

Über Siebröhren-Plastiden und Plastidenfilamente der Caryophyllales*

Untersuchungen zum Feinbau und zur Verbreitung eines weiteren
spezifischen Plastidentyps

HEINZ-DIETMAR BEHNKE

Botanisches Institut der Universität Bonn

Eingegangen am 21. Juli/7. August 1969

Sieve-Tube Plastids and Plastid Filaments of Caryophyllales

On the Fine Structure and Distribution of a Further Specific Plastid

Summary. Comparative investigations of 20 Centrospermae from 12 families revealed that a plastid with an electron-dense core and/or annular plastid filaments is typical for Caryophyllales.

When the plastid membrane breaks down — it is most probable that this takes place artificially during the process of preparation and fixation — the plastid inclusions (core and annulus) disintegrate and in a whirl set free numerous 40—60 Å wide filaments. These so-called plastid filaments spread over the sieve-tube lumen and through the sieve pores, but they always remain discernable from the plasmatic filaments of the sieve tubes. There is a theory on how the somewhat different inclusions of various species could have been differentiated in an ontogenetic and phylogenetic process.

Sieve-tube plastids of *Polygonum* and *Rumex* (Polygonales) and of *Plumbago* have no plastid filaments. They contain starch.

Einleitung

Die Siebröhren der Monocotylen enthalten einen für sie charakteristischen Plastidentyp, der durch die Ausbildung keilförmiger Kristalloide wie sie zuerst in den Siebröhren-Plastiden der Dioscoreaceen entdeckt wurden (Behnke, 1965, 1967), eindeutig gekennzeichnet ist. Eine systematische Bearbeitung nahezu aller Ordnungen der Monocotylen (Behnke, 1968, 1969a) sowie neuere ergänzende Befunde an *Hordeum sativum* (Buvat, 1968) und *Butomus umbellatus* (Behnke, unveröff.) — die elektronenoptischen Untersuchungen umfassen damit inzwischen 54 Arten aus 30 Familien — stützen die These vom einheitlichen Bau aller Siebröhren-Plastiden der Monocotylen. Weiterführende Arbeiten an den Polycarpiceae (Behnke, unveröff.) zeigen zudem, daß Plastiden mit keilförmigen Kristalloiden offenbar auf Monocotylen beschränkt sind, und unterstreichen damit die Eigenständigkeit dieser Unterklasse.

* Erweiterter Teil einer Habilitationsschrift der Math.-Naturw. Fakultät Bonn.

Die Siebröhren der Polycarpicacae und der übrigen *Dicotylen* — soweit sie bislang untersucht wurden — speichern bevorzugt Stärke in zumeist strukturarmen Leukoplasten. Allerdings enthalten die Siebröhren-Plastiden von *Tetragonia* und *Beta* proteinhaltige Einschlüsse (Falk, 1964; Esau, 1965); beide Arten gehören zu den Centrospermen¹. Angeregt durch unsere Erfahrungen über die Verbreitung spezifischer Plastiden bei den Monocotylen haben wir eine Reihe von Centrospermen-Familien auf den Feinbau ihrer Siebröhren-Plastiden untersucht. Vor allem in der Ordnung der Caryophyllales¹ zeichnet sich inzwischen die systematische Begrenzung eines weiteren Plastidentyps ab, der sich durch ringförmig angeordnete Filamente von allen anderen Plastiden unterscheidet. Über erste Ergebnisse wird im folgenden berichtet.

Material und Methode

Dünne Längsschnitte durch junge oder ausdifferenzierte Sproßabschnitte, Blatt- oder Blütenstiele von *Aerva scandens* Wall., *Alluaudia humbertii* Choux, *Boussingaultia baselloides* H. B. K., *Celosia argentea* L., *Cucubalus baccifer* L., *Dianthus caryophyllus* L., *Hablitzia tamoides* M. Bieb., *Lychnis chalconica* L., *Mirabilis longiflora* L., *Pereskia grandiflora* Haw., *Phytolacca acinosa* Roxb., *Phytolacca dioica* L., *Pisonia brunoniana* Endl., *Plumbago europaea* L., *Polygonum bistorta* L., *Portulacaria afra* Jacq.-Speckbaum, *Rumex patientia* L., *Scelotium namaquense* L. Bol., *Silene cucubalus* L. und *Trichostigma peruvianum* H. Walt. wurden in 4,5% phosphatgepuffertem Glutaraldehyd, cacodylatgepuffertes Paraformaldehyd-Glutaraldehyd-Lösung (Karnovski, 1965) oder in cacodylatgepuffertes Acrolein-Glutaraldehyd-Lösung (Hess, 1966) fixiert, mit 1,5% gepuffertes OsO₄-Lösung nachbehandelt und nach Aceton-Entwässerung in Vestopal W oder Epon-Araldit (Mollenhauer, 1964) eingebettet. Die mit Phosphorwolframsäure und Uranylacetat am Block und mit Bleicitrat am Schnitt kontrastierten Präparate gelangten in einem Siemens Elmiskop I A zur Auswertung².

Ergebnisse und Diskussion

Wie aus lichtoptischen Arbeiten bekannt ist, speichern die Siebröhren-Plastiden von *Beta* nur selten Stärke und sind durch einen kontrastreichen Ring, der nach Jodjodkali und Bromphenolblau Eiweißreaktionen gibt, deutlich von anderen Plastiden zu differenzieren (Esau, 1934, 1965). Elektronenoptische Aufnahmen dieser Plastiden zeigen, daß sich die ringförmigen Einschlüsse aus zahlreichen Einzelfilamenten zusammensetzen; das Unvermögen, diese Plastidenfilamente nach KMnO₄-Fixierung darzustellen, bestätigt indirekt die histochemischen Proteinreaktionen (Esau, 1965). Bereits vorher beschrieb Falk (1964) in *Tetragonia*-Siebröhren den Feinbau gleichartiger Plastiden und bestätigte

¹ Alle systematischen Gliederungen nach Takhtajan (1959).

² Mit freundlicher Unterstützung der Stiftung Volkswagenwerk, die dem Botanischen Institut das Siemens Elmiskop I A zur Verfügung stellte. Frau Christa Grabert danke ich für zuverlässige Mitarbeit.

durch wechselnde Schnittebenen und -richtungen die auf Grund licht-optischer Untersuchungen gewonnene Vorstellung vom ringförmigen Aufbau der Plastideneinschlüsse.

Unter den hier bearbeiteten Centrospermen enthalten alle 17 Caryophyllales aus 10 Familien Siebröhren-Plastiden vom gleichen Bauprinzip, während die Beispiele aus den Polygonales und Plumbaginales Leukoplasten nach dem einfachen Dicotylen-Typ ausbilden (vgl. Tabelle und Abb. 1 bis 9). Für die Siebröhren-Plastiden der Caryophyllales erscheint somit ein ringförmiger Einschluß ebenso charakteristisch wie für die Monocotylen-Siebröhren die keilförmigen Kristalloide.

Tabelle. Die Siebröhren-Plastiden der Centrospermen. (System nach Takhtajan, 1959)

| | Plastiden mit zentralem Einschluß und/oder Ringfilamenten (s. Abb. 1—3 und 7—9) | Stärkespeichernde Leukoplasten ohne Ringfilamente (s. Abb. 6) |
|---------------------|---|--|
| Caryophyllales | | |
| (1) Phytolaccaceae | <i>Phytolacca dioica</i> <i>Phytolacca acinosa</i> <i>Trichostigma peruvianum</i> | |
| (5) Nyctaginaceae | <i>Mirabilis longiflora</i> <i>Pisonia brunoniana</i> | |
| (6) Didiereaceae | <i>Alluaudia humbertii</i> | |
| (7) Caryophyllaceae | <i>Cucubalus baccifer</i> <i>Dianthus caryophyllus</i> <i>Lychnis chalcedonica</i> <i>Silene cucubalus</i> | |
| (10) Amaranthaceae | <i>Aerva scandens</i> <i>Celosia argentea</i> | |
| (11) Chenopodiaceae | <i>Beta vulgaris</i> (Esau, 1965) <i>Hablitzia tamoides</i> | |
| (13) Aizoaceae | <i>Tetragonia expansa</i> (Falk, 1964) <i>Sceletium namaquense</i> | |
| (14) Cactaceae | <i>Pereskia grandiflora</i> | |
| (15) Portulacaceae | <i>Portulacaria afra</i> | |
| (16) Basellaceae | <i>Boussingaultia baselloides</i> | |
| Polygonales | | |
| Polygonaceae | | <i>Polygonum bistorta</i> <i>Rumex patientia</i> |
| Plumbaginales | | |
| Plumbaginaceae | | <i>Plumbago europaea</i> |

Freilich gibt es auch hier individuelle Abweichungen vom willkürlich festgelegten Grundtyp mit einem einfachen Filamentring. Während *Aerva*, *Celosia* und *Hablitzia* (Abb. 7—9) diesem „*Tetragonia*-*Beta*-Typ“

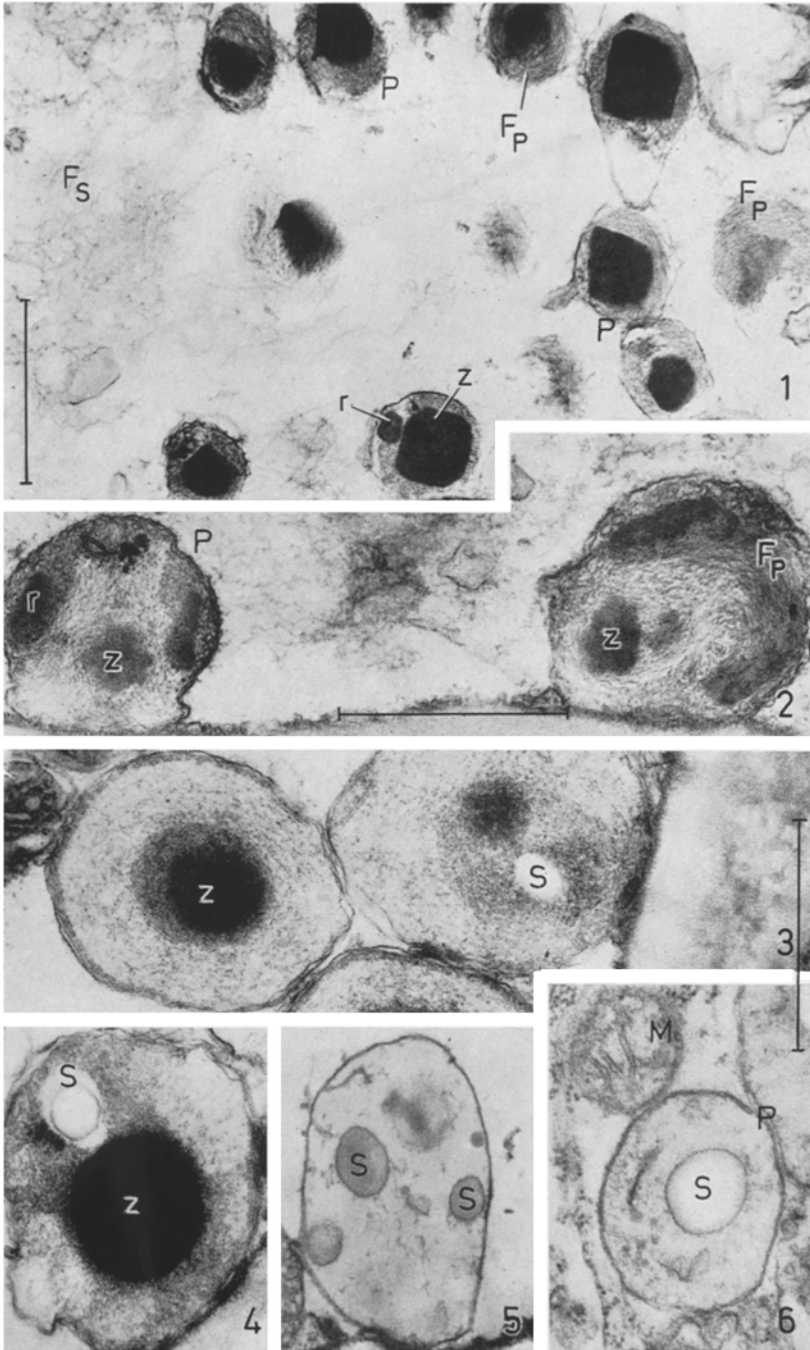


Abb. 1—6

folgen, enthalten *Phytolacca* (Abb. 4), *Trichostigma*, *Mirabilis*, *Pisonia*, *Alluaudia*, *Cucubalus*, *Dianthus* (Abb. 1), *Lychnis*, *Silene*, *Sceletium* (Abb. 2), *Pereskia*, *Portulacaria* und *Boussingaultia* in der Regel zusätzlich — selten ausschließlich — zentrale Einschlüsse von kugelig oder scharf kantiger (Abb. 1) Gestalt.

Um den Unterschied zwischen beiden Plastidenmodifikationen besser herauszustellen, haben wir begonnen, ihre ontogenetische Entwicklung zu erfassen. Die bisherigen Ergebnisse verdeutlichen zwar, daß die Plastidendifferenzierung mit der Ausbildung des zentralen Einschlusses beginnt in dessen unmittelbarer Nähe dann die Plastidenfilamente entstehen. Andererseits zeigen alle bislang erfaßten jungen Plastiden vom einfachen Bautyp bereits die fertigen Filamentringe (Abb. 7—9). Eine befriedigende Antwort für unsere Fragestellung sehen wir hierin jedoch noch nicht. Die Untersuchungen werden an dieser Stelle fortgesetzt.

Wie bei den Monocotylen (vgl. Behnke, 1967, 1969a) haben die jungen Plastiden eine langgestreckte amöboide Gestalt. Die späteren zentralen Einschlüsse liegen an einem Pol, der schwanzförmige Teil wird allmählich verkürzt (Abb. 8, 9), bis im Endstadium die äußere Begrenzung der Plastiden durch die größte Ausdehnung des Filamentringes bestimmt wird. Aufnahmen von verschiedenen angeschnittenen Plastiden, in denen der Filamentring quer und schräg getroffen wurde (Abb. 7, 8; vgl. Falk, 1964; Esau, 1965), verdeutlichen, daß die endgültige Ringform bereits in jungen Plastiden vorhanden ist.

Noch nicht ausdifferenzierte Plastiden von *Hablitzia* (Abb. 7—9) enthalten in ihrer Matrix zahlreiche Tubuli, die im Laufe der ontogenetisch bedingten Abrundung der Plastiden offenbar eingeschmolzen werden — vgl. auch die Ausbildung von Vesikeln in jungen Plastiden der Monocotylen (Behnke, 1969a). Im Innern des Filamentrings liegen sehr regelmäßig einige freie Thylakoide (Abb. 8, 9, *T*). Esau (1965) bildet

Abb. 1. *Dianthus caryophyllus*: Siebröhre mit Plasmafilamenten (F_s) und zahlreichen Plastiden (P), die ringförmig (r) angeordnete Plastidenfilamente (F_p) und einen elektronendichten Zentralkörper (z) enthalten. Glutaraldehyd/Vestopal, 24000:1

Abb. 2. *Sceletium namaquense*: Zwei Siebröhren-Plastiden (P) mit Zentralkörper (z) und zu einem Ring (r) vereinten Plastidenfilamenten (F_p). Paraformaldehyd-Glutaraldehyd/Epon-Araldit, 35000:1

Abb. 3 u. 4. *Phytolacca dioica*: Siebröhren-Plastiden mit rundem Zentralkörper (z) und nur wenigen Plastidenfilamenten. Geringfügige Stärkeablagerungen (S). Acrolein-Glutaraldehyd/Epon-Araldit, 35000:1

Abb. 5. *Phytolacca acinosa*: Siebröhren-Plastide mit mehreren Stärkekörnern (S). Glutaraldehyd/Vestopal, 35000:1

Abb. 6. *Rumex patientia*: Siebröhren-Plastide (P) mit Stärke (S). M Mitochondrium. Acrolein-Glutaraldehyd/Epon-Araldit, 35000:1

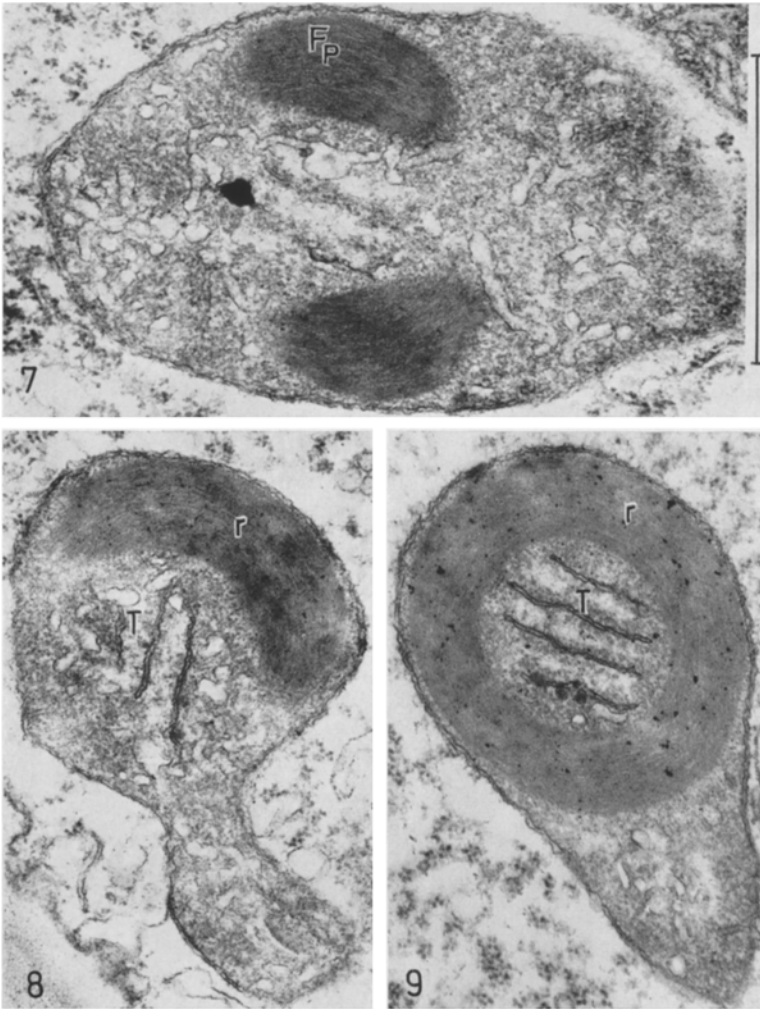


Abb. 7—9. *Habitzia tamoides*: Junge Siebröhren-Plastiden mit bereits fertig ausgebildetem Ring (r) aus Plastidenfilamenten (F_p). Ring in Abb. 7 quer, in Abb. 8 schräg angeschnitten. Im Plastidenzentrum einige Thylakoide (T). Acrolein-Glutaraldehyd/Epon-Araldit, 40000:1

Abb. 10. *Aerva scandens*: Die Siebpore (SP) zwischen zwei Siebröhrengliedern wird von Plastidenfilamenten (F_p), die sich aus einem Wirbel lösen, völlig eingenommen. ER Endoplasmatisches Reticulum. Acrolein-Glutaraldehyd/Epon-Araldit, 50000:1

Abb. 11. *Portulacaria afra*: Plastidenfilamente (F_p) lösen sich vom Zentralkörper (z) geplatzter Plastiden und ordnen sich vorübergehend wirbelartig an. F_s Siebröhren-Plasmafilamente; M_p Reste der Plastidenhüllmembran. Paraformaldehyd-Glutaraldehyd/Epon-Araldit, 65000:1

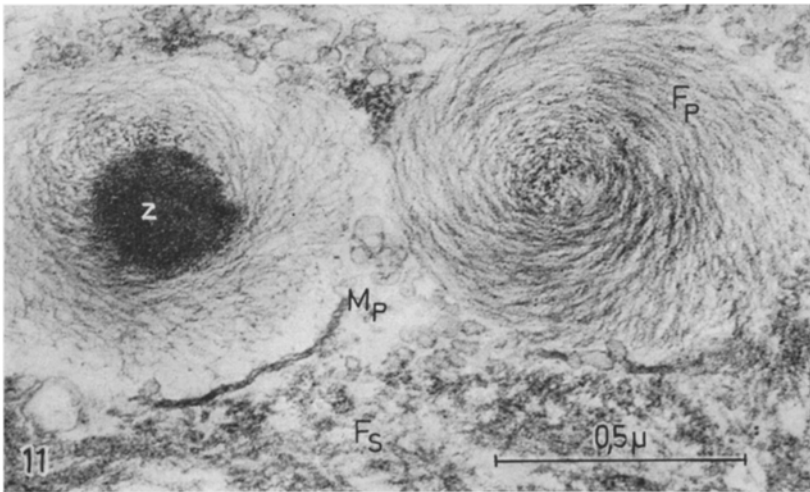
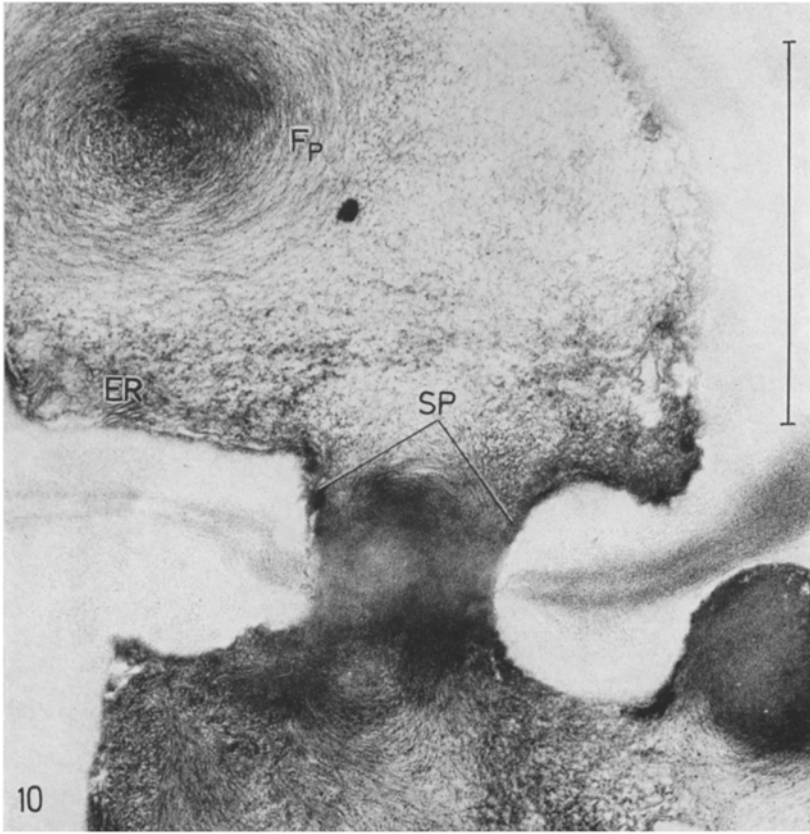


Abb. 10 u. 11

in *Beta* (wie *Hablitzia* eine Chenopodiacee) gleichfalls innere Membranen im lichten Plastidenzentrum ab.

Wenn die Hüllmembran ausdifferenzierter Plastiden platzt — und das tritt bei den hier nicht auf jede Species neu eingestellten Reihenfixierungen eher ein als bei Einzeluntersuchungen —, breiten sich die Plastidenfilamente über die Siebröhre aus und durchsetzen auch die Siebporen (Abb. 10). In Plastiden mit zentralen Einschlüssen lösen sich zunächst die freien Filamente ab, ehe die Auflockerung der Zentralkörper beginnt. Die dichten Filamentringe und die zentralen Einschlüsse entlassen schließlich in einer wirbelartigen Auffaserung die einzelnen Plastidenfilamente in das Siebröhrenlumen (Abb. 10, 11; vgl. Falk, 1964). Stets sind die Plastidenfilamente (\varnothing 40—60 Å) auf Grund ihres Durchmessers von den Siebröhren-Plasmafilamenten zu unterscheiden, deren kleinster Durchmesser etwa 80 Å beträgt (vgl. Behnke, 1969 b). Noch in den Siebporen ist eine Unterscheidung zwischen Plastidenfilamenten und Plasmafilamenten möglich. In vielen Fällen verstopfen die Zentralkörper der Plastiden oder die von ihnen abgegebenen Filamente die Siebporen (Abb. 10).

Beobachtungen von Filamentwirbeln mit und ohne Zentralkörper (Abb. 11) in ein und derselben Siebröhre sowie der Umstand, daß die Plastidenfilamente in den zentralkörperfreien Wirbeln zahlreicher, länger und dichter erscheinen, unterstützen die These einer direkten Auflösung und Entwirrung der zentralen Einschlüsse in spiralig angeordnete Filamente. Ein gleichartiger Vorgang könnte auch zum Verständnis der beiden Plastidenmodifikationen in den Caryophyllales beitragen: Unter der (noch unbewiesenen) Voraussetzung, daß die Plastidenfilamente aller beschriebenen Arten aus einem Zentralkörper entstehen, würde dieser bei *Beta*, *Tetragonia*, *Aerva*, *Celosia* und *Hablitzia* im Zuge der Ontogenie völlig in der Ringbildung aufgehen, während bei den anderen Arten — evtl. phylogenetisch bedingt — seine Auflösung und damit die Ringdichte unterschiedlich weit fortgeschritten wäre. — Es ist zudem vorstellbar, daß die zentralen Einschlüsse mit den von ihnen abgegebenen Filamenten rotieren (die Wirbel implizieren praktisch diese Vorstellung) und in völliger Auflösung der Zentralkörper, bei maximaler Rotation, die Filamente gegen die Plastidenhülle drücken, wo sie sich dann allmählich zum Ring verdichten. —

Am Beginn einer Entwicklungsreihe ständen dann die Plastiden von *Phytolacca*. *Ph. dioica* enthält Siebröhren-Plastiden mit einem runden Zentralkörper, der erst eine begrenzte Zahl von Filamenten abgegeben hat (Abb. 3). Daneben werden hier noch geringe Mengen von Siebröhrenstärke gespeichert (Abb. 4, S). Weitaus mehr Stärke enthalten die Siebröhren-Plastiden von *Phytolacca acinosa* (Abb. 5, S); hier treten die Plastidenfilamente gelegentlich so weit zurück, daß die Plastiden leicht

mit den stärkehaltigen Leukoplasten der übrigen Dicotylen, wie wir sie z. B. bei *Polygonum* und *Rumex* (Abb. 6) fanden, zu verwechseln sind. In keiner anderen Familie der Caryophyllales entdeckten wir bislang Siebröhrenstärke.

Unsere Untersuchungen über Feinbau und Verbreitung der Siebröhren-Plastiden zeigen, daß es neben den stärke-speichernden Plastiden noch mindestens zwei Modifikationen gibt, die man wahrscheinlich bestimmten Pflanzengruppen zuordnen kann — den Monocotylyltyp (Behnke, 1969a) und den hier für die Caryophyllales beschriebenen Typ. Sie wollen nicht als Unterstützung oder Widerlegung des einen oder anderen natürlichen Systems aufgefaßt werden — wir sind uns der Gefahren einer solchen Deutung durchaus bewußt (vgl. Merxmüller, 1967) —, können aber dem Systematiker in manchen Fragestellungen als zusätzliche Information dienen.

Literatur

- Behnke, H.-D.: Über das Phloem der Dioscoreaceen unter besonderer Berücksichtigung ihrer Phloembecken. II. Mitt. Elektronenoptische Untersuchungen zur Feinstruktur des Phloembeckens. Z. Pflanzenphysiol. **53**, 214—244 (1965).
 — Über den Aufbau der Siebelement-Plastiden einiger Dioscoreaceen. Z. Pflanzenphysiol. **57**, 243—254 (1967).
 — Zum Feinbau der Siebröhren-Plastiden bei Monocotylen. Naturwissenschaften **55**, 140—141 (1968).
 — Die Siebröhren-Plastiden der Monocotyledonen. Vergleichende Untersuchungen über Feinbau und Verbreitung eines charakteristischen Plastidentyps. Planta (Berl.) **84**, 174—184 (1969a).
 — Über den Feinbau und die Ausbreitung der Siebröhren-Plasmafilamente und über Bau und Differenzierung der Siebporen bei einigen Monocotylen und bei *Nuphar*. Protoplasma (Wien) **68** (in Vorbereitung). (1969b).
 Buvat, R.: Différenciation des cellules du protophloème dans les jeunes racines d'orge (*Hordeum sativum*). C. R. Acad. Sci. (Paris) **267**, 406—408 (1968).
 Esau, K.: Ontogeny of phloem in the sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Amer. J. Bot. **21**, 632—644 (1934).
 — Fixation images of sieve element plastids in *Beta*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **54**, 429—437 (1965).
 Falk, H.: Zur Herkunft des Siebröhrenschleims bei *Tetragonia expansa* Murr. Planta (Berl.) **60**, 558—567 (1964).
 Hess, W. M.: Fixation and staining of fungus hyphae and host plant root for electron microscopy. Stain Technol. **41**, 27—34 (1966).
 Karnovski, M. J.: A formaldehyd-glutaraldehyd fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell Biol. **27**, 137A—138A (1965).
 Merxmüller, H.: Chemotaxonomie? Ber. dtsh. bot. Ges. **80**, 608—620 (1967).
 Mollenhauer, H. H.: Plastic embedding mixtures for use in electron microscopy. Stain Technol. **39**, 111—114 (1964).
 Takhtajan, A.: Die Evolution der Angiospermen. Jena: Gustav Fischer 1959.

Priv.-Doz. Dr. Heinz-Dietmar Behnke
 Botanisches Institut der Universität
 Meckenheimer Allee 170
 53 Bonn