HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Y-Geschlechtschromation in Ruhekernen der erwachsenen Blattzellen von Meeresphanerogame Phyllospadix
Author(s)	HARADA, Ititaro
Citation	Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University. Series 5, Botany, 11(2), 231-236
Issue Date	1978
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26358
Type	departmental bulletin paper
File Information	11(2)_P231-236.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Journ. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. V (Botany), **11** (2): 231-236, 1978.

Y-Geschlechtschromatin in Ruhekernen der erwachsenen Blattzellen von Meeresphanerogame *Phyllospadix*

Ititarô HARADA

Phyllospadix is a dioecious sea phanerogamous plant belonging to Helobiae (Monocotyledon). The male plant has a Y chromosome. In the intermitotic nucleus, and even in the so-called "resting nucleus" of differentiated adult tissues, the Y chromosome can be revealed as a heteropycnotic body (Y sex chromatin in this case). In this paper it was described that in all resting cell nuclei of grownup leaf tissues such a Y sex chromatin was also clearly observable. Therefore, one may identify the sexuality of this plant even at its non-flowering state by checking whether Y sex chromatin exists or not, using an arbitrary tiny piece of the adult leaf.

In manchen Meeresklippen der Ebbezoneküste des nördlichen Japan finden sich üpping zwei *Phyllospadix* Arten, *P. iwatensis* MIKI und *P. japonica* MIKI. Diese Gattung ist eine vertretende der in nördlichen Küsten gewachsenen "Meeresphanerogamen"; nach Engler's System gehört sie zur Familie Potamogetonaceae der Ordnung Helobiae der Monokotylen. Während zwei Arten sich durch ihre äusseren Gewächsformen, besonders die von Blättern, als auch durch Verbreitungslokalität scharf voneinander idenzifiziert werden (MIKI 1932), bieten sie keine Differenz in bezug auf zytologische Befunde (HARADA 1944, 1956).

Phyllospadix ist eine diözische (getrenntgeschlechtliche) Pflanzenart. Die männliche Pflanze besitzt ein eingentümliches Y Geschlechtschromosom, das durch seine grössere Länge als X chromosom wie auch Autosom leicht erkennt wird. Chromosomensatz ist wie folgend: Die weibliche Pflanze hat $2n=20=10$ Autosomen $+10$X Chromosomen; die männliche $2n=16=10$A$+5$X$+1$Y (HARADA 1944, 1956) (in einigen männlichen $2n=17$ oder 18, HARADA 1949).

In allen Interphasekernen der meristematischen Zellen von männlichen Pflanzen, *e.g.* in denen der Scheitelmeristemzellen der Wurzel- und Sprossspitze als auch in denen der meiotischen Zellen, erscheint das Y Chromosom als ein heteropyknotischer Körper mit kompaktem Umriss der Kugel- bzw. Stäbchenform und mit starker Chromatinfärbbarkeit (HARADA 1944,

1956). Überdies wurde solch heteropyknotisches Y Körperchen in sogenannten "Ruhekernen" der erwachsenen Braktenzellen von männlicher Blüte beobachtet (HARADA 1950).

Hier möchte ich vorläufig berichten, dass auch in den Ruhekernen der männlichen erwachsenen Blattzellen, die schon Blattgewebedifferenzierung vollendet und Mitosefähigkeit verloren haben, dies heteropyknotische Y Körperchen sich befindet. Also dürfe besprochen werden, dass es sich um ein erstes Beispiel des Vorhandenseins von Geschlechtschromatin, Y Geschlechtschromatin in diesem Fall, *im höheren Pflanzenreich* handle. Ob es auch in anderen Dauergewebezellen der männlichen *Phyllospadix*-pflanze ein solches gebe, würde im nächsten Bericht mitgeteilt.

Material und Methode

Die vollerwachsenen Blätter (ca. 5 bis 30 cm lang) der zwei Arten von *Phyllospadix* wurden verbraucht, deren eine *P. iwatensis* in Pazifikküste von Muroran (Hokkaido) und deren andere *P. japonica* in Japanseeküste der Provinz Fukui bekommt waren.

Ein bisschen Teil von Dauergewebe der erwachsenen Blätter wurde mit Carnoyflüssigkeit ohne Chloroform (3 Teile Ethanol : 1 Teil Eisessigsäure) etwa 10 Minuten fixiert; dann wurde dies Teilchen in 1 N HCl als Mazerationsmittel getaucht; nach ungefähr einer Stunde wurde es nach gewöhnlicher Quetschmethode mit Essigkarmin bzw. Essigorcein beobachtet.

Ergebnis

Als die klar männliche Pflanze verbrauchte ich natürlich die mit männlicher Blüte, und als die klar weibliche die mit weiblicher Blüte oder mit Frucht. Wenn eine *Phyllospadix*-pflanze keine Blüte oder Frucht besitzt, kann man gar nicht wegen des Fehlens etwaiger sekundärer Geschlechtscharaktere ihre Geschlechtsheit erkennen; aber in diesem Umstand ist es fähig die Geschlechtsheit zu idenzifieren, wenn man Geschlechtschromosommuster oder Y Heteropyknose in Meristemzellen prüfen könnte.

Ein grösseres heteropyknotisches Köprechen wurde klar in allen Ruhekernen der Blattdauergewebezellen von *Phyllospadix* Pflanzen erkannt, die mit der oben erörternten Weise als Männchen wahrgenommen waren; in anderer Hand kann man in Ruhekernen der weiblichen Blattzellen kein solch Körperchen finden. Also sollte man es als Y Heteropyknose oder Y Geschlechtschromatin nennen.

Y Geschlechtschromatin kommt dicht an Kernperipherie zwischen Kernmembran und sogenanntem "Hof" des Nukleolus vor. Es färbt sich stark

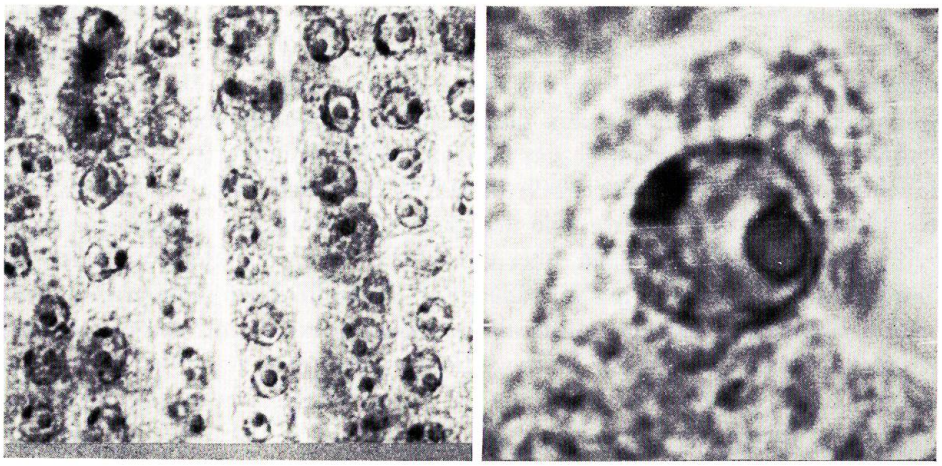

Fig. 1. Y Geschlechtschromatin in vollerwachsenen Blattgewebezellkernen von *Phyllospadix iwatensis* MIKI. Die schwarzen kleinen Körper sind Y Geschlechtschromatin. Die dunklen grossen sind Nukleoli. Links: Ein Teilchen der Blattepidermis. × ca. 500. Rechts: Eine Blattepidermiszelle. × ca. 1,500.

mit Karmin oder Orcein. Seine Form ist kugelig bis stäbchenähnlich. Merkwürdig ist, dass solch Y Geschlechtschromatin vielmehr grösser als Y Geschlechtschromosom selbst ist; die Grösse des Y Geschlechtschromatins verändert sich zwar etwas nach der Kerngrösse der Zellen von verschiedenen Blattgeweben, aber es ist immerhin so gross, dass man es mit relativ niedrigerem Mikroskopvergrösserungsgrad leicht beobachten kann. Y Geschlechtschromosom in Wurzelspitzemeristemzellen ist ca. 5 μ lang; dagegen ist Y Geschlechtschromatin in Blattzellen ca. 15 bis 20 μ in Durchmesser.

Abgesehen von einem Y Geschlechtschromatin sind keine anderen Chromatinstücke, wie Chromozentren, in Ruhekernen wahrgenommen.

Schlussbemerkung

An den Nichtmitosephasen kann man vielfach das Vorhandensein vieler Chromatinstücke in verschiedenen Tier- und Pflanzenarten mit Lichtmikroskop erkennen: In den intermitotischen Kernen der rasch teilenden Zellen kommen kleine Chromatinstücke vor, die seit alters als Chromozentren genannt sind (HEITZ 1929). Aber in den Ruhekernen der vollerwachsenen Dauergewebezellen gibt es im allgemeinen keine chromatischen Körper, die mit Lichtmikroskop sichtbar sind.

In anderer Hand find ein anderer Zustand in Bezug auf Geschlechtschromosom statt. Seit früherer Zeit war es gekannt, dass sich Geschlechts-

chromosom der verschiedenen Insektarten in Ruhekernen als ein pyknotischer Körper darstellt (WILSON 1925). In Arbeit an *Archips*, einer Art von Lepidoptera, hatte SMITH (1945) am ersten Mal besprochen, dass Erscheinung des heteropyknotischen Körpers des Geschlechtschromosoms in somatischen Ruhekernen für eine Diagnose der Geschlechtsheit nutzbar ist. An Säugetier haben BARR und BERTRAM (1949) berichtet, dass sich ein basophiler Körper in Ruhekernen der Neuronzelle lediglich in der Katze befindet. Nachher sind viele Abhandlungen über solche Existenz der Heteropyknose des Geschlechtschromosoms in verschiedenen Säugetierarten mitgeteilt; solch heteropyknotischer Körper wurde als Geschlechtschromatin, "sex chromatin", genannt (MOORE 1966). An Mennschheit handelt es sich um die Natur des Geschlechtschromatins im medizinischen bzw. sozialen Sinne (seit MOORE *et al.* 1953). Nicht nur X sondern auch Y stellt sich als Geschlechtschromatin an Mennschen dar (BORLOW & VOSA 1970).

In diözischen Pflanzen, bei denen das Vorhandensein des Geschlechtschromosoms bestimmt wahrgenommen sind, war keine Kenntnis über Geschlechtschromatin im oben erörternten Sinne mitgeteilt. Zum ersten Mal hatte ich das Vorkommen der Heteropyknose in Braktzellen der männlichen Blüte von *Phyllospadix* berichtet (HARADA 1950). Seitdem habe ich ihr Vorkommenmuster weiter in verschiedenen Dauergewebezellen an Männchen dieser Pflanze untersucht. Wie oben geschrieben, konnte ich einen heteopyknotischen Körper, recht ähnlich wie bei Braktenzellen, in den Ruhekernen der männlichen vollerwachsenen Blattdauergewebezellen klar und zwar leicht erkennen. Ob solcher auch in anderen männlichen Dauergewebezellen, *e. g.* Stengel-, Rhizom-, Wurzel-, Spadixzellen u. s. w., vorkommt, wird im nächsten Bericht mitgeteilt.

Ein oben beschriebener heteropyknotischer Körper in männlichen Blattzellkernen von *Phyllospadix* ist zweifellos Y Geschlechtschromatin. Erkennen eines Geschlechtschromatins in anderen höheren Pflanzen bleibt noch nicht berichtet; der Fall in *Phyllospadix* sei ein erster und einziger. In verschiedenen diözischen höheren Pflanzen, welche klare Geschlechtschromosomen besitzen, wie *Cannabis*, *Humulus*, *Melandrium*, *Rumex* u. s. w., war bis jetzt kein Geschlechtschromatin in diesem Sinne beobachtet. Aber in *Rumex* Arten färbt sich ein Teil von Y Chromosom in intermitotischen Kernen (nicht in Ruhekernen) oder in Prophasekernen stark heterochromatisch (ŻUK 1969). In Bezug auf niedrigen Pflanzen haben Tatuno und seine Schule umfangreiche Arbeiten über Heteropyknose der Autosomen und Geschlechtschromosomen in intermitotischen bzw. prophasischen Kernen an verschiedenen Moosarten veröffentlicht (eine vertretende: TATUNO *et al.* 1971).

Erkenntnis der Natur der Heterochromatie bzw. Heteropyknose des Geschlechtschromosoms von *Rumex* und Moosen sollte für Analyse um Wesen oder Entstehen des Y Geschlechtschromatins von *Phyllospadix* wichtig sein. Ausserdem muss man die Beschaffenheit von X oder Y Geschlechtschromatin an Tierreich im Zusammenhang mit der Lyonisation oder der genetischen Inertheit der Geschlechtschromosomen unentbehrlich überlegen, wenn man eine genetische Rolle des *Phyllospadix*-Y-Geschlechtschromosoms besprechen wollte.

Das Geschlechtsverhältnis (sex ratio) in geschlechtsgetrennten Lebewesen ist ein interessantes Problem in Biologie. In einem Entwicklungsstadium solcher Lebewesen, bei dem etwas Geschlechtscharaktere, sei primäre oder sekundäre, noch nicht entstanden sind, kann man nicht überhaupt ihre Geschlechtsheit unterscheiden ; wenn sie aber Geschlechtschromosomen haben, vermag man immerhin die Geschlechtsheit zu idenzifieren. Wenn es überdies Geschlechtschromatin im oben geschilderten Sinne in solchen Organismen gebe, so ist es sehr leicht ihre Geschlechtsheit, also Geschlechtsverhältnis, zu entscheiden. Vermöge der Erscheinung des Y Geschlechtschromatins möchte ich Geschlechtsverhältnis an *Phyllospadix* durchaus während gnazer Entwicklungsstadien, von Zygotzellen bis erwachsenen bzw. veralteten Pflanzen, untersuchen, was ich im nächsten Bericht mitteilen wollte.

Literaturverzeichnis

BARR, M. L. & BERTRAM, E. G. 1949. A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature **163** : 676–677.

BORLOW, P. & VOSA, C. G. 1970. The Y chromosome in human spermatozoa. Nature **226** : 961–962.

HARADA, I. 1944. Sex chromosome of *Phyllospadix*. Jap. Jour. Genet. **20** : 127–128.

———. 1946. On the multiple sex chromosome of *Phyllospadix*. Ibid. **24** : 8–9.

———. 1950. On the heteropycnosis of sex chromosome of *Phyllospadix*. Bot. Mag. Tokyo **63** : 24–25.

———. 1956. Cytological studies in Helobiae, I. Chromosome idiograms and a list of chromosome numbers in seven families. Cytologia **21** : 306–328.

HEITZ, E. 1929. Heterochromatin, Chromozentren, Chromomeren. Ber. d. deut. bot. Ges. **47** : 274–284.

MIKI, S. 1932. On sea-grasses new to Japan. Bot. Mag. Tokyo **46** : 774–788.

MOORE, K. L. 1966. The sex chromatin. Saunders Co., Philadelphia.

———, GRAHAM, M. A. & BARR, M. L. 1953. The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from a skin biopsy. Surg. Gynecol. Obstet. **96** : 641–648.

SMITH, S. G. 1945. Heteropycnosis as a mean of diagnosing sex. Jour. Hered. **36** : 195–196.

TATUNO, S. TANAKA, R. & YONEZAWA, Y. 1971. H^3-thymidine autoradiographic study on the heteropycnosis and DNA synthesis in *Calobryum rotundifolium* (n=9). Bot. Mag. Tokyo **84**: 88-93.

WILSON, E. B. 1925. The cell in eevelopment and heredity. 3rd ed. McMillan, New York.

ŻUK, J. 1969. Analysis of Y chromosome heterochromatin in *Rumex thyrsiflorus*. Chromosoma **27**: 338-353.