

# PHYTON

## ANNALES REI BOTANICAE

VOL. 17. FASC. 3—4

PAG. 179—367

18. VIII. 1976

Phyton (Austria)	Vol. 17	Fasc. 3—4	179—186	18. 8. 1976
------------------	---------	-----------	---------	-------------

### Eiweißkristalle *in vitro* kultivierter Protokorme von *Cymbidium*

Von

Manfred GAILHOFER<sup>1)</sup>

Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen der Universität Graz

Mit 15 Abbildungen (4 Tafeln)

Eingelangt am 20. Oktober 1975

#### Zusammenfassung

In den degenerierenden Zellen der *in vitro* kultivierten Protokorme einer *Cymbidium*-Hybride treten Kristalle innerhalb einer ribosomenbesetzten Membran auf. Eine direkte Verbindung zwischen dieser und dem rauhen ER könnte nicht eindeutig festgestellt werden. Die Kristalle sind aus Fibrillen aufgebaut und werden durch Trypsin oder Pepsin unvollständig abgebaut. Daraus wird geschlossen, daß sie hauptsächlich aus Protein bestehen. Diese Einschlüsse wurden in allen untersuchten Kulturen beobachtet (BAP-Licht-, BAP-Dunkel- und Kontrollkultur). Sie sind in der BAP-Dunkelkultur am häufigsten und werden als Produkt eines degenerierenden Eiweißstoffwechsels angesehen.

In allen untersuchten Kulturen wurden stark verformte Zellkerne beobachtet, welche Cytoplasmaanteile und Organellen umschließen. Die Nukleolen sind häufig segregiert, ausschließlich in der BAP-Dunkelkultur wurden auch ringförmige Nukleolen beobachtet.

<sup>1)</sup> Dr. M. GAILHOFER, Schubertstraße 51, A-8010 Graz (Austria).

### Summary

In the degenerating cells of protocorms of a *Cymbidium* hybrid cultivated in vitro there appear crystals surrounded by a membrane with attached ribosomes. There does not exist any immediate connection with the rough ER. The crystals are formed by fibrils. Trypsin or pepsin causes an incomplete decomposition of the crystals. Therefore they seem to be essentially composed of protein. Such inclusions could be observed in all cultures investigated (grown in the dark with and without BAP and controls). They most frequently occur in cultures grown in the dark with BAP and are believed to be a product of degenerative protein metabolism. — In all cultures investigated there appear strongly deformed nuclei surrounding parts of cytoplasma and organells. Nucleoles are frequently segregated, only in cultures grown in the dark with BAP there can be found ring-shaped nucleoles, too.

### Einleitung

In *Nicotiana*-Zellen, die *in vitro* kultiviert wurden, treten kristallenthaltende Körper auf (MATSUSHIMA, WADA & TAKEUCHI 1969). Diese kommen sowohl in normalen Medium gezogenen Kulturen vor, als auch in solchen, denen zusätzliche Wachstumssubstanzen (0,01 ppm IAA und 1 ppm Kinetin) geboten wurden. ROSS, THORPE & COSTERTON 1973 finden solche von einer Membran umgebene Proteinkristalle hauptsächlich im basalen Teil der *Nicotiana*-Callus-Kultur und halten sie für Speichermaterial. Auch in den Zellen der Callus-Kultur von *Acer pseudoplatanus* werden kristallenthaltende Körper von ROBERTS & NORTHCOTE 1970, CARCELLER *et al.* 1971 angegeben. Im Laufe von elektronenmikroskopischen Untersuchungen an *in vitro* kultivierten Protokormen von *Cymbidium* unter dem Einfluß von 6-Benzylaminopurin (GAILHOFER & THALER 1975) fiel ebenfalls das Vorkommen von Kristallen auf, die von einer einfachen Membran umgeben sind. Dariüber soll nun im folgenden berichtet werden.

Frau Dr. Waltraud RÜCKER (Pharmakognostisches Institut der Universität Wien) danke ich herzlich für die Überlassung der von ihr im Reaktorzentrums Seibersdorf gezüchteten *Cymbidium*-Kulturen. Die vorliegende Arbeit konnte im Rahmen eines vom Österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung geförderten Projektes (Projekt Prof. Dr. I. THALER) durchgeführt werden, wofür auch an dieser Stelle der verbindlichste Dank ausgesprochen wird.

### Material und Methode

Protokorme der Orchidee *Cymbidium* (Hybride "in memoriam Cyril Strauß") wurde auf Agar-Medium nach MURASHIGE & SKOOG 1962 ohne Wuchsstoff kultiviert (vgl. RÜCKER 1974). Zu gut wachsenden Kulturen wurden 50 ppm 6-Benzylaminopurin (BAP) hinzugegeben. BAP-Licht-

kulturen waren einem Licht-Dunkel-Rhythmus von je 12 Stunden ausgesetzt. BAP-Dunkelkulturen wurden nach 2monatiger Kulturbedingung wie bei BAP-Licht im Dunkeln gehalten. Die Kulturdauer betrug 4 Monate. Der Kontrollkultur wurde kein BAP hinzugefügt.

Ca. 1 mm<sup>3</sup> große Stücke der Protokorme wurden 1,5 Stunden mit 4% phosphatgepufferten Glutardialdehyd (pH 7,1) fixiert (SABATINI *et al.* 1963), in Puffer ausgewaschen und anschließend mit Veronal gepufferten Osmium-tetroxid 1% nachfixiert (PALADE 1952). Es wurde mit Alkohol entwässert und über Propylenoxid in Epon eingebettet (LUFT 1961). Die mit dem Reichert OmU2 hergestellten Ultradiënschnitte wurden mit Uranylacetat nach WRISCHER 1967 und mit Bleicitrat nach REYNOLDS 1963 kontrastiert und im Siemens Elmiskop IA untersucht.

Für den enzymatischen Abbau (vgl. MONNERON & BERNHARD 1966, GIESE 1971) wurden die Ultradiënschnitte in Kunststoffringen auf folgenden Lösungen (37° C) flottiert:

Auf Perjodsäure 10% oder auf Wasserstoffperoxid 10% 20 Minuten, anschließend auf

Pepsin (FLUKA A. G. 3 × cryst.): 0,2% mit 80 mg L (+) Cysteinumchlorid je 5 ml Lösung, pH 1,8 bis 24 Stunden, oder Trypsin auf (MERCK, krist.) 0,3%, gelöst in 0,1 M Thioglycolsäure, die vorher mit 1 N Natronlauge auf pH 7,5 gebracht wurde, bis zu 16 Stunden.

Zur Kontrolle wurden Schnitte nach Einwirken von Perjodsäure oder Wasserstoffperoxid in den jeweiligen Lösungsmitteln ohne Enzymzusatz inkubiert. Zwischen den einzelnen Arbeitsgängen wurden die Schnittbänder gründlich gewaschen und vor dem Kontrastieren mit Uranylacetat und Bleicitrat auf befilmte Netzchen aufgefangen.

### Ergebnisse

In meristemoiden Zellen, aber auch in Parenchymzellen der Protokorme von *Cymbidium* findet man 0,3—1 µm große Kristalle. Sie sind häufig, kommen aber nicht in allen Zellen vor, in der Nähe des Leitbündels sind sie regelmäßig anzutreffen. Sie liegen meist im Cytoplasma und sind von einer einfachen enganliegenden, häufig mit Ribosomen besetzten Membran umgeben (Abb. 1). In jungen wie auch in degenerierenden Zellen liegt rauhes ER den Kristallen genähert, eine Verbindung mit der Kristallmembran erscheint unterbrochen (Abb. 5). Membranreste und zahlreiche Ribosomen liegen zwischen dem offenen ER und der offenen Kristallmembran.

In den Parenchymzellen des Leptoms ist das parallel liegende rauhe ER auffallend; zwischen diesem findet man oft eine ungefähr 1 µm große Membrankugel, die deutlich mit dem ER in Verbindung steht (Abb. 3). Membranknäuel sind auch in anderen Zellen häufig, allerdings ist bei ihnen kein Zusammenhang mit dem ER zu erkennen. Mit fortschreitender Dege-

neration liegen diese mit Ribosomen besetzten Membranreste als kontrastreiches Material dem Kristall an (Abb. 4). Manchmal wurden membranumgebene Kristalle in unmittelbarer Nachbarschaft eines Microbody ange troffen, ohne daß eine Verbindung zwischen den Membranen festzustellen war (Abb. 6). Die Microbodies, die im *Cymbidium* in den verschiedenen Kulturen auftreten, haben einen Durchmesser von 1  $\mu\text{m}$  und sind von einer glatten Membran umgeben. Sie zeigen im Innern ein flockiges Aussehen mit mehreren elektronen hellen Stellen.

Die beschriebenen Kristalleinschlüsse wurden in allen untersuchten Kulturen (BAP-Licht-, BAP-Dunkel- und Kontrollkultur) beobachtet, nicht jedoch in besonders degenerierten Zellen der Kontrollkultur, deren Plastiden viel Phytoferritin enthielten. Am häufigsten treten sie in der BAP-Dunkelkultur auf. Hier kommen sie in Parenchymzellen und in jungen Siebröhren auch innerhalb der Kernhülle, im perinuklearen Raum, vor (Abb. 11). Die äußere Kernmembran ist in diesem Bereich mit Ribosomen besetzt, Vesikel des rauhen ER sind der an manchen Stellen unterbrochenen Membran genähert. Dort, wo ein Kristall liegt, ist relativ wenig Chromatin an der inneren Kernmembran angesammelt.

Die Kristalle sind im Schnitt rhombisch, trapezförmig, ellipsoid und vielfach unregelmäßig gestaltet (vgl. 1, 2, 4, 5, 6, 8). Es sind folgende Strukturen zu erkennen: Parallele, 100–140 Å voneinander entfernte Linien (Abb. 1) von hohem Kontrast, seltener findet man Linien, die gekreuzt zu ersteren verlaufen, ein wabenartiges Muster, und schließlich quadratisch angeordnete Punkte (Abb. 2), wobei der Abstand von Mittelpunkt zu Mittelpunkt 120 Å beträgt. Der Kristallaufbau tritt nach Oxydation der Schnitte mit Wasserstoffperoxid und Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat deutlicher hervor, als in Schnitten, die ohne Peroxidbehandlung kontrastiert wurden. Abb. 8 zeigt einen so behandelten Kristall; das wabenartige Muster ist aus Punkten aufgebaut, die sich in 4 bis 5 Untereinheiten auflösen (Abb. 9).

Die Proteolyse der Kristalle wurde nach vorangegangener Peroxid- oder Perjodsäurebehandlung mit Trypsin und Pepsin versucht. Ein vollständiger Abbau konnte mit keinem der beiden Enzyme erreicht werden. Nach 14-stündiger Trypsineinwirkung sind viele Kristalle ungleichmäßig verdaut; in den dunkleren Zonen ist noch eine granuläre Substanz sichtbar (Abb. 7). Nach 14-stündiger Inkubation mit Pepsin erscheint anstelle des Kristalles ebenfalls ein ungleichmäßig aufgeheller Bezirk, in dem neben Granula auch Fibrillen erkennbar sind (Abb. 10). Neben den unvollständig aufgelösten Kristallen konnte man am selben Schnitt, sowohl nach Trypsin- als auch nach Pepsinbehandlung Kristalle finden, deren Struktur noch erkennbar war.

Es sei hier noch auf einige auffallende Strukturen im Kern hingewiesen. Die Zellkerne aller *Cymbidium*-Kulturen sind zum Teil stark ge-

lappt. Es kommt häufig zu Invaginationen der beiden Kernmembranen wodurch Cytoplasma mit einigen Organellen eingeschlossen wird (Abb. 13). Werden diese Membranen quergetroffen, scheinen sie in der Kernmatrix zu liegen.

In vielen Kernen der verschiedenen Kulturen wurde eine Anlagerung des Heterochromatins an die Kernmembran beobachtet (Abb. 12). Die Nukleolen der Kontrollkerne junger Zellen sind häufig homogen (Abb. 12). In manchen bereits degenerierenden Zellen sind schalenförmig segregierte Nukleolen zu beobachten, die keine helleren Zonen zeigen und deren fibrillärer Bereich extra Granula besitzt. Die Nukleolen der BAP-Licht- und BAP-Dunkelkultur sind ebenfalls häufig segregiert. Sie zeigen im Gegensatz zur Kontrolle ein bis zwei hellere Zonen im fibrillären Teil (Abb. 14). Die durch mehrere helle Flecken aufgelockerte Kappe besteht aus 150 Å großen Granula. Vom Nukleolus führt öfters eine aus kontrastreichen Granula bestehende Verbindung zur inneren Kernmembran. Nur in der BAP-Dunkelkultur wurden Kerne mit ringförmigen, aus Granula, oft auch aus Fibrillen bestehende Nukleolen gesehen. Der zentrale Teil enthält chromatinähnliche Fibrillen. Eine Brückenbildung zwischen zwei Nukleolen wurde ebenfalls in dieser Kultur beobachtet (Abb. 14). Die Brücke besteht aus Granula, die aber nicht so dicht angeordnet sind wie im Nukleolus. Es ist möglich, daß Segmente von Chromatin, welche einen Nukleolusorganisator darstellen, mit dem Nukleolus in Verbindung stehen.

### Diskussion

Die von einer einfachen Membran umgebenen Kristalle von *Cymbidium* unterscheiden sich deutlich von den Microbodies mit kristallinem Herz, den Peroxisomen (vgl. Sammelreferat FREDERICK, GRUBER & NEWCOMB 1975). Die häufig mit Ribosomen besetzte Membran schließt durchwegs eng dem Kristall an, eine Matrix um den Kristall, wie dies bei den Peroxisomen der Fall ist, wurde nie beobachtet. Die Kristalle der Peroxisomen sind häufig rhombisch und auch ihre Feinstruktur, soweit sie bisher untersucht wurde (bei *Nicotiana*, *Cichorium intybus* und *Taraxacum officinale*) unterscheidet sich von der der *Cymbidium*-Kristalle (MATSUSHIMA 1971, PERRIN 1972). Sie bestehen aus 0,5 µm langen Stäbchen, die im Querschnitt sechs kreisförmig und zwei zentral angeordnete Untereinheiten erkennen lassen. In dünnen Schnitten lösen sie mit Pepsin auf.

Der enzymatische Abbau der kristallinen Strukturen von *Cymbidium* gelang weder mit Pepsin noch mit Trypsin vollständig. Die Proteolyse mit Trypsin führte zu einer granulären Restsubstanz; nach der Behandlung der Kristalle mit Pepsin traten neben Granula auch Fibrillen auf. Es ist anzunehmen, daß die Kristalle in *Cymbidium* überwiegend aus Eiweiß bestehen. Die nicht verdauten Granula könnten Proteine sein, die durch Vernetzung mit dem Fixiermittel für beide Enzyme nicht angreifbar sind; auch eine

Behinderung der Proteolyse durch das Einbettungsmittel wäre denkbar (vgl. WEINTRAUB, RAGETLI & SCHROEDER 1965). Die nach dem Abbau mit Pepsin verbleibenden Fibrillen sind Eiweiß, denn sie treten nach Abbau mit Trypsin nicht auf. Sie stellen offenbar ein Bauelement des *Cymbidium*-Kristalles dar. Die kontrastreichen Bezirke des Eiweißkristalles mit wabenartigem Muster (Abb. 9) lösen sich bei höherer Vergrößerung in 4 bis 5 elektronendichte Einheiten auf. Diese Einheiten könnten kontrastreiche Stellen von Fibrillen oder Orte höherer Fibrillendichte sein.

Eiweißkristalle, die engumschlossen in Zisternen des langgestreckten ERs auftreten, beschreiben VAN STEVENINCK & VAN STEVENINCK 1971 in Zellen dünner Gewebescheiben von *Beta vulgaris*. Wenige dieser Einschlüsse waren schon nach zwei- bis dreitägigem Wässern in entsalztem Wasser ausgebildet, ihre Zahl nahm mit zunehmendem Alter der Gewebe scheiben zu. Durch Puromycin oder Cycloheximid wurde die Bildung von Eiweißkristallen unterbunden. Gaben von Actinomycin D beschleunigten hingegen die Entwicklung der Einschlüsse. Ihr Auftreten ist demnach nicht an die Neusynthese von m-RNS gebunden, vielmehr genügt ein stabiler Komplex von rauhem ER.

In *Cymbidium* ist der Anschluß der kristallumgebenden Membran an das benachbarte rauhe ER nicht eindeutig zu erkennen, jedoch kann angenommen werden, daß die Einschlüsse innerhalb des rauen ERs entstehen. Sie scheinen in *Cymbidium* das Produkt des Eiweißstoffwechsels degenerierender Zellen zu sein und entstehen daher in der BAP-Dunkelkultur am zahlreichsten. Sie sind ein Hinweis dafür, daß die Fähigkeit des rauen ER zur Eiweißsynthese zu diesem Zeitpunkt noch besteht.

Es ist bekannt, daß Cytokinine das Altern von Zellen verzögern, indem sie die Proteinsynthese stimulieren (vgl. SKOOG & ARMSTRONG 1970). Die Ausbildung von Eiweißkristallen in *Cymbidium* wird durch BAP nicht beeinflußt: Einschlüsse werden sowohl in der BAP-Lichtkultur als auch in der Kontrolle beobachtet und sie dürften sich auch in der Anzahl kaum unterscheiden.

Die Zellkerne aller untersuchten Kulturen waren oft in typischer Weise verändert. Sie zeigten manchmal gelappte Umrisse, wie sie nach Virusinfektion und in alternden tierischen Zellen beschrieben werden (vgl. DAVID 1970). Die Chromozentren der Zellkerne im Parenchym von *Cymbidium*-Protokormen liegen nach NAGL 1973 mehr im zentralen Teil. Gaben von Hydroxyharnstoff zum Kulturmedium verursachten eine Anlagerung des Heterochromatins an die Kernmembran. Diese Lage des Heterochromatins war in den Intermitosekernen der hier untersuchten Kulturen öfters zu beobachten.

In allen *Cymbidium*-Kulturen fiel Nukleolar-Segregation auf, ausschließlich in der BAP-Dunkelkultur wurden auch ringförmige Nukleolen beobachtet. Segregation der Nukleolarsubstanz kann während der natür-

lichen Zellentwicklung auftreten und wird allgemein mit einer Hemmung oder Abnahme der RNS-Synthese im Nukleolus in Zusammenhang gebracht (vgl. SMETANA & BUSCH 1974).

Ringförmige Nukleolen wurden in den Rindenzellen von Tabak in der Abtrennungszone der Blütenstiele von JENSEN & VALDOVINOS 1968 beobachtet und entwickelten sich 3 Tage nach der Anthese. Sie werden auch in einigen Typen von tierischen Zellen beschrieben. Ihr Auftreten zeigt die Abnahme der RNS-Synthese an (ROSE, SETTERSFIELD & FOWKE 1972).

Ob in *Cymbidium*-Kulturen die Bildung der Eiweißkristalle durch das rauhe ER mit dem Auftreten segregierter oder ringförmiger Nukleolen, also mit der Abnahme der RNS-Synthese im Nukleolus, verknüpft ist, sollen weitere Untersuchungen klären.

#### Schrifttum

- CARCELLER M., DAVEY M. R., FOWLER M. W. & STREET H. E. 1971. The influence of sucrose, 2,4-D, and kinetin on the growth, fine structure, and lignin content of cultured sycamore cells. — *Protoplasma* 73: 367—385.
- DAVID H. 1970. Zellschädigung und Dysfunktion. — *Protoplasmatologia* X/1. Wien—New York.
- FREDERICK S. E., Gruber P. J. & NEWCOMB E. H. 1975. Plant microbodies. — *Protoplasma* 84: 1—29.
- GAILHOFER M. & THALER I. 1975. Einfluß von 6-Benzylaminopurin auf die Feinstruktur von Mitochondrien und Plastiden in vitro kultivierter Protokorme von *Cymbidium*. — *Phyton* 17: 159—165.
- GLIESE H. 1971. Strukturanalyse biologischer Totalpräparate mit Hilfe lytischer Enzyme. — In: SCHIMMEL G. & VOGELL W. Methodensammlung der Elektronenmikroskopie. 3.2 1.4. Stuttgart.
- JENSEN T. E. & VALDOVINOS J. G. 1968. Fine structure of abscission zones. III. Cytoplasmic changes in abscising pedicels of tobacco and tomato flowers. — *Planta* 83: 303—313.
- LUFT J. H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9: 409—414.
- MATSUSHIMA H. 1971. The microbody with a crystalloid core in tobacco cultured cell clone XD-6S. II. The fine structure of the crystalloid. — *J. Electron Microsc.* 20: 177—181.
- WADA M. & TAKEUCHI M. 1969. The crystal containing body in tobacco cultured cells. — *Bot. Mag. Tokyo* 82: 417—423.
- MONNERON A. & BERNHARD W. 1966. Action de certaines enzymes sur des tissus inclus en epon. — *J. Microscopie* 5: 697—713.
- MURASHIGE T. & SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. — *Physiol. Plantarum* 15: 473—497.
- NAGL W. 1973. Electron microscopic study on the hydroxyurea-induced attachment of heterochromatin to the nuclear membrane. — *Cytobiologie* 8: 140—145.
- PALADE G. E. 1952. A study of fixation for electron microscopy. — *J. exp. Med.* 95: 285—298.

- PERRIN A. 1972. Organisation et nature de l'inclusion cristalline des organites du type "crystal-containing body" rencontrés dans les cellules de l'épithème des hydathodes de *Cichorium intybus* L. et *Taraxacum officinale* WEBER. — *Protoplasma* 74: 213—225.
- 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.
- ROBERTS K. & NORTHCOTE D. H. 1970. The structure of sycamore callus cells during division in a partially synchronized suspension culture. — *J. Cell. Sci.* 6: 299—321.
- ROSE R. J., SETTERSFIELD G. & FOWKE L. C. 1972. Activation of nuclei in tuber slices and function of nucleolar vacuoles. — *Exper. Cell Res.* 71: 1—16.
- ROSS M. K., THORPE T. A. & COSTERTON J. W. 1973. Ultrastructural aspects of shoot initiation in tobacco callus cultures. — *Amer. J. Bot.* 60: 788—795.
- RÜCKER W. 1974. Einfluß von Cytokininen auf Wachstum und Differenzierung in vitro kultivierter Protokorme von *Cymbidium*. — *Z. Pflanzenphysiol.* 72: 338—351.
- SABATTINI D. D., BENSCH K. & BARRNETT R. J. 1963. Cytochemistry and electron microscopy. — *J. Cell Biol.* 17: 19—58.
- SKOOG F. & ARMSTRONG D. J. 1970. Cytokinins. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 21: 359—384.
- SMETANA K. & BUSCH H. 1974. The nucleolus and nucleolar DNA. — In: BUSCH H. *The cell nucleus*. 1. New York and London.
- VAN STEVENINCK M. E. & VAN STEVENINCK R. F. M. 1971. Effect of protein synthesis inhibitors on the formation of crystalloid inclusions in the endoplasmic reticulum of beetroot cells. — *Protoplasma* 73: 107—119.
- WEINTRAUB M., RAGETLI H. W. J. & SCHROEDER B. 1971. The protein composition of nuclear crystals in leaf cells. — *Amer. J. Bot.* 58: 182—190.
- WRISCHER M. 1967. Kristalloide im Plastidenstroma. — *Planta* 75: 309—318.

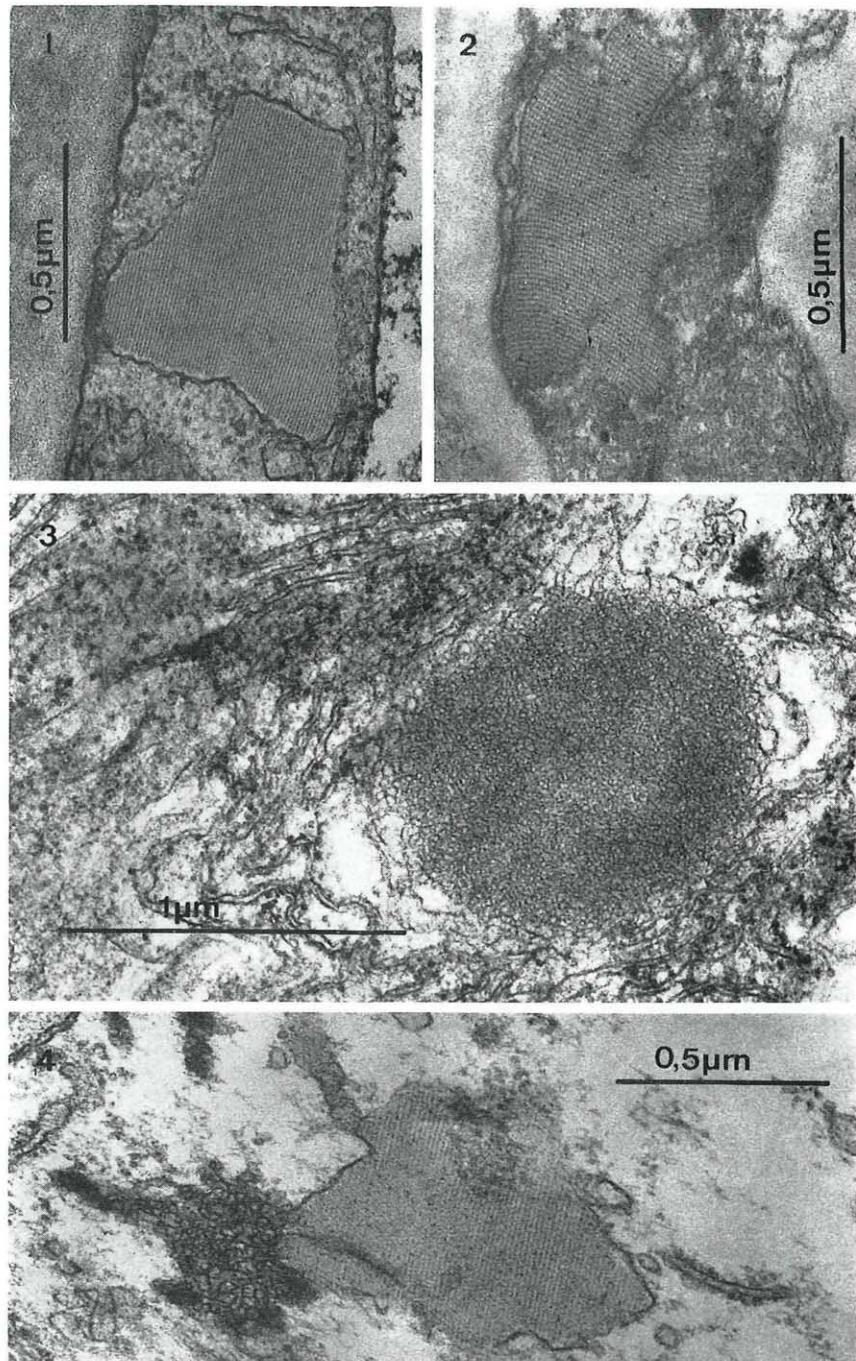


Abb. 1. BAP-Lichtkultur: Parenchymzelle, Eiweißkristall von einfacher ribosomenbesetzter Membran umgeben. x 55650.

Abb. 2. BAP-Dunkellkultur: Degenerierende Zelle mit zerklüftetem, von einer einfachen Membran umgebenem Eiweißkristall. x 60000.

Abb. 3. BAP-Dunkellkultur: Leptoparenchymzelle, zwischen parallelliegendem rauhem ER Membrankugel. x 47400.

Abb. 4. BAP-Dunkellkultur: Eiweißkristall teilweise von einfacher Membran umgeben, angelagert degeneriertes Membransystem. x 58500.



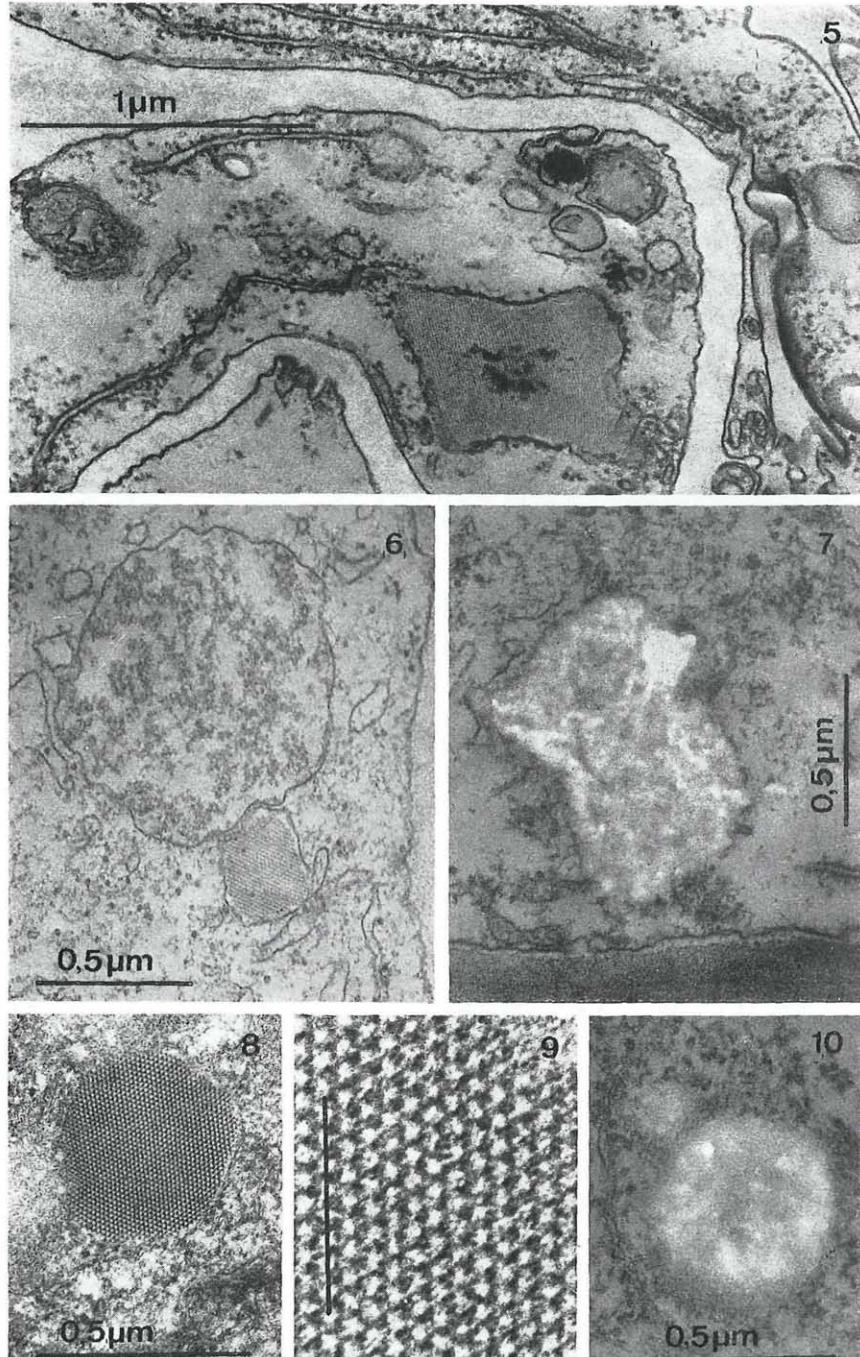


Abb. 5. BAP-Dunkelkultur: Eiweißkristall von einfacher Membran umgeben, rauhes ER benachbart. x 40200.

Abb. 6. BAP-Dunkelkultur: Hadromparenchymzelle, Microbody mit benachbartem membranumgebenem Eiweißkristall. x 43700.

Abb. 7. BAP-Dunkelkultur: Eiweißkristall abgebaut (Perjodsäure 20 min, Trypsin 14 h). x 42000.

Abb. 8. BAP-Dunkelkultur: Eiweißkristall ( $H_2O_2$  20 min). x 60900.

Abb. 9. Ausschnitt von Abb. 8, Eiweißkristall, Maßstab 0,1 μm. x 304000.

Abb. 10. BAP-Dunkelkultur: Eiweißkristall abgebaut (Perjodsäure 20 min, Pepsin 14 h). x 60000.



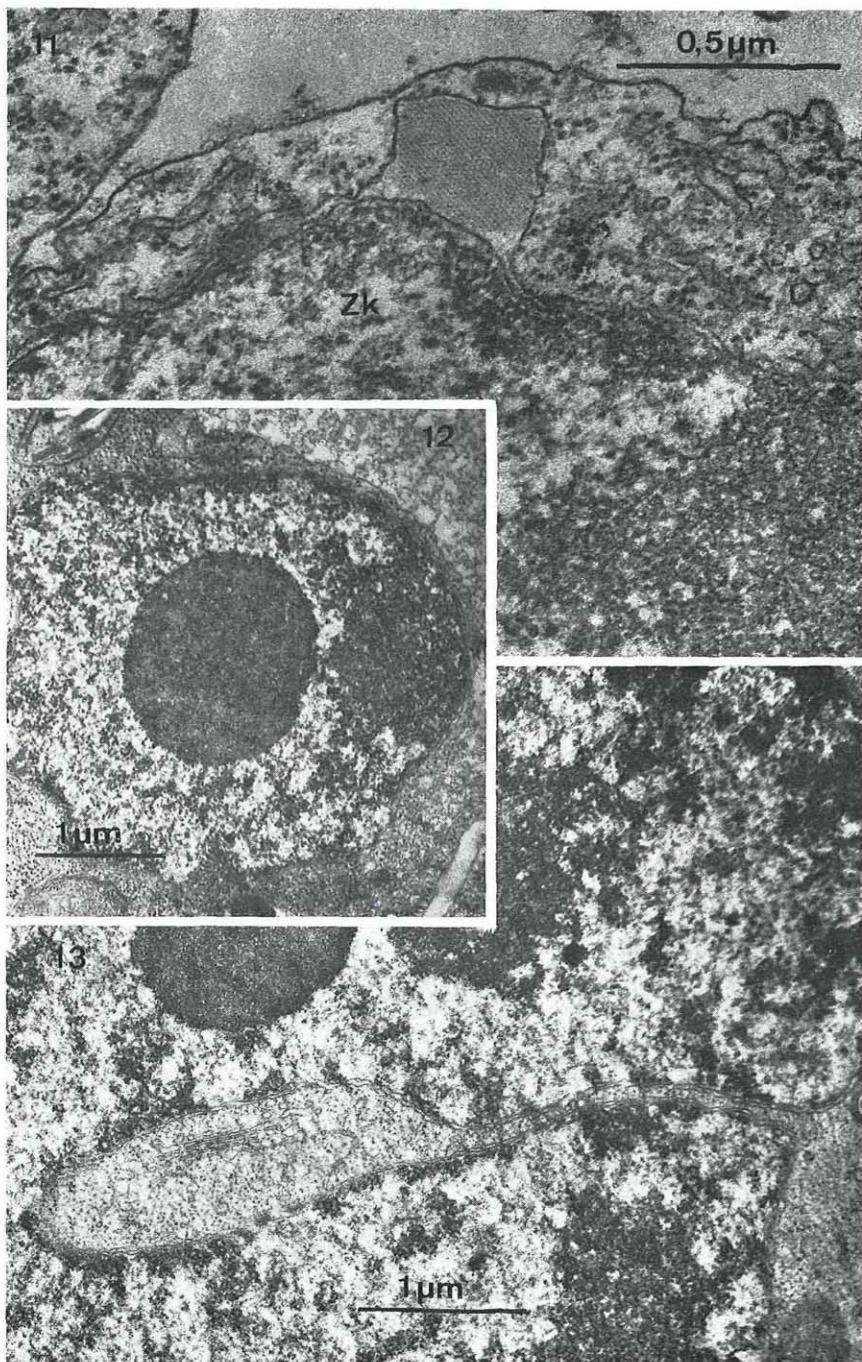


Abb. 11. BAP-Dunkelkultur: Parenchymzelle, Eiweißkristall im perinuklearem Raum. Zk = Zellkern. x 60800.

Abb. 12. Kontrollkultur: Teil des Zellkernes, Nukleolus, Chromatin. x 18000.

Abb. 13. Kontrollkultur: Teil des Zellkernes, Invagination, Dictyosom eingeschlossen. x 23400.



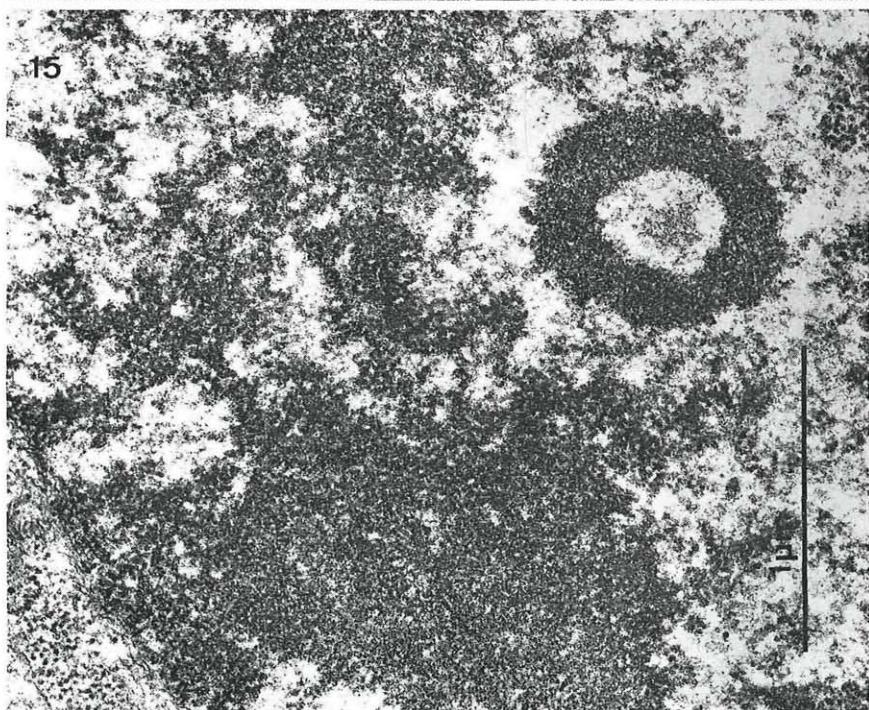
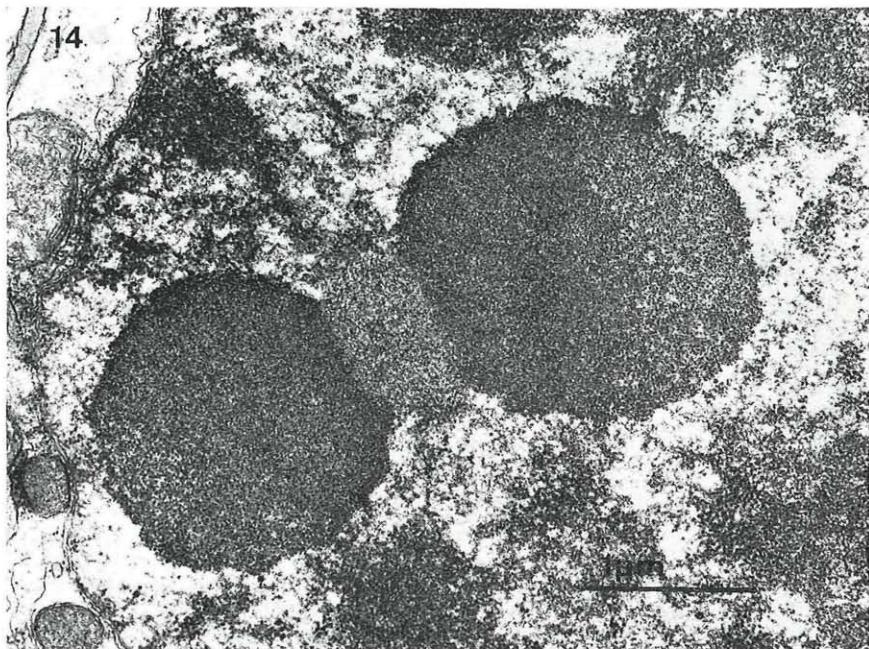


Abb. 14. BAP-Dunkelkultur: Teil des Zellkernes, 2 Nukleolen durch eine Brücke verbunden. x 23800.

Abb. 15. BAP-Dunkelkultur: Teil des Zellkernes, ringförmiger Nukleolus. x 42000.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1976

Band/Volume: [17\\_3\\_4](#)

Autor(en)/Author(s): Gailhofer Manfred Karl

Artikel/Article: [Eiweißkristalle in vitro kultivierter Protokormone von Cymbrium.](#)  
[179-186](#)