

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

ZUR HERKUNFT DES SIEBRÖHRENSCHLEIMES
BEI *TETRAGONIA EXPANSA* MURR.

Von

HEINZ FALK

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. September 1963)

Im Verlaufe elektronenmikroskopischer Untersuchungen an virusinfizierten Blättern von Zuckerrüben und Neuseeländer Spinat¹ ergab sich die Notwendigkeit von Kontrollbeobachtungen an nichtinfiziertem Material. Da die Virusinfektion das Auftreten von spezifischen cytologischen Veränderungen besonders im Phloembereich der Blattbündel zur Folge hat, galt diesem Gewebebereich auch bei den Kontrollen das Hauptaugenmerk. Hierbei konnten einige Beobachtungen gemacht werden, die wegen ihrer möglichen Bedeutung für die Frage nach der Herkunft des „Siebröhrenschleimes“ kurz mitgeteilt werden sollen.

Die bekannt hohe Labilität der Siebröhrenprotoplasten stellt an die Präparationsmethode besondere Anforderungen. Eine Vitalbeobachtung des Blattbündelphloems ist bei unseren Objekten außerordentlich schwierig, so daß subtile Voruntersuchungen zur Präparation und Fixierung (vgl. z. B. KOLLMANN 1960 a) ausgeschlossen waren; es wurden daher solche Verfahren angewendet, die nach Angabe anderer Autoren die relativ beste Erhaltung der Phloemfeinstruktur gewährleisten.

Material und Methode

Ausgewachsene Blätter von *Tetragonia expansa* MURR (Aizoaceae), über die hier allein berichtet werden soll, wurden unter 0,3 M Saccharose-lösung (KOLLMANN 1960 b) in kleine Stücke geschnitten und sofort in eiskalte OsO₄-Chromat-Lösung mit NaCl (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1957, ESCHRICHT 1963) für 3 Std verbracht; nach Entwässerung (Aceton) Einbettung in Araldit (KAY 1961); Nachkontrastierung der Ultradünnschnitte mit Blei (REYNOLDS 1963); Beobachtung der Präparate im Siemens-Elmiskop I.

Ergebnisse

Auf Flächenschnitten durch das Schwammparenchym treten die Siebröhrenelemente der kleinen Blattnerven gegenüber den Geleit- und

¹ Die zusammen mit Fr. Dr. R. MARX (Inst. f. landw. Technologie u. Zuckerindustrie, Braunschweig) durchgeführt wurden, und über deren Ergebnisse gesondert berichtet werden soll.

Parenchymzellen durch den geringen Kontrast des Zellumens deutlich hervor (Abb. 1); selbst wenn infolge ungünstiger Schnittlage die zugehörigen Siebplatten nicht getroffen sind, besteht somit kein Zweifel über ihre Identität. Das Cytoplasma der die Bündelscheide bildenden Parenchymzellen sowie der Geleitzellen bietet den von Elektronenmikrogrammen anderer pflanzlicher Objekte bekannten Aspekt. Die „Dichte“ des Geleitzellenplasmas, in dem sich langgestreckte Kerne mit relativ lockerer Innenstruktur finden, wird durch eine große Zahl „freier“ Ribosomen bewirkt, die den nicht von Organellen eingenommenen Raum beinahe zur Gänze erfüllen. Strukturen, die als „Schleim“ zu deuten wären, konnten hierin nicht gefunden werden. Das Lumen der kernlosen Siebröhrenglieder hingegen wird zum überwiegenden Teil von verhältnismäßig schwach kontrastierten, fibrillären Elementen eingenommen, die von der Mehrzahl der Phloemforscher (BUVAT 1960, ZIEGLER 1960, KOLLMANN 1960b, DULOY, MERCER u. RATHGEBER 1961, MEHTA u. SPANNER 1962, ESCHRICH 1963, ENGLEMAN 1963) auch für andere Objekte beschrieben und von einigen dem „Siebröhrenschleim“ zugeordnet werden. Die Fibrillen verlaufen nur selten \pm parallel, weit häufiger bilden sie ein lockeres Geflecht, in welchem stellenweise eigenartige, an Wirbelbildungen erinnernde Fibrillenorientierungen anzutreffen sind (Abb. 3a, 4, 5). Die fädigen Elemente stehen mit dem dünnen protoplasmatischen Wandbelag in Verbindung, der bei den untersuchten Präparaten einen Tonoplasten und damit eine scharfe Abgrenzung gegen die Vacuole nicht erkennen ließ; das Plasmalemma war dagegen — auch in den Siebporen — stets deutlich zu beobachten. In diesen Protoplasten eingeschlossen finden sich einige Mitochondrien (Abb. 1), die kleiner als jene der Geleitzellen sind und mitunter erweiterte intrasacculäre Räume aufweisen (vgl. auch KOLLMANN 1960b, Abb. 16; ESCHRICH 1963). Außerdem kann man, wenn auch recht selten, im wandständigen Plasma, aber auch innerhalb des Fibrillennetzes Strukturen beobachten, die als Elemente des Endoplasma-Reticulum gedeutet werden könnten (Abb. 1, 2); Dictyosomen und freie Nucleolen wurden hingegen — womöglich zufällig — nicht gefunden.

Das auffälligste Element des Siebröhrenprotoplasten sind jedoch eigenartige, \pm rundliche Gebilde von etwa $0,7-1,5 \mu$ Durchmesser, die je von einer Doppelmembran umgeben sind. Sie fanden sich gewöhnlich — in das Zellumen vorragend — im wandständigen Plasma, mitunter aber auch anscheinend im Lumen selbst. Die Membran umgibt einen aus zwei Komponenten aufgebauten Innenkörper: Eine zentrale Masse flockigen Materials mit geringerem Kontrast wird von einem dunklen, undeutlich geschichteten Ring umschlossen, der sich je nach Schnittlage entweder geschlossen, hufeisen- oder bandförmig, oder schließlich in Form zweier, \pm nierenförmiger, sich gegenüberliegender

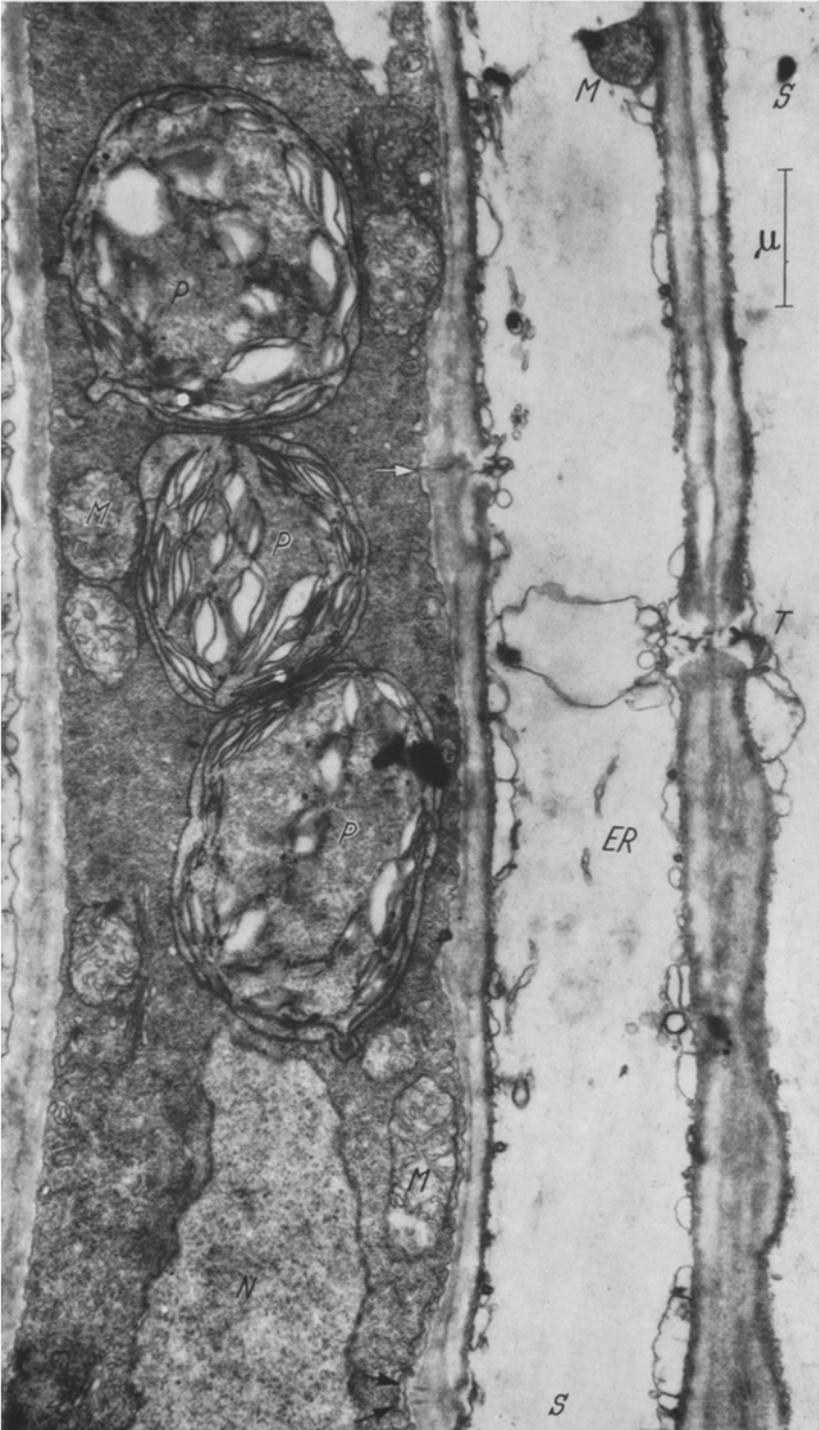


Abb. 1 (Legende auf gegenüberliegender Seite)

Anschnitte präsentiert. Einige tubuläre und bläschenartige Strukturen, zwischen denen sich gelegentlich stark kontrastierte, den Globuli von Plastiden vergleichbare Tröpfchen finden, gehören ebenfalls zum Inhalt dieser Körper (Abb. 3a—d). Die weitere Untersuchung ließ keinen Zweifel daran, daß es sich bei diesen auffälligen Körpern um modifizierte *Plastiden* handelt: Sie lassen sich in den Siebröhren der kräftiger ausgebildeten Blattnerven in Hand- und Kryostatsechnitten als kleine

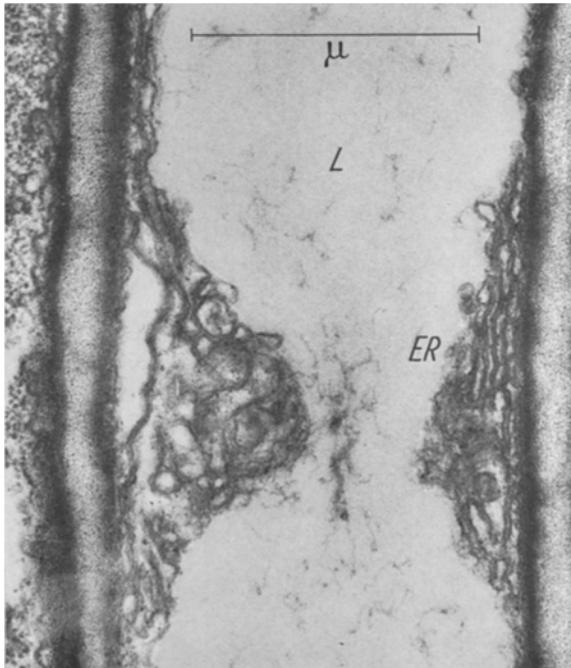


Abb. 2. Ausschnitt aus dem Siebröhrenprotoplasten. Lumen (*L*) mit wandständigem, von zisternalen Profilen (Endoplasma-Reticulum, *ER*) durchzogenem Plasma

Granula erkennen, die den von verschiedenen Autoren mikrophotographisch dargestellten Siebröhrenplastiden gleichen¹ (unter anderem ESAU 1947, 1958 plate 35 C; CURRIER et al. 1955; KOLLMANN 1960a). ESAU hat bereits 1934 bei *Beta vulgaris* solche „bipolar“ gebauten Granula als Plastiden angesprochen. MCGIVERN (1957) beschrieb sie

Abb. 1. Ausschnitt aus dem Blattbündelphloem von *Tetragonia expansa*; Geleitzelle (*G*) mit Kern (*N*), Plastiden (*P*), zahlreichen Mitochondrien (*M*) und Dictyosomen im ribosomenreichen Plasma. Zwei Siebröhrenglieder (*S*) mit Mitochondrium und Anschnitten des endoplasmatischen Reticulum (*ER*). Doppeltrichterförmiger Tüpfel (*T*) zwischen den Siebröhren mit Kallose (nicht kontrastiert) ausgekleidet. Man beachte die polsterförmigen Zellwandverdickungen der Geleitzelle im Bereich der Plasmodesmen (*λ*)

¹ Eine Rotfärbung von „Plastidenstärke“ war mit JKJ nicht zu erkennen (vgl. auch ESAU 1934).

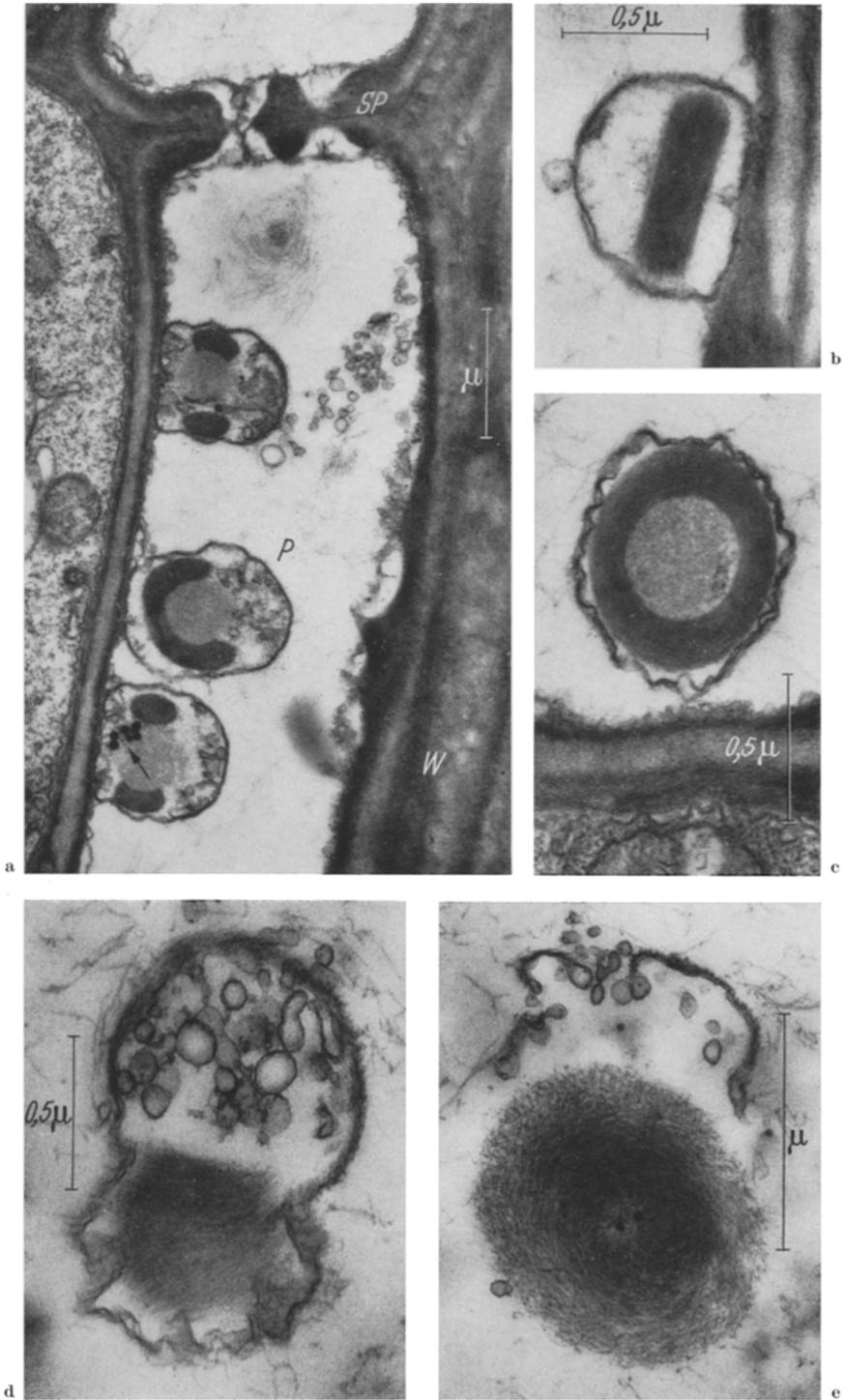


Abb. 3 a—e (Legende auf gegenüberliegender Seite)

beim gleichen Objekt wie folgt: "The matrix, which constitutes the ring incloses a clear center and may vary in thickness. When viewed from the side, an optical section of the ring imparts a bipolar appearance. . . When treated with iodine, the matrix does not appear to stain." Andere, etwa auf Grund der Ausbildung von inneren Membransystemen ohne

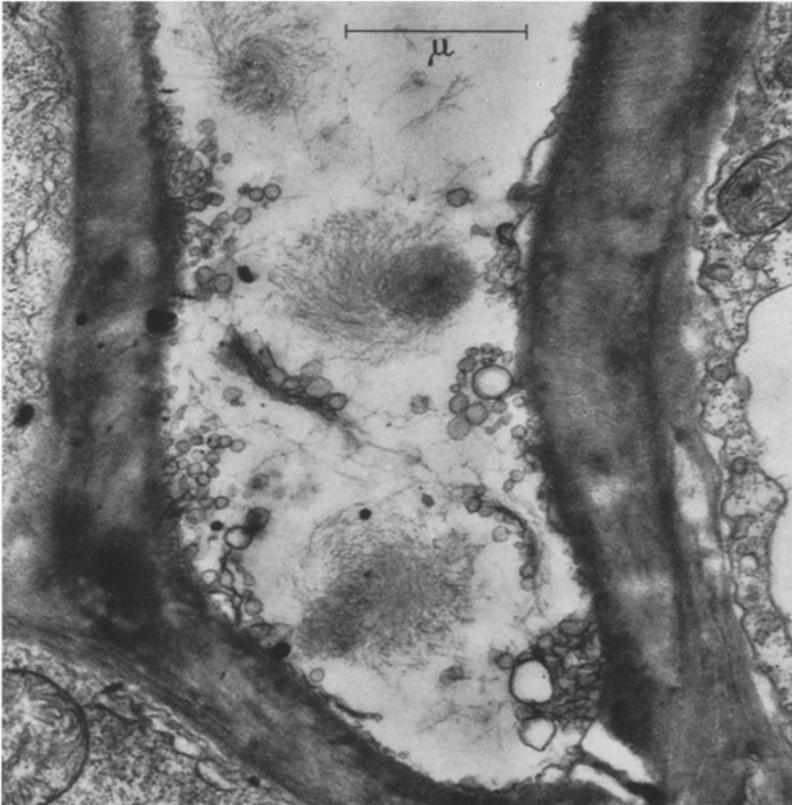


Abb. 4. Weitergehende Lockerung des ausgetretenen Plastideninhalts, spirale Anordnung seiner fädigen Komponente. Plastidenmembranreste noch zu erkennen

weiteres als Plastiden ansprechbare Partikel wurden in den Siebröhren von *Tetragonia* nicht beobachtet, finden sich jedoch regelmäßig in den benachbarten Geleit- und Parenchymzellen (Abb. 1). Die von KOLLMANN (1960 b, Abb. 8 und 9) bei *Passiflora* im Elektronenmikroskop gefundenen, „ausdifferenzierten“ Siebröhrenplastiden sind, abgesehen

Abb. 3a—e. Siebröhrenplastiden. a Siebröhrenzelle mit Siebplatte (SP), deren Poren Kallosezylinder enthalten, ins Lumen vorragend drei Plastiden (P) mit ringförmigem Einschlußkörper (in verschiedenen Ebenen geschnitten), tubulären und vesiculären Elementen, sowie mehreren Globuli (G). Zellwand (W). b Ring tangential, c in der Fläche geschnitten, undeutlich geschichtet. d Beginn der Extrusion. e Hüllmembran aufgesprungen (man beachte die geschlossenen Enden der Doppelmembran), Einschlußkörper ausgetreten, dessen fibrilläre Struktur durch beginnende Auflockerung deutlicher zu erkennen

von den dort in Mehrzahl vorhandenen „Stärkekörnern“, den hier beschriebenen ohne weiteres vergleichbar (vgl. auch HOHL 1960, *Datura*).

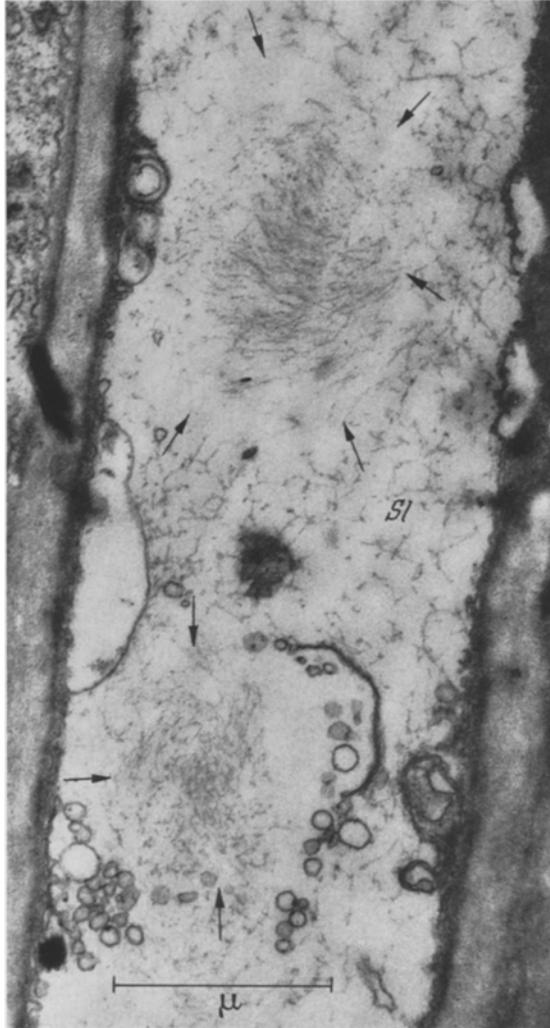


Abb. 5. Plastideninhalt vollkommen in Fibrillen aufgelöst (\nearrow), die nur noch undeutlich durch ihre Orientierung und geringeren Durchmesser von jenen des „Schleimes“ (SI) zu unterscheiden sind

Die Siebröhrenplastiden zeigen nun in unseren Präparaten weitere charakteristische Veränderungen: Nicht selten erscheint nämlich die äußere Hüllmembran aufgebrochen und der kontrastreiche Innenkörper ins Zellumen ausgetreten (Abb. 3e), wo er zunächst als distinktes, nicht

scharf begrenztes Partikel erkennbar ist. In der Folge scheint eine Auflockerung dieses Körpers in der Weise zu erfolgen, daß sich an seinem Rand einzelne Fäden spiralig von ihm ablösen (Abb. 4), und schließlich nur mehr gekrümmte \pm parallele Fibrillen von geringem Kontrast übrigbleiben, die den bei anderen Objekten als „Schleim“ bezeichneten Fibrillen der Siebelemente auffallend ähneln (Abb. 5). Meist finden sich in der Nachbarschaft solcher „Fibrillenwirbel“ noch mehrere Bläschen, sowie die deformierte Plastidenmembran, die in diesem Zustand — für sich allein betrachtet — mit einem angeschnittenen Profil des endoplasmatischen Reticulum verwechselt werden könnte.

Diskussion

Zu den vielen, sehr verschiedenartigen Problemen der Phloemforschung gehört auch jenes der Beziehungen zwischen „Schleim“ und Cytoplasma (vgl. z. B. ESAU u. CHADLE 1961). Aus den vorstehend beschriebenen elektronenmikroskopischen Befunden ergibt sich, daß bei *Tetragonia expansa* im Lumen der Siebröhren gefundene fibrilläre Strukturen als Derivate von Siebröhrenplastiden zu betrachten sind. Zweifellos besteht bezüglich der Plastidenumbildung eine Parallele zu den lichtmikroskopischen Beobachtungen ESAUS (1934) am Phloem von *Beta vulgaris*, wo “in the process of obliteration, or somewhat earlier, the plastids disintegrate. First, they appear to swell; then they lose their sharp outline and their staining capacity; and finally they dissolve.” Die in morphologisch entsprechender Weise verlaufende Plastiden-„Auflösung“ in den Siebelementen von *Tetragonia* erfolgt wohl nicht erst beim Absterbeprozess, sondern schon auf früheren Stadien. Das dabei schließlich zu „Fibrillenkörpern“ umgebildete Plastidenmaterial ist den bei Angiospermen im Lichtmikroskop oft beobachteten „Schleimkörpern“ vergleichbar. Wenn eine Reihe von Autoren (HOHL 1960, DULOY et al. 1961, ENGLEMAN 1963) die im Lumen der Siebröhren elektronenoptisch darstellbaren Fibrillen dem „Schleim“ zuordnen, so kann festgestellt werden, daß bei *Tetragonia* zumindest ein bestimmter Anteil dieser fädigen Schleimstrukturen — nämlich die aus Plastiden hervorgegangenen — unmittelbar cytoplasmatischer Herkunft sind. Wie groß dieser Anteil ist, läßt sich freilich mit elektronenmikroskopischen Methoden kaum entscheiden; zwar scheinen die letztlich im fibrillären Netzwerk des Schleimes aufgehenden fädigen Plastidenderivate von etwas geringerem Durchmesser, doch bleiben für quantitative Untersuchungen dennoch erhebliche Unsicherheitsfaktoren bestehen. Immerhin läßt sich zeigen, daß bei *Tetragonia* zwischen Siebröhrenschleim und -cytoplasma enge Beziehungen bestehen. Das dürfte für manche noch strittigen Fragen der Phloemphysiologie von Bedeutung sein.

Zugleich kann auf Grund der vorliegenden Studie den bisher bekannten Strukturveränderungen von Plastiden (vgl. z. B. FREY-WYSSLING; RUCH u. BERGER 1956; FREY-WYSSLING u. KREUTZER 1958a, b, STEFFEN u. WALTER 1958; SCHNEPF 1964) eine weitere Möglichkeit zur Seite gestellt werden.

Dank gebührt Frau Dr. R. MARX, Braunschweig, für Anzucht, Fixierung und Einbettung des Materials, Herrn Dr. R. KOLLMANN, Bonn, für wertvolle Diskussionen, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre großzügige Unterstützung.

Summary

In *Tetragonia expansa* the phloem of the small vascular bundles of the leaves has been investigated electron microscopically after careful preparation. The following results were obtained:

1. Within the sieve tubes many plastids occur which contain a dense ringshaped inclusion with a less dense center. Similar plastids has been described already in *Beta vulgaris* (ESAU 1934, MCGIVERN 1957).

2. Sometimes when the plastids break down the characteristic inclusions are released, disintegrating into a fibrillar material, which no longer can be reliably distinguished from the well known fibrillar component of the sieve tube slime.

3. It is suggested, that the so-called slime bodies, often described in sieve tubes of other angiosperm plants, in *Tetragonia* are modified plastids.

Literatur

- BUVAT, R.: Observations sur les infrastructures du cytoplasme au cours de la différenciation des cellules criblées de „*Cucurbita pepo*“ L. C. R. Acad. Sci. (Paris) **250**, 1528—1530 (1960).
- CURRIER, H. B., K. ESAU and V. J. CHEADLE: Plasmolytic studies of phloem. Amer. J. Bot. **42**, 68—81 (1955).
- DULOY, M., F. V. MERCER and N. RATHGEBER: Studies in translocation. II. Submicroscopic anatomy of the phloem. Aust. J. biol. Sci. **14**, 506—518 (1961).
- ENGLEMAN, E. M.: Fine structure of the proteinaceous substance in sieve tubes. Planta (Berl.) **59**, 420—426 (1963).
- ESAU, K.: Ontogeny of phloem in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Amer. J. Bot. **21**, 632—644 (1934).
- A study of some sieve tube inclusions. Amer. J. Bot. **34**, 224—233 (1947).
- Plant anatomy. Sec. Print. New York and London: John Wiley & Sons 1958.
- , and V. S. CHEADLE: An evaluation of studies on ultrastructure of sieve plates. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **47**, 1716—1726 (1961).
- ESCHRICH, W.: Beziehungen zwischen dem Auftreten von Callose und der Feinstruktur des primären Phloems bei *Cucurbita ficifolia*. Planta (Berl.) **59**, 243—261 (1963).
- FREY-WYSSLING, A., F. RUCH u. X. BERGER: Monotrope Plastiden-Metamorphose. Protoplasma (Wien) **45**, 97—114 (1956).
- , u. E. KREUTZER: Die submikroskopische Entwicklung der Chromoplasten in den Blüten von *Ranunculus repens* L. Planta (Berl.) **51**, 104—114 (1958a).
- The submicroscopic development of chromoplasts in the fruit of *Capsicum annum* L. J. Ultrastruct. Res. **1**, 397—411 (1958).

- HOHL, H.-R.: Über die submikroskopische Struktur normaler und hyperplastischer Gewebe von *Datura stramonium* L. I. Normalgewebe. Ber. schweiz. bot. Ges. **70**, 395—439 (1960).
- KAY, D.: Techniques for electron microscopy. Oxford: Blackwell 1961.
- KOLLMANN, R.: Untersuchungen über das Protoplasma der Siebröhren von *Passiflora coerulea*. I. Planta (Berl.) **54**, 611—640 (1960a).
- Untersuchungen über das Protoplasma der Siebröhren von *Passiflora coerulea*. II. Planta (Berl.) **55**, 67—107 (1960b).
- MCGIVERN, M. J.: Mitochondria and plastids in sieve-tube cells. Amer. J. Bot. **44**, 37—48 (1957).
- MEHTA, A. S., and D. C. SPANNER: The fine structure of the sieve tubes of the petiole of *Nymphoides peltatum* (GMEL.) O. KUNZE. Ann. Botany, N. S. **26**, 291—299 (1962).
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. **17**, 208—212 (1963).
- SCHNEPF, E.: (In Vorbereitung), Protoplasma (Wien) (1964).
- STEFFEN, K., u. F. WALTER: Die Chromoplasten von *Solanum capsicastrum* L. und ihre Genese. Planta (Berl.) **50**, 640—670 (1958).
- WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E.: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. Naturwissenschaften **44**, 287—288 (1957).
- ZIEGLER, H.: Untersuchungen über die Feinstruktur des Phloems. I. Die Siebplatten bei *Heracleum mantegazzianum* SOMM. et LEV. Planta (Berl.) **55**, 1—12 (1960).

Dr. HEINZ FALK,
Botanisches Institut der Universität,
69 Heidelberg, Hofmeisterweg 4