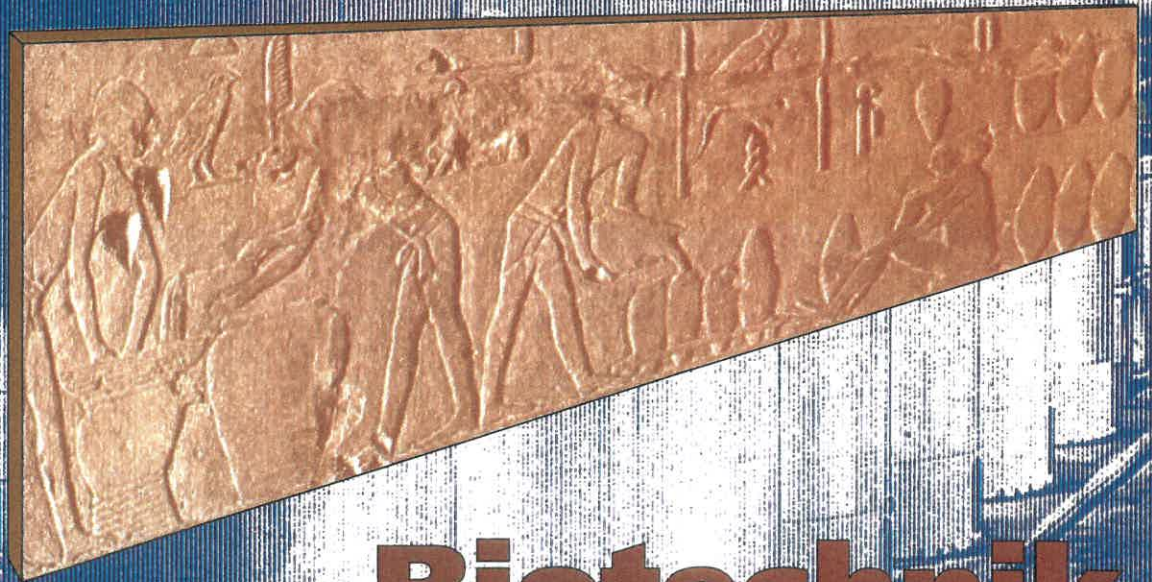


# Unterricht Biologie

Zeitschrift für alle Schulstufen



## Biotechnik

# Isolierung und Fusion pflanzlicher Protoplasten

UNTERRICHTSANREGUNG FÜR DIE SEKUNDARSTUFE II. VON UTA NELLEN UND STEPHAN MATUSSEK

Die Protoplastenkultur ist eine Methode der zellbiologischen Pflanzenzüchtung, die als Ergänzung zur klassischen Pflanzenzüchtung immer mehr an Bedeutung gewinnt. Schülerinnen und Schüler sollen sich theoretisch und praktisch mit den Grundlagen dieser Züchtungstechnik befassen. Im Experiment gehen sie selbst mit Protoplasten um und gewinnen durch eigene Anschauung einen Eindruck von deren Zartheit, Winzigkeit und Farbe. Sie führen die ersten Schritte eines Verfahrens durch, mit dessen Hilfe die Auslese geeigneter Pflanzen vom Acker in das Reagenzglas verlegt werden kann, also eine Selektion bereits auf der Ebene von Zellen möglich ist. Die auf verhältnismäßig einfache Weise zu gewinnenden nackten Protoplasten erleichtern Gentechnikern Eingriffe ins Erbgut der Pflanzen. Eine Fusion von Protoplasten wird eingeleitet und beobachtet; dabei sollte besprochen werden, daß mit der gleichen Methode Bastarde zwischen verschiedenen Arten oder auch polyploide Pflanzen künstlich erzeugt werden, wie dies in der klassischen Pflanzenzüchtung unmöglich ist.

Bei der Beurteilung des Experimentes und seiner Anwendungsmöglichkeiten kann die Freude am Machbaren, die die Schüler erlebten, den teilweise umstrittenen Ergebnissen dieser Forschung gegenübergestellt werden.

Im Unterricht können verschiedene fachliche Aspekte des Themas herausgearbeitet werden:

- Genetischer Aspekt: Omnipotenz von Protoplasten (ist ein einzelner Protoplast ein Lebewesen?); Erzeugen von erbgleichen Nachkommen durch ungeschlechtliche Vermehrung (Klonen) in Protoplastenkulturen; in-vitro-Selektion; Gegenüberstellen von somatischer und monoklonaler Variation; Artbastarde
- Zytologischer Aspekt: Aufbau der Zelle, Zelle im Zellverband – Protoplast außerhalb des Zellverbandes (Symplast – Protoplast); Funktion und Eigenschaften des Plasmalemmas; Verschmelzung von Membranen; Rolle der Plasmodesmen
- Physiologischer Aspekt: Plasmolyse; enzymatische Verdauung der Zellwand; Weiterkultur der Protoplasten in Nährlösung; Prinzip der Regeneration (Protoplast, Zelle, Kallus, Pflanze); Rolle der Phytohormone.

## Wissenschaftliche Grundlagen und Anwendung

Zellen höherer Pflanzen unterscheiden sich am augenfälligsten durch ihre festen Zellwände von tierischen Zellen und Einzellern. Der pflanzliche Protoplast (Cytoplasma mit Zellkern und Organellen) ist in ein starres Gerüst aus Zellulose und Pektin eingeschlossen und dadurch für Eingriffe von außen nur schwer zugänglich.

Dagegen stehen z.B. Bakterienzellen mit ihrer unmittelbaren Umgebung nur über eine relativ dünne Zellwand in Austausch. Aus diesem Grund ist es verhältnismäßig einfach, sie gentechnisch zu verändern. Bietet man ihnen im Nährmedium vorbereitete DNA-Abschnitte an, wird diese DNA unter geeigneten Bedingungen in das Genom der Bakterien integriert.

Ein Bodenbakterium, das *Agrobacterium tumefaciens*, kann die Zellwandbarriere der Pflanzen

überwinden und fremde DNA-Abschnitte in die Pflanzenzellen einschleusen. Diese 'natürliche Gentechnik' wird in der Pflanzenzucht bereits angewendet, um die Eigenschaften der Nutzpflanzen zu verändern. *Agrobacterium* befällt nur zweikeimblättrige Pflanzen, so daß sich keine Einkeimblättrigen, zu denen alle Getreidearten gehören, gentechnisch mit dieser Methode behandeln lassen.

Wenn Pflanzenzellen aus ihrem Zellwandgerüst herausgelöst werden, sind sie in der Lage, ähnlich wie Bakterienzellen freie DNA aufzunehmen. Zur Isolierung der Protoplasten verwendet man die zellwandauflösenden Enzyme Cellulase und Pectinase, die von holzzerstörenden Pilzen (z.B. *Trichoderma* und *Aspergillus*) stammen. Die isolierten kugeligen Protoplasten sind nur noch vom Plasmalemma umgeben. Ihre Weiterzucht in Nährlösung unter sterilen Bedingungen, die Aufnahme von DNA und die Regeneration zu ganzen Pflanzen erfordern großes Geschick und sind nur in darauf spezialisierten Labors möglich. Bisher gelang es, aus isolierten Protoplasten von etwa 1.000 Arten ganze Pflanzen heranzuziehen; unter ihnen sind jedoch nur wenige Nutzpflanzen. Besonders schwierig ist erfahrungsgemäß die Regeneration bei einkeimblättrigen Pflanzen.

Ein wichtiges Anwendungsgebiet der Protoplastenkulturen ist die in-vitro-Selektion resistenter Zellen. Auf Nährböden, die Toxine enthalten, oder unter ungünstigen Kulturbedingungen (z.B. Kälte) überleben nur die widerstandsfähigsten Zellindividuen, die dann weiter kultiviert werden können. Für eine solche Auslese sind die winzigen Protoplasten sehr geeignet: 1 Mio. von ihnen füllen einen Teelöffel und wachsen in einigen Petrischalen heran; 1 Mio. Pflanzen dagegen brauchen für eine entsprechende Selektion 1 ha Ackerland.

Isolierte Protoplasten können unter bestimmten Bedingungen miteinander verschmelzen (fusionieren). Zunächst lagern sie sich aneinander an, dann verschmelzen die Zellwände und schließlich die Zellkerne (eine Kernverschmelzung auf etwa 1000 Fusionen). Besonders interessant sind Fusionen zwischen Protoplasten verschiedener Arten sowie die Regeneration der Fusionsprodukte zu ganzen Pflanzen. Es handelt sich dabei um zwischenartige Kreuzungen, sogenannte somatische Hybride, die auf natürlichem Wege nicht entstehen können. Ein Beispiel dafür ist die Tomoffel (1976 von Melchers erzeugt), ein Artbastard zwischen Tomate und Kartoffel, der jedoch weder Tomaten noch Kartoffeln trägt und deshalb nur von rein wissenschaftlichem Interesse ist.

Große praktische Bedeutung haben Protoplastenfusionen jedoch in der Resistenzzüchtung bei Kartoffeln erlangt (vgl. Abb. in UB 138, S. 12). Mit dieser Methode werden die unterschiedlichen Resistenzeigenschaften zweier diploider Klone zu einer tetraploiden Hybride vereint, ohne daß zeitaufwendige Kreuzungen notwendig sind.

Vielfältige Möglichkeiten eröffnen dem Züchter die Isolierung und Regeneration von Protoplasten, eine der Grundvoraussetzungen für die gentechnische Veränderung von Nutzpflanzen. Anstelle einer langwierigen Auslese auf bestimmte Merkmale sowie vieler Kreuzungen und Rückkreuzungen könnte das Gen für die ge-

wünschte Eigenschaft direkt in das Genom eines Nutzpflanzen-Protoplasten eingesetzt werden. Aus dem Protoplasten wächst die neue Pflanze heran und vererbt die gewünschte Eigenschaft später an alle ihre Nachkommen. So ließe sich der Zuchtweg zu einer neuen Kartoffelsorte mit monogener Resistenz von sieben Jahre auf ein Jahr verkürzen, wenn man – statt des konventionellen Einkreuzens der Resistenz – das fragliche Gen mit gentechnischen Methoden einschleust. Voraussetzung für die gentechnische Veränderung von Nutzpflanzen sind: Die gewünschte Eigenschaft wird nur von einem Gen gesteuert, das erkennbar und klonierbar ist; die genmanipulierten Protoplasten sind regenerierbar zu ganzen Pflanzen, in denen das Gen auch zur Expression kommt und weitervererbt wird. Diese Voraussetzungen sind jedoch bei Nutzpflanzen noch keineswegs alle erfüllt:

1. Es sind bisher sehr wenige monogene Pflanzeigenschaften bekannt. Eine von ihnen ist die Herbizid-Resistenz, die umstrittenste und ökologisch bedenklichste gentechnische Veränderung von Nutzpflanzen (vgl. Basisartikel).
2. Bisher lassen sich nur sehr wenige Nutzpflanzenarten aus Protoplasten regenerieren.
3. Unter Kulturbedingungen verhalten sich gentechnisch veränderte Pflanzen häufig nicht stabil und können deshalb die neue Eigenschaft schnell wieder verlieren.

## Protoplastenisolierung und Protoplastenfusion im Schulversuch

Ziel des Experiments ist es, die Zellwände von geeignetem Pflanzengewebe enzymatisch zu verdauen, die freiwerdenden Protoplasten durch Anreicherung im Wassertropfen zu gewinnen und zur Fusion zu bringen. Dabei wird in folgenden Arbeitsschritten vorgegangen:

### 1. Plasmolyse

Pflanzliche Protoplasten liegen eng an den Zellwänden an und stehen mit den Protoplasten der Nachbarzellen durch viele feinste plasmatische Brücken, die Plasmodesmen, in Verbindung. Dieser enge Kontakt muß bei der Isolierung unterbrochen werden; gleichzeitig müssen die isolierten Protoplasten am Leben gehalten und ernährt werden. Deshalb wird das Gewebe in eine Lösung aus Enzymen, Salzen und Zucker gebracht, deren osmotischer Wert über dem des Zellinneren liegt (hypertonische Lösung). Auf diese Weise wird den Protoplasten Wasser entzogen, sie verkleinern sich und heben sich von den Zellwänden ab, während die Plasmodesmen zerreißen (Plasmolyse). In diesem Zustand sind Protoplasten mehrere Tage lebensfähig.

### 2. Verdauung der Zellwände

Um die Zellwand wirksam aufzulösen, wurden zwei spezifische Enzyme ausgewählt, die der Plasmolyse-Lösung direkt zugesetzt werden. Zellulase und Pektinase greifen die konstituierenden Bestandteile der Zellwand, Zellulose und Pektin, an und bauen sie ab. Die Geschwindigkeit dieser Reaktion ist abhängig von der Temperatur, dem Enzym und der Gewebestruktur.

# Isolierung und Fusion pflanzlicher Protoplasten

## Herstellen der Lösungen

**Zeitbedarf:** insgesamt etwa 30 Min.

### Geräte

- 1 Erlenmeyer-Kolben (500 ml),
- 2 Erlenmeyer-Kolben (50 ml),
- 1 Waage,
- Glasstäbe

### Verbrauchsmaterial

Die angegebenen Mengen reichen aus für etwa 20 Ansätze.

- (1) Mannit-Salzlösung aus  
740 mg  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ,  
14 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  
50 mg  $\text{KNO}_3$ ,  
123 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  
36,45 g D-Mannit,  
500 ml  $\text{H}_2\text{O}$  demin.

- (2) Enzymlösung aus  
2,5 g Cellulase (TC aus *Trichoderma reesei*; Serva Nr. 16421; 25 g = DM 33,—)\*,  
0,5 g Pectinase (Boerozym M5 aus *Rhizopus oryzae*; Serva Nr. 31661; 25 g = DM 23,—)\*;  
50 ml  $\text{H}_2\text{O}$  demin.  
(\* = Enzyme bei + 4 ° C lagern!)

- (3) Fusionslösung aus  
9 g Polyethylenglycol (PEG 6000, Serva Nr. 33137),  
31 mg  $\text{CaCl}_2$ ,  
2 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  
20 ml  $\text{H}_2\text{O}$  demin.

### Durchführung

- Herstellen der Mannit-Salzlösung (1): Die Substanzen werden in 500 ml demineralisiertem Wasser gelöst; die Lösung wird bis zum Gebrauch kühlgestellt.
- Herstellen der Enzymlösung (2): 2,5 g Cellulase und 0,5 g Pectinase werden in 50 ml demineralisiertem Wasser gelöst. Die Lösung muß am Tag des Gebrauchs frisch angesetzt werden.
- Am Versuchstag werden die Lösungen 1 und 2 vermischt, und zwar im Verhältnis 10 Teile Mannitlösung zu 1 Teil Enzymlösung (ergibt Lösung A).
- Herstellen der Fusionslösung (3): Die Substanzen werden in 20 ml demineralisiertem Wasser gelöst; das PEG löst sich nur langsam auf; die Lösung ist sehr dickflüssig. Kühl aufbewahren!

1.2 Die Blätter oder Blüten werden mit dem Skalpell auf der Glas-Petrischale in möglichst feine Streifen geschnitten, ohne sie zu zerquetschen; 10 oder mehr Streifen werden mit der Pinzette in das entsprechende Blockschälchen gelegt.

1.3 Nach wenigen Minuten kann man die Plasmolyse beobachten. Dazu wird mit der Tropfpipette ein Tropfen der Lösung aus dem Blockschälchen auf einen Objektträger aufgetragen. Dann wird ein Pflanzenstreifen mit der Pinzette in den Tropfen gelegt und bei geringer Vergrößerung mikroskopiert.

1.4 Die zugedeckten Schalen werden zum Abbau der Zellwände 24 Std. bei Zimmertemperatur bzw. 48 Std. im Kühlschrank stehen gelassen.

## 2 Mikroskopieren der Protoplasten (2. Tag)

2.1 Auf einen Objektträger wird mit der Tropfpipette 1 Tropfen der Lösung aus einem Blockschälchen aufgetragen. Mit der Pinzette nimmt man einen der Pflanzenstreifen und schüttelt ihn in dem Tropfen aus, indem man ihn nach dem Eintauchen darin hin und her bewegt. Der Streifen wird weggelegt. Meist ist schon mit bloßem Auge eine leichte Trübung im Tropfen erkennbar, die von den herausgefallenen Protoplasten stammt.

2.2 Die Protoplasten werden ohne Deckglas mikroskopiert, weil sie so zart sind, daß ein Deckglas sie zerquetschen würde. Damit die Linse des Objektivs nicht naß wird, verwendet man maximal 10er-Objektive. Die Größe der Protoplasten kann mit dem Okularmikroskop bestimmt werden. Anschließend werden sie abgezeichnet. Nacheinander werden so die verschiedenen Pflanzenstreifen behandelt. Geeignetes Material wird für das folgende Fusionsexperiment ausgesucht. Dabei ist es wichtig, zwei Pflanzenarten zu finden, die genügend freie Protoplasten abgeben, die sich voneinander unterscheiden lassen.

## Der Versuch

### Zeitbedarf

Vorbereiten der Pflanzen und Versuchsansatz: 15 Min.

Wartezeit (bei 20° C): 24 Std. bzw. im Kühlschrank (4° C): 48 Std.

Beobachtung der isolierten Protoplasten und Fusionsexperiment: 30 Min.

### Geräte (für eine Gruppe)

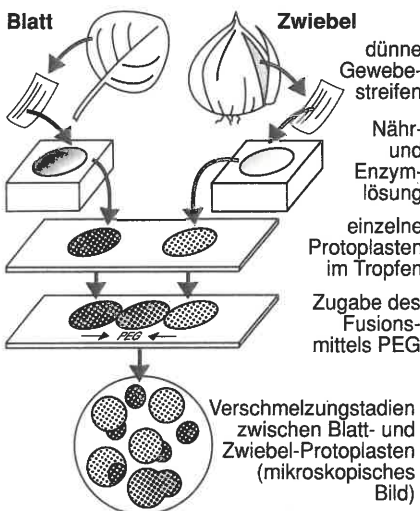
- 1 Mikroskop,
- 2 bis 4 Blockschalen mit Deckglas,
- 1 Glaspetrischale,
- 1 Pipette (5 ml),
- 2 Tropfpipetten,
- 1 feine Pinzette,
- 1 scharfes Skalpell oder Rasierklinge,
- 10 Objektträger,
- 1 wasserfester Filzstift,
- kleine Klebeetiketten.

### Verbrauchsmaterial

- verschiedene Blätter und Blüten, z.B. Zwiebschuppen von normaler und roter Zwiebel, Blätter von Tabak, Buntblatt-Begonie, Petunie, Usambaraveilchen, Primel, Rose u. a.
- 20 ml Lösung A zum Isolieren der Protoplasten (= Gemisch aus Lösung (1) und (2) 10 : 1),
- 1 ml Fusions-Lösung (3).

### Durchführung

Für den Versuch werden am besten zwei bis vier Blätter bzw. Blüten ausgesucht, die eine möglichst zarte Zellwand besitzen. Sie sollten unterschiedlich große und verschieden gefärbte Proto-



plasten aufweisen, da bei ihnen die Verschmelzung zwischen den einzelnen Protoplastensorten besonders gut zu erkennen ist. Relativ große Protoplasten findet man in Zwiebelepidermiszellen, Petunien, Tulpen und Tabakblättern, kleinere in Blättern und Blüten von Usambara-veilchen und Primeln oder in Begonienblättern.

Die Protoplastenisolierung sollte auch bei anderem Pflanzenmaterial versucht werden.

## 1 Isolieren der Protoplasten und Beobachten der Plasmolyse (1. Tag)

1.1 Für jede Pflanzenart wird ein beschriftetes Blockschälchen bereitgestellt und mit ca. 5 ml Lösung A gefüllt.

## 3 Fusionsexperiment (anschließend)

3.1 Auf einen Objektträger werden zwei Tropfen Lösung aus einer der Schalen nebeneinander aufgetragen. In diesen Tropfen werden mehrere Streifen der ausgewählten Pflanzen ausgeschüttelt.

3.2 Mit der zweiten Tropfpipette wird ein Tropfen PEG-Lösung zwischen die Tropfen mit den Protoplasten auf den Objektträger aufgebracht, so daß die drei Tropfen ineinanderfließen. Im Mikroskop kann man beobachten, wie die Protoplasten mit dem Flüssigkeitsstrom in den Mischungsbereich transportiert werden. Dort treffen sie aufeinander, lagern sich aneinander an und verschmelzen schließlich. Die verschiedenen Fusionsstadien werden gezeichnet.

### 3. Anreicherung im Wassertropfen

Die üblichen Labormethoden der Isolierung und Anreicherung von Protoplasten aus dem Enzymgemisch sind sehr arbeitsaufwendig, da das Material mehrmals zentrifugiert und gespült werden muß. Erst die Entdeckung, daß man Protoplasten in einem Wassertropfen auf dem Objektträger durch einfaches Ausschütteln des «angedauten» Gewebes in hoher Konzentration anreichern kann, machte einen Schulversuch möglich. Die kugeligen isolierten Protoplasten sind etwa 0,01 bis 0,03 mm groß. Unter speziellen Laborbedingungen überleben sie die Prozedur recht gut und bilden schon nach einem Tag in Nährlösung eine neue Zellwand aus. Sie teilen sich dann und wachsen innerhalb kurzer Zeit zu undifferenzierten Gewebeklümpchen (Kallus) heran, aus denen sich unter dem Einfluß von Phytohormonen, die zugegeben werden, ganze Pflanzen entwickeln können. Im Schulversuch gelingt eine Weiterkultur der isolierten Protoplasten jedoch nicht, weil sie unter sterilen Bedingungen nur einige Tage überleben.

### 4. Fusion

In einer Suspension aus frisch isolierten Protoplasten finden von selbst keine spontanen Verschmelzungen statt, da die Plasmamembranen an ihren Außenseiten negativ geladen sind und sich daher abstoßen. Die elektrischen Eigenschaften der Membranen verändern sich durch die Zugabe positiv geladener  $Ca^{++}$ -Ionen oder des Poly-Kations Polyethylenglycol (PEG). Bringt man einen PEG-Tropfen zwischen zwei Suspensionstropfen mit Protoplasten ein, fließen die 3 Tropfen ineinander. Schon nach wenigen Minuten kann man beobachten, wie sich zwei oder mehr Protoplasten aneinanderlegen und schließlich eine gemeinsame Protoplastenkugel

bilden. Auf die Adhäsion folgt nach einiger Zeit eine Membranverschmelzung.

Beim Zusammenfließen verschiedenartiger unterschiedlich gefärbter Protoplasten, z. B. Zwiebelprotoplasten oder Protoplasten aus Laubblättern mit grünen Chloroplasten oder solchen aus Blütenblättern mit kräftig gefärbtem Zellsaft, ergeben sich ganz unterschiedliche und hübsch anzuschauende Verschmelzungen.

### Anmerkungen zur Erprobung in einem Leistungskurs Genetik

Das Experiment und der Unterricht über Isolierung und Fusion pflanzlicher Protoplasten standen als praktischer Teil innerhalb einer Reihe von Referaten zur industriellen Mikrobiologie. Die Schülerinnen und Schüler suchten die Versuchspflanzen selber aus und stellten Hypothesen über Aussehen und Größe der Protoplasten auf. Dadurch wurden sie stark motiviert, weiterzuarbeiten.

Die Phase des Mikroskopierens wurde ausführlich und sorgfältig durchgeführt, da diese Lerngruppe wenig Erfahrung im Beurteilen des mikroskopischen Bildes hatte. Es fiel den Schülern z. B. schwer, zwischen den vielen Einzelprotoplasten die fusionierten herauszufinden. Auch die zeichnerische Umsetzung machte einigen Schülern Schwierigkeiten.

Die Erwartungen der Schüler an das Experiment waren höher als das beobachtbare Ergebnis. Sie waren enttäuscht, daß sie ihre Fusionsprodukte nicht weiterzüchten konnte, und akzeptierten nur ungern die Grenzen dieses Schulversuchs. In der Nachbesprechung löste die Frage, ob ein Protoplast ein Lebewesen sei, eine spannende Diskussion aus.

### Literatur

Deutscher Bundestag (Hrsg.): Chancen und Risiken der Gentechnologie. Zur Sache 87, 1. Bonn 1987  
Hess, D.: Die Blüte: Eine Einführung in Struktur und Funktion, Ökologie und Evolution der Blüten. Mit Anleitungen zu einfachen Versuchen. Stuttgart 1983 (Ulmer).  
Hess, D.: Biotechnologie und Pflanzenzüchtung. Umschau 10, 1985.  
Kuckuck, H./Kobabe, G./Wenzel, G.: Grundzüge der Pflanzenzüchtung. Berlin/New York 1985 (de Gruyter).  
Max Planck Institut für Züchtungsforschung (Hrsg.): Berichte. Köln 1986 (MPI).  
Shepard, J. F.: Pflanzenzüchtung mit Protoplasten. In: Spektrum der Wissenschaft. Verständliche Forschung: Industrielle Mikrobiologie. Heidelberg 1984

- Für die Einarbeitung in die Methoden der Isolierung, Kultur und Regeneration von Protoplasten danke ich besonders Herrn Dr. Jörgensen sowie Herrn Prof. Binding, der mir einen Experimentierplatz im Gewebelabor des Botanischen Instituts der Universität Kiel zur Verfügung stellte. U. Nellen
- Ich bedanke mich bei Herrn J. Marienfeld aus dem Arbeitskreis Prof. Abel im Botanischen Institut der Universität Hamburg für die Unterstützung bei der Erarbeitung der Methodik des Schulversuchs zur Isolierung und Fusion von Protoplasten. S. Matussek

Uta R. Nellen, geb. 1940; Studium von 1959–1964 an den Universitäten Hamburg, München, Kiel. Mitarbeiterin des IPN in Kiel 1979–1988; jetzt am Zentrum für Schulbiologie und Umwelterziehung in Hamburg.  
Stephan Matussek, geb. 1958; Studium der Fächer Biologie und Chemie an der Uni Hamburg, 1. Staatsexamen 1986; z. Z. Referendar am Heisenberg Gymnasium, Hamburg.

# Biologie des Verhaltens

## Evolution, Physiologie, Psychobiologie

von David McFarland

1989. XIV, 531 Seiten mit 357 Abbildungen und 12 Tabellen.  
Gebunden. DM 78,-. ISBN 3-527-26479-5

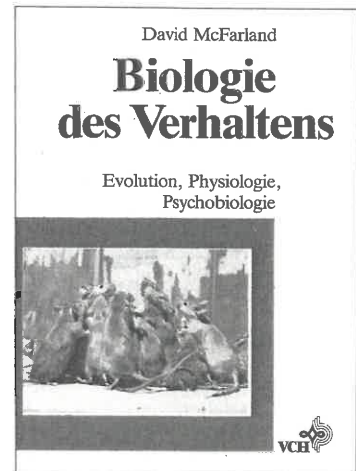
Aus dem Geleitwort von E. Curio, Bochum:

"Es gibt heute eine Flut von Lehrbüchern über Ethologie. Wozu also ein neues? Jedes der erfolgreicheren hat Schwerpunkte gesetzt, und so besticht keines durch die bewundernswerte Ausgewogenheit des vorliegenden Buches. Es entfaltet den gewaltig angewachsenen Stoff der Verhaltensbiologie ausgewogen, vielseitig und auf dem neuesten Stand."

Gerade auch Forschungsansätze aus dem englischen Sprachraum, die in entsprechenden deutschen Lehrbüchern meist weniger detailliert behandelt werden, sind hier sehr gründlich dargestellt. Das Buch ist aber nicht einfach eine bloße Übersetzung der Originalversion. Vielmehr hat der Autor fehlerhafte oder veraltete Passagen gestrichen und durch neue, aktuellere Ergebnisse deutscher Ethologen ersetzt. Gerade wegen des hier behandelten breiten Querschnitts der Ethologie hat der Autor besonderen Wert auf einen didaktischen Aufbau des Buches gelegt, der auch dem nicht fachlich vorgebildeten Leser eine Orientierung ermöglicht und den Einstieg erleichtert. Jedes dargestellte Gebiet wird für sich eingeführt, und die Kernpunkte eines Kapitels werden jeweils anschließend in kurzen Merksätzen zusammengefaßt.

Ihre Bestellung richten Sie bitte an Ihre Buchhandlung oder an:  
VCH, Postfach 101161, D-6940 Weinheim  
VCH, Hardstrasse 10, Postfach, CH-4020 Basel  
VCH, 8 Wellington Court, GB-Cambridge CB1 1HW  
VCH, Suite 909, 220 East 23rd Street, New York, NY 10010-4606

HJK



VCH