©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 14	Fasc. 3—4	217—221	16. XII. 1972

Die Feinstruktur der Zellkerneinschlüsse von *Campanula moesiaca, C. persicifolia* und *C. trachelium*

Von

Irmtraud Thaler *) & Erna Gailhofer-Dengg **)

Aus dem Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen an der Universität und dem Zentrum für Elektronenmikroskopie, Graz

Mit 5 Abbildungen

Einleitung

Proteinkristalle sind in Zellkernen der Gattung *Campanula* sehr verbreitet. Vogl 1866 hat zum ersten Mal spindelartige Einschlüsse in den Zellkernen des Wurzelparenchyms von *Campanula trachelium* beobachtet, ohne ihre Natur zu erkennen. Schenk 1884 fand in den Kernen der Haarzellen von *Campanula medium* ähnliche Gebilde und bezeichnet sie als Proteinkristalle. Zimmermann 1893 und andere Autoren beschreiben Eiweißeinschlüsse in Kernen weiterer Arten dieser Gattung (Lit. Thaler 1966). Bis jetzt sind 22 verschiedene *Campanula*-Arten untersucht, die alle entweder spindel-, nadelförmige oder oktaedrische Einschlüsse zeigen. In den Kernen von *Campanula trachelium* (Zimmermann 1893) und *C. punctata* (Reiter 1956a) kommt neben einer gebogenen Spindel und dem Nukleolus noch ein runder oder oktaederartiger Körper vor. Nachdem der Feinbau dieser Einschlüsse noch nicht elektronenmikroskopisch untersucht ist, war es von Interesse festzustellen, ob diese die gleiche Struktur aufweisen wie die bisher untersuchten Kern-Eiweißkristalle mit Reservestoffcharakter.

Dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung sei für die Unterstützung dieser Arbeit bestens gedankt.

Material und Methode

Die verwendeten Pflanzen *C. moesiaca* Vel., *C. persicifolia* L. und *C. trachelium* L. stammen vom Freiland und vom Alpinum des Botanischen Gartens der Universität Graz.

*) Univ.-Prof. Dr. Irmtraud Thaler, Schubertstraße 51, A-8010 Graz.
**) Dr. Erna Gailhofer-Dengg, Steyrergasse 17, A-8010 Graz.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Flächenschnitte von Trag-, Kelchblatt- und Blütenstielen wurden 2 Stunden mit Glutaraldehyd (SABATINI & al. 1963) fixiert, 2 Stunden in Leitungswasser gewässert, 2 Stunden mit Osmiumtetroxid nachfixiert (PALADE 1952) und nach Alkoholentwässerung über Propylenoxid in Epon (LUFT 1961) eingebettet. Die Ultradünnschnitte wurden mit Uranylacetat (WRISCHER 1967) und Bleicitrat (REYNOLDS 1963) nachkontrastiert und im SIEMENS-Elmiskop IA und PHILIPS EM 200 untersucht.

Eigene Beobachtungen

Campanula moesiaca besitzt in den Kernen der Fruchtknotenepidermis ebenso wie *C. trachelium* und *C. punctata* neben der Eiweißspindel noch einen kugeligen Körper. Beide Einschlüsse geben die Eiweißreaktion.

Eine Doppelbrechung konnte beim Rundkörper nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Im Lichtmikroskop zeigen die Spindeln von *C. moesiaca* ähnlich den Cytoplasma- und Kernspindeln von *Zygocactus truncatus* eine Fibrillenstruktur (KÜSTER 1934, MILIČIĆ & PLAVŠIĆ 1956). In Ultradünnschnitten sieht man, daß beide Einschlüsse in der Kerngrundsubstanz ohne begrenzende Membran eingebettet sind (Abb. 1). Der auffallend große rundliche Körper, der in Abb. 1 nur angeschnitten ist, hat einen elliptischen Querschnitt mit Achsenlängen von 6,5 μm und 7,7 μm. Er ist nur schwach konstrastiert, zeigt keine gerichtete Struktur und nimmt den größten Teil des Kerninneren ein. Nach einigen Bildern (vgl. Abb. 1) scheint er aus einem regellosen Gewirr kurzer Fäden zu bestehen. Die Spindel und der Nukleolus liegen exzentrisch. Das meiste Chromatin liegt an der Peripherie des Kernes; manche Chromozentren liegen der Kernmembran eng an. Die Spindeln sind homogen gebaut und zeigen keinerlei Einschlüsse und Vakuolen wie die Cytoplasmaspindeln von *Zygocactus*. Sie sind 1-1,3 μm breit; ihre Länge ist nicht genau bestimmbar, weil sie meist nicht vollständig getroffen werden. Die Fibrillen sind in verschiedenen Winkeln zur Spindellängsachse orientiert, wodurch sich im Längsschnitt eine wellenförmige Struktur ergibt. Genau quergetroffene Fibrillen sind verhältnismäßig selten und meist nur in einem Bereich der Spindel anzutreffen. Sie sind punktförmig und kontrastreich, schräg angeschnittene sind kontrastärmer. Ihre Dicke beträgt sowohl im Quer- wie im Längsschnitt ca. 100 Å, zwischen den Fäden ist ein Abstand von ca. 70 Å. An mehreren Aufnahmen ist deutlich zu erkennen, daß die Spindel einerseits eng dem Nucleolus anliegt, auf der anderen Seite innig dem Kugelkörper, ja sogar aus diesem hervorzugehen scheint, wie die in der Übergangszone zunehmende Ordnung der Fibrillen vermuten läßt.

Campanula trachelium: Die Kerne sind auffallend gelappt, in tiefen Buchten liegen Sphärosomen, Golgi-Vesikel und Mitochondrien, die dadurch den Eindruck membranumgrenzter Kerneinschlüsse erwecken.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

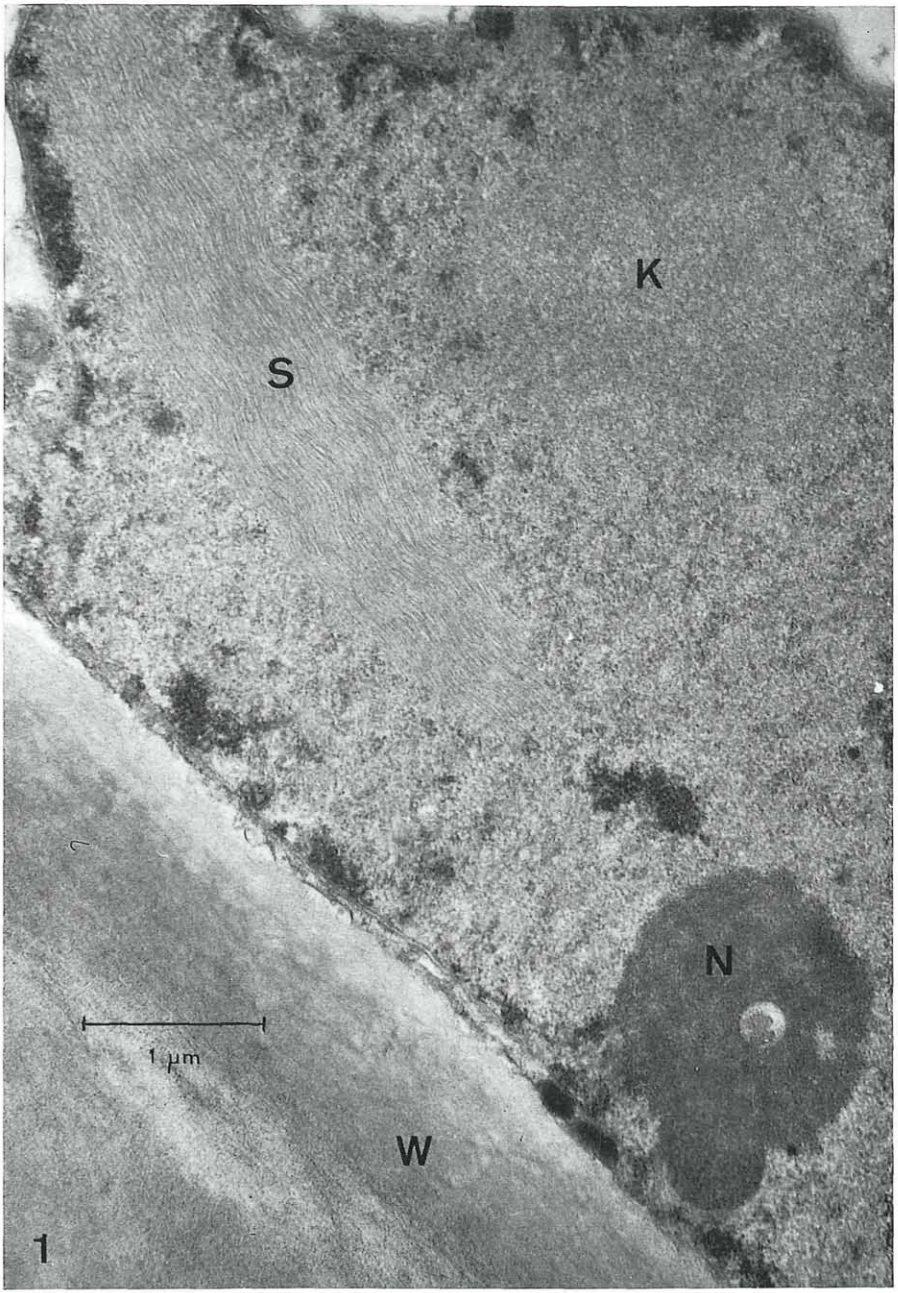


Abb. 1. *Campanula moesiaca*: Tragblattepidermis. Ausschnitt des Zellkernes mit Nucleolus und zwei Einschlußkörpern, einer Spindel im Längsschnitt und einer amorphen Eiweißkugel. K = kugeliger Eiweißkörper angeschnitten, S = Eiweißspindel, N = Nucleolus, W = Wand. Vergr. 24.000:1.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

© Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

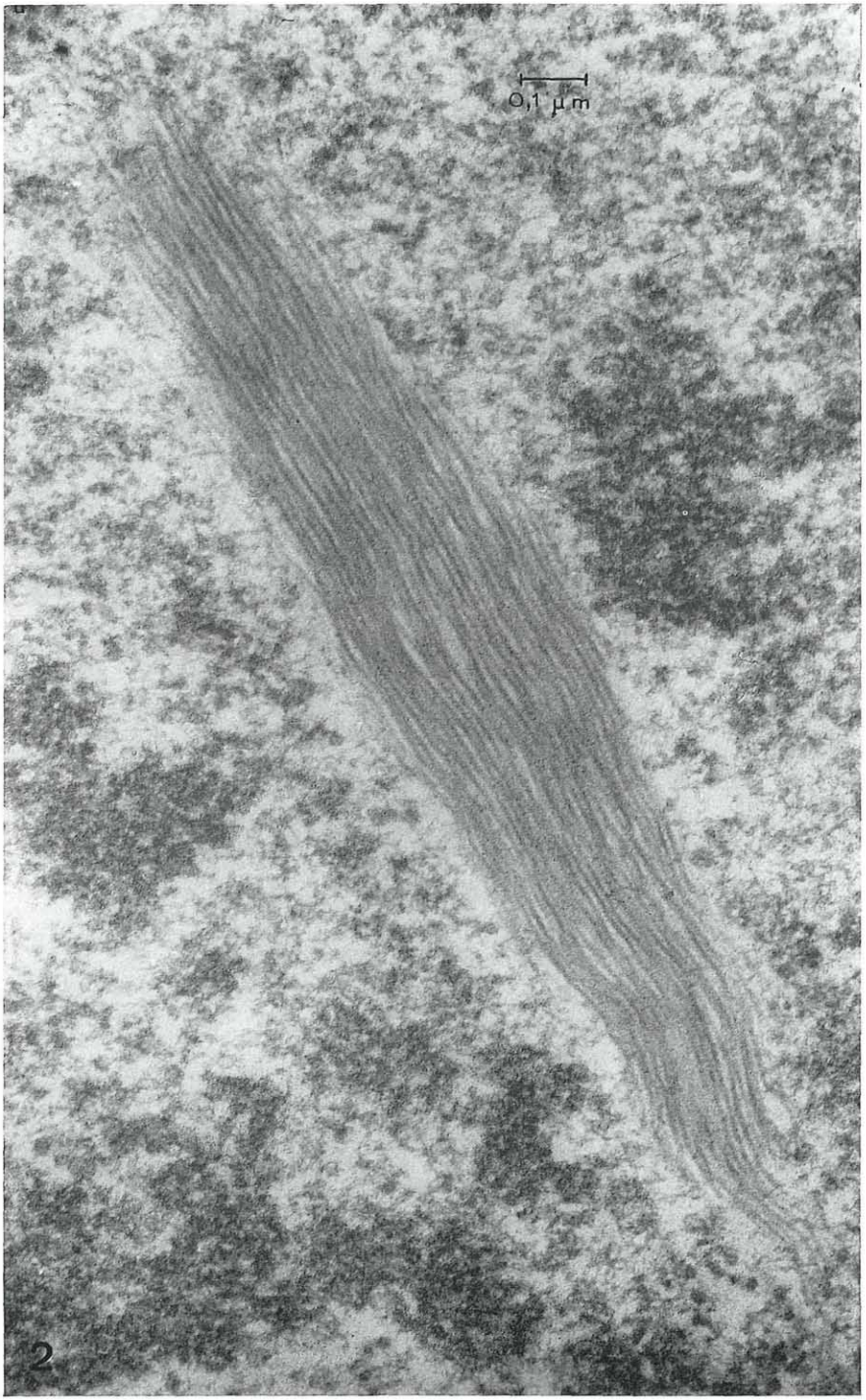


Abb. 2. *Campanula trachelium*: Blütenstielepidermis. Kernausschnitt, Längsschnitt durch eine Eiweißspindel mit wellenförmig verlaufenden Fibrillen. Vergr. 83.200:1.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Als Eiweißeinschlüsse wurden in den Ultradünnschnitten nur Spindeln getroffen, weil der kugelige Körper in der Stielepidermis selten auftritt. Die Spindeln, die ungefähr 0,7 μm breit sind — ihre Länge ist wieder schwer feststellbar, etwa 6—9 μm —, bestehen ebenfalls aus wellenförmig verlaufenden Fibrillen (Abb. 2). Diese überschneiden sich oft im spitzen Winkel, am Ende einer Spindel sind nur wenige Fäden zu sehen und auch an den Seiten ragen öfters einzelne Fäden in die Kernsubstanz hinein. In manchen Kernen sind die Spindeln auffallend stark gebogen, oft sogar geknickt (Abb. 3). Nach einer Richtungsänderung der Fibrillen wird ihr Verlauf unregelmäßig, zum Teil erscheinen sie auch quergeschnitten. Durch das Wachstum der sehr großen Einschlüsse wird die Kerngestalt verändert und die Membran oft deformiert. In Abb. 4 sind mehrere Fibrillen der Randzone der Spindel quergetroffen, die Dicke der Fibrillen beträgt hier 100—110 A.

Campanula persicifolia: Die Kerne liegen alle der Epidermis-Innenwand an und zeigen als Einschluß eine langgestreckte Eiweißspindel, die wie die vorhergehenden aus Fibrillen aufgebaut ist. Sie ist etwa 3—5 μm lang und etwa 1,2 μm breit. Die Fibrillen sind jedoch nicht so stark wellenförmig wie die der vorher beschriebenen Arten (Abb. 5). Der Durchmesser der Fäden beträgt im Querschnitt gemessen etwa 90 Å, der Abstand zwischen den Fibrillen durchschnittlich 40 Å (Abb. 5 rechts). Die Fäden liegen offenbar in dichter Packung als bei *C. moesiaca*. Eine ausgesprochene hexagonale Packung der Fibrillen konnte bei keiner *Campanula*-Art an Querschnitten festgestellt werden. Im Cytoplasma fallen wiederum die zahlreichen Golgi-Vesikel, Mitochondrien und Ribosomen auf.

In keiner der drei *Campanula*-Arten waren im Cytoplasma Spindeln oder einzelne Fäden zu bemerken.

Besprechung

In den letzten Jahren wurden viele Kerneinschlüsse, die schon im Lichtmikroskop beobachtet wurden, auf ihre Ultrastruktur hin untersucht. Kristalle mit Reservestoffcharakter zeigen oft Lamellenstrukturen, wie z. B. die von *Pinguicula bakeriana*, *Lathraea clandestina* (Schnepf 1960, 1964), die von *Melampyrum nemorosum* (Amelunxen & Giele 1968) und *Penstemon barbatus* (Carniel 1970). Die Dicke der Lamellen beträgt 65 bzw. 70 Å. Von Wergin, Gruber & Newcomb 1970 wurden weitere Kernkristalle von 13 verschiedenen Pflanzen auf ihre Ultrastruktur untersucht. Die Einschlüsse können wie im Cytoplasma kristallin oder parakristallin und amorph sein. Für folgende Pflanzen geben die Autoren fibrilläre Einschlüsse an: *Pinus nigra* Arnold (Nuzellus), *Antirrhinum majus* L. (Mesophyll), *Glycine max* L. (Phloemparenchym), *Medicago sativa* L. (Wurzel), *Mirabilis jalapa* L. (Blatt) und *Phaseolus vulgaris* L. (Blatt und Wurzel). Nach den elektronenmikroskopischen Aufnahmen zu schließen, kann man die Spindeln der drei *Campanula*-Arten am ehesten mit den Kernein-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

schlüssen von *Antirrhinum majus* vergleichen. Die Dicke dieser Fibrillen beträgt wie die von *C. moesiaca* und *C. trachelium* 110 Å. Allerdings wird von den Spindeln von *Antirrhinum* kein Querschnitt beschrieben. Eine räumliche Beziehung der Kernspindeln zum Nucleolus wird bei beiden Gattungen beobachtet.

In den Kernen der Mesophyllzellen von *Antirrhinum* kommen auch amorphe Einschlüsse vor, die mit ribosomenähnlichen Partikeln vermischt sind. Kugelige Eiweißkörper, die zu Oktaedern auskristallisieren können, wurden in letzter Zeit von SPETA 1970 in zwei Gesneriaceen beobachtet. Auch in den Zellkernen einiger Scrophulariaceen werden zweierlei Eiweißkörper von SPETA & GREILHUBER 1970 angegeben.

Die gebogene Spindel von *C. trachelium* zeigt an einigen Stellen keine parallele Anordnung der Fibrillen (Abb. 3), es könnte also sein, daß die Kristallisation noch nicht beendet ist oder, was eher anzunehmen ist, daß sich die Spindel aufzulösen beginnt. Es ist bekannt, daß auch Viren Nuclearеinschlüsse injizieren können (SMITH 1958, THALER 1966). WERGIN, GRUBER & NEWCOMB 1970 kommen zu dem Schluß, daß in den meisten Fällen das Vorkommen der Nuclеareinschlüsse nicht der Gegenwart von Viren zuzuschreiben sei. Allerdings zwingt sich bei den Einschlüssen von *Campanula* ein Vergleich mit den Virusspindeln von *Zygocactus* auf, wie bereits REITER 1956b bemerkt hat. Sie zeigen im Lichtmikroskop ein ähnlich starkes Auffasern wie die Virusspindeln im Cytoplasma von *Zygocactus truncatus* und die Zellkernspindeln, die von MILIČIĆ & PLAVŠIĆ durch Überimpfen virushaltigen Gewebesaftes von *Opuntia brasiliensis* in *Zygocactus* entstanden sind. Das „fibrilläre" Aussehen im Lichtmikroskop könnte auch hier auf eine Oberflächenfurchung zurückzuführen sein (AMELUNXEN & THALER 1967).

Gegen die Virusnatur der fibrillären Einschlüsse von *Campanula* spricht ihr regelmäßiges Auftreten in allen Kernen der Epidermis und in allen untersuchten Pflanzen. Überimpfungsversuche und Enzymuntersuchungen sind noch im Gange.

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß die drei untersuchten *Campanula*-Arten zwei verschiedenen Sektionen der Gattung angehören. Inwieweit das Auftreten des amorphen Eiweißeinschlusses systematisch ausgewertet werden kann, kann erst an Hand eines größeren Materials entschieden werden.

Zusammenfassung

Die Eiweißspindeln in den Kernen von *C. moesiaca* VEL., *C. persicifolia* L. und *C. trachelium* L. sind homogen aus Fibrillen aufgebaut. Im Querschnitt sind sie punktförmig und haben eine Dicke von 90 Å (*C. persicifolia*) und 100 Å (*C. moesiaca* und *C. trachelium*). Der kugelige Einschluß in den Kernen von *C. moesiaca* ähnelt manchen Viruseinschlüssen, z. B. denen von *Zygocactus truncatus*. Das regelmäßige Auftreten in den genannten *Campanula*-Arten spricht gegen ihre Virusnatur.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Schriften

Amelunxen F. & Thaler I. 1967. Die Feinstruktur der Eiweißspindeln von *Zygocactus truncatus*. — Z. Pflanzenphysiol. 57: 269—279.

— & Giele T. 1968. Die Struktur der Eiweißkristalle in den Zellkernen von *Melampyrum nemorosum* L. — Z. Pflanzenphysiol. 58: 457—460.

Carniel K. 1970. Über die Proteinkristalle in den Zellkernen von *Penstemon barbatus*. — Österr. bot. Z. 118: 162—170.

Küster E. 1934. Anisotrope Fibrillenbündel in Pflanzenzellen. — Ber. dt. bot. Ges. 52: 564—573.

Luft J. H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. — J. biophys. biochem. Cytol. 9: 409—414.

Miličić D. & Plavšić B. 1956. Eiweißkristalloide in Kakteen-Virusträgern. — Protoplasma 46: 547—555.

Palade G. E. 1952. A study of fixation for electron microscopy. — J. exp. Med. New York 95: 285.

Reiter L. 1956a. Einschlüsse im Zellkern von *Campanula*. — Protoplasma 45: 507—509.

— 1956b. Studien über Viruseinschlußkörper und Eiweißkristalle in Pflanzenzellen. — Diss. Graz.

Reynolds E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. — J. Cell Biol. 17: 208—212.

Sabatini D. D., Bensch K. & Barrnett R. J. 1963. Cytochemistry and electron microscopy. — J. Cell Biol. 17: 19—58.

Schenk H. J. 1884. Untersuchungen über die Bildung centrifugaler Wandverdickungen. — Inaug.-Diss. Bonn.

Schnepf E. 1960. Kernstrukturen bei *Pinguicula*. — Ber. dt. bot. Ges. 73: 243—245.

— 1964. Über die Eiweißkristalloide von *Lathraea*. — Z. Naturf. 19b: 344—345.

Smith K. M. 1958. Virus inclusions in plant cells. — Protoplasmatologia IV, 4a, 1—16. Wien-New York.

Speta F. 1970. Proteinkristalle in Zellkernen einiger Gesneriaceen. — Mitt. bot. Arbeitsgem. oberösterr. Landesmus. Linz 2: 15—18.

— & Greilhuber J. 1970. Über das gleichzeitige Vorkommen von zweierlei Eiweißkörpern in den Zellkernen von *Pseudolysimachion spicatum* und einigen anderen Scorphulariaceen. — Österr. bot. Z. 118: 1—16.

Thaler I. 1966. Eiweißkristalle in Pflanzenzellen. — Protoplasmatologia II, B2b8: 1—87. Wien-New York.

Vogl A. 1866. Beiträge zur Kenntnis der Milchsaftorgane der Pflanzen. — Jb. wiss. Bot. 5: 31—71.

Wergin W. P., Gruber P. J. & Newcomb H. 1970. Fine structural investigation of nuclear inclusions in plants. — Ultrastructure Res. 30: 533—557.

Wrischer M. 1967. Kristalloide im Plastidenstroma. — Planta 75: 309—318.

Zimmermann A. 1893. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. 1. — Tübingen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1972

Band/Volume: 14_3_4

Autor(en)/Author(s): Thaler Irmtraud

Artikel/Article: Die Feinstruktur der Zelleinschlüsse von Campanula moesiaca und C. trachelium. 217-221