Schwestern danke ich für fortwährende Begleitung und liebevollen Beistand.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass diese Arbeit von mir bisher weder der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg noch einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung zum Zweck der Promotion eingereicht wurde.

Ich erkläre, dass ich mich bisher noch nicht um den Doktorgrad beworben habe.

Ferner erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe.

Gatersleben, den 25.04.2003

Angaben zur Person

Name : Martin Barow
Wohnsitz : Hans-Stubbe-Straße 15
06466 Gatersleben
Geburtsdatum : 24.10.1969
Geburtsort : Delmenhorst

Ausbildung

Schulabschluss : Abitur im Juni 1989 in Neustadt am Rübenberge

Studium der Biologie : Oktober 1991 bis Mai 1997 an der Universität Potsdam
Abschlussnote : gut (1,7)

Weiterbildung : Erwerb des Zertifikats „Fachkraft für Umweltschutz“
von Januar 1998 bis Januar 1999 in Burgdorf bei Hannover

Doktorand : seit Juni 1999 am „Institut für Pflanzengenetik und
Kulturpflanzenforschung Gatersleben“

Tätigkeiten

- Zivildienst : von September 1989 bis November 1990 im Pflegedienst des Kreiskrankenhauses Neustadt am Rübenberge
- Pflegehelfertätigkeit : von Dezember 1990 bis März 1991 im Kreiskrankenhaus Neustadt
- Aushilfstätigkeiten : von April bis September 1991 im Kreiskrankenhaus Neustadt und in einem Kindergarten des Roten Kreuzes
- zwischen Juni und Dezember 1997 in verschiedenen Betrieben in Hannover
- Praktika : von Ende August bis Mitte November 1997 in einem Landschaftsplanungsbüro in Hannover
- 12.10.-18.12.1998 am Annastift in Hannover
- derzeitige Tätigkeit : seit Juni 1999 als Doktorand am „Institut für Pflanzen-genetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben“

Gatersleben, den 25.04.2003