

## 5 Zusammenfassung

### I. DNA-Komponenten und deren Sequenzorganisation in Gerstezentromeren

Das Insert eines genomischen BAC-Klones der Gerste (BAC 03J24, hier BAC 7) ergab nach in situ Hybridisierung Signale ausschließlich an allen Gerstezentromeren. Nach Verdauung des Inserts mit *Dra* I und Southern-Hybridisierung mit dem Gerste-Homolog (pGP7) der zentromerspezifischen Sequenz *Sau3A9* aus Hirse bzw. mit dem Gerstehomolog (BSC2) der Getreidezentromer-spezifischen Sequenz CCS1 wurden identische DNA-Fragmente markiert wie nach entsprechender Hybridisierung von genomischer Gerste-DNA (**done by G. Presting**).

Dieser BAC-Klon wurde für die weiteren Untersuchungen ausgewählt. Sequenzierung und DNA-Fingerprinting zeigten, dass das Insert von ~23 kb drei nahezu identische Kopien des *Ty3/gypsy*-ähnlichen Retroelementes '*cereba*' (centromeric retroelement of barley) sowie eine Sequenz mit dem vorherrschenden Motiv AGGGAG enthält. Während *cereba* hohe Ähnlichkeit mit *gypsy*-Typ-Elementen anderer Getreidezentromeren aufwies, erwies sich die GC-reiche Satellitensequenz als Gerste-spezifisch. Es wurde gezeigt, dass beide Sequenzen die Hauptkomponenten der zentromerischen DNA von Gerste bilden. Die CCS1-Sequenzen repräsentieren, wie von Presting *et al.* (1998) vermutet, die LTR-Sequenzen des Retroelements.

Ein Gerstezentromer enthält ca. 200 *cereba*-Elemente (Presting *et al.* 1998) und damit eine höhere Elementdichte als für die Zentromeren von Weizen und Hirse anhand der Sequenzdaten entsprechender Klone geschätzt wurde. Die Vollständigkeit der *cereba*-Elemente ist deutlich höher als die der entsprechenden Retroelemente in zentromerischen Klonen anderer Getreide (Langdon *et al.* 2000).

Die funktionelle Bedeutung beider Sequenzkomponenten für die Gerste-Zentromeren bleibt jedoch unklar. Obwohl beide Sequenzen in mitotisch und meiotisch stabilen Telosomen der Gerste mengenmäßig unter die Nachweisgrenze für die in situ-Hybridisierung fallen können (T.R. Endo, pers. Mitteilung), sind zentromerspezifische Retroelemente und Tandem-Repeats des Mais anscheinend an der Bindung des zentromerspezifischen Kinetochore-Proteins CENP-A (Variante des Histons H3 in zentromerischen Nukleosomen) beteiligt (Zhong *et al.* in press). Damit bleibt die Frage, ob die Kinetochorposition bei Getreide epigenetisch reguliert ist, weiterhin offen.

## **II. Zur oberen Toleranzgrenze für die Chromosomengröße bei Gerste**

Die Beobachtung einer unvollständigen mitotischen Schwesterchromatidentrennung für den rekombinant verlängerten Chromosomenarm 6<sup>1/7</sup>L der Gerste, das Vorkommen von Kleinkernen in meristematischen Zellen und die reduzierte Wüchsigkeit von Gerstepflanzen, die das verlängerte Chromosom enthalten, entsprechen den Befunden, die früher für die Ackerbohne erhoben wurden (Schubert and Oud 1997).

Bei Gerste wie bei Ackerbohne bewirken Chromosomenarme, deren Länge die Hälfte der durchschnittlichen Spindelachsenlänge während der Telophase nur geringfügig überschreitet, mitotische Störungen. Während der Meiose werden die Schwesterchromatiden der verlängerten Chromosomenarme auf Grund der längeren Spindelachse in Meiozyten problemlos getrennt. Pflanzen mit homozygot verlängerten Chromosomenarmen zeigen außer schwächerer Wüchsigkeit auch reduzierte Fertilität, die offenbar auf mitotische Störungen in frühen Embryonalstadien zurückgeht. Bei der Ackerbohne nehmen die nachteiligen Effekte auf die Mitose und die

Pflanzenentwicklung proportional mit der Länge der Chromosomenarme nach dem Überschreiten der Hälfte der Spindelachsenlänge zu. Der Chromosomenarm  $6^{1/7}L$  der Gerste überschreitet dieses Maß nur geringfügig. Eine weitere Verlängerung durch Rekombination mit einem geeigneten Translokationschromosom läßt eine Verstärkung der Effekte hinsichtlich der unvollständigen mitotischen Trennung der Schwesterchromatiden, der Kleinkernbildung und der Störungen der Pflanzenentwicklung und der Fertilität in den Trägerorganismen erwarten. Diese Ergebnisse zeigen, dass die beschriebene Chromosomenarmverlängerung auf Grund der Mitosestörungen über Kleinkernbildung (Chromatin-Deletion) zum Zelltod führen kann (Schubert *et al.* 1998a).

Da das Absterben meristematischer Zellen die Gewebedifferenzierung und die gesamtorganismische Entwicklung beeinträchtigt, stellt die halbe Spindelachsenlänge (während der Telophase) die obere Toleranzgrenze für die Chromosomenarmlänge dar. Diese Regel scheint, wie durch die Daten an Gerste bestätigt wurde, zumindest für höhere Pflanzen allgemein gültig zu sein.