

Phyton (Austria)	Vol. 19	Fasc. 1—2	97—102	2. 11. 1978
------------------	---------	-----------	--------	-------------

„Stromazentrum“ in Leukoplasten der Epidermis von *Asphodelus microcarpus*

Von

Manfred GAILHOFER & Irmtraud THALER*)

Institut für Pflanzenphysiologie der Universität Graz

Mit 9 Abbildungen auf 5 Tafeln

Eingelangt am 28. Dezember 1977

“Stromacentre” in Leucoplasts of the Epidermis from *Asphodelus microcarpus*

Summary

Leucoplasts of the epidermis from *Asphodelus microcarpus* contain inclusion bodies similar to the stromacentre in chloroplasts from *Avena*, *Ocymum* and *Asplenium*. The spherulite consists of fibrils of about 3 nm in diameter which is lesser than that in *Avena* and *Ocymum* (8,5—9 nm) or *Asplenium* (17—18 nm). The “stromacentre” occurs in a plant which is infected by elongated virus particles of about 10 nm in diameter.

Crystals formed in the stroma of chloroplasts after treatment with 0.7 M mannitol consist of linear arrays or a lattic pattern of globular particles (about 5 nm \varnothing); they are probably aggregates of Fraction I protein.

Zusammenfassung

Es wird über einen Einschlußkörper in Leukoplasten von *Asphodelus microcarpus* berichtet, der den Stromazentren in Chloroplasten von *Avena*, *Ocymum* und *Asplenium* ähnlich ist. Er ist aus Fibrillen aufgebaut, deren Durchmesser mit 3 nm geringer ist als der von *Avena*, *Ocymum* (8,5—9,0 nm) und *Asplenium* (17—18 nm). Das „Stromazentrum“ tritt in einer viruskranken Pflanze auf. Die aggregierten, länglichen Viruspartikeln haben einen Durchmesser von ca. 10 nm.

*) Dr. M. GAILHOFER und Prof. Dr. I. THALER, Institut für Pflanzenphysiologie an der Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz (Austria).

Die Kristalle, die durch 0,7 M Mannit im Stroma der Chloroplasten entstehen, sind im Schnitt aus kontrastreichen Linien oder gitterförmig angeordneten globulären Partikeln (ca. 5 nm \varnothing) aufgebaut und wohl als Fraktion-1-Protein aufzufassen.

Einleitung

Das Stromazentrum wurde zuerst in den Chloroplasten von *Avena sativa* beschrieben. Es ist dies ein etwa 1 μm \varnothing großer, aus aggregierten Fibrillen aufgebauter Sphärolith, der in allen Entwicklungsstadien der Chloroplasten vorkommt (GUNNING 1965, GUNNING, STEER & COCHRANE 1968). Von STEER *et al.* 1968 wird es für möglich gehalten, daß es sich um Aggregate des Fraktion-1-Proteins handelt. Ähnliche regelmäßig auftretende Einschlüsse wurden von FABBRI 1975 in den Chloroplasten von *Asplenium trichomanes* und *A. viride* gefunden. Der Unterschied liegt in der verschiedenen Größe der Fibrillen. In den Chloroplasten von *Ocymum basilicum* ist das sogenannte Stromazentrum nur so lange zu beobachten, bis das Thylakoidsystem ganz entwickelt ist. Dagegen treten sie in den runden „peculiar“ Plastiden immer auf; diese besitzen nur wenige Thylakoide und kommen nur in einigen Zellen in der Nähe der Blattnerven vor (FAVALI & MEYER 1969); die Fibrillendicke stimmt mit der in *Avena*-Stromazentren überein. Von gelegentlichen Vorkommen ähnlicher Strukturen berichtet WRISCHER 1967 in den primären Blättern von *Phaseolus vulgaris*. Semikristalline Reihen von Fibrillen und Granula wurden auch nach Begasen der Blätter von *Phaseolus vulgaris* mit verschiedenen Substanzen (THOMSON, DUGGER & PALMER 1965, 1966), sowie nach Plasmolyse (vgl. WRISCHER 1973) beobachtet. MURAKAMI 1972 berichtet über ähnliche Einschlüsse in den Chloroplasten des Blattgewebes oder der isolierten Protoplasten von *Nicotiana*, wenn sie hypertonischen Lösungen ausgesetzt waren. Er vergleicht die Gitterstruktur dieser Einschlüsse mit der des isolierten Fraktion-1-Proteins und kommt zum Schluß, daß es sich um das gleiche Protein handelt.

Wir haben im Stroma der Leukoplasten von *Asphodelus microcarpus* eine dem Stromazentrum ähnliche Struktur gefunden, über die hier berichtet wird.

Material und Methode

Asphodelus microcarpus Viv. wurde auf der Insel Rab im Februar 1975 und 1976 gesammelt.

Etwa 1 mm² große Blattstücke wurden mit 1%igem phosphatgepufferten Glutardialdehyd (pH 7,1) vorfixiert, im Puffer gewaschen, 2 Stunden mit 1%igem Osmiumtetroxid in Veronal-Acetatpuffer nachfixiert, in Äthanol entwässert und über Propylenoxid in Epon eingebettet. Die Ultradünnschnitte wurden mit dem REICHERT OmU 2 hergestellt, mit

Uranylacetat und Bleicitrat (REYNOLDS 1963) kontrastiert und im *Siemens Elmiskop I A* untersucht. Weiters wurden etwa 2 cm² große Blattschnitte verschieden alter Blätter auf einer Lösung von 0,7 M Mannit im Tageslicht 40 Minuten flottiert (vgl. TAKEBE *et al.* 1973). Handschnitte davon wurden in 1%igem Glutardialdehyd in Phosphatpuffer, dem 0,7 M Mannit zugesetzt wurde, vorfixiert und wie die Kontrolle weiterbehandelt.

Ergebnisse

In den Epidermiszellen der Blattober- und -unterseite von *Asphodelus microcarpus* kommen etwa 2–4 µm große Leukoplasten vor. Sie enthalten in jungen Blättern zahlreiche Stärkekörner und Plastoglobuli, sowie eine membranumgebene, kontrastreiche Kugel. Im Stroma fallen ein, manchmal auch zwei kristalline Bereiche auf, die den Raum zwischen den Stärkekörnern erfüllen; sie liegen mehr oder weniger in der Mitte der Plastide. Treten sie im peripheren Stroma auf, so ist die Organelle stark ausgebeult. Die Leukoplasten älterer Blätter enthalten nur wenig Stärke, die kristalline Struktur erstreckt sich über große Bereiche des Stromas (Abb. 1) und tritt auch in den Leukoplasten des vor Licht geschützten Blattgrundes auf. Sie wurde aber nicht in allen untersuchten Pflanzen gefunden.

Das „Stromazentrum“ ist eine homogene Zone, die von keiner Membran umgeben ist und keine Ribosomen enthält. Es ist aus Fibrillenbündeln aufgebaut, die man im Schnitt meist als kreisförmig, parallel liegende, stark kontrastierte Linien um drei bis zwanzig verschieden große Ringe angeordnet findet (Abb. 1, 2). Der Abstand der einzelnen Kreise ist sehr variabel, er nimmt im allgemeinen von innen (7 nm) nach außen um das Doppelte zu (14 nm). Etwa 10 Reihen liegen oft geschlossen um das Zentrum, die darauffolgenden sind strahlenförmig durchbrochen und bilden Pakete, bestehend aus kontrastreichen gebogenen Linien. Sind diese schräg getroffen, so tritt ein merkwürdig wabenartiges Muster auf (Abb. 3). Der Durchmesser der globulären Untereinheiten der Fibrillen beträgt nur 3 nm. In den Chloroplasten der Schließzellen wurden Sphärolite nicht beobachtet.

Ganz selten wurden in unbehandelten, relativ alten Blättern kristalline Einschlüsse auch im Stroma der Chloroplasten des Mesophylls beobachtet (Abb. 4). Ihre Größe beträgt etwa 0,4 µm, sie sind aus mehr oder weniger parallelen Linien aufgebaut, deren Abstand von Mitte zu Mitte 10 nm und deren Dicke 5 nm beträgt.

Es ist bekannt, daß Proteine im Stroma entweder durch Wasserabgabe, z. B. durch Welken oder Plasmolyse, auskristallisieren, oder durch eine im Licht induzierte Proteinsynthese, wie das WRISCHER 1973 durch Füttern von Bohnenblättern mit hypotonischen Zuckerlösungen erreicht hat. Man kann also durch Welken oder Plasmolyse eine Kristallbildung erzielen

(GUNNING *et al.* 1968, WRISCHER 1970, MURAKAMI 1972). Da diese durch Zugabe von Chloramphenicol nicht verhindert wird, schließt WRISCHER 1973, daß es sich um ein bereits vorhandenes Protein handeln muß. Wir haben nun durch eine 0,7 M Mannitlösung eine Plasmolyse erreicht (vgl. TAKEBE *et al.* 1973), um festzustellen, ob in den Chloroplasten dadurch häufiger Kristalle auftreten und wie das Stromazentrum auf diese Behandlung reagiert. Die Chloroplasten junger und alter Blätter zeigten eine deutliche Veränderung. Es entstanden meist im peripheren Stromabereich rechteckige Kristalle, die der Plastide eine eckige Kontur verleihen. Der Kristall zeigt im Schnitt entweder parallele kontrastreiche Linien oder isodiametrische Partikeln, die gitterförmig angeordnet sind (Abb. 5). Die Kristallgestalt und die Größe der Partikeln stimmt mit den Einschlüssen überein, die verhältnismäßig selten in den Chloroplasten unbehandelter Blätter auftreten.

Eine der uns zur Verfügung stehenden Pflanzen zeigte kleine gelbe und bräunliche Flecken. Lichtmikroskopisch wurden in den Epidermis- und in den Schließzellen dicht neben dem Kern liegende X-Körper beobachtet. Diese enthielten manchmal kleine ungeordnete Nadeln oder auch hexagonale Kristalle. Im elektronenmikroskopischen Bild liegen neben dem Kern auffallende wirbelartige Strukturen, die den X-bodies entsprechen könnten. Man hat den Eindruck, als handle es sich um die gleiche Struktur wie in den Leukoplasten. Parallel liegende, mehr oder weniger gekrümmte, kontrastreiche Linien umgeben oft ein aus drei bis zehn Ringen bestehendes Zentrum (Abb. 6). Der mittlere Durchmesser eines Ringes beträgt 12–15 nm und entspricht dem durchschnittlichen Abstand zweier kontrastreicher Linien.

Es könnte sich daher wohl um kurze, gekrümmte, tubuläre Strukturen handeln, die im Schnitt teils längs, teils quer getroffen sind. Ein solches knäuelartiges Gebilde hat einen Durchmesser von etwa 230 nm und meist liegen mehrere dicht beisammen. Zwischen ihnen fallen polysomenreiche Plasmapartien auf. Das mit Ribosomen besetzte aufgetriebene ER enthält feine Fibrillen. Auch die vom ER oder von der Kernmembran abgeschnürten Microvesikeln enthalten von einem elektronendichten Punkt ausgehende Fibrillen. In diesem Viroplasma findet man ca. 10 nm breite, parallel liegende Fäden (Abb. 6). Außerdem fallen von einer einfachen Membran umgebene Organellen auf, die an Microbodies erinnern.

Die gleichen wirbelartigen Strukturen wie im Cytoplasma wurden auch im Zellkern beobachtet. Sie treten in einem ovalen bis runden Bereich auf, dem ein bis zwei Fibrillenbündel anliegen (Abb. 8). In diesen Kernen wurde kein Nucleolus gefunden, in Kernen mit Nucleolen hingegen scheinen die wirbelartigen Strukturen zu fehlen, wohl aber treten die Fibrillenbündel auf. Die Kernhülle war bei allen untersuchten Zellkernen intakt. Schließlich findet man Kerne mit deutlich hervortretenden wirbelartigen Struk-

turen, zahlreiche Fibrillen und Granula (Abb. 9). Das Chromatin findet sich nur mehr an der Kernmembran.

In Epidermiszellen, die kein Viroplasma mehr enthalten, findet man vom Tonoplasten eingeschlossen reihenartig angeordnete, verknäulte Virusaggregate (Abb. 7). Der Durchmesser der verlängerten Partikeln beträgt ca. 10 nm. Zwischen den einzelnen Aggregaten sind Reste des Cytoplasmas zu erkennen. Zellkern und Leukoplasten sind in diesen Zellen weitgehend desorganisiert.

Diskussion

Die „Stromazentren“ in den Leukoplasten von *Asphodelus microcarpus* wurden nur in einer viruskranken Pflanze gefunden. Es ist nicht auszuschließen, daß sie auch in gesunden Pflanzen vorkommen, in den drei uns zur Verfügung stehenden gesunden Exemplaren konnten wir sie allerdings nicht finden. GEROLA, BASSI & BETTO 1969 haben in schlecht entwickelten Chloroplasten viruskranker (Luzernen Mosaik Virus) Blätter von *Ocimum basilicum* ähnliche Einschlüsse beschrieben. Von FAVALI & MEYER 1969 wurden diese Stromazentren auch in gesunden Pflanzen beobachtet, allerdings nur in den runden Plastiden, die wenige Thylakoide ausbilden und in den Chloroplasten, solange das Thylakoidsystem noch nicht ganz entwickelt ist. Daher nehmen die Autoren an, daß eine Beziehung zwischen Entwicklung des Lamellensystems und Ausbildung des Stromazentrums besteht. Der Durchmesser der Fibrillen im „Stromazentrum“ von *Asphodelus* beträgt 3 nm und ist somit kleiner als der von *Avena*, *Ocimum* (8,5–9,0 nm) und *Asplenium* (17–18 nm). Die kristallinen Einschlüsse, die nur ganz selten im Stroma der Chloroplasten zu sehen waren, bestehen aus kontrastreichen Linien und gitterartig angeordneten Granula, deren Größe 5 nm beträgt. Solche Kristalle wurden durch Zusatz von 0,7 M Mannit in den Chloroplasten junger und älterer Blätter gebildet. Die Struktur ist mit der in den Chloroplasten von *Nicotiana* und in *Phaseolus* zu vergleichen, die ebenfalls durch Behandlung mit Mannit aufgetreten ist (TAKEBE *et al.* 1973, WRISCHER 1973). Es wird allgemein angenommen, daß es sich hier um die kristalline Form des Fraktion-1-Proteins handelt. Die Einschlüsse in den Leukoplasten und die in den Chloroplasten von *Asphodelus* scheinen verschiedener Natur zu sein, denn sie zeigen im Kristallmuster wenig Ähnlichkeit. Außerdem ist fraglich, ob Leukoplasten Carboxydismutase ausbilden.

Die wirbelartigen Strukturen des Cytoplasmas wurden nicht von Plastiden abgeschnürt, wie es bei *Phaseolus* von WRISCHER 1973 beschrieben wurde, denn sie kommen auch in den Schließzellen von *Asphodelus* vor, die in den Chloroplasten keine „Stromazentren“ besitzen. Der Cytoplasma-bereich, in dem diese Einschlüsse auftreten, wird für Viroplasma gehalten. Nur selten treten darin aggregierte Viruspartikeln auf (Abb. 6). Manche

Epidermiszellen waren erfüllt von knäuelartigen Virusaggregaten, ähnlich denen, die ESAU & HOEFERT 1971 in *Tetragonia* nach Infektion mit beet yellows virus beschrieben haben.

Im Zellkern finden sich neben den gleichen wirbelartigen Strukturen wie im Cytoplasma Partikeln mit einem Durchmesser von ca. 23 nm. Über ihre Natur kann derzeit nichts ausgesagt werden. ESAU & HOEFERT 1973 bezeichnen ähnliche Einschlüsse in den Kernen des Phloems von Zuckerrüben, die mit curly top virus infiziert worden waren, als „ringlike profile“. Diese Zellkerne enthielten Viruspartikeln, die zu den kleinsten isometrischen Pflanzenviren zählen.

Schrifttum

- ESAU K. & HOEFERT L. L. 1971. Cytology of beet yellows virus infection in *Tetragonia*. III. Conformations of virus in infected cells. — *Protoplasma* 73: 51—65.
- — 1973. Particles and associated inclusions in sugarbeet infected with the curly top virus. — *Virology* 56: 454—464.
- FABERI F. 1975. Occurrence of stromacentre in chloroplasts of *Asplenium trichomanes* L. — *Caryologia* 28: 539—548.
- FAVALI M. A. & MEYER E. M. 1969. Electron microscope investigations on the stromacentre. — *Giorn. Bot. Ital.* 103: 189—203.
- GEROLA F. M., BASSI M. & BETTO E. 1969. A submicroscopical study of leaves of alfalfa, basil, and tobacco experimentally infected with luzerne mosaic virus. — *Protoplasma* 67: 307—318.
- GUNNING B. E. S. 1965. The fine structure of chloroplast stroma following aldehyde osmium-tetroxide fixation. — *J. Cell Biol.* 24: 79—93.
- GUNNING B. E. S., STEER M. W. & COCHRANE M. P. 1968. Occurrence, molecular structure, and induced formation of the “stromacentre” in plastids. — *J. Cell. Sci.* 3: 445—456.
- MURAKAMI S. 1972. Structure of fraction I protein crystals formed *in vivo* and *in vitro* — an electron microscopic study (Abstr. in Jap.). — *Proc. 37th Ann. Meet. Bot. Soc. Japan* p. 93.
- STEER M. W., GUNNING B. E. S., GRAHAM T. A. & CARR D. J. 1968. Isolation, properties, and structure of Fraction I protein from *Avena sativa* L. — *Planta* 79: 254—267.
- TAKEBE I., OTSUKI Y., HONDA Y., NISHIO T. & MATSUI C. 1973. Fine structure of isolated mesophyll protoplasts of tobacco. — *Planta* 113: 21—27.
- THOMSON W. W., DUGGER W. M. Jr. & PALMER R. L. 1965. Effects of peroxyacetyl nitrate on ultrastructure of chloroplasts. — *Bot. Gaz.* 126: 66—72.
- — — 1966. Effects of ozone on the fine structure of the palisade parenchym cells of bean leaves. — *Canad. J. Bot.* 44: 1677—1682.
- WRISCHER M. 1973. Protein crystalloids in the stroma of bean plastids. — *Protoplasma* 77: 141—150.

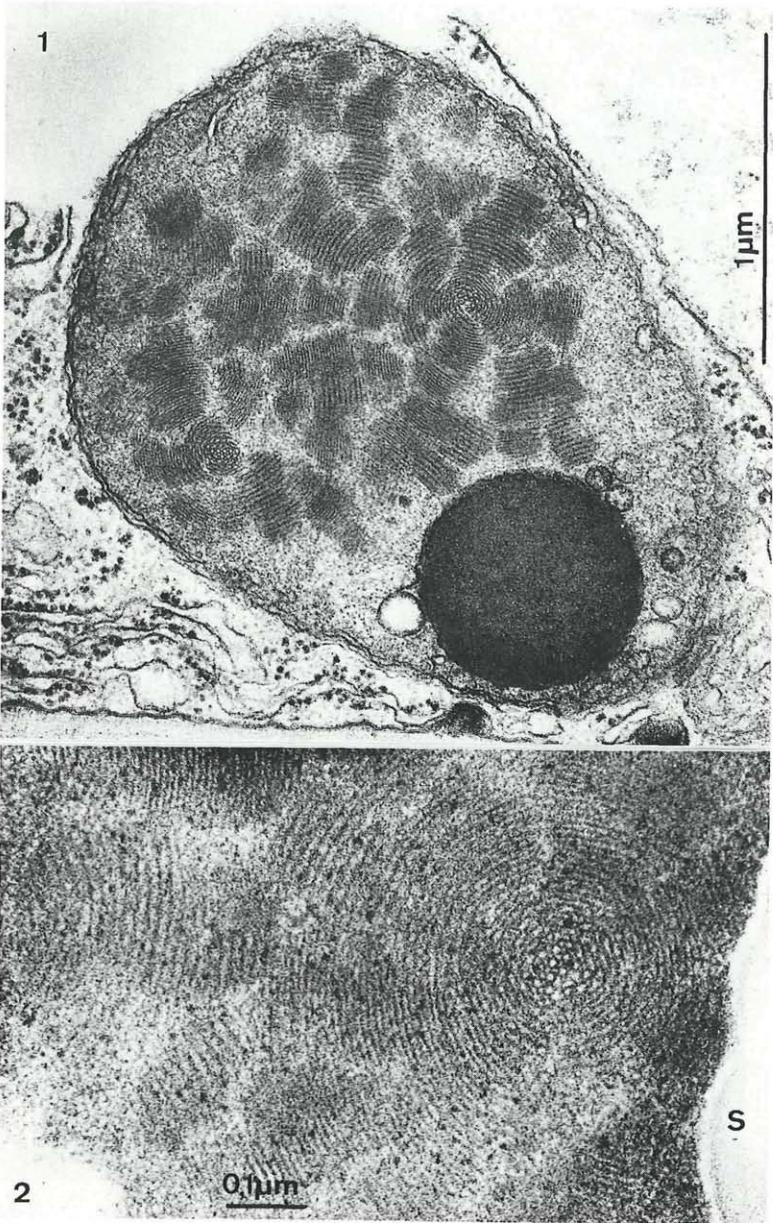


Abb. 1. Epidermiszelle eines älteren Blattes; Leukoplast mit „Stromazentrum“, membranumgebener Kugel und einigen Plastoglobuli. $\times 50.000$

Abb. 2. Leukoplast; Ausschnitt aus einem „Stromazentrum“. S = Stärke. $\times 120.000$

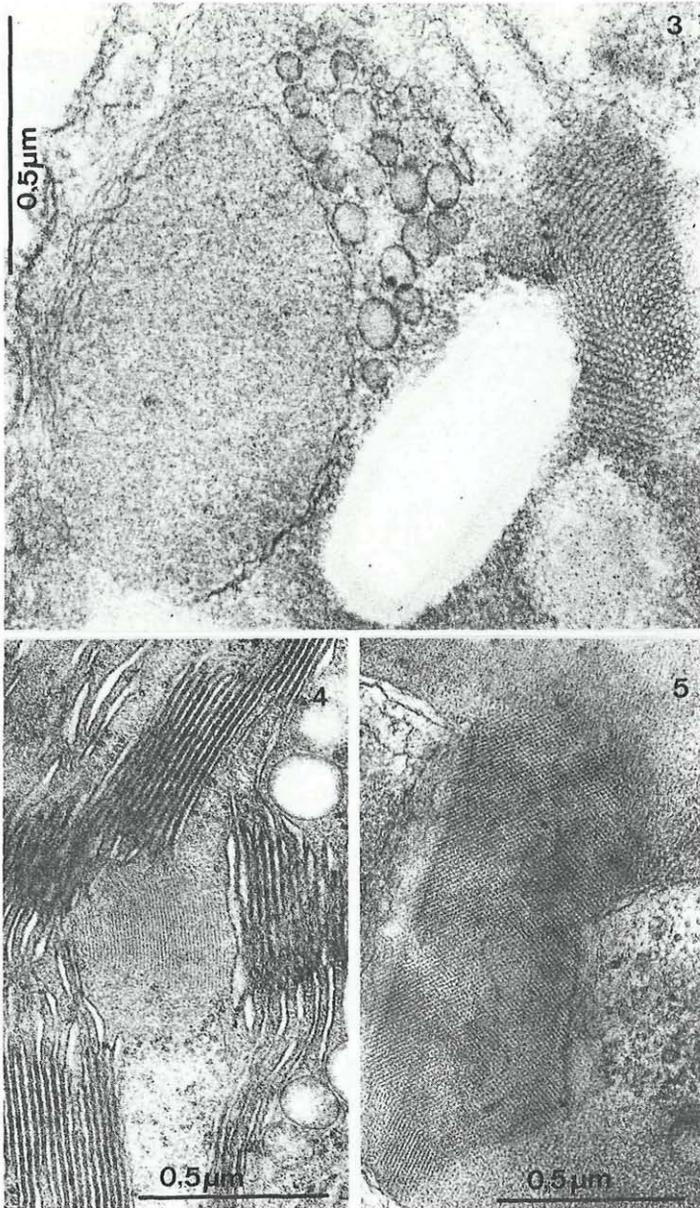


Abb. 3. Ausschnitt aus einem Leukoplast; membranumgebene Kugel, zahlreiche Plastoglobuli, Stärke, „Stromazentrum“. $\times 82.000$

Abb. 4. Ausschnitt aus einem Chloroplast; kristalliner Einschluß im Stroma. $\times 60.000$

Abb. 5. Ausschnitt aus einem Chloroplast; kristalliner Einschluß, entstanden nach Behandlung mit Mannit. $\times 60.000$

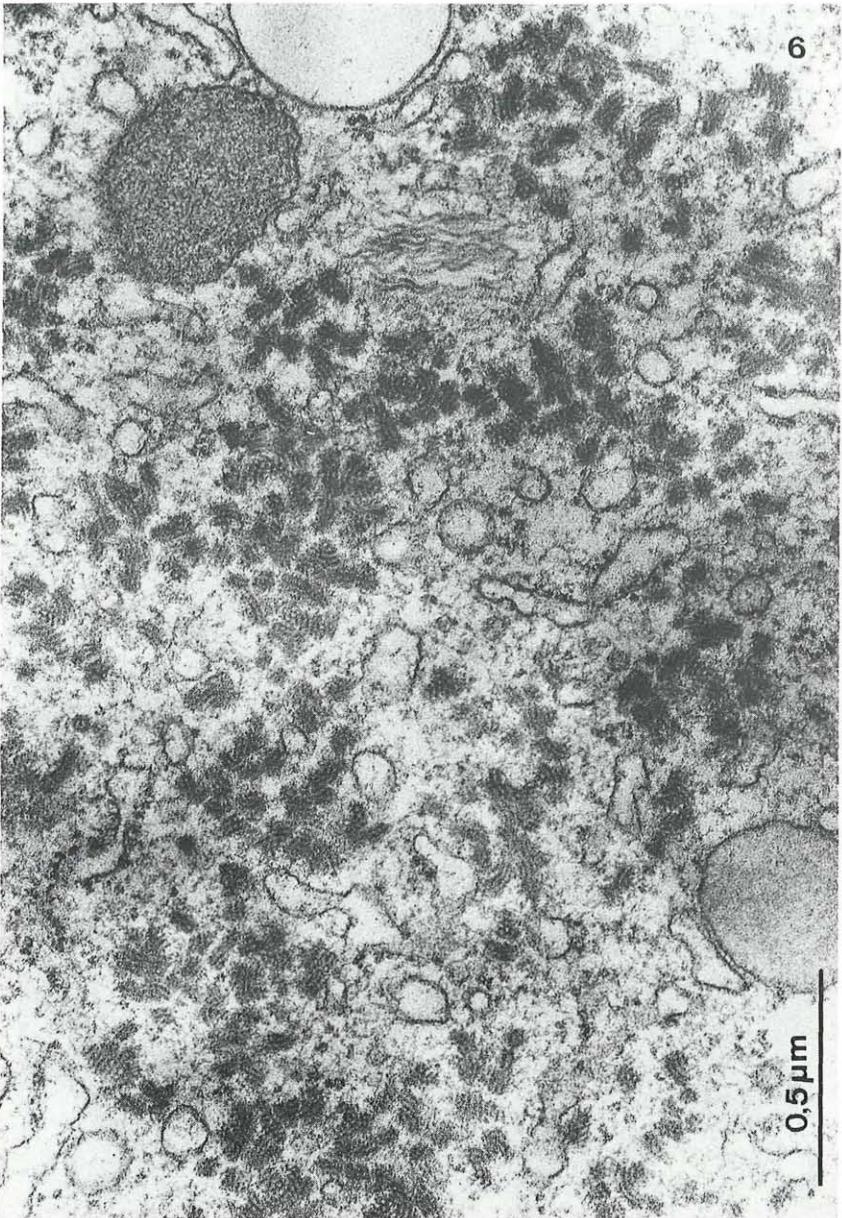


Abb. 6. Cytoplasmaausschnitt einer Epidermiszelle; wirbelartige Einschlüsse und gewellte Fibrillen, ER und Vesikeln mit fädigem Inhalt, Microbody-ähnlicher Körper. $\times 60.000$

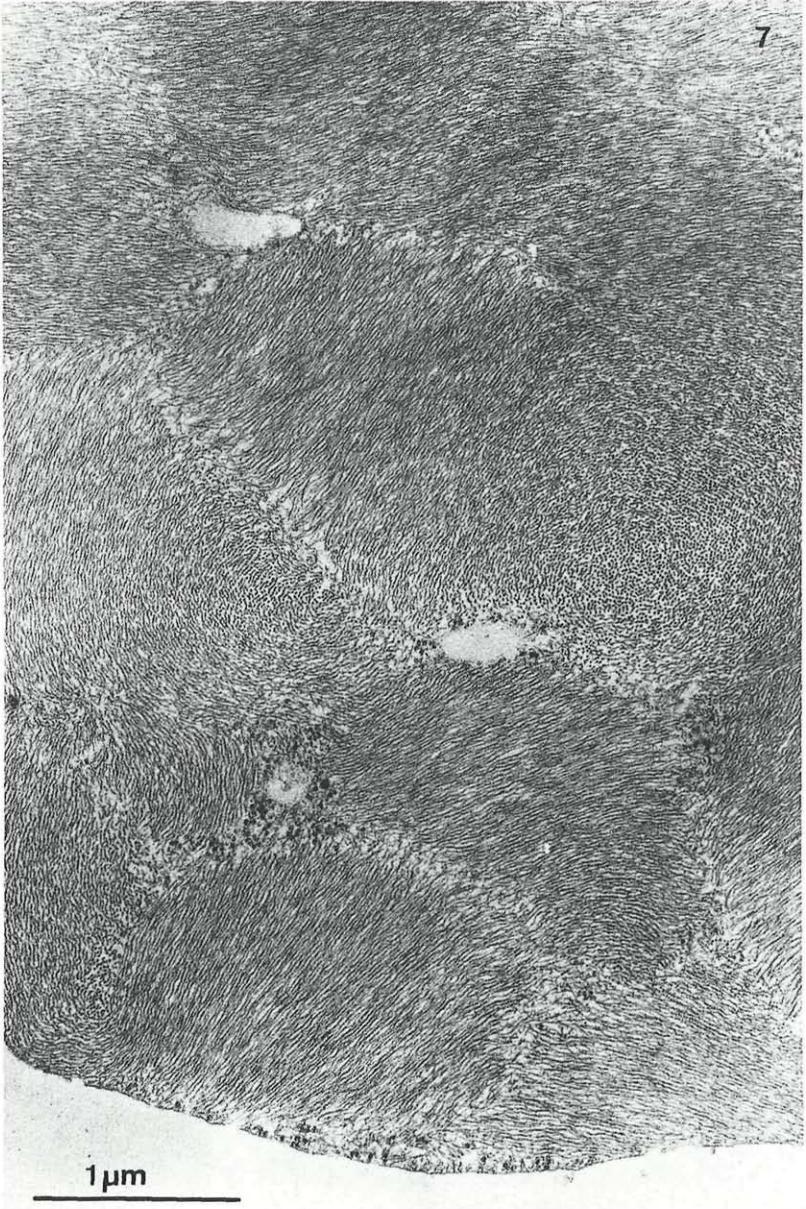


Abb. 7. Ausschnitt aus einer Epidermiszelle; knäuelartige Virusaggregate umgeben vom Tonoplasten. $\times 30.000$

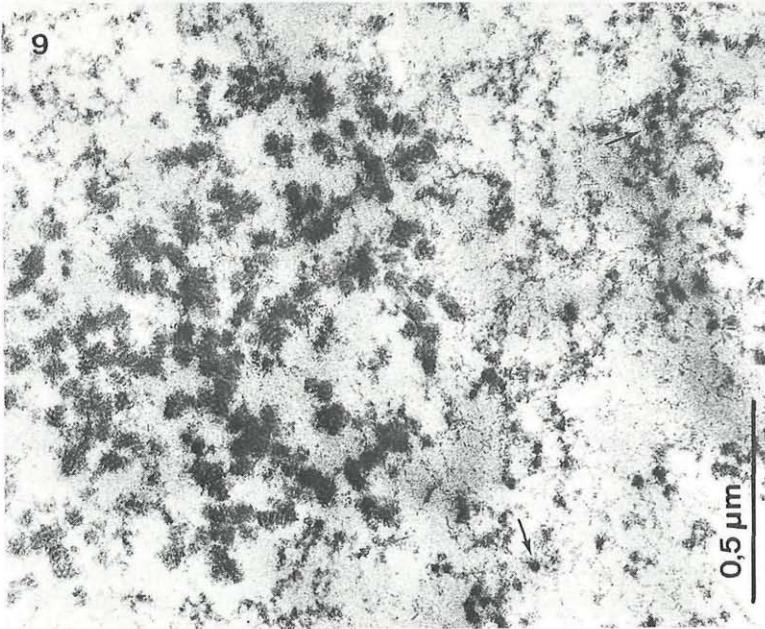
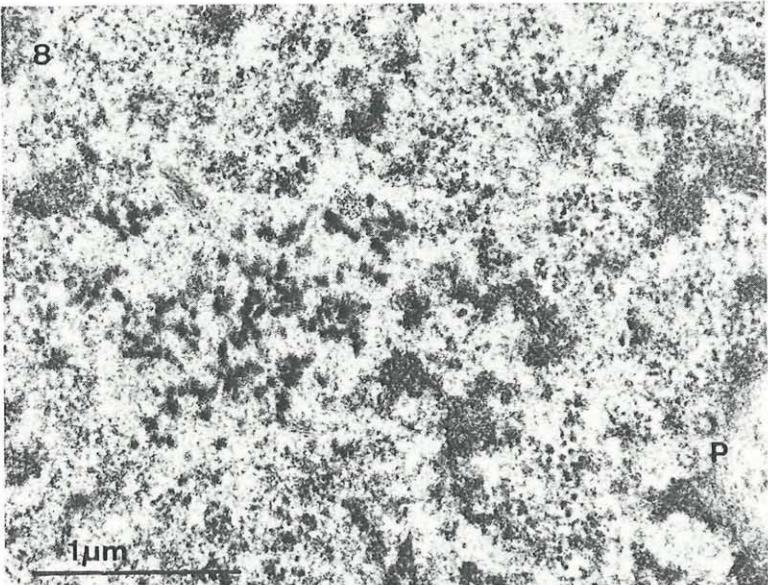


Abb. 8. Epidermiszelle; Ausschnitt aus einem Zellkern, wirbelartige Einschlüsse, Fibrillenbündel. P = Kernporen. $\times 31.000$

Abb. 9. Epidermiszelle; Ausschnitt aus einem Zellkern, wirbelartige Einschlüsse, Fibrillen, Partikeln (Pfeile). $\times 60.000$

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1978

Band/Volume: [19_1_2](#)

Autor(en)/Author(s): Gailhofer Manfred Karl, Thaler Irmtraud

Artikel/Article: ["Stomatazentrum" in Leukoplasten der Epidermis von Asphodelus microcarpus. 97-102](#)