

# Synaptonemal Complex und Chromosomenstruktur in der achiasmatischen Spermatogenese von *Panorpa communis* (Mecoptera)

Bernhard Welsch

Institut für Genetik der Ruhr-Universität Bochum

## Synaptonemal Complex and Chromosome Structure in the Achiasmatic Spermatogenesis of *Panorpa communis* (Mecoptera)

*Abstract.* Meiotic prophase in the spermatocytes of *Panorpa communis* was studied. There is a proper sequence of meiotic stages in the testes. Therefore the temporal development of chromosome structure and the synaptonemal complex (SC) could be studied exactly. The structure and function of the SC are interpreted in a new model.—The chromosomes have a lambrush form from leptotene to diakinesis. At leptotene each chromatid produces an additional axis of basic protein and RNA. The axis becomes one of the lateral elements of the SC. At pachytene the DNA of the bivalents is separated into three regions: 1. Most of the DNA forms long loops outside the SC. 2. Smaller portions of the DNA filaments are twisted around the lateral elements of the SC. 3. Short DNA loops (called pairing loops) extend into the pairing space. In *Panorpa* the SC is composed of two lateral elements (chromosome axes), which are connected by equally spaced transverse filaments, a ladder-like central element in the middle of the pairing space and, on each side of the pairing space parallel to the lateral elements, two RNA containing strands. These are regarded as connected RNA copies of the pairing loops and are responsible for the exact pairing of homologous chromosome segments. At diplotene the axes of the sister chromatids separate to form “double complexes” with four lateral elements. The double complexes of the oocytes contain only transverse filaments between the axes of the homologous chromatids. After a short time they disappear again and the homologues separate to form the chiasmatic bivalents. In the spermatocytes all four chromatid axes are connected by transverse filaments. The pairing complex persists until diakinesis, thereby causing the suppression of the diplotene stage in the light microscope. This may be the only reason for the achiasmatic meiosis in the spermatocytes of *Panorpa*. (Zusammenfassung see p. 68.)

### A. Einleitung

Seit der Entdeckung des „synaptonemal complex“ (SC) durch M. J. Moses im Jahre 1956 ist diese Paarungsstruktur, die zwischen homologen Chromosomen während der meiotischen Prophase ausgebildet wird, von verschiedenen Autoren in fast allen daraufhin untersuchten Organismen gefunden worden (Literatur bei Moses, 1968).

Nur bei wenigen Arten werden im männlichen Geschlecht keine SC gebildet. Dazu gehören die ♂♂ von *Drosophila melanogaster*, *Tipula caesia* und *Phryne fenestrata* (Meyer, 1964). Da die Spermatogenese in diesen Arten achiasmatisch verläuft, andererseits Chromosomenpaarung auch ohne SC auftreten kann (somatische Paarung), wurde angenommen, der SC sei eine Hilfsstruktur des crossing-over und nicht der Chromosomenpaarung (Moses und Coleman, 1964). Die Ausbildung eines SC sollte demnach immer mit einem chiasmatischen und das Fehlen eines SC mit einem achiasmatischen Meioseverlauf zusammenhängen. Diese Vorstellung mußte aufgegeben werden, nachdem auch bei achiasmatischen Meiosen — wie z. B. in den ♀♀ von *Pieris*, *Ephesia* und *Galleria* (Meyer: zit. Moses, 1968) sowie den ♂♂ von *Panorpa* und *Bolbe nigra* (Gassner, 1969) — SC gefunden wurden. Daraus folgt, daß die Ausbildung der SC in der Meiose zwar eine notwendige Voraussetzung für die Bildung von Chiasmata ist, daß sie andererseits aber nicht zwangsläufig eine chiasmatische Meiose zur Folge hat. Die Frage, welche Faktoren darüber hinaus für eine Chiasmabildung erforderlich sind, ist bisher ungelöst.

Da die Spermatogenese von *Panorpa* achiasmatisch, die Oogenese dagegen chiasmatisch verläuft (Ullrich, 1961), in beiden Geschlechtern aber SC ausgebildet werden (Keyl: zit. Gassner, 1967; Gassner, 1969), bietet sich bei diesem Objekt eine Vergleichsmöglichkeit zwischen beiden Paarungstypen.

Eine weitere Frage zielt auf die Stellung des SC bei dem strukturellen Aufbau der Chromosomen. Seine morphologisch enge Verflechtung mit den Chromosomenfibrillen spricht dafür, daß er während der meiotischen Prophase ein Bestandteil der Chromosomenstruktur sein könnte. Das Auftreten chromatinfreier Polykomplexe (Literatur bei Moses, 1968), bei deren Bildung sich anscheinend Bruchstücke der SC lateral zusammenlagern, läßt dagegen eher auf eine Selbständigkeit der Paarungsstruktur schließen.

Die vorliegenden Untersuchungen an *Panorpa communis* liefern einen Beitrag zur Klärung dieses Problems. Dazu wird ein neues Modell des SC entworfen. Im Zusammenhang damit werden die Veränderungen der Chromosomenstruktur während der meiotischen Prophase eingehend erörtert. Weiterhin werden die Beziehungen der Chromosomen zur Kernmembran beschrieben und eine damit verbundene Möglichkeit der Vororientierung homologer Chromosomen diskutiert.

## B. Material und Methoden

Als Untersuchungsobjekt diente die Skorpionsfliege *Panorpa communis* (Mecoptera), deren Larven in einem Brutschrank bei 20–22° C und 18/6-Std-Tag-Nachtrhythmus gezüchtet wurden. Die für die Untersuchungen verwendeten Hoden

stammten aus Vorpuppen und Puppen, die Ovarien wurden wenige Tage alten Imagines entnommen.

#### *Normalpräparationen*

Die Präparation erfolgte in Ephrussi-Beadle-Lösung (Ephrussi und Beadle, 1936). Von den Hoden wurde die Peritonealhülle — soweit schon ausgebildet — abgezogen. Die 3 Follikel eines Hodens wurden getrennt und rasch in kalten Glutaraldehyd-Phosphatpuffer übertragen. Die Ovarial-Follikel sind nicht von einem gemeinsamen Peritoneum umgeben; sie konnten daher ohne weitere Präparations-schritte in die Fixierungsflüssigkeit übertragen werden. Die Fixierung dauerte 1 Std bei 0—4° C. Die Gewebe wurden danach ein bis mehrere Stunden in 0,1 M-Phosphatpuffer mit einem Zusatz von 0,2 M Saccharose ausgewaschen und anschließend 2 Std mit 1 %iger OsO<sub>4</sub>-Lösung in Veronalpuffer nach Villegas (Plattner, 1970) nachfixiert. Nach Auswaschen des Fixierungsmittels in Phosphatpuffer-Saccharose wurden die Gonaden in der Alkoholreihe entwässert. Dabei fand eine Kontrastierung mit 1 % Uranylacetat in 70 %igem Alkohol statt. Die Einbettung der Gonaden erfolgte in Araldit, Spurr-Medium (Spurr, 1969) oder Glykolmethacrylat.

Am LKB-Ultratom III wurden 600—2500 Å dicke Schnitte für elektronenmikroskopische Beobachtungen und 1—3 µm dicke Schnitte für lichtmikroskopische Untersuchungen hergestellt. Die zur Lichtmikroskopie bestimmten Schnitte wurden mit einer 1 %igen Toluidinblaulösung in 1 %iger Boraxlösung bei 40° C mehrere Stunden gefärbt.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen stand ein Siemens Elmiskop 101 zur Verfügung.

Zur genauen Identifizierung der Meiosestadien in den elektronenmikroskopischen Schnitten dienten verschiedene Methoden:

1. Es wurden abwechselnd Schnitte für licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen angefertigt.

2. Sehr genaue Vergleiche von licht- und elektronenmikroskopischen Strukturen waren dadurch zu erreichen, daß 3—5 µm dicke Schnitte lichtmikroskopisch untersucht und fotografiert wurden. Nach erneuter Einbettung in Araldit konnten diese für elektronenmikroskopische Beobachtungen ultradünn geschnitten werden.

3. Zur Voruntersuchung und Einbettung einzelner Spermatozyten wurden die Zellen auf einem gelatinisierten Objektträger in einem Tropfen Ringerlösung ausgebreitet, mit einem silikonierten Deckglas zugedeckt und unter dem Deckglas mit Glutaraldehyd-Phosphatpuffer fixiert. Es konnten nun bestimmte Zellen gesucht, fotografiert und ihre Lage auf dem Objektträger notiert werden. Der Objektträger wurde darauf mit dem Deckglas nach unten in eine schräg stehende Küvette mit Glutaraldehyd-Phosphatpuffer gestellt. In der Regel fiel nach einigen Minuten das Deckglas ab. Die Präparate blieben 30 min in der Fixierungslösung und konnten dann wie Quetschpräparate weiterbehandelt werden. Zur Einbettung wurden die Präparate auf eine Schablone mit Koordinateneinteilung gelegt. Die gewünschten Stellen konnten so leicht wiedergefunden und auf die Zellen eine mit Araldit gefüllte Gelatine kapsel aufgesetzt werden. Nach dem Polymerisieren wurden die Kapseln vom Objektträger abgerissen.

#### *Histochemische Präparationen*

a) *Actinomycin D-Behandlung.* Um die Strukturveränderungen nach Hemmung der RNA-Synthese zu untersuchen, wurden die Hoden nach der Präparation für 1—24 Std in eine Lösung von Actinomycin D (Konz. 0,2 mg/ml) in 5:1 verdünntem

Hanks-Ringer gebracht. Nach der Inkubationszeit wurden die Hoden in Ringer abgespült und das Peritoneum abgezogen. Die weitere Behandlung erfolgte wie bei den Normalpräparaten. In Kontrollversuchen konnte ermittelt werden, daß die Gonaden einen Aufenthalt in Ringerlösung bis zu 48 Std ohne Strukturveränderungen überleben. Ovarial-Schläuche zeigen nach dieser Zeit immer noch ihre peristaltischen Bewegungen.

*b) Spezifische Kontrastierungen.* Zur Lokalisation der DNA und RNA in den Strukturen nach reiner Aldehydfixierung der Follikel (1 Std mit 6,5%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Phosphatpuffer bei pH 7,3 oder 2 Std mit 4%igem Formaldehyd-Phosphatpuffer bei pH 6,5) wurden die Schnitte 5 min mit einer 5%igen wäßrigen Uranylacetatlösung vorkontrastiert und anschließend mit Bleicitrat nach Reynolds (1963) behandelt. Das Bleicitrat verstärkt dabei hauptsächlich die Kontrastierung der Nucleinsäuren durch das Uranylacetat. Strukturen aus Proteinen und Lipoproteinen werden nur sehr schwach dargestellt. Man erhält auf diese Weise eine recht spezifische Kontrastierung der Nucleinsäuren (Huxley und Zubay, 1961).

Als besonders günstig zur Darstellung der Nucleinsäuren hat sich auch die Behandlung der Gewebe mit Uranylacetatlösung vor oder während der Entwässerung erwiesen. Dabei werden die Gonaden nach Aldehydfixierung 1 Std mit 1%iger Uranylacetatlösung in 50%igem Äthanol inkubiert. Diese Methode führt zu einer gleichmäßigeren Kontrastierung der Präparate als die Nachbehandlung der Schnitte, sie ist vom Einbettungsmittel unabhängig.

Zur Identifizierung der Proteine, speziell der basischen Proteine, ist die Methode nach Bloom und Aghajanian (1966) geeignet. Die Präparate werden nach Aldehydfixierung und Entwässerung 14 Std bei 4° C in 1%iger Phosphorwolframsäure in 100%igem Äthanol kontrastiert. Wegen der engen Verbindung der DNA mit den Histonen werden bei dieser Methode auch die DNA-haltigen Strukturen in den Präparaten hervorgehoben.

*c) Enzymabbau.* Um DNA- und RNA-haltige Strukturen zu unterscheiden, wurden die Follikel nach Formol-Fixierung 3 Std mit DNase (1 mg/ml in 0,1 M Phosphatpuffer bei pH 6,5 unter Zusatz von 0,003 M  $MgSO_4$ ) oder 2 Std mit RNase (1 mg/ml in 0,1 M Phosphatpuffer) bei 37° C behandelt. Eine andere, später angewandte Methode ergab bessere Ergebnisse: Die Präparate wurden 15 min bei 4° C mit Glutaraldehyd-Phosphatpuffer vorfixiert, mehrere Stunden mit Phosphatpuffer-Saccharose ausgewaschen und anschließend 4 Std mit DNase oder RNase bei 20° C behandelt. Da die Gewebe nach reiner Aldehydfixierung in wäßrigen Lösungen noch osmotisch empfindlich sind (Bone und Denton, 1971), wurden die Enzymlösungen durch einen Zusatz von 0,2 M Saccharose isotonisch gemacht. Anschließend an die Enzymbehandlung erfolgte eine einstündige Nachfixierung in Glutaraldehyd-Phosphatpuffer. Die Präparate wurden bei der Entwässerung mit Uranylacetat oder Phosphorwolframsäure kontrastiert (s.o.).

Zu den Abbauversuchen wurden jeweils Kontrollpräparate mit entsprechend langem Aufenthalt in dem reinen Lösungsmittel angefertigt.

*d) DNA-Bleichung mit EDTA.* Als Parallelversuch zum Abbau der DNA durch DNase diente die Methode der DNA-Bleichung durch EDTA von W. Bernhard (1969). Glykolmethacrylat-Schnitte von aldehydfixierten Follikeln wurden für 1 min in 0,5%igem wäßrigen Uranylacetat vorkontrastiert, 2 min in einer 0,2 M EDTA-Lösung vom pH 7 ausgewaschen und anschließend 1 min in Bleicitrat nachkontrastiert (Einbettungsmethode bei Leduc und Bernhard, 1967). Durch die EDTA-Behandlung wird das Uranylacetat an den DNA-Strukturen wieder entfernt, so daß die nachfolgende Bleicitrat-Kontrastierung nur den Kontrast an den RNA-Strukturen erhöht. DNA-Bereiche erscheinen ausgebleicht.

e) *Lichtmikroskopische Vergleichsfärbungen.* Für lichtmikroskopisch histochemische Untersuchungen wurden die Feulgen-Färbung und die Färbung mit Methylgrün-Pyronin an Quetsch-Präparaten und an Glykolmethacrylat-Schnitten durchgeführt.

## C. Ergebnisse

### I. Lichtmikroskopische Voruntersuchungen

Die etwa 2 mm langen Hodenfollikel von *Panorpa communis* bestehen aus einem lang zugespitzten distalen Abschnitt und einem bauchigen proximalen Teil. In dem distalen Bereich, der bei den Puppen etwa  $\frac{1}{4}$  der Gesamtlänge des Follikels ausmacht, finden die Reifeteilungen statt. Der proximale Follikelabschnitt enthält Spermatiden verschiedenen Alters und reife Spermien.

Die Verteilung der Spermatogenese-Stadien folgt einem zeitlichen Gradienten von der Spitze zur Basis des Follikels. In der Follikelspitze liegen die primären Spermatogonien. Ihre Kerne haben einen Durchmesser von 10  $\mu\text{m}$ . Die Innenstruktur der Kerne besteht aus feinen retikulären Fasern und breiten Chromozentren, die größtenteils peripher mit der Kernmembran verklebt sind. Auf die primären Spermatogonien folgen Gruppen von 2—16 Zellen, deren Kerne in Größe und Aussehen den vorher beschriebenen gleichen. Alle von einer primären Spermatogonie abstammenden Zellen sind durch Bindegewebe zu einer Cyste zusammengefaßt. Mitosestadien sind in diesen Cysten selbst bei ganz jungen Hoden recht selten zu beobachten. In Serienschnitten wurden mehrfach Zellgruppen gefunden, die neben Interphase-Stadien nur *eine* Metaphase-Zelle enthielten (Abb. 1). Das deutet darauf hin, daß sich die Spermatogonien im Gegensatz zu den Spermatocyten innerhalb einer Cyste asynchron entwickeln.

Auf das 16-Zell-Stadium der Spermatogonien folgen Cysten, die durch besonders kleine Zellen auffallen. Die Kerne haben einen Durchmesser von 6  $\mu\text{m}$ , ihre Innenstruktur unterscheidet sich deutlich von den Spermatogonien. Die Chromozentren sind größer als in den Spermatogonienkernen und über den ganzen Kernraum verteilt, die retikulären Fasern rücken stellenweise dichter zusammen. Diese Zellgruppen enthalten im Endstadium stets 32 Zellen. Da auch die folgenden Cysten stets 32 Zellen enthalten, muß es sich hierbei um die frühen Spermatocyten-Stadien handeln. Wie Markierungen mit  $^3\text{H}$ -Thymidin zeigen, befinden sich die Zellen in der prämeiotischen DNA-Synthese-Phase.

Die Spermatogonien-Entwicklung umfaßt bei *Panorpa* fünf Mitosezyklen. In der darauf folgenden prämeiotischen Wachstumsphase, in der sich die Spermatocyten innerhalb einer Cyste synchron entwickeln, vergrößert sich der Kerndurchmesser von anfangs 6  $\mu\text{m}$  auf 16  $\mu\text{m}$ ; das bedeutet eine Volumenzunahme um etwa das 20fache.

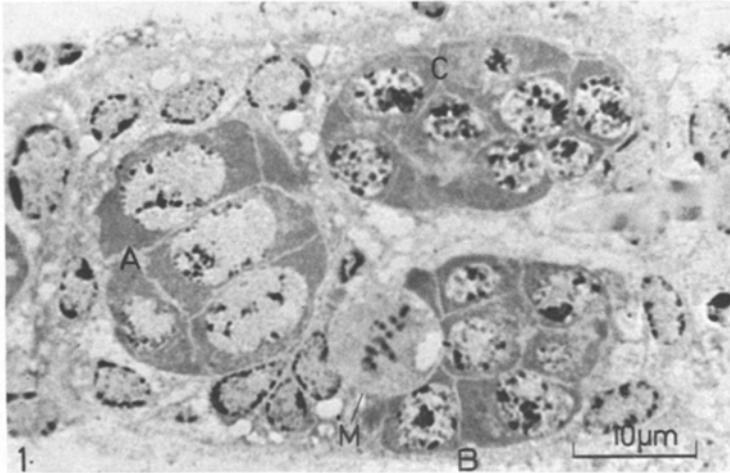


Abb. 1. Ausschnitt aus der Spitze eines Hodenfollikels. Alle aus einer primären Spermatogonie hervorgegangenen Zellen sind durch Bindegewebe zu einer Cyste zusammengefaßt. Cyste *A* enthält 16 Spermatogonien, deren Kerne einheitlich einen Durchmesser von  $10\ \mu\text{m}$  haben. In Cyste *B* läuft gerade die letzte Spermatogonienteilung ab: Neben 30 Spermatocyten mit einem Kerndurchmesser von  $6\ \mu\text{m}$  ist noch 1 Metaphase-Zelle (*M*) vorhanden. Anscheinend teilen sich die Spermatogonien innerhalb einer Cyste asynchron. In Cyste *C* sind 32 Spermatocyten der frühen Prophase (Leptotän) vereinigt. Von diesem Stadium an läuft die Entwicklung aller Spermatocyten innerhalb einer Cyste genau synchron. Araldit-Schnitt,  $1\ \mu\text{m}$  dick. Färbung mit Toluidinblau. Die Anzahl der Zellen wurde an Serienschnitten ermittelt

Die vor dem Pachytän liegenden Prophasestadien sind wegen der Verklumpung des Heterochromatins lichtmikroskopisch nicht voneinander zu unterscheiden. Erst ab einer Kerngröße von  $11\ \mu\text{m}$  werden die Strukturen deutlicher. Die Chromozentren lösen sich auf, und es werden einzelne Chromosomen mit typischer Pachytänstruktur sichtbar. Die Chromosomen zeigen auch in den Schnittpräparaten die von Ullerich (1961) beschriebene Struktur mit dem Paarungsspalt und den langen heterochromatischen Endabschnitten. Dabei laufen die Bivalente in großen Schleifen durch den Kernraum. Eine Bukettanordnung tritt bei den Spermatocyten nicht auf.

Die Chromosomen behalten diese Form bis zu einem Kerndurchmesser von  $13\ \mu\text{m}$ , danach werden sie stabförmig. Von diesem Zeitpunkt an verlieren die Bivalente an Färbbarkeit, bis sie lichtmikroskopisch kaum noch sichtbar sind. Während dieser „diffusen Phase“, die nach den elektronenmikroskopischen Befunden dem Diplotän entspricht, wird der Wachstumsprozeß abgeschlossen.

Die folgenden Stadien werden offensichtlich sehr rasch durchlaufen. Jedenfalls findet man pro Follikel in den meisten Fällen nur *eine* Cyste in einem Stadium zwischen der Diakinese und der Telophase I. In der Diakinese lösen sich die Zellen voneinander. Sie liegen in der Metaphase durch weite Interzellulärräume getrennt nebeneinander, bleiben aber noch von der Bindegewebshülle umschlossen. Die Spermatocyten 2. Ordnung schließen sich bis zum Beginn der Metaphase II wieder dicht zusammen. Der auf einen Durchmesser von  $10\ \mu\text{m}$  verkleinerte Zellkern enthält in der Prophase II keine lichtoptisch definierbaren Strukturen.

## II. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

### 1. Chromosomenstruktur und Paarungskomplex in den Spermatocyten

#### a) Präleptotän

Während die Spermatogonienkerne auch im Elektronenmikroskop den gleichen Aufbau wie im Lichtmikroskop zeigen — nämlich stark verklumpte DNA-Massen an der Kernmembran und retikuläre Fasern im Kerninnern (Abb. 2), lassen die Spermatocytenkerne des Präleptotän mehr strukturelle Einzelheiten erkennen (Abb. 3a—c). Unregelmäßig geformte Chromatinschollen, die aus dicht gepackten Fibrillen bestehen, sind über den ganzen Kernraum verteilt. Dazwischen laufen in unterschiedlich dichten Ansammlungen  $50\text{--}80\ \text{Å}$  dicke Fäden, die sich oft in ihrem zickzack- oder spiralförmigen Verlauf über längere Strecken verfolgen lassen (Abb. 3c). Stellenweise lagern sie sich zu Faserbündeln zusammen. Es entsteht der Eindruck, daß sich die vorher extrem entspiralisierten Chromosomenpartien allmählich kontrahieren. Die stark verknäuelten Chromatinschollen lockern sich dagegen mehr und mehr auf. Einzelne Chromosomen lassen sich aber noch nicht voneinander abgrenzen. Ebenso wie in der mitotischen Interphase sind die Fibrillenbündel häufig mit der Kernmembran verbunden. Sie besitzen an den Ansatzstellen knotenartige Verdickungen (Abb. 3b).

#### b) Leptotän

Mit Beginn des Leptotäns schreitet die Entknäuelung der Chromatinschollen weiter fort, während sich die dazwischenliegenden feinen Fäden immer mehr verdichten und ordnen, so daß im elektronenmikroskopischen Bild schließlich Anschnitte von abgrenzbaren Chromosomen sichtbar werden. Die jetzt klar erkennbaren Chromosomenenden sind mit der Kernmembran in Kontakt. Als neues Strukturelement tritt in jedem Chromosom eine  $300\text{--}350\ \text{Å}$  dicke stabförmige Achse auf (Abb. 4—9). Sie besteht aus mehreren (ca. 10) miteinander verdrehten  $50\text{--}80\ \text{Å}$  dicken Fibrillen (Abb. 5). Längs- und Querschnitte zeigen, daß die Achse in der Mitte der Chromosomen verläuft (Abb. 4).

Durch Actinomycin D kann die Ausbildung der Achsen verhindert werden. Achsenstrukturen, die zu Beginn der Actinomycin-Behandlung bereits teilweise ausgebildet waren, bleiben in einem unfertigen Zustand erhalten. Sie haben dann nach 4 Std Actinomycin-Einwirkung nur noch einen Durchmesser zwischen 50 und 100 Å und bestehen aus 1 oder 2 Fibrillen (Abb. 7). Waren die Hoden nur 1 Std dem Actinomycin ausgesetzt, so sind zwar die Chromosomenachsen in voller Stärke ausgebildet, haben aber eine deutlich geringere Elektronendichte als in den unbehandelten Präparaten (vgl. Abb. 5 und 6).

An den Leptotänchromosomen lassen sich bereits eu- und heterochromatische Bereiche abgrenzen (Abb. 8). Das Heterochromatin löst sich nur langsam aus den Chromatinschollen des Präleptotän und besteht noch weitgehend aus stark verknäuelten Fibrillen. Dagegen hat die DNA des Euchromatins ein Seitenschleifenmuster gebildet, wie es für Lampenbürstenchromosomen typisch ist (Abb. 4 und 8). Wie Querschnitte durch Chromosomen zeigen, gehen die Seitenschleifen von der Chromosomenmitte in einem Radius von 0,4 µm symmetrisch nach allen Seiten aus (Abb. 4). In der Chromosomenmitte winden sich die DNA-Stränge um die Achse (Abb. 5 und 6). Wie auf Abb. 9 zu sehen ist, bestehen die Achsen aus zwei gleichartigen Hälften, die hier ausnahmsweise an einigen Stellen auseinanderlaufen. Jede Hälfte wird getrennt von DNA-Fibrillen umwunden. (Die Lampenbürstchenstruktur und die räumliche Anordnung der Seitenschleife sind nur an dickeren Schnitten erkennbar. Deshalb wurden von allen Meiose-Stadien bis zu 2500 Å dicke Schnitte angefertigt.)

Nach Ausbildung der Achse haben die Chromosomen einen Verkürzungsgrad erreicht, den sie bis zum Beginn der Diakinese beibehalten. Das läßt sich aus der Anzahl der Chromosomenanschnitte pro Kernquerschnitt ableiten. Sie beträgt im Leptotän 21, im Zygotän 22, im

Abb. 2. a Kern einer Spermatogonie in mitotischer Interphase. Der größte Teil des Kernraums wird von gleichmäßig verteilten feinen Fibrillen ausgefüllt, von denen einige an der Kernmembran enden (Pfeile). Die Chromatinschollen liegen hauptsächlich peripher an der Kernmembran. b Beginn der mitotischen Prophase. Ansatzstelle (A) eines Chromosoms an der Kernmembran in stärkerer Vergrößerung. Araldit-Schnitte ca. 2000 Å dick

Abb. 3a—c. Präleptotän. a Kern einer Spermatoocyte. Hetero- und euchromatische Chromosomen-Bereiche sind über den ganzen Kernraum verteilt. Die Chromosomen beginnen mit der Ausbildung der Lampenbürstchenstruktur (Pfeile). An einigen Stellen sind Ansatzpunkte der Chromosomen an der Kernmembran zu sehen (A). b Ansatzstelle der Chromosomen an der Kernmembran in stärkerer Vergrößerung. Die DNA-Fibrillen enden an der Kernmembran mit einer knotigen Verdickung (Pfeile). c Die euchromatischen Chromosomenabschnitte durchlaufen den Kern als ziehzack-förmige Fäden (Pfeile), während das Heterochromatin (H) noch stark verknäuel ist. Araldit-Schnitte: a ca. 2000 Å, b und c ca. 1000 Å dick

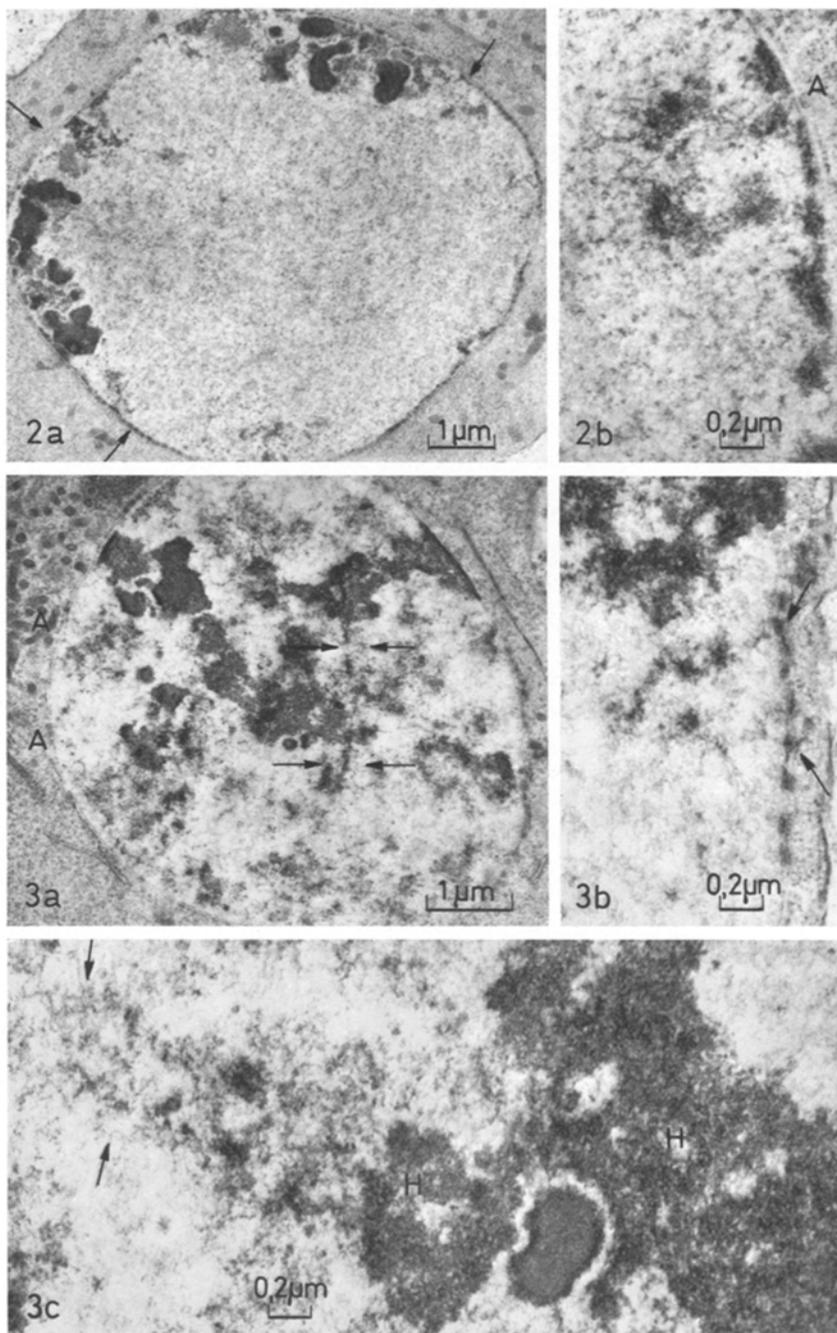


Abb. 2a, 2b, 3a—3c

Pachytän 24, im Diplotän 25 und fällt in der Diakinese auf 15. Die geringere Zahl der Chromosomenanschnitte im Leptotän und Zygotän beruht wahrscheinlich darauf, daß die Einzelachse schwerer zu erkennen ist als die Doppelstruktur des SC. Wären die Chromosomen im Leptotän länger als im Pachytän, so müßte sich eine weitaus größere Zahl von Chromosomenanschnitten im Leptotän als im Pachytän finden lassen, zumal die Chromosomen in den kleineren Leptotänkernen dichter gepackt und damit stärker gewunden sind.

Gegen Ende des Leptotänstadiums haben sich die vorher unregelmäßig im Kernraum verteilten Chromosomen bereits paarweise genähert.

### c) Zygotän

Nachdem jedes Chromosom eine Mittelachse ausgebildet hat, setzt die Paarung der Homologen ein. Bei der Annäherung der Partner bis zu einem Achsenabstand von 2000 Å (die Maße geben den Abstand der Achsenmitten an) lassen sich keine Verbindungsstrukturen erkennen. Im Paarungsbereich werden lediglich die Seitenschleifen ein wenig nach außen gedrängt, so daß zwischen den Chromosomenachsen ein freier Raum entsteht (Abb. 10a). Die in Längsschnitten erkennbaren Verbindungen zwischen den homologen Chromosomen werden nur durch Überlagerung der Seitenschleifen vorgetäuscht (vgl. Abb. 10a und 11). Bei einem Achsenabstand unter 2000 Å werden an Querschnitten die ersten Paarungsstrukturen zwischen den Achsen sichtbar. Es sind zunächst gleichmäßig dünne 50 Å-Fibrillen, die in gerader Linie die Chromosomenachsen verbinden (Abb. 10b). Bei einer Distanz von 1500 Å ist die Paarungsstruktur fertig ausgebildet. In Querschnitten sind meistens 4 parallel liegende Querfibrillen zwischen den Chromosomenachsen zu erkennen (Abb. 10c).

Abb. 4. Leptotän. Die Lampenbürstenstruktur der euchromatischen Chromosomenabschnitte ist fertig ausgebildet (Pfeile). Jedes Chromosom besitzt eine zentrale Achse aus RNA und basischen Proteinen (*A*), von der die DNA-Seitenschleifen radial nach allen Richtungen ausgehen (s. Querschnitte *Q*). Schnittdicke ca. 1500 Å

Abb. 5. Leptotän. Die Chromosomenachse besteht aus mehreren miteinander verdrehten 50—80 Å dicken Fibrillen (*AF*). Kurze Anschnitte der DNA-Fibrillen (Chromatiden) winden sich um die Achse herum (□□□)

Abb. 6. Leptotän. Nach 1-stündiger Behandlung mit Actinomycin D hat die Chromosomenachse deutlich an Elektronendichte verloren, obwohl ihre Dicke unverändert erscheint. An der schwach kontrastierten Achse sind die Abschnitte der DNA-Fibrillen, die sich um die Achse winden, gut zu erkennen (□□□). Die peripheren Bereiche der Seitenschleifen sind durch den Actinomycin-Einfluß verknäuel

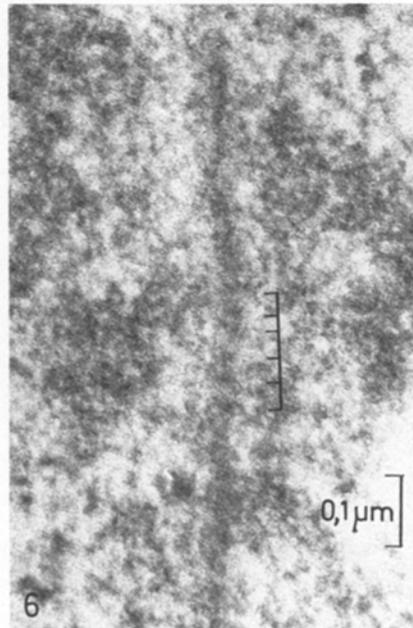
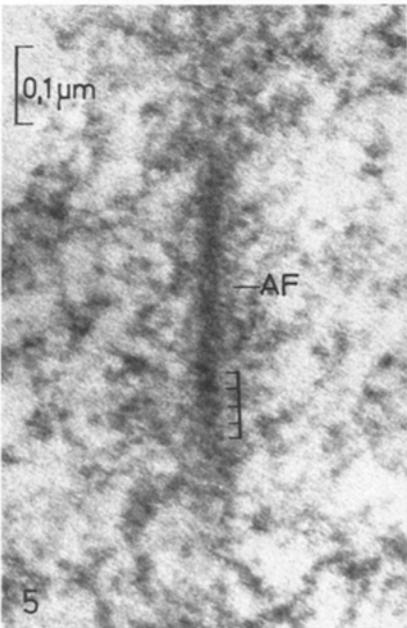
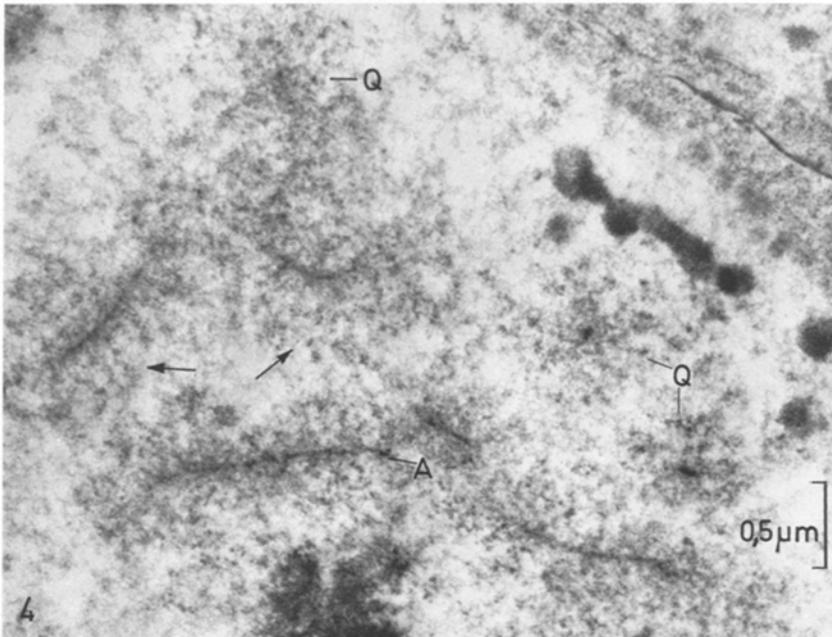


Abb. 4—6

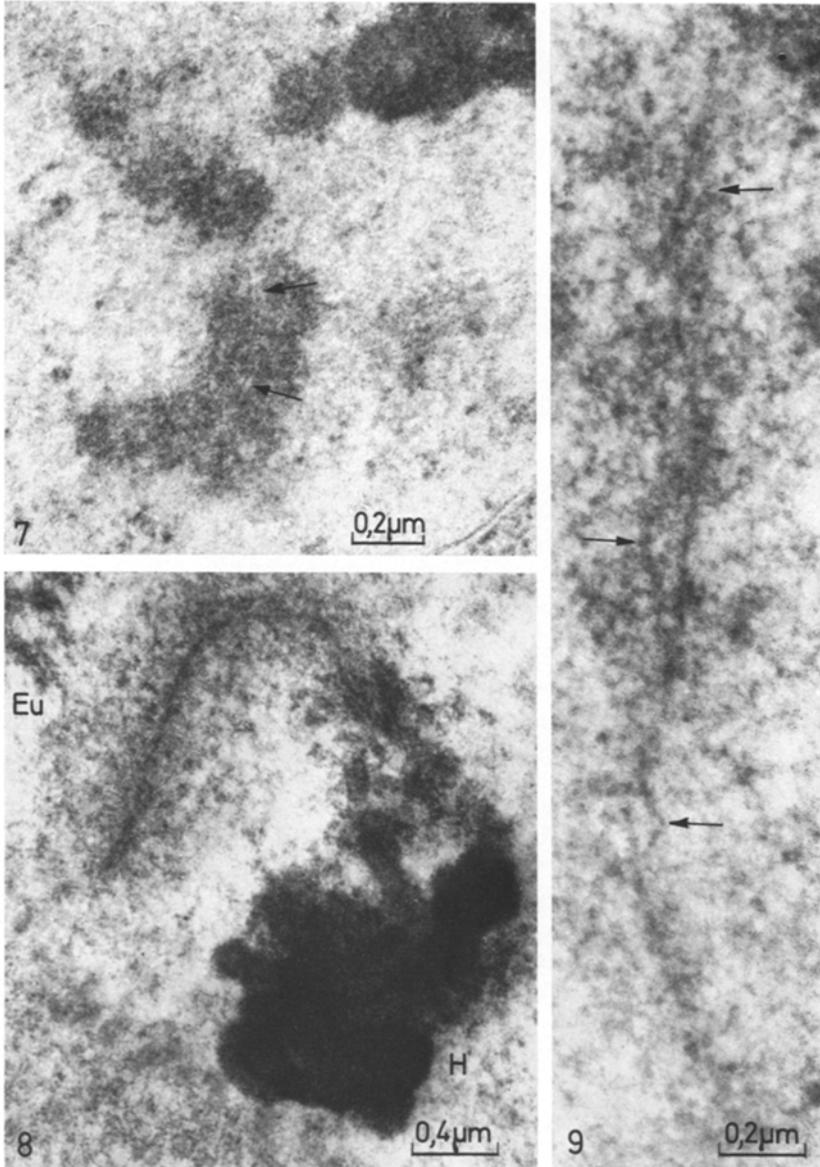


Abb. 7. Leptotän. Nach 4stündiger Actinomycin-Einwirkung ist die Ausbildung der Chromosomenachse stark unterdrückt. Die Pfeile kennzeichnen unvollständige Achsenabschnitte. Die Achse besteht nur noch aus 2 Fibrillen von 40—50 Å Dicke

Abb. 8. Leptotän. Chromosom mit eu- und heterochromatischem Abschnitt. Während das Euchromatin (*EU*) schon fertig ausgebildete Lampenbürstenstruktur besitzt, ist das Heterochromatin (*H*) noch fast vollständig verklumpt. Schnittdicke ca. 2000 Å

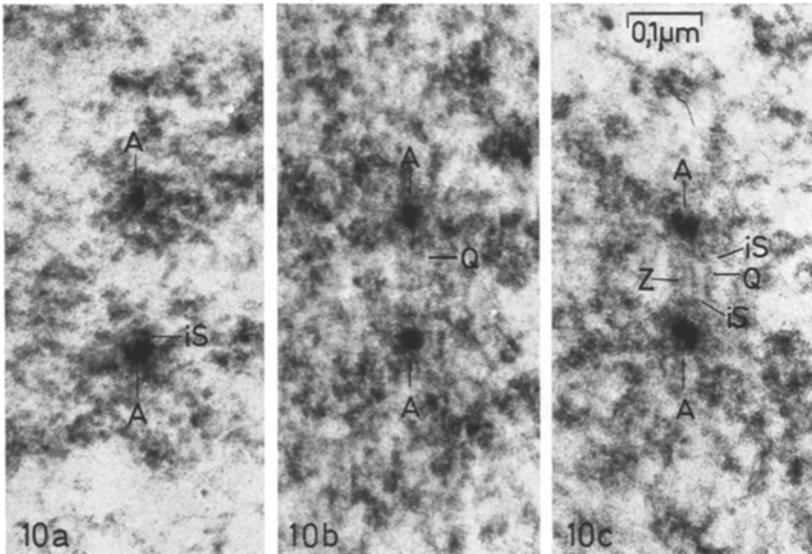


Abb. 10a—c. Zygotän. Querschnitte durch Bivalente. a Bei einem Achsenabstand von 2000 Å sind noch keine Verbindungsstrukturen zwischen den Chromosomenachsen (*A*) zu erkennen. Die DNA-Seitenschleifen werden in der Paarungsebene auseinandergedrängt, so daß ein freier Raum zwischen den Chromosomen entsteht. Die beiden mit *iS* bezeichneten Punkte neben der unteren Chromosomenachse sind möglicherweise Querschnitte der inneren Stränge der lateralen Elemente. b Verringert sich der Chromosomenabstand, so treten die ersten Querverfibrillen (*Q*) als gerade Verbindung zwischen den Achsen auf. c Bei einem Achsenabstand von 1500 Å ist die Paarungsstruktur fertig ausgebildet. Die Querverfibrillen sind kürzer und dicker geworden, die inneren Stränge der lateralen Elemente und die Längsstränge des zentralen Elements sind zu erkennen. *A* Chromosomenachsen (= laterale Elemente des SC), *Q* Querverfibrillen, *Z* Zentrales Element, *iS* innere Stränge der lateralen Elemente

Wie der Abb. 11 zu entnehmen ist, scheint die Paarung von den distalen euchromatischen Chromosomenabschnitten auszugehen, während die mit der Kernmembran verklebten heterochromatischen Enden zu diesem Zeitpunkt noch weiter auseinander liegen. Zwischen ihnen ist eine unregelmäßige Vernetzung der unterdessen stark aufgelockerten Chromatin-Fibrillen zu sehen.

Abb. 9. Leptotän. Die Chromosomenachse besteht aus zwei gleichartigen Strängen von ca. 150 Å Dicke, die hier an einigen Stellen auseinanderweichen (Pfeile). Jeder Strang wird für sich von DNA-Fibrillen umwunden (waagerechter Strich). Offensichtlich wird von jeder Chromatide eine eigene Achse aufgebaut. Schnitt-dicke 2000 Å

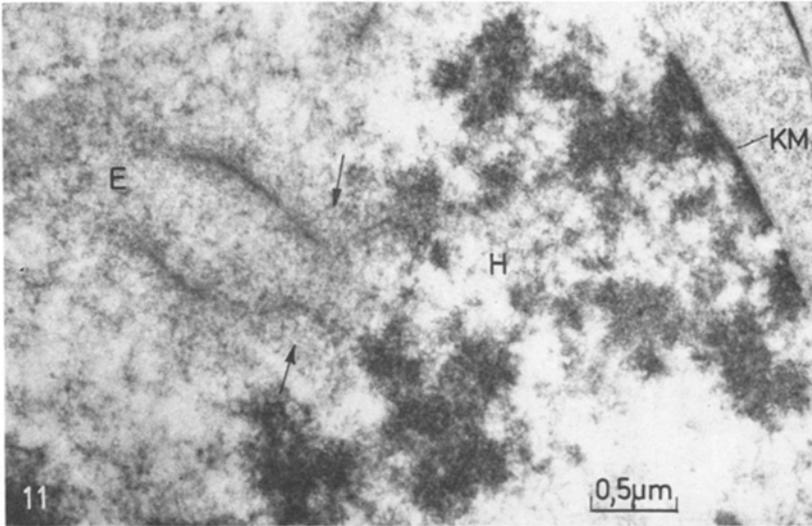


Abb. 11. Zygotän. Längsschnitt durch ein Bivalent. Die Paarung beginnt im distalen euchromatischen Chromosomenabschnitt (Pfeile), während die heterochromatischen Endstücke noch weiter voneinander entfernt sind. *E* Euchromatin, *H* Heterochromatin, *KM* Kernmembran. Schnittdicke 2000 Å

#### d) Pachytän

Sind alle Chromosomen gepaart, so ist definitionsgemäß das Pachytän erreicht. In diesem Stadium enthalten die Kerne in elektronenmikroskopischen Schnittbildern nur Quer- und Längsschnitte von Bivalenten. Einen solchen Längsschnitt zeigt die Abb. 12. Die auffälligsten Strukturen in den Bivalenten sind die beiden Chromosomen-Achsen, die jetzt die beiden „lateralen Elemente“ des SC bilden (Terminologie bei Moses, 1968, 1969). Sie verlaufen als sehr elektronendichte, etwa 300—400 Å breite Streifen parallel nebeneinander. Ihre Zentren haben einen Abstand von 1300—1500 Å. Zur Mitte des Komplexes hin wird

Abb. 12. Pachytän. Längsschnitt durch einen synaptonemal complex. *L* laterale Elemente (= Chromosomenachsen), *iS* innere Stränge der lateralen Elemente, *Z* zentrales Element, *Ch* äußere Chromatinfibrillen, *PS* kurze DNA-Schleifen im SC (Paarungsschleifen)

Abb. 13. Pachytän. Längsschnitt durch ein Bivalent. Im oberen Teil des Anschnitts liegt die Paarungsebene parallel zur Schnittebene. Hier erscheint der SC in Frontalansicht (*Fr*). Daran schließt sich eine Zone an, in der hauptsächlich die Querschnitte zwischen den lateralen Elementen zu erkennen sind (*Q*). Im folgenden Abschnitt verläuft die Paarungsebene schräg zur Schnittebene. Das zentrale Element und die inneren Teile der lateralen Elemente bilden jetzt zusammen sechs Längsstränge (Pfeil)

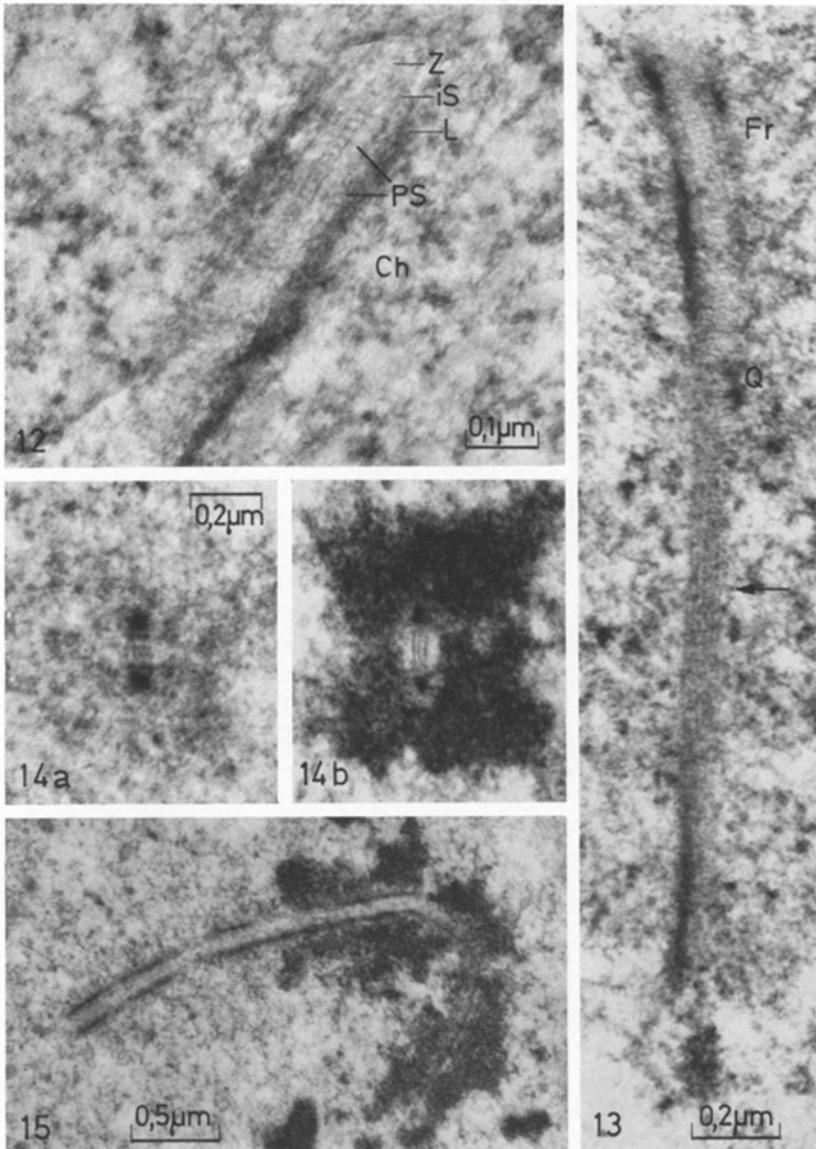


Abb. 14a und b. Pachytän. Querschnitte durch Bivalente. a Euchromatin: Die DNA-Seitenschleifen sind entspiralisiert. b Heterochromatin: Die verknäuelten DNA-Fibrillen bilden einen geschlossenen Mantel um den SC

Abb. 15. Pachytän. Längsschnitt durch ein Bivalent. Eu- und heterochromatische Bereiche sind scharf voneinander abgesetzt. Beide Abschnitte besitzen Lampenbürstenstruktur. Der SC ist auch im Heterochromatin ausgebildet, es scheinen aber hier die Paarungsschleifen zu fehlen

jedes laterale Element in einem Abstand von 150 Å von einem 100 Å dicken Strang begleitet, dem sog. „inneren Teil des lateralen Elements“. Zwischen diesen inneren Strängen liegt eine 700 Å breite Zone, in deren Mitte 2 parallele 50 Å-Fibrillen im Abstand von 200 Å den Komplex in Längsrichtung durchziehen. Die beiden Zentralfibrillen werden in regelmäßigem Abstand von 150 Å durch 50 Å dicke Querfibrillen verbunden. Dadurch entsteht in Längsschnitten ein leiterförmiges Strukturbild des zentralen Elements. Die Anfangs- und Endabschnitte der Querfibrillen sind stets hakenförmig gekrümmt. Dadurch entsteht der Eindruck, als wären die Querfibrillen des zentralen Elements Teile einer Wendel, die mit einer Weite von 250 Å und einer Steigung von 150 Å pro Umlauf die beiden Zentralfibrillen einschließt.

Das zentrale Element mit seinen Querfibrillen ist nur dort zu erkennen, wo der Schnitt genau die Mitte des SC trifft. Läuft der Schnitt aber durch dessen Randzone, so werden die bei dem Zygotän erwähnten Querfibrillen zwischen den lateralen Elementen (Chromosomenachsen) deutlich sichtbar (Abb. 13). Sie haben in Längsrichtung des Komplexes einen Abstand von 150 Å zueinander.

Ist die Komplexebene gegenüber der Schnittebene um 30–45° gedreht, so geht die Innenstruktur des SC in sechs parallel laufende 50 Å-Fibrillen über (Abb. 13). An den beiden innersten Fibrillen ist stellenweise die „Leiterstruktur“ zu erkennen; sie repräsentieren also das zentrale Element des SC. Die vier übrigen Fibrillen stammen von den inneren Teilen der lateralen Elemente, von denen folglich jedes aus zwei Strängen bestehen muß (vgl. Abb. 42 und 43).

In Querschnitten (Abb. 10 und 14) haben die lateralen Elemente des SC eine runde bis elliptische Form, wobei die lange Ellipsenachse stets senkrecht zur Paarungsebene liegt. Zwischen den Chromosomenachsen sind in dünnen Schnitten vier bis sechs 100 Å dicke Querfibrillen zu erkennen. Aus den Längsschnitten ist aber zu entnehmen, daß nur zwei davon in einer Ebene verlaufen. Sie sind zwischen den lateralen Elementen in Form einer schmalen Ellipse ausgespannt. Die mittlere Partie der Querfibrillen erscheint häufig verdickt (Abb. 14a); wahrscheinlich handelt es sich dabei aber nur um eine Überlagerung mit den Fibrillen des zentralen Elements.

Die inneren Stränge der lateralen Elemente und das zentrale Element sind in Querschnitten oft nur dann zu erkennen, wenn der Schnitt etwas schräg zur Komplexrichtung verläuft. Erwartungsgemäß müssen bei genauem Querschnitt die Längsstränge als feine Punkte erscheinen (s. Abb. 10 und 14a), sie können so leicht unerkant bleiben.

Die Seitenschleifen der gepaarten Chromosomen umgeben jeweils halbkreisförmig die lateralen Elemente und schließen sich so zu einem Zylinder um den SC zusammen (Abb. 14). Alle Seitenschleifen beginnen

und enden ausschließlich in den lateralen Elementen. Ihre Anfangs- und Endstücke müssen dabei einen anderen Feinbau besitzen als die mittleren Bereiche, denn nach Actinomycin-D-Behandlung bleibt um den SC ebenso wie im Heterochromatin ein etwa 500 Å breiter Hof, den die Fibrillen in geradem Verlauf durchziehen. Erst danach beginnt die Verknäuelung der stark kontrahierten Schleifen (Abb. 14b, 15 und 22). Neben den außerhalb des SC verlaufenden langen Seitenschleifen gehen noch sehr kurze Schleifen von den Chromosomenachsen aus. Diese sind alle zur Paarungsebene hin gerichtet und ziehen unterschiedlich weit in den SC hinein (Abb. 12, 13, 16, 18a, 21, 22b, 38). Diese Schleifen wurden bisher nur im Euchromatin, nicht aber in den heterochromatischen Abschnitten gefunden.

Wie in den vorangegangenen Stadien sind in den Pachytänchromosomen hetero- und euchromatische Bereiche scharf voneinander getrennt, obwohl das Heterochromatin inzwischen ebenfalls eine Lampenbürstenstruktur angenommen hat. Die Seitenschleifen des Heterochromatins sind aber stärker verknäuelte und dichter gepackt als die des Euchromatins (Abb. 15).

Einen weiteren Einblick in den Aufbau der Paarungsstruktur geben enzymatische Abbauprobe und spezifische Kontrastierungen. Nach Aldehyd-Fixierung und Schnittkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat erscheinen die Seitenschleifen, die kurzen Fortsätze in den SC und die lateralen Elemente des Komplexes kräftig geschwärzt, das zentrale Element dagegen ist nicht kontrastiert (Abb. 16). Nach RNase-Behandlung haben die lateralen Elemente deutlich an Elektronendichte verloren, während der Kontrast der Chromatin-Fibrillen unverändert bleibt (Abb. 17). Werden die Präparate nach der RNase-Behandlung mit  $\text{OsO}_4$  nachfixiert und während der Entwässerung mit Uranylacetat kontrastiert, so erscheinen in den Bildern wieder alle Komponenten des SC; beide Teile der lateralen Elemente haben aber hier geringeren Kontrast als in den Normalpräparaten (Abb. 18a). Nach DNase-Behandlung und  $\text{OsO}_4$ -Nachfixierung sind dagegen die Fibrillen des Chromatinmantels und die Fortsätze in den SC reduziert (Abb. 19). Die Chromosomenachsen haben etwas schwächeren Kontrast als in den unbehandelten Präparaten; die übrigen Komponenten des Komplexes sind unverändert.

Eine Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure in 100%igem Äthanol, die spezifisch für den Nachweis basischer Proteine sein soll (Bloom und Aghajanian, 1966; Sheridan und Barnett, 1969), führt im SC ausschließlich zur Darstellung der Seitenschleifen, den kurzen Schleifen im Paarungsspalt und den äußeren Teilen der lateralen Elemente (Abb. 21). Es muß angenommen werden, daß hier die mit der DNA verbundenen Histone auch zur Kontrastierung der DNA-haltigen Strukturen geführt haben.

Werden die Hoden vor der Fixierung 4 Std mit Actinomycin D behandelt, so fehlen in den SC, die während dieser Zeit gebildet wurden, die inneren Stränge der lateralen Elemente und die zentralen Elemente (Abb. 22 b). Die Abstände der lateralen Elemente sind in diesen Komplexen größer (1700—1900 Å) als im Normalfall.

Aus diesen Versuchen ergeben sich für den Aufbau der Paarungsstruktur folgende Vorstellungen: Die äußeren Teile der lateralen Elemente enthalten Proteine, RNA und in geringem Maße DNA, die inneren Stränge der lateralen Elemente bestehen aus Proteinen und RNA, das zentrale Element und die Querfibrillen sind Proteinstrukturen. Außerdem ziehen von den lateralen Elementen aus kurze DNA-Schleifen in den Paarungsspalt hinein.

Besondere Beachtung verdient die Anheftungsstelle der Bivalente an der Kernmembran. Kurz bevor die lateralen Elemente des Komplexes auf die Kernmembran stoßen, verbreitern sie sich etwas und bilden einen kleinen „Endkegel“. Beide Endkegel des Komplexes werden direkt an der Kontaktstelle mit der Kernmembran durch einen breiten Ring miteinander verbunden (Abb. 23 a). Durch dieses Endstück wird der SC fest an der Kernmembran verankert. Die Ansatzstelle kann als kleine Grube (Abb. 23 a) oder flacher Höcker der Kernmembran ausgebildet sein (Abb. 23 b). Von dort aus zieht ein etwa 0,5 µm breites Bündel feiner Fibrillen 1000—2000 Å weit in das Cytoplasma hinein (Abb. 23 a). In Schnitten, die genau die Mitte des SC treffen, treten statt des Fibrillenbündels nur einige kurze „Borsten“ in Verlängerung der lateralen Elemente auf. Sie ragen hier, die Kernmembran durchdringend, etwa 500 Å weit in das Cytoplasma hinein (Abb. 23 b). Die inneren Teile der lateralen Elemente und das zentrale Element enden direkt an der Kernmembran (Abb. 23 b).

Abb. 16. Längsschnitt durch ein Bivalent. Fixierung: Glutaraldehyd; Schnitt-Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat. Bei diesem Verfahren werden vorwiegend die nukleinsäurehaltigen Strukturen dargestellt. In den Bivalenten sind dies die Seiten-Schleifen, die kurzen Fortsätze in den Paarungsspalt (Pfeile) und die lateralen Elemente

Abb. 17. Längsschnitt durch ein Bivalent nach Glutaraldehyd-Fixierung und RNase-Behandlung, Schnitt-Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat. Nach der RNase-Behandlung haben nur die lateralen Elemente an Elektronendichte verloren (Pfeil), die anderen Strukturen des SC zeigen keine Veränderungen

Abb. 18. Glutaraldehyd-RNase-OsO<sub>4</sub>-Uranylacetat. Die inneren Stränge der lateralen Elemente sind fast ganz abgebaut worden, die Chromosomenachsen haben nur etwas an Kontrast verloren. Das zentrale Element ist in normaler Stärke ausgebildet. b Kontroll-Präparat ohne RNase

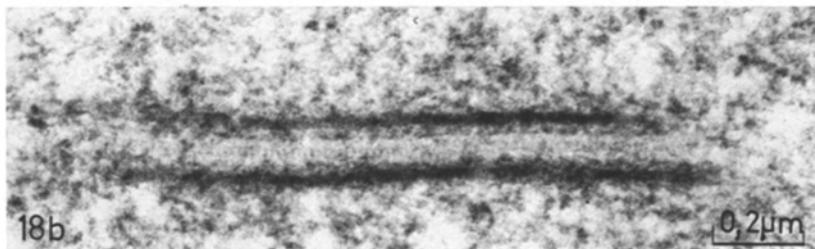
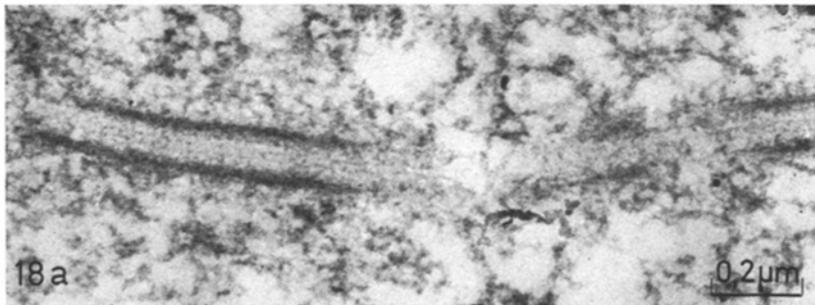
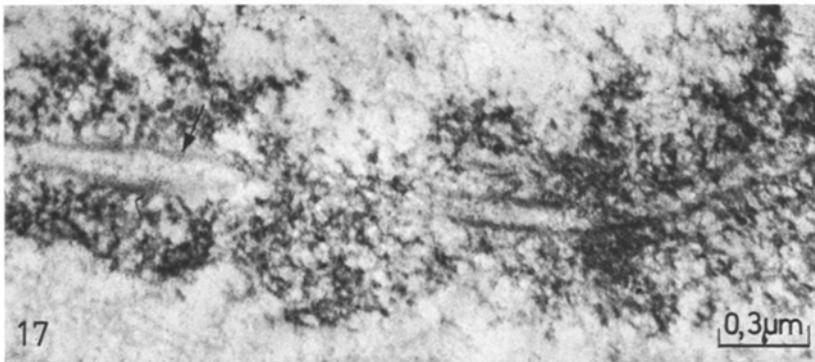
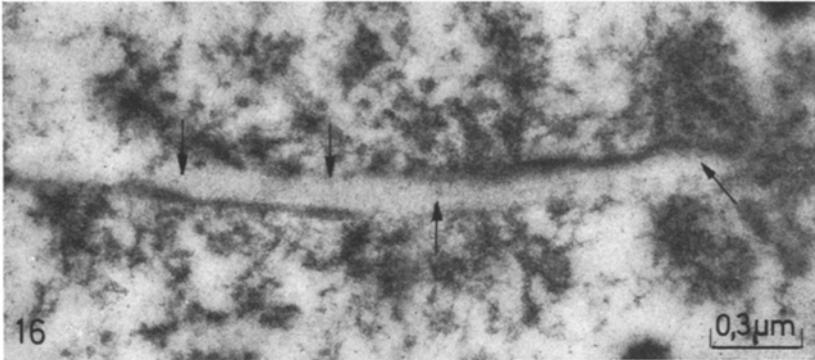


Abb. 16—18

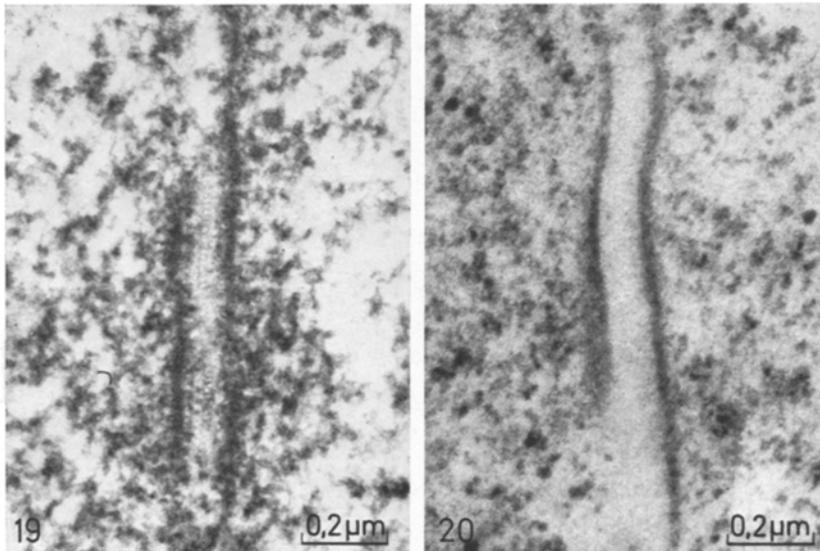


Abb. 19. Nach DNase-Einwirkung sind die Chromatinschleifen stark reduziert, die äußeren Teile der lateralen Elemente zeigen nur etwas geringeren Kontrast, die inneren Stränge der lateralen Elemente und das zentrale Element sind in normaler Stärke ausgeprägt. Glutaraldehyd-DNase-OsO<sub>4</sub>-Uranylacetat

Abb. 20. Nach DNase-Behandlung ohne anschließende OsO<sub>4</sub>-Fixierung sind von den Strukturen des SC nur die lateralen Elemente kontrastiert. Von den chromosomalen Fibrillen sind nur noch wenige Reste zu finden. Glutaraldehyd-DNase-Glutaraldehyd-Uranylacetat

Die DNA-Fibrillen zeigen an der Anheftungsstelle unterschiedliches Verhalten, je nachdem, ob das Chromosomenende eu- oder heterochromatisch ist. Beim euchromatischen Chromosomenende sind in den Schnitten nur wenige (1—4) dünne Fibrillen zu finden, die beiderseits der Komplexstruktur in einem Bereich von 0,5 μm zur Kernmembran ziehen. Einige enden dort — ähnlich wie die DNA-Fibrillen in der prämeiotischen Interphase (Abb. 3 b) — in einem aufgeknäuelten Kügelchen (Abb. 24). Bei anderen Fibrillen hat es den Anschein, daß hier die ersten Seitenschleifen der Chromatiden an ihren Enden mit der Kernmembran verkleben. Möglicherweise handelt es sich bei den Endverdickungen um die Telomere der Chromatiden, die nach Untersuchungen von Berendes und Meyer (1968) an Riesenchromosomen von *Drosophila hydei* aus aufgeknäuelten DNA-Fibrillen und einer Proteinmatrix bestehen.

In heterochromatischen Endstücken dagegen liegen die DNA-Fibrillen in einem Umkreis von 0,5 μm um den SC gleichmäßig dicht an der

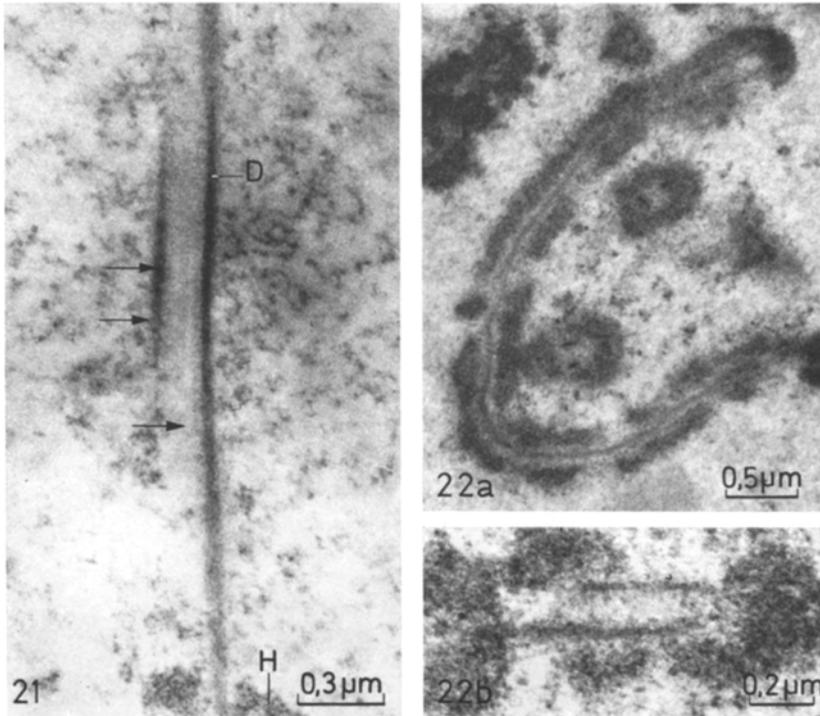


Abb. 21. Phosphorwolframsäure-Kontrastierung. Durch die Phosphorwolframsäure werden besonders die Strukturen mit basischen Proteinen hervorgehoben. In den Bivalenten sind dies die lateralen Elemente, die Fibrillen des Chromatinmantels und die Paarungsschleifen im SC (Pfeile). Diese erscheinen stellenweise als Doppelstrukturen (*D*). *H* Heterochromatin

Abb. 22. a Nach 4stündiger Inkubationszeit mit Actinomycin D sind die DNA-Seitenschleifen stark kontrahiert. Es bleibt aber um den SC ein gleichmäßig breiter Hof frei, in dem sich die DNA-Fibrillen nicht verknäueln. b Durch die Actinomycin-Behandlung wird die Ausbildung der SC gestört. In den Komplexen, die während dieser Zeit aufgebaut wurden, fehlen die inneren Stränge der lateralen Elemente und das zentrale Element. Der Abstand der Chromosomenachsen zueinander ist in diesen SC etwas größer (bis 2000 Å) als im Normalfall. Die Paarungsschleifen im SC sind deutlich erkennbar

Kernmembran (Abb. 25). Ob hier eine entsprechend große Zahl von Fibrillen an der Kernmembran enden, oder ob die breite Ansatzfläche durch seitliches Verkleben weniger stark verknäuelter Schleifen mit der Kernmembran zustande kommt, ist nicht zu erkennen.

Die Verbindungen der Chromosomen mit der Kernmembran sind ausschließlich auf die Chromosomenenden beschränkt. Weitere Kontaktstellen wurden nicht gefunden.

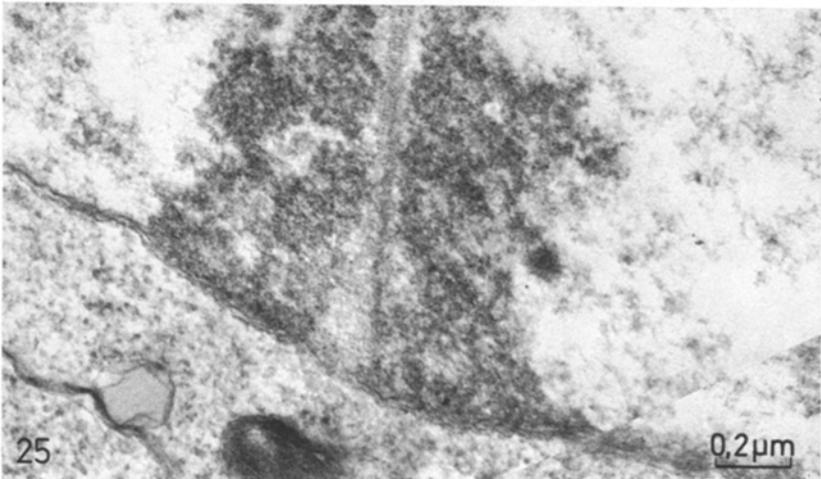
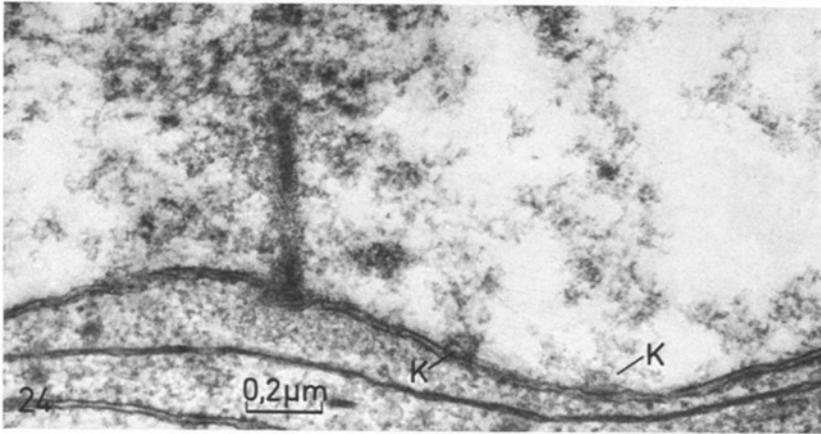
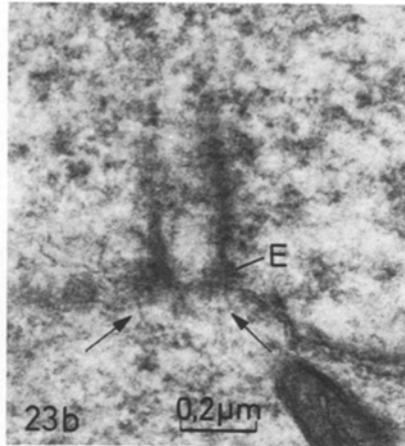
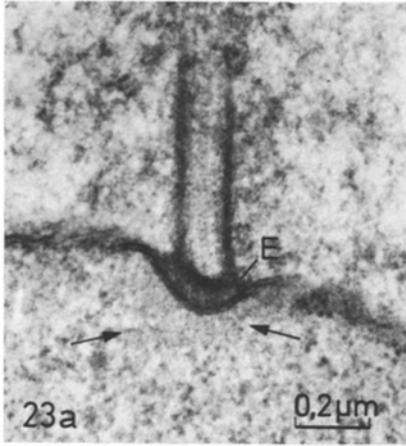


Abb. 23—25

## e) Spätes Pachytän (Diplotän)

Trotz des achiasmatischen Verlaufs der Meiose läßt sich bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen in den Spermatocyten von *Panorpa* ein Diplotän-Stadium vom Pachytän abgrenzen. Dabei darf man allerdings den Begriff „Diplotän“ („Doppelstrang“) nur in seiner wörtlichen Bedeutung verstehen — nämlich als ein Stadium, in dem die Trennung der Schwesterchromatiden sichtbar wird.

In der fortgeschrittenen Wachstumsphase, in der die Kerne einen Durchmesser von  $13\ \mu\text{m}$  erreicht haben, läßt sich in zunehmendem Maße eine Verdopplung der SC beobachten. Dabei werden die lateralen Elemente zunächst breiter, schließlich teilen sie sich, und die Spaltheilften rücken senkrecht zur Komplexebene auseinander, bis sie etwa den gleichen Abstand zueinander haben wie die Achsen der homologen Chromatiden. Während der Teilung der Achsen haben sich auch die Querfibrillen verdoppelt und sind auseinandergerückt, so daß auch die neuen Achsen durch Querfibrillen verbunden werden (Abb. 26a). In den so entstandenen Doppelkomplexen enthalten beide Verbindungsstrukturen zwischen den homologen Chromatiden ein zentrales Element aus zwei Längssträngen. Die inneren Teile der lateralen Elemente scheinen jetzt nur noch aus je einem Strang zu bestehen, denn Schräganschnitte der Diplotänkomplexe zeigen nur noch vier Längsstränge zwischen je zwei Chromatiden (Abb. 28). Häufig treten auch zwischen den Spaltheilften der Achsen Querfibrillen auf (Abb. 26b) und in manchen Fällen können Fibrillen diagonal von einer Achse zur anderen ziehen (Abb. 26c). Demnach werden bei *Panorpa* auch zwischen Schwesterchromatiden Paarungsstrukturen ausgebildet. Diese enthalten aber kein zentrales Element und keine inneren Stränge der lateralen Elemente.

Abb. 23a. Ansatzstelle der Chromosomen an der Kernmembran. Die SC-Strukturen laufen bis zur Kernmembran. Das zentrale Element und die inneren Stränge der lateralen Elemente zeigen an der Ansatzstelle keine Veränderungen. Die Chromosomenachsen bilden an der Kernmembran je einen Endkegel (*E*). In a werden beide Endkegel durch einen breiten Ring verbunden. An der Chromosomenansatzstelle zieht ein Büschel feiner Fibrillen (Pfeile) von der Kernmembran in das Cytoplasma. In b ragen statt des Fibrillenbüschels nur wenige „Borsten“ (Pfeile) von den Endkegeln der Chromosomenachsen in das Cytoplasma hinein

Abb. 24. Ansatzstelle eines euchromatischen Chromosomenendes an der Kernmembran. Im Umkreis von  $0,5\ \mu\text{m}$  um den SC ziehen einige DNA-Fibrillen zur Kernmembran. Sie sind dort — ähnlich wie die Fibrillen in der prämeiotischen Interphase — mit einem kleinen Endknopf (*K*) angeheftet

Abb. 25. Ansatzstelle eines heterochromatischen Endstücks. Die DNA-Fibrillen sind im Umkreis von  $0,5\ \mu\text{m}$  um den SC gleichmäßig dicht mit der Kernmembran verklebt

Im Übergangsstadium zwischen Pachytän und Diplotän findet man gelegentlich auch „Dreier-Komplexe“, bei denen sich erst die Achse des einen Partners der Bivalentchromosomen geteilt hat (Abb. 26d). In späteren Stadien nimmt die Zahl der Vierer-Komplexe immer mehr zu, während sich die der Zweier-Komplexe entsprechend verringert. Am Ende der Wachstumsphase zeigen Kernschnitte fast ausschließlich Vierer-Komplexe.

Während des Diplotäns sind die Seitenschleifen extrem stark entspiralisiert, so daß sich die einzelnen Chromosomen kaum noch voneinander abgrenzen lassen. Auch das Heterochromatin ist jetzt stark aufgelockert. Die Diplotänkomplexe durchziehen meistens in schnurgerader Linie den Kern (Abb. 27). Dieser Zustand entspricht dem „diffusen Stadium“, in dem die Chromosomen lichtmikroskopisch nicht erkennbar sind. Die Entspiralisierung beschränkt sich aber nur auf die Seitenschleifen; die Chromosomenlänge bleibt unverändert, wie die Zahl der Komplexe pro Kernanschnitt zeigt (s. S. 26).

#### f) Diakinese

Während der Diakinese ist an den Chromosomen eine fortschreitende Verknäuelung und Verdichtung der Seitenschleifen zu beobachten. Die zunehmende Verkürzung der Chromosomen drückt sich in einer geringeren Zahl von Chromosomenanschnitten pro Kernquerschnitt aus (s. S. 28). Die Chromosomenschnitte enthalten in diesem Stadium ausschließlich „Zweier-Komplexe“, die etwas schmaler sind (Achsenabstand 1100 Å) als die Komplexe der Pachytänchromosomen. Ebenso ist der Durch-

Abb. 26 a—d. Diplotän. Querschnitte durch Bivalente mit „Vierer-Komplexen“. Die lateralen Elemente des SC haben sich geteilt und die Hälften sind auseinandergerückt. Jede Chromatide hat jetzt sichtbar eine eigene Achse. a Nur zwischen je zwei Chromatidenachsen, wahrscheinlich den homologen (*h*), sind die Querfibrillen deutlich ausgebildet. Zwischen den Schwesterchromatiden (*S*) sind nur sehr schwache Verbindungsstrukturen zu erkennen. b Alle Chromatidenachsen werden gleichmäßig durch Fibrillen miteinander verbunden. c Außer der normalen Verbindung zweier Chromatiden sind noch die sich diagonal gegenüberliegenden Achsen durch Querfibrillen verknüpft. d Übergangsstadium vom Pachytän- zum Diplotän-Komplex. Nur die Chromatidenachsen einer Seite sind auseinandergerückt (*S*). Beide neuen Achsen werden durch Querfibrillen mit dem gegenüberliegenden Chromosom verbunden. Zwischen den Schwesterchromatiden (*S*) verlaufen dünne Querfibrillen in Zickzack-Linien

Abb. 27. Längsschnitt eines Diplotänkomplexes. Die Achsen der Schwesterchromatiden sind auseinandergerückt und haben jetzt den gleichen Abstand zueinander wie die Achsen der homologen Chromatiden. Die DNA-Schleifen des Chromatinmantels sind extrem entspiralisiert. Dadurch bilden die Achsenkomplexe im Diplotän die einzigen auffälligen Chromosomenstrukturen. Sie durchziehen in gerader Linie den Kernraum

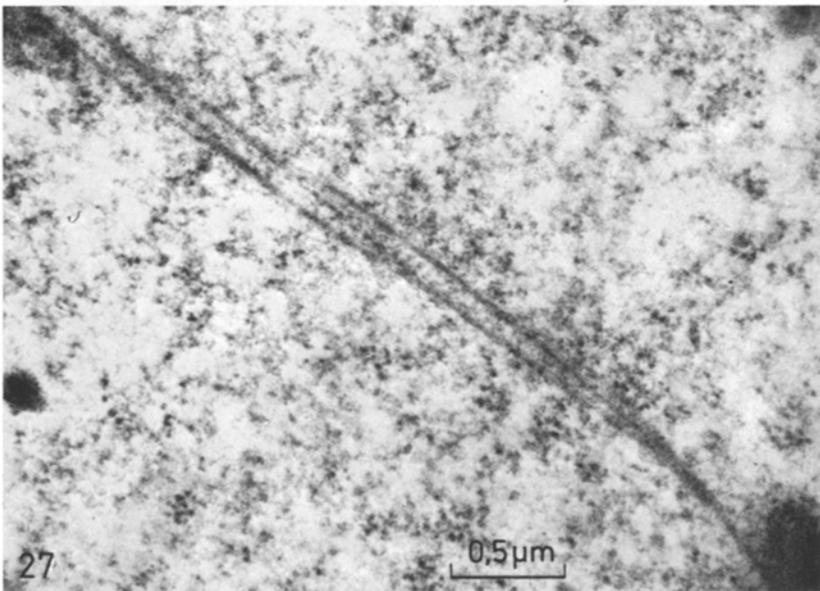
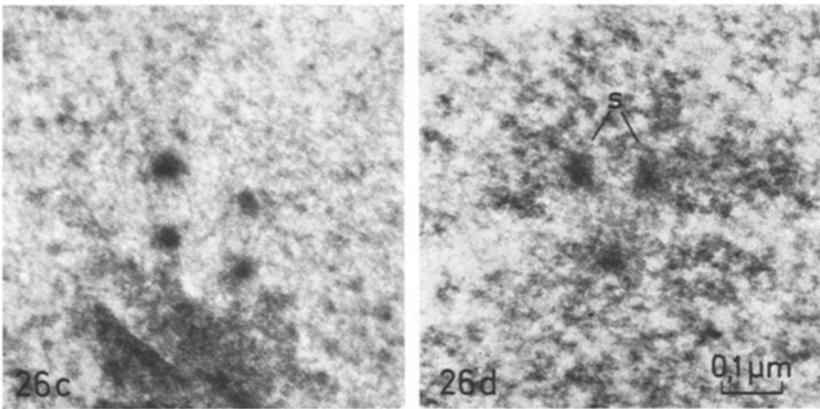
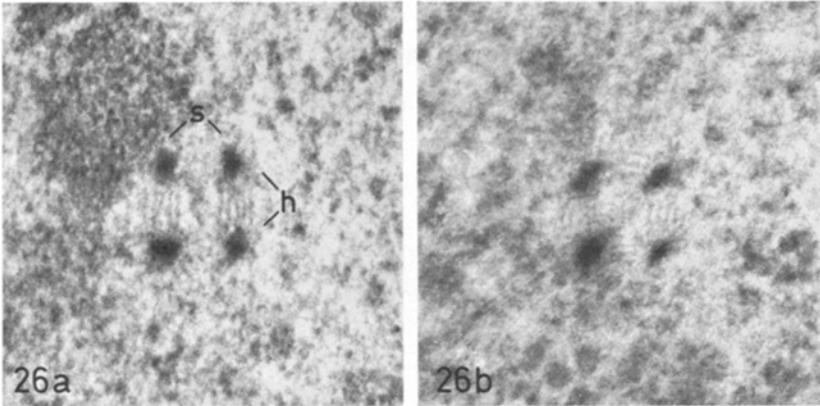


Abb. 26 u. 27

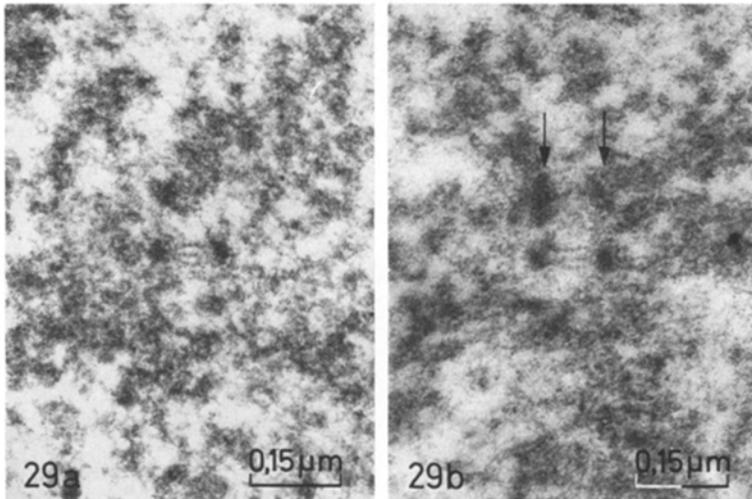
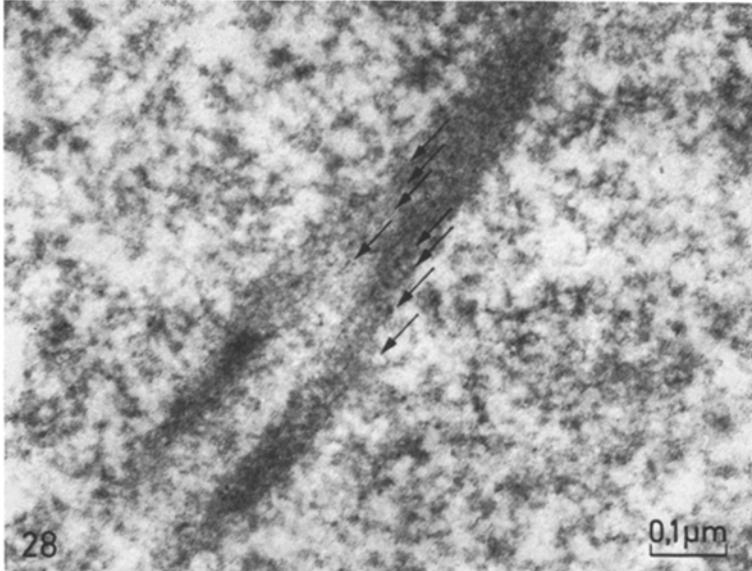


Abb. 28. Schrägschnitt durch einen Diplotän-Komplex. Zwischen den Achsen der homologen Chromatiden sind je vier Längsstränge zu erkennen (Pfeile). Davon stammen zwei aus dem zentralen Element und zwei aus den inneren Teilen der lateralen Elemente. Letztere enthalten demnach im Diplotän auf jeder Seite nur noch einen Strang

Abb. 29a u. b. Querschnitt durch Diakinese-Chromosomen. a Die Bivalente enthalten in der Diakinese nur noch Komplexe mit zwei lateralen Elementen. Die SC sind in diesem Stadium etwas kleiner als im Pachytän: die lateralen Elemente haben nur noch eine Dicke von 200 Å, ihr Abstand zueinander hat sich auf 1100 Å verringert. In den Querschnitten sind weniger Querfibrillen zwischen den lateralen Elementen zu erkennen als in den Pachytänkomplexen. Abb. 29b stellt möglicherweise einen Übergang vom Diplotän zum Diakinese-Komplex dar. Die beiden dunklen Flecken (Pfeile) über dem SC könnten Reste von den Achsen der Schwesterchromatiden sein

messer der lateralen Elemente reduziert (von 300—400 Å auf 200 bis 250 Å), ihre Elektronendichte ist jetzt geringer als in früheren Stadien (Abb. 29). Die Innenstruktur der SC ist größtenteils sehr undeutlich: Das zentrale Element und die inneren Stränge der lateralen Elemente sind nur an wenigen Stellen zu erkennen. Auch die Querfibrillen erscheinen schwächer.

Polykomplexe, wie sie bei anderen Insekten beschrieben worden sind (Sotelo und Wettstein, 1964; Schin, 1965; Roth, 1966; Moens, 1969), enthalten die Spermatoocyten von *Panorpa* auch in diesem Stadium nicht.

Zu Beginn der Diakinese sind die Chromosomenenden immer noch mit der Kernmembran verbunden. Erst mit zunehmender Chromosomenverkürzung wird anscheinend dieser Kontakt gelöst.

#### g) Metaphase I

Nachdem in der Diakinese die Seitenschleifen der Chromosomen vollkommen eingezogen und untereinander verknäuelst sind, wird die starke Verkürzung der Metaphase-Chromosomen anscheinend durch Überspiralisierung der Chromosomenfibrillen erreicht (Abb. 30). In diesem Stadium sind keine SC mehr zu finden. Der Paarungsspalt zwischen den Homologen sowie die Chromatidenspalte sind von einem Netzwerk feiner Fibrillen ausgefüllt. Ob dies Reste des SC sind, erscheint fraglich. Jedenfalls haben sie morphologisch keine Ähnlichkeit mit Strukturen des SC.

#### h) Prophase II

In den kleinen Zellkernen der Spermatoocyten II haben die Chromosomen wieder eine Lampenbürstenstruktur (Abb. 31). Im Vergleich zu den Leptotän-Chromosomen der Prophase I erscheinen sie in ihrer Struktur „durchsichtiger“. Die Seitenschleifen sind sehr weit entspiralisiert, so daß sich die Schleifen benachbarter Chromosomen oft gegenseitig überlappen. Die Chromosomen besitzen zwar eine deutliche Mittelachse, diese ist aber sehr viel dünner als bei den Leptotän-Chromosomen. Offensichtlich fehlt die zusätzliche Verstärkung durch Proteinfibrillen und RNA-Stränge wie sie für die Prophase I typisch ist.

### 2. Struktur des X-Chromosoms in den Spermatoocyten

Wie schon von Ullerich (1961) beschrieben, hat das X-Chromosom während der meiotischen Prophase eine außergewöhnliche Gestalt. Es besteht vom Pachytän bis zur Diakinese aus zwei bis vier kugelförmigen Strukturen, von denen jede in einen sehr elektronendichten, scharf begrenzten Zentralkörper von 0,5 µm Durchmesser und in eine locker-fibrilläre 0,3 µm dicke Schale gegliedert ist (Abb. 32). Gegen Ende

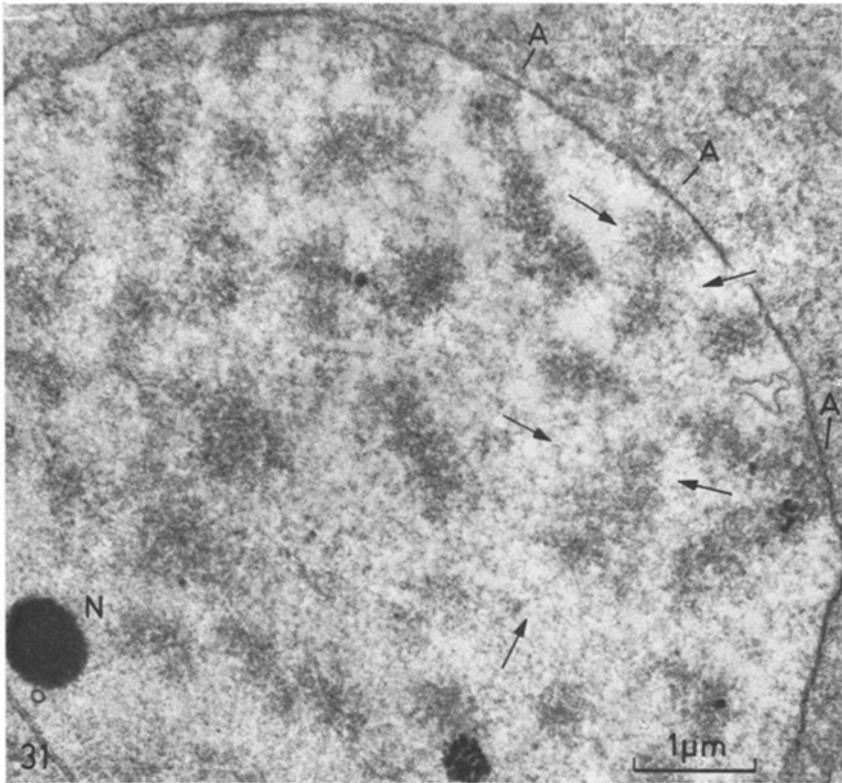


Abb. 30 u. 31

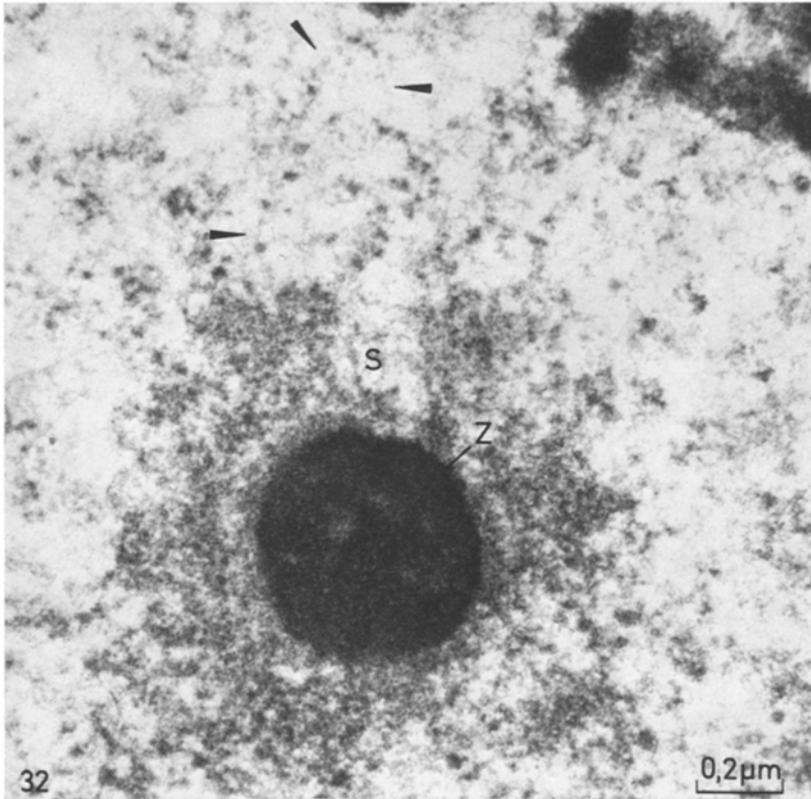


Abb. 32. Das X-Chromosom besteht während der meiotischen Prophase aus 1 bis 4 kugelförmigen Strukturen, von denen jede in einen elektronendichten, scharf begrenzten Zentralkörper (Z) und in eine locker-fibrilläre Schale (S) gegliedert ist. Die Fibrillen der Schale gehen vom Zentralkörper radial nach allen Seiten aus und bilden ein ähnliches Schleifenmuster wie die Seitenschleifen der Autosomen. Die Pfeile markieren eine fast vollständig sichtbare Schleife

Abb. 30. Metaphase. Die Chromosomen besitzen schraubig angeordnete Partien mit dichter Fibrillenlagerung (—). Diese Anordnung läßt auf eine Überspiralisierung der Chromatiden in den Metaphase-Chromosomen schließen. Die Paarungs- und Chromatidenspalt sind mit einem Maschenwerk feiner Fibrillen ausgefüllt, die nur nach  $\text{OsO}_4$ -Fixierung deutlich hervortreten. Reste der Strukturen des SC sind nicht mehr zu finden. Glutaraldehyd-Uranylacetat

Abb. 31. Prophase II. Die Chromosomen haben auch in der Prophase der 2. Reifeteilung Lampenbürstenstrukturen ausgebildet. Im Gegensatz zu den Leptotän-Chromosomen besitzen sie aber keine verstärkte Mittelachse. Die Chromosomenenden sind mit der Kernmembran verbunden (A). Die Pfeile weisen auf einen langen Ansnitt eines Chromosoms hin. N Nukleolus. Schnittdicke 2000 Å

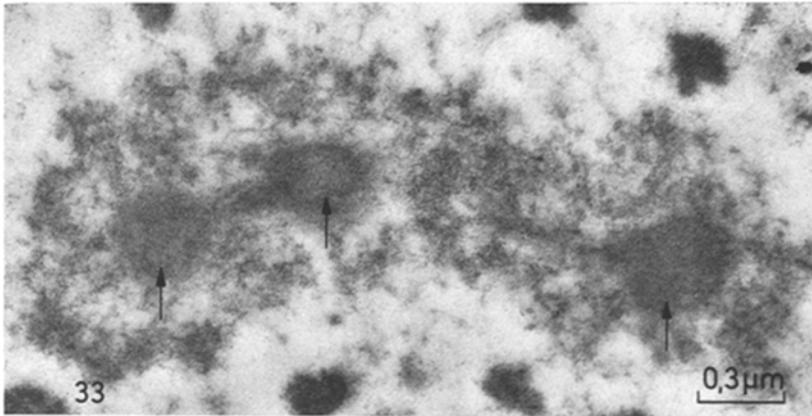


Abb. 33. Pachytän. Das abgebildete X-Chromosom befindet sich in einem Übergangsstadium von der „normalen“ Gestalt der Prophase-Chromosomen zur Kugelform. Einige Achsenabschnitte sind bereits blasig angeschwollen (Pfeile). Die DNA-Schleifen umgeben alle Partien mit einem gleichmäßig breiten Mantel. Glutaraldehyd; Schnittkontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat

des Diplotän schließen sich die Teilkörper meistens zu einem einzigen Bläschen zusammen. In der frühen Prophase I (Prälepotän bis Zygotän) und in den restlichen Meiosestadien nach der Diakinese ist das X-Chromosom strukturell nicht von den Autosomen zu unterscheiden.

Der Zentralkörper des X-Chromosoms läßt auch bei starker Vergrößerung nur eine gleichmäßige Verteilung sehr dicht gelagerter feiner

Abb. 34. Fixierung: Glutaraldehyd; Glykol-Metacrylat-Schnitt; Kontrastierung: Uranylacetat-EDTA-Bleicitrat. Durch die EDTA-Behandlung wird die Kontrastierung der DNA-haltigen Strukturen wieder rückgängig gemacht. Die fibrilläre Schale des X-Chromosoms (*X*) ist ebenso gebleicht worden wie das Chromatin der Autosomen (*A*). Der Zentralkörper zeigt dagegen die gleiche Schwärzung wie die Ribonucleoprotein-Schollen (*RNP*) und die lateralen Elemente des *SC*

Abb. 35. X-Chromosom. Formaldehyd-DNase; Schnittkontrastierung: Uranylacetat Bleicitrat. Die fibrilläre Schale des X-Chromosoms ist durch die DNase weitgehend abgebaut worden. Der Zentralkörper ist dagegen nur wenig verändert

Abb. 36. X-Chromosom. Formaldehyd-RNase; Schnittkontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat. Durch die RNase-Behandlung hat im wesentlichen der Zentralkörper an Elektronendichte verloren. Die Fibrillen der äußeren Schale sind erhalten geblieben

Abb. 37. X-Chromosom. 1 Std Actinomycin D-Glutaraldehyd-OsO<sub>4</sub>-Uranylacetat. Die Fibrillen der äußeren Schale sind durch den Actinomycin-Einfluß stark verklumpt. Um den Zentralkörper ist dabei eine Zone entstanden, in der die Fibrillen ihre lockere Anordnung bewahrt haben. Im kugelförmigen Zentralkörper ist nach der Actinomycin-Behandlung die starke Kontrastierung auf die Oberflächenpartien beschränkt. Seine Innenstruktur ist jetzt ungleichmäßig dicht

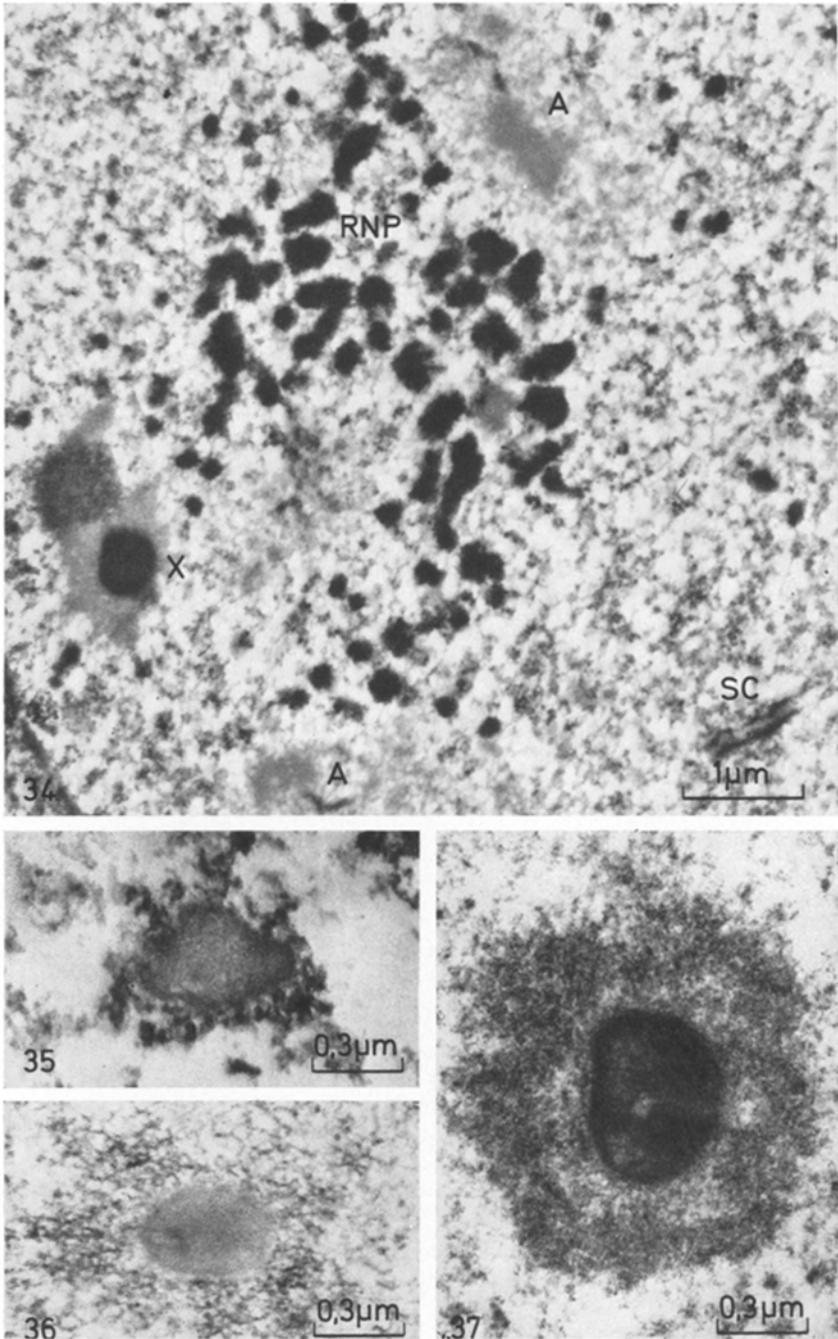


Abb. 34—37

Fibrillen erkennen. Von seiner Oberfläche gehen radial nach allen Seiten 50—70 Å dicke Fibrillen aus, die sich unregelmäßig verflechten und so die lockere Schalenstruktur entstehen lassen. Wie in den Randzonen zu sehen ist, bilden sie in sich geschlossene Schleifen. Die Struktur der äußeren Schale hat große Ähnlichkeit mit den euchromatischen Bereichen der Autosomen.

Nach Abbauversuchen mit DNase und DNA-Bleichung mit EDTA zeigt sich, daß die fibrilläre Schale reich an DNA ist (Abb. 34 und 35), während der Innenteil nach RNase-Behandlung nur noch schwach kontrastiert ist, demnach RNA enthält (Abb. 36). Nach Actinomyein-Behandlung zeigt das X-Chromosom ähnliche Veränderungen wie die Autosomen: Die Fäden der äußeren Schale verklumpen stark miteinander, aber um den Zentralkörper bleibt ebenso wie um die Achsen der Autosomen eine verknäuelungsfreie Zone (Abb. 37). Im Zentralkörper selbst ist jetzt eine noch schärfer abgesetzte Randpartie zu erkennen, während der Innenteil ungleichmäßig elektronendicht geworden ist.

Im Pachytän lassen sich Übergangsstadien von der „normalen“ Chromosomengestalt zur Kugelform des X-Chromosoms finden (Abb. 33). In diesen Stadien sind mehrere kugelförmige Zentralkörper durch gerade Achsenstücke miteinander verbunden. Die DNA-Schleifen umgeben alle Partien mit einem gleichmäßig breiten Mantel.

### 3. Die Paarungsstrukturen in den Oocyten

Abgesehen davon, daß die Chromosomen in den Oocyten in Bukettform angeordnet sind, zeigen sie bis zum Pachytän die gleiche Entwicklung wie in den Spermatoocyten. Auch in der Feinstruktur der SC lassen sich keine Unterschiede finden (vgl. Abb. 38 mit Abb. 12 und

Abb. 38. Pachytän-Komplex aus einer Oocyte. Die SC der Oocyten sind in ihrer Feinstruktur nicht von denen der Spermatoocyten zu unterscheiden. Auch die Anordnung der kurzen DNA-Schleifen im Innern des Komplexes (Pfeile) ist in beiden Geschlechtern gleich. Im Abschnitt Z ist der SC zentral getroffen. Hier sind die Paarungsschleifen und das leiterförmige zentrale Element zu erkennen. Abschnitt Q zeigt die Randpartie des SC. Hier sind die Querfibrillen zwischen den lateralen Elementen sichtbar

Abb. 39. Querschnitt durch einen Diplotän-Komplex aus einer Oocyte. Die Achsen der Schwesterchromatiden haben sich zu Beginn des Diplotäns getrennt und sind auseinandergerückt. In den Oocyten werden zwischen den Schwesterchromatiden keine Verbindungsstrukturen ausgebildet

Abb. 40a u. b. Diplotän-Chromosomen der Oocyten. a Querschnitt, b Längsschnitt. Die Chromosomen der Oocyten enthalten im fortgeschrittenen Diplotän keine SC mehr. Nur an wenigen Stellen sind noch Reste der Achsenstrukturen vorhanden (A). Nach Auflösung der SC haben die Chromosomen wieder eine Lampenbürstenstruktur mit radiärsymmetrischer Anordnung der Seitenschleifen

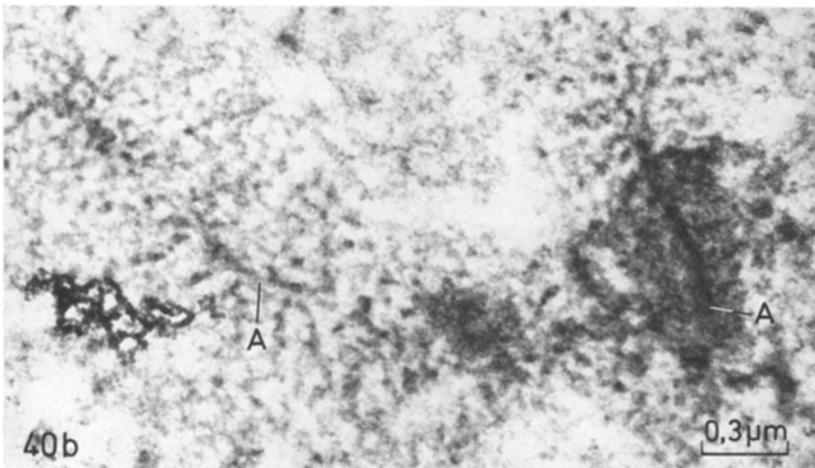
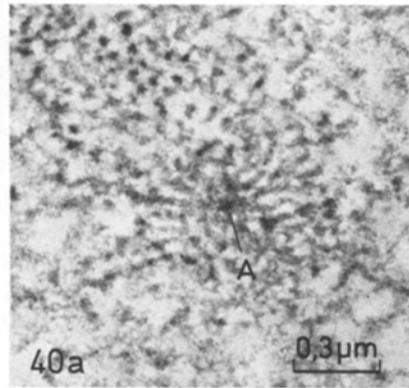
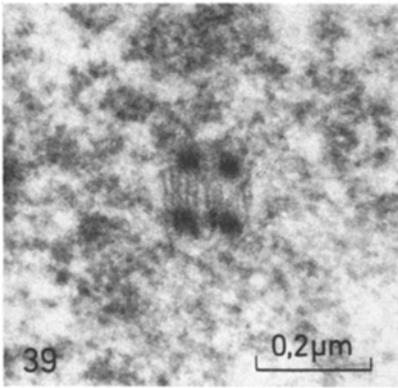
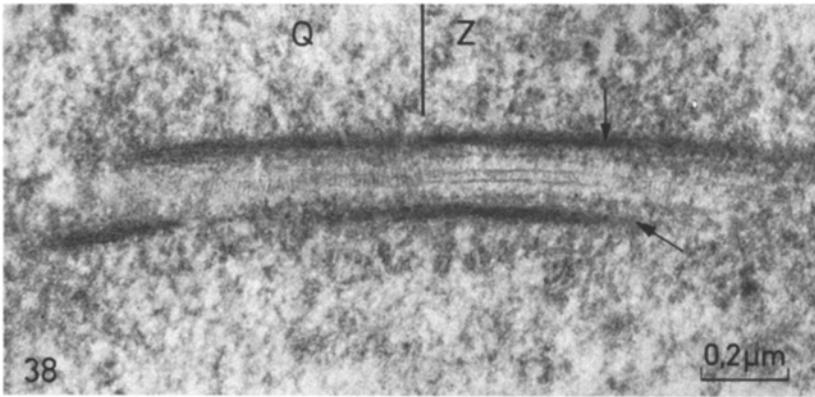


Abb. 38—40

18b). Abweichungen gibt es allerdings in der Struktur und im Verhalten der Vierer-Komplexe, die in den Oocyten in geringerer Zahl auftreten als in den Spermatoocyten. Beim Übergang vom Pachytän zum Diplotän enthalten die Zellkerne der Oocyten nicht mehr als 50% Vierer-Komplexe. Diese unterscheiden sich von den Diplotän-Komplexen der Spermatoocyten dadurch, daß zwischen den Schwesterchromatiden keine Verbindungsstrukturen ausgebildet werden (Abb. 39).

Im folgenden Stadium differenzieren sich die bis dahin gleichartigen Oocyten in Ei- und Nährzellen. Dabei bilden stets drei Nährzellen mit einer Eizelle eine abgeschlossene Eikammer, die sehr bald von einem festen Follikelepithel eingehüllt wird. Die Eikerne aus den jungen Eikammern enthalten die von Ullerich (1961) beschriebenen Diplotän-chromosomen, zur Hälfte in Form von Kreuztetraden und zum anderen Teil mit terminalen Chiasmata. In diesen Chromosomen sind keine SC mehr enthalten. Nur selten lassen sich noch Reste der Achsenstrukturen finden (Abb. 40). Die Chromosomen haben jetzt wieder eine Lampenbürstenstruktur mit radiär-symmetrischer Anordnung der Seitenschleifen (Abb. 40a). In diesem Stadium sind die Chromosomenenden noch mit der Kernmembran in Kontakt. In den etwas älteren Eizellen rücken die Chromosomen zu einer Karyosphäre zusammen.

#### D. Diskussion

Die Gametogenese von *Panorpa communis* hat sich für die Untersuchungen des SC als besonders günstig erwiesen. Es sind vor allem drei Voraussetzungen, die eine neue und weiterreichende Interpretation der Strukturen ermöglichen.

1. Durch die Anordnung der Spermatoocyten und Oocyten nach einem zeitlichen Gradienten innerhalb der Follikel kann die Entwicklung der Chromosomenstruktur und des synaptenomal complex genau verfolgt werden.

2. Die Bildung von „Vierer-Komplexen“ im Diplotän ermöglicht eine Analyse der einzelnen Komponenten des SC.

3. Der unterschiedliche Meioseverlauf in der Spermatogenese und Oogenese erlaubt einen Vergleich zwischen chiasmatischer und achiasmatischer Paarungsstruktur.

Daneben läßt sich an Hand der Ergebnisse über die Verbindung der Chromosomen mit der Kernmembran, eine mögliche Vororientierung der homologen Chromosomen außerhalb der Paarungsstadien erörtern.

##### *1. Beziehungen der Chromosomen zur Kernmembran und Vororientierung homologer Chromosomen*

Auf die Verbindung der Chromosomenenden mit der Kernmembran im Leptotän und Pachytän ist mehrfach hingewiesen worden (u.a.

Moses, 1956; Fawcett, 1956; Woollam, Ford und Millen, 1966; Comings, 1970; Esponda und Giménez-Martin, 1972). Soweit in diesen Arbeiten auf die Feinstruktur der Ansatzstelle eingegangen worden ist, sind sich die einzelnen Darstellungen sehr ähnlich. Es wird übereinstimmend berichtet, daß die lateralen Elemente des Komplexes mit einem kleinen „Endkegel“ an der inneren Schicht der Kernmembran enden, die an diesen Stellen häufig eine Verdickung aufweist. Die verschiedene Anordnung der DNA-Fibrillen an den Kontaktstellen scheint von untergeordneter Bedeutung zu sein. Sie hängt, wie auch die Untersuchungen an *Panorpa* gezeigt haben, davon ab, ob die Chromosomenenden in größerem Umfang eu- oder heterochromatisch sind und weiter, ob die Kinetochore terminal liegen oder nicht (dazu Woollam, Millen und Ford, 1967).

Unterschiedlich ist anscheinend die Ausbildung der inneren Komponenten des SC in diesen Bereichen. In *Coprinus lagopus* z. B. endet die Paarungsstruktur in einem Abstand von 2500 Å vor der Kernmembran (Lu, 1967).

Bei *Panorpa* reichen — ebenso wie bei *Locusta migratoria* (Moenz, 1969) — das zentrale Element und die inneren Stränge der lateralen Elemente bis zu der Kernmembran. Die Querfibrillen der SC sind an den Chromosomenenden anscheinend zu einem dichten Ring zusammengedrängt, der die „Endkegel“ der lateralen Elemente miteinander verbindet. Ebenso wie in den Spermatocyten der Ratte (Woollam und Ford, 1964; Esponda und Giménez-Martin, 1972) zieht bei *Panorpa* von der Ansatzstelle der Chromosomen an der Kernmembran ein Büschel feiner Fibrillen in das Cytoplasma hinein.

Aber wichtiger als ein Vergleich der Feinstrukturen der Chromosomenansatzstellen erscheint die Frage, wann die Verbindung der Chromosomen mit der Kernmembran hergestellt und wann sie gelöst wird. Wenn nach jeder Zellteilung die Enden homologer Chromosomen während der Ausbildung der Kernmembran an nahe benachbarten Stellen mit dieser verwachsen, so befinden sich die Chromosomenenden dadurch in einem dauernden Zustand der Vorpaarung (ähnliche Überlegungen bei Sved, 1966). Möglicherweise bestehen zwischen homologen Telomeren gewisse Anziehungskräfte oder auch lockere Verbindungsstrukturen, die für das Zusammenfinden der homologen Chromosomenenden nach der Anaphase verantwortlich sind. Bei Dipteren liegen in der Regel auch während der mitotischen Metaphase homologe Chromosomen nahe beieinander. Das gleiche fanden Schneiderman und Smith (1962) an Mitosestadien beim Menschen. Es ist also nicht auszuschließen, daß die Chromosomen ständig eine bestimmte Orientierung zueinander halten.

Der Gedanke, die homologen Chromosomen könnten bereits vor Beginn der meiotischen Prophase paarweise geordnet sein, ist bereits mehr-

fach geäußert worden (z. B. Smith, 1942; Maguire, 1967; Chauhan und Abel, 1968; Wagenaar, 1969). Maguire sowie Chauhan und Abel leiten diese Vorstellung von den Beobachtungen ab, daß in der mitotischen bzw. in der prämitotischen Interphase die Heterochromatinschollen paarweise eng benachbart liegen oder sogar zum Teil miteinander verschmolzen sind. Außer der Verbindung der Chromosomen im Heterochromatin sind eine Reihe anderer Chromosomenabschnitte als Kontaktstellen bei der Vorpaarung genannt worden: Centromeren (Darlington, 1937), Telomeren (Kasha und Burnham, 1965), Zygomeren (Sybenga, 1966) und „collochores“ (Cooper, 1964). Wagenaar (1969) fand in den Wurzelspitzenzellen verschiedener Pflanzen eine paarweise End-zu-End-Verbindung der Chromosomen während der Interphase und in der mitotischen Prophase. In der frühen Telophase lagen gleich lange und gleich strukturierte Chromosomen dicht zusammen. Zwischen diesen wurden in der späten Telophase neue Endverbindungen ausgebildet. Wagenaar sieht darin eine Bedeutung für die Chromosomenpaarung in der Meiose.

Dagegen lehnt Walters (1970) den Gedanken einer Chromosomenpaarung vor dem Zygotän auf Grund ihrer Untersuchungen an *Lilium longiflorum* ab. Sie konnte in der prämeiotischen Interphase keine Beziehungen der homologen Chromosomen zueinander finden. Ebenso kommt Palmer (1971) in seiner Arbeit über das Verhalten der Chromosomen in den Mikrosporocyten ameiotischer und normaler Maispflanzen zu einem negativen Urteil über die Frage der Vorpaarung. In allen genannten Arbeiten wurden lichtmikroskopische Quetschpräparate für die Untersuchungen verwendet. Eine Beziehung der Chromosomen zur Kernmembran wurde nicht diskutiert.

Die vorliegenden Beobachtungen an den Spermatogonien und den Spermatocyten von *Panorpa communis* scheinen die Vorstellungen über eine bestimmte Orientierung der Chromosomen auch außerhalb der Paarungsstadien zu stützen. Es hat sich gezeigt, daß die Chromosomen nicht nur im Leptotän und Pachytän mit der Kernmembran in Kontakt sind, sondern daß diese Verbindung in der Meiose offensichtlich bis zur Diakinese bestehen bleibt, in der Prophase II neu hergestellt wird und sowohl in der prämeiotischen als auch in der mitotischen Interphase vorhanden ist. Zu ähnlichen Ergebnissen sind Woollam und Ford (1964) gekommen. Das würde bedeuten, daß abgesehen von der Metaphase und Anaphase die Chromosomen dauernd mit der Kernmembran verknüpft sind.

Da einerseits die Enden der homologen Chromosomen im Zygotän nahe beieinander liegen und die Paarung in den distalen Bereichen nahe der Kernmembran beginnt, andererseits aber eine Wanderung der Chromosomenenden aufeinander zu über längere Strecken nicht sehr wahrscheinlich ist, muß angenommen werden, daß sich die Haftpunkte der

Chromosomen ständig in dem Zustand der Vorpaarung befinden. In der Interphase wird die Paarung auf die Chromosomenenden beschränkt sein, die mittleren Abschnitte könnten dabei weit auseinander laufen. Durch die Prophaseverkürzung würden dann die Chromosomen mechanisch zusammengezogen, da beide Enden an der Kernmembran angeheftet sind. Daß bei der meiotischen Paarung aber geringe Verschiebungen der Haftpunkte auftreten können, zeigen die vorliegenden Befunde und die Untersuchungen von Moens (1969) an den Spermatocyten von *Locusta migratoria*. Hier liegen die Ansatzstellen der homologen Chromosomen im Leptotän und im frühen Zygotän etwas weiter auseinander als in den Bivalenten nach Ausbildung des SC.

## 2. Chromosomenstruktur in Interphase und meiotischer Prophase

Lampenbürstenstrukturen der Chromosomen sind von verschiedenen Autoren vor allem in wachsenden Oocyten von Amphibien und panoistischen Insekten eingehend untersucht worden (Callan, 1952, 1963, 1966; Gall, 1952, 1956; Callan und Macgregor, 1958; Callan und Lloyd, 1960; Gall und Callan, 1962; MacGregor und Callan, 1962; Miller, 1965; Bier, Kunz und Ribbert, 1967; Kunz, 1967, 1969; Ullerich, 1970). Dagegen fanden die Chromosomen aus der Wachstumsphase der Spermatocyten weniger Beachtung (Henderson, 1961, 1964, 1971; Meyer, Hess und Beermann, 1961; Meyer, 1963; Meyer und Hess, 1965). Trotzdem hatte schon Ris (1945) auf die Ähnlichkeit der „ausgefranst“ Chromosomen in der Spermatogenese der Heuschrecken mit der Struktur der Chromosomen in den Amphibien-Oocyten hingewiesen, noch bevor die Feinstruktur der Lampenbürstenchromosomen bekannt war.

Henderson (1964) hat diesen Zusammenhang in seiner Arbeit über die RNA-Synthese während der Spermatogenese bei Heuschrecken wieder herausgestellt. Er weist darauf hin, daß wahrscheinlich die Chromosomen der meisten Pflanzen und Tiere während der meiotischen Prophase eine mehr oder weniger ausgeprägte Lampenbürstenform besitzen. Aus der Tatsache, daß die Chromosomen während dieser Zeit ebenso wie in der Interphase RNA synthetisieren, schließt Henderson, daß die Chromosomen in beiden Stadien wahrscheinlich ähnliche Struktur besitzen. Die Lampenbürstenform der Chromosomen sei daher ein Modell für alle syntheseaktiven Chromosomen aller Zelltypen. Eine ähnliche Meinung vertraten schon Nebel und Coulon (1962a) auf Grund ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchungen an den Spermatocyten der Taube und an den Wurzelspitzen der Zwiebel.

Die vorliegenden Ergebnisse aus der Spermatogenese von *Panorpa* widersprechen dieser Auffassung. Hier wurden Lampenbürstenstrukturen in den Stadien vom Leptotän bis zur Diakinese gefunden. Ebenso

zeigen Bilder aus der Prophase der 2. Reifeteilung Chromosomen im Lampenbürstenzustand. Diese unterscheiden sich von den Leptotänchromosomen im wesentlichen nur durch das Fehlen der verstärkten Mittelachse. Dagegen haben die Chromosomen in der mitotischen Interphase wie auch im Präleptotän deutlich andere Gestalt. Wie beschrieben, enthalten die Kerne neben den Heterochromatinschollen nur 50—80 Å dicke Fibrillen, die sich in ihrem spiralförmigen Verlauf streckenweise verfolgen lassen. Ihnen fehlt aber stets eine Gliederung in Achsenabschnitte und Seitenschleifen.

Es wird daher angenommen, daß in der mitotischen und prämeiotischen Interphase die euchromatischen Chromosomenanteile vollständig entspiralisiert sind und als feines Netzwerk den Kernraum füllen. In diesem Stadium bestehen keine morphologischen und möglicherweise auch keine funktionellen Unterschiede zwischen einzelnen DNA-Abschnitten. Das Heterochromatin dagegen ist vollständig verklumpt und teilweise mit der Kernmembran verklebt. Es bildet die dichten, für die mitotischen Interphase-Kerne typischen Chromatinschollen. Bei der Bildung der Präleptotän-Chromosomen tritt eine morphologische Differenzierung innerhalb der Chromatiden ein. Kurze, auf den Chromatiden getrennt liegende Abschnitte reihen sich aneinander und bilden so die DNA-Achse der Lampenbürstenstruktur, während die restlichen Anteile der Chromatiden seitwärts abgehend die Seitenschleifen bilden. Bei einem Vergleich mit dem Chromosomenmodell von Callan (1967) würden die in der DNA-Achse aneinandergereihten Chromatidenabschnitte den master-strands entsprechen, während die Seitenschleifen von den slave-strands gebildet würden.

In den Chromosomen der meiotischen Prophase wird eine zusätzliche Achsenstruktur ausgebildet, die im Zygotän und Pachytän zu einem lateralen Element des SC wird. Sie hält die Achsen- und Schleifenabschnitte in einer festen Lage zueinander.

Nach den vorliegenden Befunden, sowie den Ergebnissen anderer Autoren (Nebel und Coulon, 1962 b; Coleman und Moses, 1964; Esponda und Stockert, 1971) besteht die verstärkte Chromosomenachse aus RNA und Proteinen. Die Versuche mit Actinomycin D zeigen, daß ein Teil des Achsenmaterials erst während des Aufbaus dieser Struktur neu gebildet wird. Nach einstündiger Actinomycin-Behandlung wird die Achse durch Uranylacetat schwächer kontrastiert als in Normalpräparaten, während die Form und Dicke der Achse unverändert ist. Da durch das Actinomycin primär die Transkription gehemmt wird (Reich u. Mitarb., 1961), handelt es sich bei der fehlenden Achsenkomponente wahrscheinlich um den RNA-Anteil. Erst bei länger andauernder Behandlung mit Actinomycin (ab 4 Std) wird auch der Aufbau der Proteinanteile gestört, wodurch dann sehr dünne Achsen entstehen (Abb. 7).

Offensichtlich wird von beiden Chromatiden eines Prophase-Chromosoms je eine Achse aufgebaut, die aber normalerweise so dicht nebeneinander liegen, daß die Doppelstruktur nur in seltenen Fällen (Abb. 9) zu erkennen ist.

In einer neueren Arbeit von Henderson (1971) wurden auf Grund der unterschiedlichen Verteilung der Seitenschleifen an den Chromosomen in den verschiedenen Stadien von Mitose und Meiose vier verschiedene Typen von Lampenbürstenstrukturen beschrieben.

a) *Meiotische Prophase II*: Die Chromosomen bestehen aus einer Chromatide, die symmetrisch nach allen Richtungen Seitenschleifen ausbildet.

b) *Frühe meiotische Prophase I*: Die Seitenschleifen der beiden Schwesterchromatiden eines Chromosoms sind asymmetrisch angeordnet. Alle Schleifen sind nach einer Seite des Chromosoms gerichtet, während die gegenüberliegende Seite eine „Paarungsoberfläche“ besitzt.

c) *Mitotische Prophase und späte meiotische Prophase I*: Die Seitenschleifen der beiden getrennt sichtbaren Chromatiden eines Chromosoms sind symmetrisch in entgegengesetzter Richtung angeordnet.

d) *Diffuses Diplotän in den Oocyten der Amphibien*. Die Anordnung der Seitenschleifen ist wie in c), aber die Chromatidenachsen sind eng miteinander verschmolzen

Die Chromosomenstrukturen in der frühen meiotischen Prophase von *Panorpa* stimmen mit den zitierten Vorstellungen nicht überein. Hier haben die Chromosomen — wie Querschnitte eindeutig zeigen — im Leptotän und Zygotän radiärsymmetrische Gestalt. Die Seitenschleifen gehen nach allen Richtungen radial von der Chromosomenmitte aus. Eine sichtbare Paarungsoberfläche ist nicht vorhanden. Selbst im frühen Zygotän, wenn die homologen Chromosomen dicht nebeneinander liegen, ist keine Veränderung in der Lage der Seitenschleifen zu beobachten. Erst wenn sich die Chromatinhüllen beider Chromosomen überlappen, werden die Seitenschleifen mehr und mehr aus der Paarungsebene herausgedrängt, so daß allmählich ein freier Raum zwischen den Chromosomen entsteht. In diesem wird dann der SC ausgebildet (s. u.).

Solange der Paarungskomplex in den Bivalenten vorhanden ist, behalten die Seitenschleifen eine halbkreisförmige Anordnung bei. Es liegt also auch hier keine streng einseitige Anordnung vor. In den Spermatozyten bleibt diese Chromosomenform erhalten, bis in der Diakinese die Metaphase-Verkürzung einsetzt. Auch die Chromosomen der Oocyten zeigen nach Auflösung des SC im Diplotän wieder eine radiär-symmetrische Schleifenanordnung.

Übereinstimmend mit Henderson kann festgestellt werden, daß die Lampenbürstenstruktur keine spezifische Bildung der Chromosomen im Diplotän der Oogenese von Amphibien und panoistischen Insekten dar-

stellt, sondern daß diese Chromosomenform weit verbreitet und wahrscheinlich für die Prophase aller Teilungsstadien typisch ist. Eine Unterteilung in verschiedene Formtypen auf Grund der unterschiedlichen Schleifenlage erscheint dagegen nicht gerechtfertigt. Auch in der Arbeit von Moens (1969) über den SC bei *Locusta migratoria* sind keine Anhaltspunkte für eine asymmetrische Lage der DNA-Seitenschleifen im Leptotän und Zygotän zu finden.

Der Grund für die Differenz in den Ergebnissen wird wahrscheinlich methodischer Art sein. Hendersons Interpretationen basieren auf Chromosomen-Quetschpräparaten. Nach eigenen Versuchen hat sich aber gezeigt, daß durch Alkohol-Eisessig-Fixierung die Feinstruktur der Chromosomen weitgehend zerstört wird. Der Quetschvorgang stellt einen weiteren unkontrollierbaren Eingriff in die Chromosomenstruktur dar. Es ist deshalb fraglich, ob auf dieser Grundlage derart differenzierte Aussagen über den Aufbau von Chromosomen gemacht werden sollten.

*X-Chromosom.* Die besondere Gestalt des X-Chromosoms während der Prophase I der Spermatogenese ist offensichtlich durch das Fehlen des homologen Partners bedingt, denn in den Oocyten, die zwei X-Chromosomen enthalten, unterscheiden sich die Geschlechtschromosomen strukturell nicht von den Autosomen. Wie aus der Abb. 33 hervorgeht, wird von dem X-Chromosom ebenso wie von den Autosomen im Leptotän eine stabförmige Achse angelegt. In den Spermatoocyten beginnt diese bald infolge einer fehlenden Paarungsmöglichkeit zu verklumpen. Dabei werden einige Achsenabschnitte stark kondensiert, andere behalten ihre ursprüngliche Bandform. In diesem Stadium erscheint das X-Chromosom wie aus mehreren Kugeln zusammengesetzt. Bis zum Ende der Diakinese kann die Kondensierung weiter fortschreiten, so daß das Achsenmaterial schließlich einen einzigen kugeligen Zentralkörper bildet.

Von beiden Achsenpartien, sowohl den linearen als auch den kugelförmigen, gehen DNA-Fibrillen radial nach allen Seiten aus. Diese Fibrillen haben ähnliche Struktur wie die Seitenschleifen in den euchromatischen Bereichen der Autosomen. Im Gegensatz zu den Befunden Ullrichs (1961) muß demnach das X-Chromosom als euchromatisch angesehen werden. Die kondensierte Gestalt wird ausschließlich durch die Achsenstruktur bedingt. Erst nach Auflösung der Achse in der Diakinese kann das Chromosom wieder eine „normale“ Form annehmen.

### 3. Bildung des synaptonemal complex und seiner Komponenten

Wie die Untersuchungen an *Panorpa communis* und an *Locusta migratoria* (Moens, 1969) ergeben haben, beginnt die Paarung der Chromosomen in den distalen Abschnitten des Euchromatins. Das Vorhandensein weiterer Startpunkte ist sehr wahrscheinlich (Darlington, 1958; Sved,

1966; Henderson, 1971). Von den Startpunkten aus läuft die Bildung der SC reißverschlußartig weiter. Durch welche Kräfte die Chromosomen primär zusammengeführt werden, ist bisher unklar. Die oben erwähnte Vororientierung durch die benachbarte Lage der Ansatzstellen der Chromosomen an der Kernmembran kann dabei nur eine Hilfsfunktion erfüllen.

Die primären Paarungskräfte haben wahrscheinlich keinen Zusammenhang mit den Strukturen des SC, da einerseits eine Chromosomenpaarung auch ohne SC erfolgen kann und andererseits die Komplexstrukturen erst bei recht geringem Abstand der Chromosomen auftreten. Die Distanz, bei der zwischen den Achsen Querfibrillen und weitere Komplexstrukturen sichtbar werden, liegt für *Panorpa communis* bei 2000 Å. Bei *Locusta migratoria* beträgt sie 3000 Å (Moens, 1969), während bei *Gryllus domesticus* SC-Strukturen nur bei einer Distanz von ca. 1000 Å zwischen den lateralen Elementen auftreten (Wolstenholm u. Meyer, 1966). Erst bei diesem Abstand könnten also die Querfibrillen als Zugfasern wirksam werden. Daß sie tatsächlich eine Zugfunktion haben, läßt sich aus ihrer gestreckten Form in den Anfangsstadien der Paarung ableiten. Im fertigen SC mit einem Achsenabstand von 1300 Å sind die Querfibrillen dagegen leicht nach außen gebogen. Es entsteht der Eindruck, als wirkten sie hier eher als Stemmfasern. An Quer- und Längsschnitten des SC läßt sich deutlich erkennen, daß beim vorliegenden Objekt die Querfibrillen durchgehend von einem lateralen Element zum anderen verlaufen. Es handelt sich demnach nicht um kurze Fibrillenteile, die von jeder Achse in den Paarungsspalt hineinragen, sich in der Mitte überlagern und so das zentrale Element bilden, wie es z. B. in dem Modell von Moens (1968, 1969) beschrieben worden ist.

Das zentrale Element ist in dem SC von *Panorpa* eine selbständige Struktur von leiterförmigem Aussehen. Es besteht aus zwei Längsfibrillen, die durch kurze Querfibrillen miteinander verbunden werden. Diese sind nicht identisch mit den Querfibrillen, die zwischen den lateralen Elementen auftreten, da beide jeweils in verschiedenen Schnitt-Ebenen zu finden sind. Möglicherweise bilden die Querfibrillen des zentralen Elementes eine Wendel, die die Längsfibrillen einschließt. Jedenfalls entsteht dieser Eindruck dadurch, daß die Querfibrillen stets gekrümmt sind und etwas schräg zu den Längsfibrillen verlaufen. Es ist aber auch nicht auszuschließen, daß die Querfibrillen die Spitzen der Paarungsschleifen (s. Abschnitt „Modell des SC“) darstellen. Diese Möglichkeit ist im oberen Teil des Modells in Abb. 48 gezeichnet. Allerdings ließe sich bei dieser Deutung die große Regelmäßigkeit der Leiterstruktur schlecht mit dem unregelmäßigeren Verlauf der Paarungsschleifen in Einklang bringen. Eine eindeutige Interpretation ist an Hand der Bilder nicht möglich.

#### 4. Diplotänkomplexe

Eine Zweiteilung der lateralen Elemente des SC ist in mehreren Arbeiten beschrieben worden (Moses, 1968; Guenin und Gautier, 1960; Nebel und Coulon, 1962a; Woollam und Ford, 1964; Coleman und Moses, 1964; Roth, 1966; Baker and Franchi, 1967; Gassner, 1967). Es muß dabei zwischen zwei Typen unterschieden werden: Im Typ A steht die Teilungsebene senkrecht zur Paarungsebene ( $00=00$ ), im Typ B verläuft sie in Richtung des SC ( $\begin{smallmatrix} \circ & = & \circ \\ \circ & = & \circ \end{smallmatrix}$ ).

Woollam und Ford (1964) sehen in der Aufteilung der lateralen Elemente nach Typ A eine Trennung der beiden Schwesterchromatiden eines Chromosoms. Dabei soll der äußere Teil der lateralen Elemente die ältere, der innere Teil die in der letzten S-Phase neu synthetisierte Chromatide darstellen. Diese Anordnung der Chromatiden erscheint aber wenig einleuchtend, da einerseits die Strukturunterschiede zwischen den inneren und äußeren Teilen der lateralen Elemente zu groß sind und andererseits in dieser Lage die Gleichrangigkeit der Schwesterchromatiden für ein crossing-over nicht gewährleistet ist.

In dem Modell von Roth (1966), dem Typ A zugrunde liegt, werden die äußeren Hälften der lateralen Elemente als Teile der Chromosomen gedeutet, während die inneren Hälften zur Paarungsstruktur gehören sollen. Diese sollen sich im Diplotän als Ganzes aus den Bivalenten herauslösen, um dann anschließend durch seitliches Verschmelzen vieler Bruchstücke chromatinfreie Polykomplexe zu bilden.

Eine weitere Interpretation findet Moens (1968) in seinem Modell des SC. In diesem stellen die inneren Stränge der lateralen Elemente die Chromatiden dar, von denen gelegentlich zwei zum crossing-over in der Mitte des Paarungsspaltcs verlaufen und dort die Längsfibrillen des zentralen Elements bilden.

Eine Doppelstruktur der lateralen Elemente nach Typ B wurde von Nebel und Coulon (1962) in den Spermatozyten der Taube gefunden. Nach ihrer Interpretation sind die Hälften der lateralen Elemente die Schwesterchromatiden.

Von Gassner (1967) wurde in einer kurzen Mitteilung auf Grund seiner Untersuchungen an *Panorpa nuptialis* die Vermutung geäußert, die Doppelstruktur der lateralen Elemente nach Typ B würde nicht die Schwesterchromatiden repräsentieren, sondern in den Spaltheilften seien die homologen Chromatiden zu sehen. Der Sc würde danach zwischen Schwesterchromatiden ausgebildet sein. Sein Modell ist also gegenüber der von allen anderen Autoren vertretenen Interpretation um  $90^\circ$  gedreht. Er begründet seine Vorstellung damit, daß der Abstand der lateralen Elemente im SC in allen Stadien unverändert bleibt, während

der Abstand zwischen den Hälften der lateralen Elemente im Diplotän immer größer wird.

Diese Interpretation ist aus verschiedenen Gründen sicher nicht richtig:

1. Die Leptotän-Chromosomen enthalten keine SC, obwohl sie aus zwei Schwesterchromatiden bestehen und gelegentlich die Doppelstruktur der Achse zu erkennen ist.

2. In den Oocyten wird der SC im Diplotän abgebaut, wenn die homologen Chromatiden auseinanderweichen. In den Spermatocyten, in denen die homologen Chromosomen bis zur Metaphase eng zusammenliegen, bleibt auch der SC länger erhalten.

3. Die univalenten X-Chromosomen in den Spermatocyten enthalten keinen SC, während die beiden X-Chromosomen in den Oocyten Paarungsstrukturen ausbilden.

Bei *Panorpa communis* ist das Auseinanderrücken der Schwesterchromatiden im Diplotän mit einer vollständigen Verdopplung der SC zu „Vierer-Komplexen“ verbunden. Diese Tatsache bietet eine Möglichkeit zu prüfen, welchen Strukturen des Komplexes die vier Chromatiden eines Bivalents zugehören: Die Vierer-Komplexe enthalten in beiden Verbindungsstrukturen zwischen den homologen Chromatiden zentrale Elemente, die ebenso wie in den Pachytän-Komplexen aus zwei Längssträngen bestehen. Zwischen diesen sind aber keine „Quersprossen“ zu finden. Es muß also bei der Bildung der Diplotän-Komplexe eine Verdopplung der Längsstränge unter Auflösung der Wendel stattgefunden haben. Da sich das zentrale Element in den histochemischen Präparaten außerdem als DNA-negativ erwiesen hat, können die beiden Längsstränge des zentralen Elementes bei *Panorpa communis* nicht als zwei Chromatiden angesehen werden (s. Modell von Moens, 1968).

Eine mögliche Identität der inneren Teile der lateralen Elemente mit den Chromatiden (s. Woollam und Ford, 1964; Moens, 1968) kann ebenfalls mit Hilfe der Vierer-Komplexe geprüft werden. Bei *Panorpa communis* bestehen die inneren Teile der beiden lateralen Elemente aus je zwei Strängen, im Diplotän enthält jedes der vier lateralen Elemente der Doppelkomplexe nur noch einen inneren Strang. Die Anzahl der Stränge bleibt insgesamt gleich. Somit könnten sie die vier Chromatiden eines Bivalents repräsentieren. Da die Stränge aber stärker durch RNase als durch DNase angegriffen werden, muß diese Vorstellung abgelehnt werden. Die inneren Teile der lateralen Elemente sind demnach eine RNA-haltige Struktur — möglicherweise Kopien der kurzen DNA-Schleifen im SC. Sie könnten als Erkennungsstruktur für eine genaue Paarung homologer Abschnitte dienen (s. Abschnitt „Modell des SC“).

An der Bildung der „Vierer-Komplexe“ im Diplotän wird deutlich, daß nur die Doppelstruktur der lateralen Elemente nach Typ B die

beiden Schwesterchromatiden repräsentiert. Es zeigt sich, daß jede Chromatide eine eigene Achse besitzt. Diese müssen von vornherein getrennt angelegt worden sein, da sonst ein reibungsloses Auseinanderweichen der Chromatiden ohne Bruch und Neuverknüpfung der Achsen-Längsfibrillen nicht möglich wäre. Gestützt wird diese Annahme durch die Abb. 9, in der ein Leptotän-Chromosom mit doppelter Achse zu erkennen ist. Wie im Abschnitt „Chromosomenstruktur“ erwähnt, sind die lateralen Elemente selbst aber nicht mit den Chromatiden identisch, sondern sie bilden nur eine Stütze für die in Lampenbürstenform angeordneten Chromatiden.

Besonders auffällig ist die gerade Form der Chromosomenachsen im Diplotän. Sie läßt sich auf zweierlei Weise erklären: Während die Pachytän-Chromosomen durch die beiden lateralen Elemente des SC in x- und y-Richtung stabilisiert sind, in der z-Richtung aber noch wie ein Band gefaltet werden können, sind die Diplotän-Komplexe durch ihre vier räumlich angeordneten Achsen weitgehend starr. Die Chromosomen verlaufen daher — soweit ihre Länge und die Lage der Ansatzstellen an der Kernmembran dieses zulassen — völlig gerade im Kernraum oder beschreiben weite, gleichmäßig gekrümmte Bögen. Ein weiterer Grund für die gerade Form der Chromosomen mag der sein, daß die Chromosomen, die nach Messungen an Quetschpräparaten zwischen 10 und 15  $\mu\text{m}$  lang sind, mit zunehmendem Kernwachstum (Kerndurchmesser am Ende der Wachstumsphase 16  $\mu\text{m}$ ) wie Saiten im Kernraum ausgespannt werden, weil sie mit beiden Enden an der Kernmembran angeheftet sind.

### 5. Diakinese

Während in fast allen bisher untersuchten Fällen der SC nach dem Pachytän abgebaut oder als Ganzes von den Chromosomen abgelöst wird, bleiben die Paarungsstrukturen bei *Panorpa* ungewöhnlich lange mit den Chromosomen verbunden. In der Spermatogenese sind noch zu Beginn der Diakinese SC in den Chromosomen nachweisbar. Wie beschrieben, findet in dieser Phase ein deutlicher Abbau der Komplexstrukturen statt. Die Längsstränge des zentralen Elements und der inneren Teile der lateralen Elemente werden anscheinend zuerst aufgelöst; die äußeren Teile der lateralen Elemente und die Quersfibrillen sind noch etwas länger in den Bivalenten zu beobachten. Die Chromosomen behalten auch nach Auflösung der Achsenstrukturen zunächst noch ihre Lampenbürstenform.

Eigenartig ist, daß die Bivalente in der Diakinese generell nur noch einfache SC mit zwei lateralen Elementen besitzen. Mit ziemlicher Sicherheit handelt es sich hier um Komplexe zwischen homologen Chromatiden, da in diesen Strukturen anfangs noch die Längsstränge des

zentralen Elements zu erkennen sind, die in den Verbindungen zwischen den Schwesterchromatiden nicht enthalten sind. Es ist nun die Frage, was aus der anderen Hälfte des Diplotän-Komplexes geworden ist. Die Annahme, die Achsen der Schwesterchromatiden würden in einem zur Bildung der Vierer-Komplexe rückläufigen Prozeß wieder miteinander verschmelzen, ist recht unwahrscheinlich, da die lateralen Elemente der Diakinese-Komplexe schmaler sind und die Anzahl der Quersfibrillen geringer ist als im Pachytän. Die Strukturen besitzen also nicht die Dimensionen eines verschmolzenen Doppelkomplexes. Das Auftreten der Zweier-Komplexe in diesem Stadium kann auch nicht durch ein vollständiges Auseinanderrücken der homologen Chromosomen erklärt werden; das würde einerseits den Beobachtungen Ullerichs (1961) widersprechen, daß die homologen Chromosomen bis zur Metaphase gepaart bleiben, und andererseits nicht mit der Annahme zu vereinigen sein, daß es sich hier aus den oben genannten Gründen um Verbindungsstrukturen zwischen homologen Chromatiden handelt. Ebenso scheidet eine vollständige Trennung der Schwesterchromatiden als Erklärung aus.

Danach bleibt nur die Möglichkeit anzunehmen, daß eine Hälfte der Vierer-Komplexe schneller abgebaut wird als die andere. Einen schwachen Anhaltspunkt für diese Interpretation bietet die Abb. 29 b, in der neben dem deutlich ausgeprägten „Zweier-Komplex“ Strukturen liegen, die als Reste der zweiten Hälfte eines Doppel-Komplexes angesehen werden könnten.

### 6. Modell des synaptonemal complex

Die in dieser Arbeit angeführten Ergebnisse und deren Interpretationen führen zu folgendem Modell der Chromosomen- und der Paarungsstruktur bei *Panorpa communis*:

Die Chromosomen besitzen vom Leptotän bis zur Diakinese eine Lampenbürstenstruktur. Jede Chromatide besteht aus einem durchgehenden Strang, der unterschiedlich lange Schleifen ausbildet. Die zwischen den Schleifen liegenden Chromatidenabschnitte sind eng um eine Achse aus basischen Proteinen und RNA gewickelt (Abb. 5, 6 und 41). Die Achse ist eine zum Zweck der Chromosomenpaarung angelegte Stützstruktur. Sie wird im Pachytän zu einem lateralen Element des SC.

Im Leptotän sind die Schleifen radiärsymmetrisch um die Achse angeordnet. Bei der Annäherung der homologen Chromosomen im Zygotän werden die langen Seitenschleifen aus der Paarungsebene herausgedrängt, gleichzeitig rücken sehr kurze DNA-Schleifen in den Paarungsspalt hinein (Abb. 41). Nur an diesen kurzen DNA-Schleifen können auf Grund ihrer Lage im SC die crossing-over-Vorgänge ablaufen. Sie sollen deshalb als Paarungsschleifen bezeichnet werden.

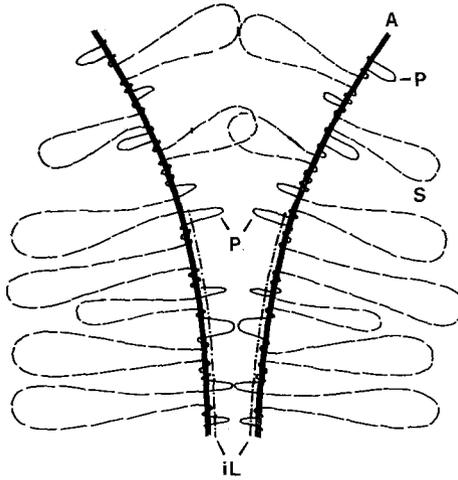


Abb. 41. Vorgang der Chromosomenpaarung im Zygotän. Der besseren Übersichtlichkeit wegen ist von den beiden Chromosomen nur je eine Chromatide gezeichnet, die Querfibrillen und das zentrale Element sind ebenfalls weggelassen. Im oberen Teil des Modells ist der Abstand zwischen den beiden Chromatidenachsen größer als die doppelte Weite des Chromatinmantels. Die DNA-Schleifen haben noch ihre radiärsymmetrische Lage wie im Leptotän. Haben sich die Chromosomen so weit genähert, daß sich ihre Chromatinhüllen gegenseitig überlappen, so werden die Seitenschleifen nach außen gedrängt, bis sie die Achsen halbkreisförmig umgeben. Dabei rücken die Paarungsschleifen in den Paarungsspalt hinein (mittlerer Teil der Zeichnung). Sie werden durch neu gebildete RNP-Stränge, den inneren Strängen der lateralen Elemente (*iL*), miteinander verbunden. *A* Chromatidenachsen (=laterale Elemente des SC), *S* Seitenschleifen, *P* Paarungsschleifen, *iL* innere Stränge der lateralen Elemente

Nach Messungen an den SC von *Panorpa communis* sind die Paarungsschleifen zwischen 500 und 2000 Å lang. Das entspricht einer Folge von etwa 50 bis 200 Basentriplets, also einer Anzahl, wie sie für die Codierung eines Polypeptids erforderlich ist. Verglichen mit dem Chromosomenmodell von Callan (1967) könnten die Paarungsschleifen ihrem Umfang nach master-strands eines Gens repräsentieren. Ebenso gut können diese Abschnitte aber auch andersartige Informationen tragen.

Während der Chromosomen-Paarung werden von den Paarungsschleifen RNA-Kopien hergestellt<sup>1</sup>, die mit Proteinen zusammen die inneren Stränge der lateralen Elemente bilden. Sie könnten die Funktion haben, die Paarungsschleifen im richtigen Abstand zueinander zu

<sup>1</sup> Da unter Actinomycin-Einwirkung SC entstehen, die keine inneren Stränge der lateralen Elemente enthalten, wird angenommen, daß diese Struktur erst während des Paarungsvorgangs aufgebaut wird.

halten. Da auf den homologen Chromatiden ein gleichartiges Schleifenmuster ausgebildet ist, liegen sich im fertigen SC stets homologe Abschnitte gegenüber. Eine molekulare Punkt-für-Punkt-Paarung zwischen homologen Abschnitten (s. Wettstein, 1971) ist in diesem Modell überflüssig. Auch die von Menzel und Price (1966) beschriebene SC-Bildung zwischen „homoeologen“ Chromosomen in Hybriden von *Lycopersicon esculentum* und *Solanum lycopersicoides* sowie in den Chromosomen haploider Pollenmutterzellen von *Lycopersicon esculentum* können durch den beschriebenen Paarungsmodus erklärt werden.

Vielfach werden komplizierte Paarungskonfigurationen bei Inversions-Heterozygoten als Beweis dafür angesehen, daß DNA-freie „spezifische Erkennungsstrukturen“ im SC nur die Paarung homologer Abschnitte zulassen. Diese Vorstellung ist aber wahrscheinlich nicht zutreffend, denn zu dem Zeitpunkt, in dem der SC aufgebaut wird, haben sich die Chromosomen bereits soweit genähert, daß die endgültige Paarungskonfiguration schon hergestellt sein muß. Daraus ist — im Gegensatz zu den bisherigen Vorstellungen — zu folgern, daß in einem ersten Schritt sehr spezifische Paarungskräfte wirksam werden, durch die homologe Abschnitte auf 3000—2000 Å genähert werden. Danach setzt die Bildung der SC-Strukturen ein, die aber ebenso zwischen homologen wie zwischen nichthomologen Segmenten stattfinden kann.

Im fertig ausgebildeten SC sind die lateralen Elemente in regelmäßigem Abstand durch DNA-freie Querfibrillen miteinander verbunden. Dadurch werden sie über die ganze Länge des Bivalentes in gleichbleibender Entfernung zueinander gehalten. Möglicherweise sind die Querfibrillen Ausläufer der Proteinstränge, aus denen die Chromosomenachsen aufgebaut werden (Abb. 42).

Fraglich ist noch die Funktion des zentralen Elements im SC. Ob es nur zur Festigung des Komplexes dient, oder ob es als Stütz- und Leitstruktur für die DNA-Schleifen beim crossing-over erforderlich ist, kann noch nicht entschieden werden.

Strukturen, die den Paarungsschleifen entsprechen, sind auch in den Modellen von Henderson (1971) und von Wettstein (1971) enthalten. Im Modell von Henderson, das auf dem Chromosomen-Modell von Callan (1967) aufbaut, werden die master-strands von den slaves (Seitenschleifen) völlig getrennt und bilden im Innern des SC eine durchgängige, mäanderförmig gefaltete Kette. Die master homologer Chromatiden können sich dabei in der Mitte des SC zum crossing-over treffen. Im Modell von Wettstein (1971) sind zunächst alle DNA-Schleifen außerhalb des SC angeordnet. Nur recht kurze Verbindungsstücke zwischen den Seitenschleifen sind mit den lateralen Elementen des Komplexes verbunden. Erst zum crossing-over sollen sich gegenüberliegende Seitenschleifen zweier homologer Chromatiden in den Paarungsspalt hinein-

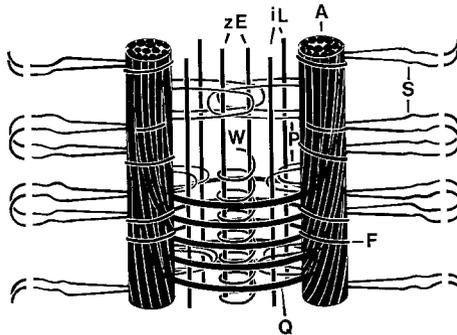


Abb. 42. Modell des synaptonemal complex in Frontalansicht. (Nur im unteren Teil der Zeichnung sind alle Komponenten des SC dargestellt.) *A* Chromosomenachse (= laterales Element), *iL* innere Stränge der lateralen Elemente, *zE* Längsstränge des zentralen Elements, *W* Wendel des zentralen Elements, *P* Paarungsschleifen, *S* DNA-Seitenschleifen, *Q* Querschnitte zwischen den lateralen Elementen. *F* Chromatidenabschnitte, die sich um die Achse winden

stülpfen. Theoretisch könnte nach dem Modell von Wettstein an jedem Punkt der Seitenschleifen ein crossing-over auftreten.

In dem hier vorgeschlagenen Modell sind besondere Abschnitte der Chromatiden, die Paarungsschleifen, stets im Paarungsspalt angeordnet. Es wird angenommen, daß die Chromatiden zum crossing-over nur an bestimmten Stellen dieser Abschnitte aufbrechen können. Die offenen Enden könnten anschließend an homologen Stellen der gegenüberliegenden Seite wieder „angeknüpft“ werden (s. Abb. 43).

Das hier entwickelte Modell bringt in vier Punkten neue Informationen über den Aufbau des Paarungskomplexes:

1. Durch enzymatische Abbauersuche und spezifische Kontrastierungen konnte erstmals die Anordnung der DNA-Fibrillen im Innern des SC ermittelt werden. Dabei hat sich gezeigt, daß die homologen Chromatiden durch kurze Paarungsschleifen im SC zusammengeführt werden.

2. Die lateralen Elemente (Chromosomenachsen) bilden ein „Rückgrat“ für die vier bei der Paarung zusammengeführten Chromatiden. Die Fibrillen, die das axiale Element aufbauen, ziehen stets in Längsrichtung der Achse, die DNA-Fibrillen der Chromatiden sind um die Achse herumgewickelt. Daraus wird deutlich, daß es sich hier um voneinander unabhängige Strukturen handelt.

3. Die inneren Stränge der lateralen Elemente werden in ihrer Funktion neu interpretiert. Sie sind danach eine Hilfsstruktur, die für eine genaue Paarung homologer Abschnitte verantwortlich ist.

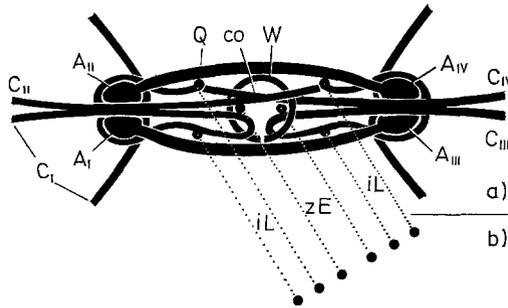


Abb. 43. a Modell des synaptonemal complex im Querschnitt.  $A_I$ — $A_{IV}$  Achsen der Chromatiden,  $C_I$ — $C_{IV}$  DNA-Abschnitte der Chromatiden,  $Q$  DNA-freie Querfibrillen zwischen den Chromatidenachsen,  $iL$  innere Stränge der lateralen Elemente,  $zE$  Längsstränge des zentralen Elements,  $W$  Wendel des zentralen Elements,  $co$  crossing-over. b  $30^\circ$ -Projektion der inneren Längsstränge des SC. Man erkennt, daß bei einer Schrägansicht der Paarungsstruktur die Längsstränge des zentralen Elements und der inneren Teile der lateralen Elemente als sechs parallele Fibrillen erscheinen

4. In den Modellen von Roth (1966), Moens (1968) und King (1970) wird die Entstehung des zentralen Elements durch eine Überlagerung der von den lateralen Elementen ausgehenden Querfibrillen in der Mitte des Paarungspaltes erklärt. In den SC von *Panorpa* ist das zentrale Element deutlich eine selbständige, von diesen Querfibrillen unabhängige Struktur, deren Funktion allerdings noch unklar ist.

#### 7. Vergleich zwischen achiasmatischer und chiasmatischer Paarungsstruktur

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß im Feinbau der SC aus den Spermatocyten und den Oocyten keine Unterschiede bestehen. Daraus kann geschlossen werden, daß der achiasmatische Verlauf der Meiose in den Spermatocyten und die Ausbildung von Chiasmata in den Oocyten nicht durch strukturelle Ungleichheit bedingt sind. Welche Faktoren dem unterschiedlichen Verhalten wirklich zugrunde liegen, ist nicht bekannt.

Durch Hitzebehandlung konnte Peacock (1970) die Chiasmahäufigkeit in den Spermatocyten von *Goniaea australasiae* herabsetzen, ohne die Paarung der Chromosomen und die Ausbildung von SC zu beeinflussen. Die Feinstruktur der SC dieser Zellen unterschied sich in keiner Weise von denen der Kontrollpräparate. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Lu (1970) bei seinen Untersuchungen an *Coprinus lagopus*. Sowohl durch Hitze- als auch durch Kälteschocks konnte die Rekombinationshäufig-

keit in den Sporen erhöht werden. Den stärksten Effekt erzielte die Behandlung während des späten Pachytäns, in einem Stadium also, in dem der SC bereits ausgebildet ist. Lu schließt daraus, daß der Vorgang des crossing-over nicht mit der Bildung des SC in direktem Zusammenhang steht.

Die Ergebnisse der zitierten Arbeiten und der vorliegenden Strukturvergleiche zwischen den SC aus chiasmatischer und achiasmatischer Meiose unterstützen die Auffassung, daß der SC nur die morphologische Grundlage für crossing-over und Chiasmabildung ist.

Abschließend soll noch auf das unterschiedliche Verhalten der SC im Diplotän in den Spermatozyten und Oocyten von *Panorpa* eingegangen werden. Während die Chromatiden in den Oocyten nach dem Pachytän auseinanderweichen und so die typischen Diplotän-Bivalente bilden, bleiben in den Spermatozyten die Chromatiden der Bivalente bis zur Metaphase eng zusammen. Das gleiche Verhalten zeigen die Chromatiden in den achiasmatischen Spermatogenesen von *Bolbe nigra* (Gassner, 1969) und fünf weiteren Mantiden-Arten (White, 1965), wie auch in der achiasmatischen Oogenese von *Ephestia* (Traut, pers. Mitteilung). Bei *Panorpa* wird diese Anordnung dadurch erreicht, daß die Chromatiden durch die „Vierer-Komplexe“ bis zur Diakinese zusammengehalten werden. Ebenso bleiben in der Spermatogenese von *Bolbe nigra* die SC bis zur Metaphase in den Bivalenten erhalten. Es wäre daher zu prüfen, ob ähnliche Verhältnisse in allen achiasmatischen Meiosen mit Ausbildung von SC vorliegen. Möglicherweise ist das Fehlen eines typischen Diplotän-Stadiums in diesem Meiosetyp allgemein dadurch bedingt, daß die SC bis zur Diakinese oder Metaphase in den Bivalenten erhalten bleiben. Da es bei der oben genannten Anordnung der Chromatiden unmöglich ist, ein eventuell vorhandenes crossing-over zu erkennen, kann das Auftreten von crossing-over in diesem Meiosetyp nicht allein durch cytologische Untersuchungsmethoden ausgeschlossen werden. Dieses Problem ließe sich nur durch genetische Kreuzungsversuche klären.

### Zusammenfassung

1. Die Spermatozyten sind in den Hodenfollikeln von *Panorpa* nach einem zeitlichen Gradienten angeordnet. Dadurch konnte die Entwicklung der Chromosomen- und der Paarungsstrukturen vom Leptotän bis zur Diakinese genau verfolgt werden.

2. Im Leptotän wird von jeder Chromatide eine Achse aus RNA und vorwiegend basischen Proteinen ausgebildet. Jede wird von den DNA-Fibrillen der Chromatiden umwunden. Die Achsen der Schwester-

chromatiden liegen normalerweise so eng zusammen, daß sie als eine Chromosomenachse erscheinen.

3. Nach Ausbildung der Chromosomenachse im Leptotän behalten die Chromosomen der Spermatoocyten bis zum Beginn der Diakinese den gleichen Verkürzungsgrad. Die im Lichtmikroskop sichtbaren Strukturunterschiede — besonders im „diffusen Diplotän“ — entstehen nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen durch Verknäuelung oder Streckung der DNA-Seitenschleifen.

4. Trotz des achiasmatischen Meioseverlaufs läßt sich in den Spermatoocyten von *Panorpa* ein Diplotänstadium abgrenzen. Die Achsen der Schwesterchromatiden rücken in dieser Phase auseinander. Es entstehen so neue Komplexe mit vier lateralen Elementen. Sie werden „Vierer-Komplexe“ oder „Diplotän-Komplexe“ genannt. In ihnen treten häufig auch zwischen den Schwesterchromatiden Querfibrillen auf.

5. Die Bivalente der Spermatoocyten enthalten bis zur Diakinese SC-Strukturen. In der Diakinese sind in ihnen nur noch zwei laterale Elemente vorhanden. Die einzelnen Komponenten der SC werden in diesem Stadium nacheinander aufgelöst.

6. Auf Grund histochemischer Präparationen (spezifische Kontrastierungen, Enzymabbau-Versuche und Hemmung der RNA-Synthese mit Actinomycin D) sowie einem Vergleich der Verteilung der einzelnen Komponenten des SC in den Pachytän- und Diplotänkomplexen sind über den Aufbau des SC neue Aussagen möglich. In dem vorgeschlagenen Modell werden die vier Chromatiden eines Bivalents durch Paarungsschleifen im Innern des SC zusammengeführt. Die „inneren Teile der lateralen Elemente“ werden als „Erkennungsstruktur“ für die genaue Paarung homologer Abschnitte interpretiert.

7. Nach den vorliegenden Untersuchungen besitzen die Chromosomen vom Leptotän bis zur Diakinese und in der Prophase II Lampenbürstenstruktur. In der mitotischen und prämeiotischen Interphase war dagegen keine Gliederung der DNA-Fibrillen in Achsenabschnitte und Seitenschleifen zu finden.

8. Die besondere Gestalt des X-Chromosoms in der Prophase der Spermatogenese entsteht dadurch, daß die Chromosomenachse wegen der fehlenden Paarungsmöglichkeit stark verklumpt. Im Gegensatz zu den Befunden Ullerichs müssen die DNA-Anteile des X-Chromosoms auf Grund der elektronenmikroskopischen Untersuchungen als euchromatisch angesehen werden.

9. In den Spermatogonien und Spermatoocyten sind die Chromosomenenden in allen Stadien — außer der Metaphase, Anaphase und Telophase — mit der Kernmembran verbunden. Daraus wird eine ständige

„Vorpaarung“ der Chromosomenenden abgeleitet. Ihre Bedeutung für die Chromosomenpaarung im Zygotän wird diskutiert.

10. Bei einem Vergleich der SC aus den Spermatocyten mit achiasmatischem Meioseverlauf und denen der Oocyten mit Chiasmabildung ergaben sich keine Unterschiede in der Feinstruktur der SC. Auf Grund dieses Befundes wird die Bedeutung des SC für das crossing-over erörtert.

11. Es wird die Frage aufgeworfen, ob der achiasmatische Meiosotyp mit Ausbildung von SC in allen Fällen ohne crossing-over abläuft, oder ob das Fehlen eines typischen Diplotänstadiums nur darauf beruht, daß die SC in den Bivalenten dieser Arten bis zur Diakinese erhalten bleiben.

*Danksagung.* Meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. H.-G. Keyl, danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, sein stetes Interesse an ihrem Fortgang sowie seine freundliche Unterstützung. Mein Dank gilt auch Frau Werres und Herrn Tross für ihre gute technische Assistenz.

### Literatur

- Baker, T. G., Franchi, L. L.: The fine structure of oogonia and oocytes in human ovaries. *J. Cell Sci.* **2**, 213—224 (1967)
- Berendes, H. D., Meyer, G. F.: A specific chromosome element, the telomere of *Drosophila* polytene chromosomes. *Chromosoma (Berl.)* **25**, 184—197 (1968)
- Bernhard, W.: A new staining procedure for electron microscopical cytology. *J. Ultrastruct. Res.* **27**, 250—265 (1969)
- Bier, K., Kunz, W., Ribbert, D.: Struktur und Funktion der Oocytenchromosomen und Nukleolen sowie der Extra-DNS während der Oogenese panoistischer und meroistischer Insekten. *Chromosoma (Berl.)* **23**, 214—254 (1967)
- Bloom, F. E., Aghajanian, G. K.: Cytochemistry of synapses: Selective staining for electron microscopy. *Science* **154**, 1575—1577 (1966)
- Bone, O., Denton, E. J.: The osmotic effects of electron microscope fixatives. *J. Cell Biol.* **49**, 571—581 (1971)
- Callan, H. G.: A general account of experimental work on amphibian oocyte nuclei. *Symp. Soc. exp. Biol.* **6**, 243—255 (1952)
- Callan, H. G.: The nature of lampbrush chromosomes. *Int. Rev. Cytol.* **15**, 1—34 (1963)
- Callan, H. G.: Chromosomes and nucleoli of the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *J. Cell Sci.* **1**, 85—108 (1966)
- Callan, H. G.: The organization of genetic units in chromosomes. *J. Cell Sci.* **2**, 1—22 (1967)
- Callan, H. G., Lloyd, L.: Lampbrush chromosomes of crested newt *Triturus cristatus* (Laurenti). *Phil. Trans. B* **243**, 135—219 (1960)
- Callan, H. G., Macgregor, H. C.: Action of deoxyribonuclease on lampbrush chromosomes. *Nature (Lond.)* **181**, 1479—1480 (1958)

- Chauhan, K. P. S., Abel, W. O.: Evidence for the association of homologous chromosomes during premeiotic stages in *Impatiens* and *Salvia*. *Chromosoma* (Berl.) **25**, 297—302 (1968)
- Coleman, J. R., Moses, M. J.: DNA and the fine structure of synaptic chromosomes in the domestic rooster (*Gallus domesticus*). *J. Cell. Biol.* **23**, 63—78 (1964)
- Comings, D. E., Okada, T. A.: Whole mount electron microscopy of meiotic chromosomes and the synaptonemal complex. *Chromosoma* (Berl.) **30**, 269—286 (1970)
- Cooper, K. W.: Meiotic conjunctive elements not involving chiasmata. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **52**, 1248—1255 (1964)
- Darlington, C. D.: Recent advances in cytology, 2nd edit. London: Churchill 1937
- Darlington, C. D.: The evolution of genetic systems. Edinburgh: Oliver and Boyd 1958
- Ephrussi, B., Beadle, G. W.: A technique of transplantation for *Drosophila*. *Amer. Naturalist* **70**, 218—225 (1936)
- Esponda, P., Gimenez-Martin, G.: The attachment of the synaptonemal complex to the nuclear envelope. *Chromosoma* (Berl.) **38**, 405—417 (1972)
- Esponda, P., Stockert, J. C.: Localization of RNA in the synaptonemal complex. *J. Ultrastruct. Res.* **35**, 411—417 (1971)
- Gall, J. G.: The lampbrush chromosomes of *Triturus viridescens*. *Exp. Cell Res.* **2**, 95—102 (1952)
- Gall, J. G.: On the submicroscopic structure of chromosomes. *Brookhaven Symp. Biol.* **8**, 17—32 (1956)
- Gall, J. G., Callan, H. G.: H<sup>3</sup>-uridine incorporation in lampbrush chromosomes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 562—570 (1962)
- Gassner, G.: Synaptonemal complexes: Recent findings. *J. Cell Biol.* **35**, 166A—167A (1967)
- Gassner, G.: Synaptonemal complexes in the achiasmatic spermatogenesis of *Bolbe nigra* (Mantoidea). *Chromosoma* (Berl.) **26**, 22—34 (1969)
- Guénin, H. A., Gautier, A.: zitiert bei Moses (1968). *Rev. suisse Zool.* **67**, 210—216 (1960)
- Henderson, S. A.: The chromosomes of the british tetrigidae (Orthoptera). *Chromosoma* (Berl.) **12**, 553—572 (1961)
- Henderson, S. A.: RNA synthesis during male meiosis and spermiogenesis. *Chromosoma* (Berl.) **15**, 345—366 (1964)
- Henderson, S. A.: Chromosome pairing, chiasmata, and crossing-over. In: *Handbook of molecular cytology* (A. Lima-de Faria, ed.), p. 326—357. Amsterdam: North Holland Publ. Co. 1969
- Henderson, S. A.: Grades of chromatid organisation in mitotic and meiotic chromosomes. *Chromosoma* (Berl.) **35**, 28—40 (1971)
- Huxley, H. E., Zubay, G.: Preferential staining of nucleic acid-containing structures for electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 273—296 (1961)
- Kasha, K. J., Burnham, C. R.: The location of interchange breakpoints in barley. II. *Canad. J. Genet. Cytol.* **7**, 620—632 (1965)
- King, R. C.: The meiotic behavior of the *Drosophila* oocyte. *Int. Rev. Cytol.* **28**, 125—168 (1970)
- Kunz, W.: Funktionsstrukturen im Oocytenkern von *Locusta migratoria*. *Chromosoma* (Berl.) **20**, 332—370 (1967)
- Kunz, W.: Die Entstehung multipler Oocytennukleolen aus akzessorischen DNS-Körpern bei *Gryllus domesticus*. *Chromosoma* (Berl.) **26**, 41—75 (1969)
- Leduc, E. H., Bernhard, W.: Recent modifications of the glycol methacrylate embedding procedure. *J. Ultrastruct. Res.* **19**, 196—199 (1967)
- Lu, B. C.: Meiosis in *coprinus lagopus*: A comparative study with light and electron microscopy. *J. Cell Sci.* **2**, 529—536 (1967)

- Lu, B. C.: Genetic recombination in *Coprinus*. II. Its relation to the synaptonemal complexes. *J. Cell Sci.* **6**, 669—678 (1970)
- Macgregor, H. C., Callan, G. H.: The actions of enzymes on lampbrush chromosomes. *Quart. J. micr. Sci.* **103**, 173—203 (1962)
- Maguire, M. P.: Evidence for homologous pairing of chromosomes prior to meiotic prophase in maize. *Chromosoma (Berl.)* **21**, 221—231 (1967)
- Menzel, M. Y., Price, J. M.: Fine structure of synapsed chromosomes in  $F_1$  *Lycopersicon esculentum* — *Solanum lycopersicoides* and its Parents. *Amer. J. Bot.* **53** (10), 1079—1086 (1966)
- Meyer, G. F.: Die Funktionsstrukturen des Y-Chromosoms in den Spermatozytenkernen von *Drosophila hydei*, *D. neohydei* und *D. repleta* und einigen anderen *Drosophila*-Arten. *Chromosoma (Berl.)* **14**, 207—255 (1963)
- Meyer, G. F.: A possible correlation between the submicroscopic structure of meiotic chromosomes and crossing-over. III. European Reg. Conference on electron microscopy in Prague, 1964
- Meyer, G. F., Hess, O.: Strukturdifferenzierungen im Y-Chromosom von *Drosophila hydei* und ihre Beziehungen zu Gen-Aktivitäten. *Chromosoma (Berl.)* **16**, 249—270 (1965)
- Meyer, G. F., Hess, O., Beermann, W.: Phasenspezifische Funktionsstrukturen in Spermatozytenkernen von *Drosophila melanogaster* und ihre Abhängigkeit vom Y-Chromosom. *Chromosoma (Berl.)* **12**, 676—716 (1961)
- Miller, O.: Fine structure of lampbrush chromosomes. *Nat. Cancer Inst. Monogr.* **18**, 79—99 (1965)
- Moens, P. B.: The structure and function of the synaptonemal complex in *Lilium longiflorum* sporocytes. *Chromosoma (Berl.)* **23**, 418—451 (1968)
- Moens, P. B.: The fine structure of meiotic chromosome polarization and pairing in *Locusta migratoria* spermatocytes. *Chromosoma (Berl.)* **28**, 1—25 (1969)
- Moens, P. B.: The fine structure of meiotic chromosome pairing in natural and artificial *Lilium* polyploids. *J. Cell Sci.* **7**, 55—64 (1970)
- Moses, M. J.: Chromosomal structures in crayfish spermatocytes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 215—218 (1956)
- Moses, M. J.: Patterns of organization in the fine structure of chromosomes. *Proc. IV. Intern. Congr. Electron Micr. Berlin 1958*, Bd. 2, S. 199—211 (1960)
- Moses, M. J.: Synaptonemal complex. *Ann. Rev. Genet.* **2**, 363—412 (1968)
- Moses, M. J.: Structure and function of the synaptonemal complex. *Genetics, Suppl.* **61**, 41—51 (1969)
- Moses, M. J., Coleman, J. R.: Structural patterns and the functional organization of chromosomes. In: *The role of chromosomes in development* (M. Locke, ed.), p. 11—49. New York-London: Academic Press 1964
- Nebel, B. R., Coulon, E. M.: The fine structure of chromosomes in pigeon spermatocytes. *Chromosoma (Berl.)* **13**, 272—291 (1962a)
- Nebel, B. R., Coulon, E. M.: Enzyme effects on pachytene chromosomes of the male pigeon evaluated with the electron microscope. *Chromosoma (Berl.)* **13**, 292—299 (1962b)
- Palmer, R. G.: Cytological studies of ameiotic and normal maize with reference to premeiotic pairing. *Chromosoma (Berl.)* **35**, 233—246 (1971)
- Peacock, W. R.: Replication, recombination and chiasmata in *Goniaea australiasiae*. *Genetics* **65**, 593—617 (1970)
- Plattner, H.: Die chemische Fixierung biologischer Objekte für die Elektronenmikroskopie. In: *Methodensammlung der Elektronenmikroskopie* (G. Schimmel und W. Vogel, Hrsg.). Stuttgart: Wissenschaftsverlagsgesellschaft 1970

- Reich, E. R., Franklin, R. M., Shatkin, A. J., Tatum, E. L.: Effect of actinomycin D on cellular nucleic acid synthesis and virus production. *Science* **134**, 556 (1961)
- Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208 (1963)
- Ris, H.: The structure of meiotic chromosomes in the grasshopper and its bearing on the nature of "chromomeres" and "lampbrush" chromosomes. *Biol. Bull., Woods Hole* **89**, 242—257 (1945)
- Roth, T. F.: Changes in the synaptonemal complex during meiotic prophase in mosquito oocytes. *Protoplasma (Wien)* **61**, 346—386 (1966)
- Schin, K. S.: Core-Strukturen in den meiotischen und post-meiotischen Kernen der Spermatogenese von *Gryllus domesticus*. *Chromosoma (Berl.)* **16**, 436—452 (1965)
- Schneiderman, L. J., Smith, C. A. B.: Non-random distribution of certain homologous pairs of normal human chromosomes in metaphase. *Nature (Lond.)* **195**, 1229—1230 (1962)
- Sheridan, W. F., Barnett, R. J.: Cytochemical studies of chromosomal ultrastructure. *J. Cell Biol.* **35**, 125A (1967)
- Sheridan, W. F., Barnett, R. J.: Cytochemical studies on chromosomal ultrastructure. *J. Ultrastruct. Res.* **27**, 216—229 (1969)
- Smith, S. G.: Polarization and progression in pairing. II. Premeiotic orientation and the initiation of pairing. *Canad. J. Res.* **20**, 221—229 (1942a)
- Sotelo, J. R., Wettstein, R.: Electron microscope study on meiosis. The sex chromosome in spermatocytes, spermatids and oocytes of *Gryllus argentinus*. *Chromosoma (Berl.)* **15**, 389—415 (1964)
- Spurr, A. R.: A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**, 31—43 (1969)
- Sved, J. A.: Telomere attachment of chromosomes. Some genetical and cytological consequences. *Genetics* **53**, 747—756 (1966)
- Sybenga, J.: The zygomere as hypothetical unit of chromosome pairing initiation. *Genetica (s'Gravenhage)* **37**, 186—198 (1966)
- Ullerich, F.-H.: Achiasmatische Spermatogenese bei der Skorpionsfliege *Panorpa* (Mecoptera). *Chromosoma (Berl.)* **12**, 215—232 (1961)
- Ullerich, F.-H.: DNS-Gehalt und Chromosomenstruktur bei Amphibien. *Chromosoma (Berl.)* **30**, 1—37 (1970)
- Wagenaar, E. B.: End-to-end chromosome attachments in mitotic interphase and their possible significance to meiotic chromosome pairing. *Chromosoma (Berl.)* **26**, 410—426 (1969)
- Walters, M. S.: Evidence on the time of chromosome pairing from the preleptotene spiral stage in *Lilium longiflorum* "Croft". *Chromosoma (Berl.)* **29**, 375—418 (1970)
- Wettstein, D.: The synaptonemal complex and four-strand crossing over. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **68**, 851—855 (1971)
- White, M. J. D.: Sex chromosomes and meiotic mechanisms in some African and Australian mantids. *Chromosoma (Berl.)* **16**, 521—547 (1965)
- Wolstenholme, D. R., Meyer, G. F.: Some facts concerning the nature and formation of axial core structures in spermatids of *Gryllus domesticus*. *Chromosoma (Berl.)* **18**, 272—286 (1966)
- Woollam, D. H. M., Ford, E. H. R.: The fine structure of the mammalian chromosome of meiotic prophase with special reference to the synaptonemal complex. *J. Anat. (Lond.)* **98**, 163—173 (1964)
- Woollam, D. H. M., Ford, E. H. R., Millen, J. W.: The attachment of pachytene chromosomes to the nuclear membrane in mammalian spermatocytes. *Exp. Cell Res.* **42**, 657—661 (1966)

Woollam, D. H. M., Millen, J. W., Ford, E. H. R.: Points of attachment of pachytene chromosomes to the nuclear membrane in mouse spermatocytes. *Nature* (Lond.) **213**, 298—299 (1967)

Eingegangen am 2. März 1973/Angenommen von H. Bauer  
Fertig zum Druck am 14. März 1973

Dr. Bernhard Welsch  
Institut für Genetik  
Ruhr-Universität Bochum  
Buscheystraße, Gebäude MA, 5. O. G. Nord  
D-4630 Bochum-Querenburg  
Bundesrepublik Deutschland