

Phyton (Austria)	Vol. 26	Fasc. 2	157-164	15. 4. 1987
------------------	---------	---------	---------	-------------

Elektronenmikroskopischer Aspekt von Raphidenzellen der Orchidee *Haemaria discolor*

Von

Ursula MEINDL und Oswald KIERMAYER *)

Mit 9 Abbildungen

Eingelangt am 28. Oktober 1985

Key words: *Haemaria discolor*; raphid cells; protoplasmatic differentiation

Summary

MEINDL U. & KIERMAYER O. 1987. Electronmicroscopic aspect of raphid cells of the orchid *Haemaria discolor*. – *Phyton (Austria)* 26 (2): 157–164, with 9 figures (3 plates). – German with English summary.

In the subepidermal parenchyma of the stem of *Haemaria discolor* raphid cells can be found the protoplasm of which is subdivided into lamellae which form a network of cortical "honeycombed" compartments ("plasmatic mosaic"). Electronmicroscopic investigations showed that the lamellae are built of membranes and cytoplasm in which vesicles, a nucleus, ribosomes and few mitochondria are located. The plasmatic lamellae are free of plastids. The cortical vacuoles, the central vacuole and the mass of slime surrounding the central bundle of raphids show a different electronoptical contrast indicating different density of the vacuole contents. The special differentiation of the cortical plasmatic net and the contents of the raphid cell may be in connection with slime production of these idioblasts. With energy dispersive X-ray analysis (EDAX) calcium was detected in the raphid crystals.

Zusammenfassung

MEINDL U. & KIERMAYER O. 1987. Elektronenmikroskopischer Aspekt von Raphidenzellen der Orchidee *Haemaria discolor*. – *Phyton (Austria)* 26 (2): 157–164, mit 9 Abbildungen (3 Tafeln). – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

Im subepidermalen Parenchym des Stengels von *Haemaria discolor* liegen Raphidenzellen deren Protoplasma in Lamellen gegliedert ist, die ein Netzwerk von corticalen Wabenkammern („Plasmamosaik“) bilden. Elektronenmikroskopisch wur-

*) Anschrift der Verfasser: Dr. U. MEINDL und Prof. Dr. O. KIERMAYER, Institut für Pflanzenphysiologie der Universität Salzburg, Hellbrunnerstraße 34, A-5020 Salzburg, Österreich

de gefunden, daß die Lamellen aus Membranen und Cytoplasma aufgebaut sind, in dem zahlreich Vesikeln, ein Zellkern und Ribosomen, sowie vereinzelt Mitochondrien liegen. Die plasmatischen Lamellen sind frei von Plastiden. Die corticalen Vakuolen, die Zentralvakuole und die Schleimmasse welche das zentrale Raphidenbündel umgibt, weisen einen unterschiedlich starken elektronenoptischen Kontrast auf, was auf unterschiedlich dichte Vakuoleninhalte hindeutet. Die spezielle Differenzierung des corticalen Plasmanetzes, sowie des Zellinhaltes der Raphidenzellen steht möglicherweise in Zusammenhang mit der Schleimproduktion in diesen Idioblasten. Mittels energiedispersiver Röntgenanalyse (EDAX) wurde in den Raphiden Calcium nachgewiesen.

Einleitung

Im Rindenparenchym des Stammes der Orchidee *Haemaria discolor* liegen schon mit freiem Auge sichtbare Idioblasten, die bereits von MOLISCH (1917) beschrieben und als Raphidenzellen bezeichnet wurden. Diese Zellen unterscheiden sich von den übrigen Rindenzellen durch ihre Größe, den Besitz eines zentralen Raphidenbündels, das offenbar in Schleim eingebettet liegt, sowie eines peripheren Plasmamosaiks, das aus regelmäßig angeordneten „Plasmawaben“ besteht. Diese sonderbare Differenzierung des peripheren Protoplasmas in Plasmawaben veranlaßten bereits MOLISCH (1917) und DISKUS & KIERMAYER (1954) experimentelle Studien an Raphidenzellen von *Haemaria discolor* durchzuführen. Es zeigte sich, daß das Plasmamosaik bei Behandlung mit 10%iger Sodalösung oder konzentrierter alkoholischer Natronlauge in zahlreiche polygonale, opake Kästchen zerfällt. Werden Raphidenzellen plasmolysiert, so behält der verkleinerte Protoplast die eckige Form der Raphidenzellen bei; das Plasmamosaik tritt bei Plasmolyse besonders deutlich hervor.

Ausführliche Vitalfärbeversuche ergaben ferner, daß sich die Wabenvakuolen des Plasmamosaiks gegenüber den anderen Zellbestandteilen insbesondere der zentralen Vakuole unterschiedlich verhalten.

Auf Grund der eigenartigen wabenförmigen Struktur des peripheren Protoplasmas, sowie der vorliegenden experimentellen Befunde, schien eine elektronenmikroskopische Untersuchung der Raphidenzellen von besonderem Interesse. Orientierend wurden auch die Raphiden mittels energiedispersiver Röntgenanalyse untersucht.

Material und Methodik

Längsschnitte des cortikalen Stammgewebes von *Haemaria discolor* wurden 1 Stunde lang in 0,10 M Glukose vorbehandelt (vgl. NEUHAUS-URL & KIERMAYER 1982) und 20 Minuten in 1% Glutaraldehyd, danach in 2% OsO₄ bei 5–10° C 17 Stunden lang fixiert. Die Entwässerung erfolgte in einer steigenden Konzentrationsreihe von Äthanol und anschließender Behandlung mit Propylenoxid für 15 Minuten. Fixierung und Entwässerung

erfolgten in einem speziellen Gerät „Fixomat“ der Fa. Balzers (TREIBLMAYR & POHLHAMMER 1974). Als Einbettungsmittel diente Epon.

Ultradünne Schnitte wurden auf einem Reichert „Ultracut“ hergestellt; die Nachkontrastierung der Schnitte erfolgte mit Uranylacetat und Bleicitrat. Die Elektronenmikroskopie erfolgte mit einem Philips 400T-Elektronenmikroskop bei 60 kV. Die analytische Elektronenmikroskopie wurde mit

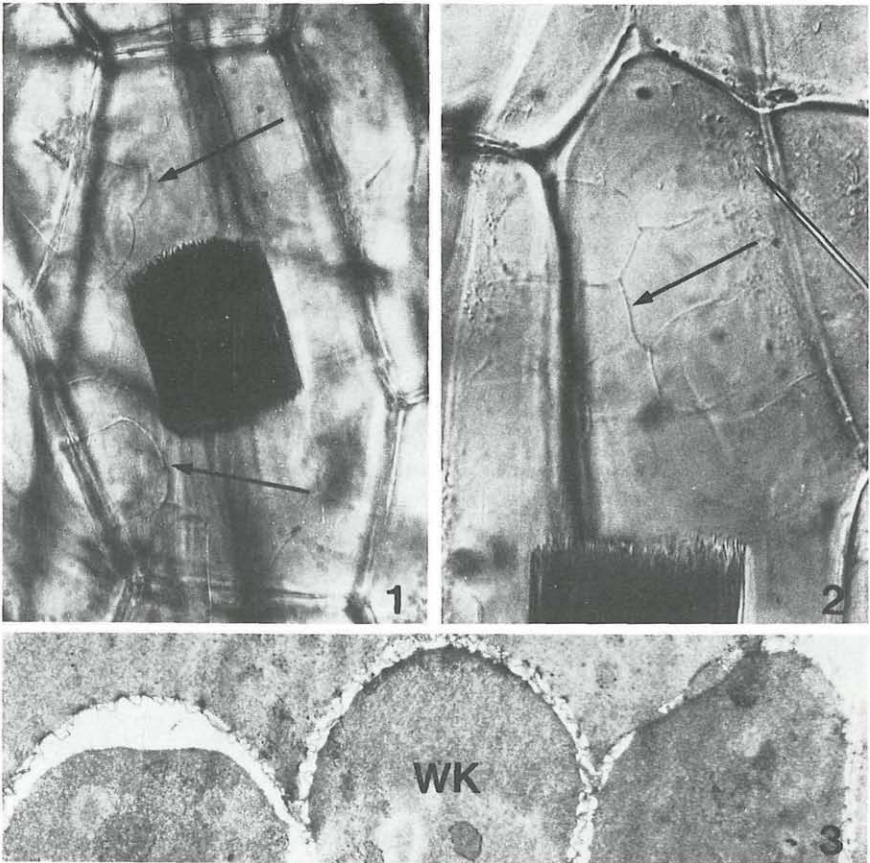


Abb. 1. und 2. Lichtmikroskopische Abbildungen einer Raphidencelle von *Haemaria discolor*. Abb. 1. Optischer Querschnitt durch die Zelle, bei dem die corticale Lage von Wabenkammern und die plasmatischen Lamellen (Pfeile), sowie das zentrale Raphidenbündel deutlich sichtbar ist. Abb. 2. Aufsicht auf eine Raphidencelle mit Wabenkammern und plasmatischen Lamellen (Pfeil).

Abb. 3. Elektronenmikroskopische Darstellung von 3 Wabenkammern (WK). Die plasmatischen Lamellen zwischen den Wabenkammern erscheinen als gekräuselte Strukturen. Vergr. 5200 \times .

einem EDAX-Gerät in Verbindung mit einem STEM-Zusatz am Philips 400T-Elektronenmikroskop durchgeführt. Genauere Angaben zur Methodik finden sich bei KIERMAYER (1968) und MEINDL (1983).

Ergebnisse und Diskussion

An einem tangentialen Schnitt durch das Rindenparenchym des Stengels sind schon mit freiem Auge hellere Pünktchen zu erkennen. Im Lichtmikroskop sieht man, daß es sich dabei um Raphidenzellen handelt. Bei stärkerer lichtmikroskopischer Vergrößerung erkennt man das aus einem feinen Netz von Lamellen bestehende Protoplasma (Abb. 1 und 2). Wie bereits MOLISCH (1917) feststellte, kleidet dieses plasmatische Netz die ganze innere Oberfläche der Zelle aus und „besteht zumeist aus einer einzigen Schichte senkrecht zur Zellmembran stehender Kammern“ (Abb. 1). Anschließend an diese Schicht von Wabenkammern (WK) findet sich eine zentrale Vakuole (ZV) in der ein Raphidenbündel, das von einer im Lichtmikroskop nur bei Plasmolyse oder Vitalfärbung sichtbarer Schleimmasse (SM) umgeben ist, liegt.

Wie auf Abb. 3, die eine elektronenmikroskopische Darstellung von drei Wabenkammern bei schwacher Vergrößerung zeigt, ersichtlich, sind die einzelnen Kammern durch dünne Lamellen voneinander getrennt. Während bei schwacher elektronenmikroskopischer Vergrößerung der Eindruck entsteht, daß es sich bei den Lamellen ausschließlich um Membranen handelt, erkennt man bei stärkerer Vergrößerung neben Membranen auch cytoplasmatische Bestandteile. So ist auf Abb. 4 deutlich zu erkennen, daß die plasmatischen Lamellen (PL) zahlreiche im Cytoplasma liegende Vesikeln mit elektronenoptisch hellem Inhalt sowie Ribosomen enthalten. In unseren Untersuchungen konnten in den plasmatischen Lamellen ferner Mitochondrien sowie ein Zellkern nachgewiesen werden, dagegen fehlten Plastiden völlig. Diese fanden sich in größerer Zahl in den, den Raphidenzellen benachbart liegenden Subepidermiszellen.

Das direkt der Zellwand der Raphidenzellen anliegende Protoplasma (Abb. 5) bildet eine dünne Schicht, die ebenfalls neben zahlreichen Vesikeln und kleineren Vakuolen sowie Ribosomen und Mitochondrien keine weite-

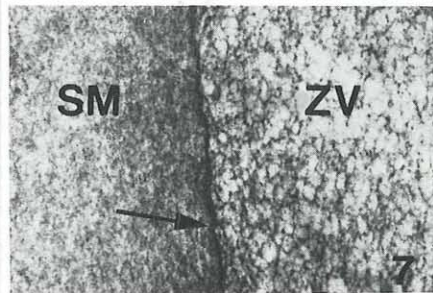
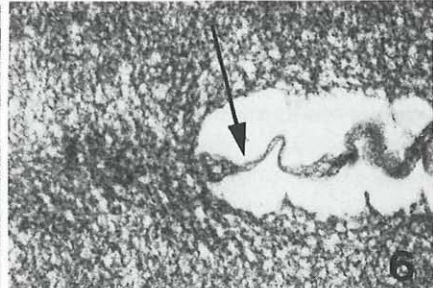
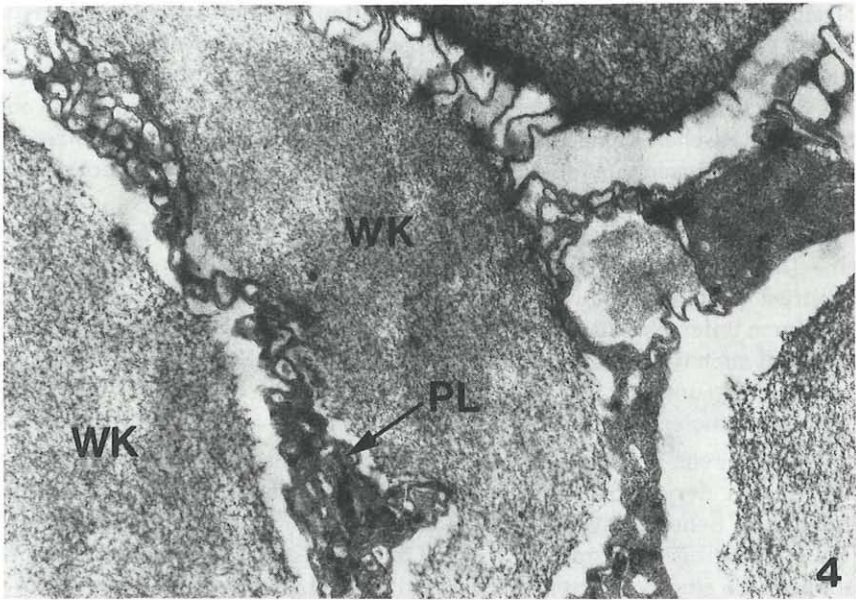
Abb. 4. Wabenkammern (WK) und plasmatische Lamellen (PL). Die plasmatischen Lamellen bestehen aus Membranen und Cytoplasma, das Vesikeln und Ribosomen erkennen läßt. Vergr. 20.000 ×.

Abb. 5. Wandständiges Protoplasma der Raphidenzelle mit zahlreichen Vesikeln und kleineren Vakuolen sowie Ribosomen. Übergang von wandständigem Protoplasma in eine plasmatische Lamelle (PL). Vergr. 44.500 ×.

Abb. 6. Unvollständige plasmatische Lamelle (Pfeil), wodurch zwei Wabenkammern untereinander in Verbindung bleiben. Vergr. 35.200 ×.

Abb. 7. Darstellung der Schleimmasse (SM) um das Raphidenbündel und des Inhaltes der Zentralvakuole (ZV). Zwischen SM und ZV ist eine dunkle Grenzschicht zu erkennen (Pfeil). Vergr. 44.000 ×.

ren Organellen erkennen ließ. Auffallend ist, daß die plasmatischen Lamellen in ihren corticalen Bereichen mehr cytoplasmatische Substanz aufweisen als in den distalen, an die Zentralvakuole grenzenden Bereichen, die fast



ausschließlich aus Membranen und nur zu einem geringen Anteil aus Cytoplasma bestehen (Abb. 4).

Auf Grund der elektronenmikroskopischen Befunde kann somit ausgesagt werden, daß die im Lichtmikroskop deutlich erkennbaren plasmatischen Lamellen nicht nur aus Membranen bestehen, sondern daneben cytoplasmatische Anteile und Organellen enthalten. Bei den Lamellen handelt es sich somit um eine Differenzierung des gesamten Protoplasmas zu einem eigenartigen bienenwabenartigen Netz.

Es soll noch erwähnt werden, daß die einzelnen Wabenkammern von den plasmatischen Lamellen fast immer vollkommen voneinander getrennt werden, jedoch auch unvollständige Lamellen zu finden sind, wodurch zwei Wabenkammern miteinander in Verbindung bleiben (Abb. 6).

Was den Inhalt der einzelnen Wabenkammern betrifft, so erkennt man eine faserige Struktur mit unterschiedlich starkem elektronenoptischen Kontrast (Abb. 4). Möglicherweise steht dieser unterschiedliche Kontrast mit einem unterschiedlich dichten Kammerinhalt in Zusammenhang. Dafür sprechen auch die Vitalfärberversuche von DISKUS & KIERMAYER (1954), bei denen eine unterschiedliche Tingierbarkeit der einzelnen Kammern („Wabenvakuolen“) gefunden werden konnte.

Bei dem von MOLISCH (1917) und DISKUS & KIERMAYER (1954) gefundenen Zerfall der Wabenkammern in einzelne „Kästchen“, hervorgerufen durch eine Behandlung mit Sodalösungen, KNO_3 oder Brillantkresylblau (bei gleichzeitiger Plasmolyse mit 1,0 m Traubenzucker), handelt es sich offenbar um eine Zerstörung der plasmatischen Lamellen bei der die „Kästchen“ als dichtes, möglicherweise schleimartiges Material übrig bleiben.

Neben dem peripheren Plasmamosaik (Wabenkammern) enthält die Raphidenzelle, wie bereits oben beschrieben, eine große zentrale Vakuole, in welcher ein Raphidenbündel, das von einer Schleimmasse umgeben ist, liegt (MOLISCH 1917). Wie Abb. 7 zeigt, weist die Schleimmasse (SM) um das Raphidenbündel eine elektronenoptisch andere, feinere Struktur auf als das Material der großen zentralen Vakuole (ZV), das grobmaschig mit dunklem Kontrast erscheint. Dieser Unterschied zwischen dem Inhalt der zentralen Vakuole und der Schleimmasse um das Raphidenbündel ließ sich auch durch Vitalfärbung nachweisen: Während die Schleimmasse um das Raphidenbündel sich mit Neutralrot (pH um 7,8) deutlich rot färbte, blieb die zentrale Vakuole ungefärbt (DISKUS & KIERMAYER 1954). Zwischen den beiden Vakuolenbestandteilen (ZV und SM) läßt sich elektronenmikroskopisch eine klare dunkle Grenzschicht erkennen.

Es ist somit interessant darauf hinzuweisen, daß die Raphidenzellen von *Haemaria discolor* neben der eigenartigen Differenzierung des Protoplasmas in Wabenkammern auch hinsichtlich der Vakuoleninhalte, bei denen es sich möglicherweise um verschieden dichten Schleim handeln könnte, eine Sonderstellung einnehmen. Die sonderbare Kompartimentie-

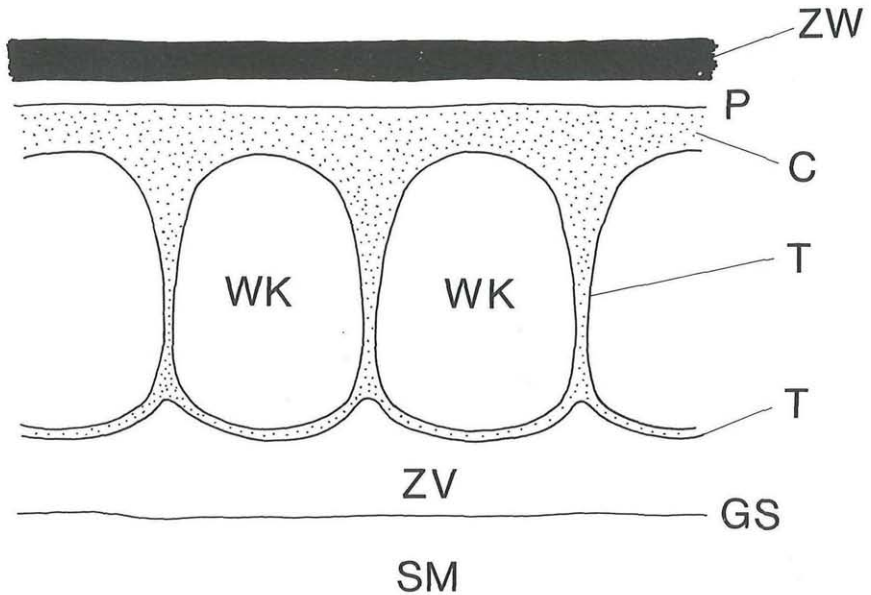


Abb. 8. Schematische Darstellung eines Ausschnitts einer Raphidenzelle auf Grund der ultrastrukturellen Befunde.

ZW Zellwand, P Plasmalemma, C Cytoplasma, T Tonoplast, WK Wabenkammer (Wabenvakuole), ZV Zentralvakuole, SM Schleimmasse, GS Grenzschicht zwischen ZV und SM.

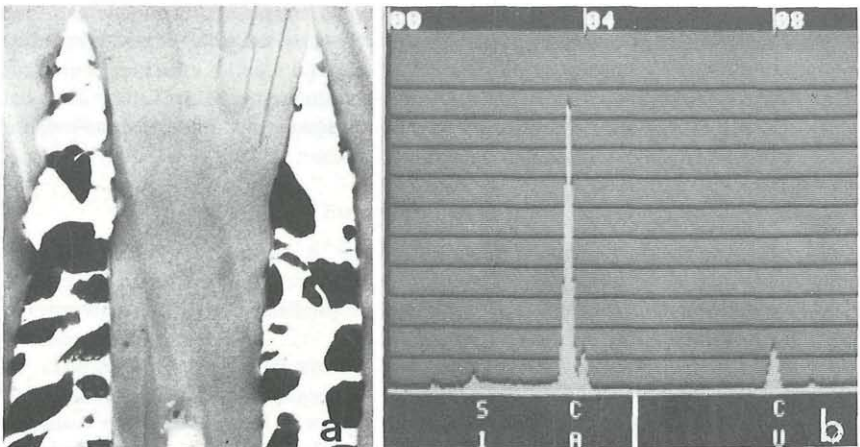


Abb. 9. Röntgenspektrographischer Nachweis von Calcium in den Raphiden der Raphidenzellen von *Haemaria discolor*.

- a) Umriss zweier Raphiden mit Kristallbruchstücken. Vergr. 11.500 ×.
- b) Röntgenspektrum eines Raphidenbruchstückes. Der Ca-peak ($K\alpha$ -Linie bei 3,693) ist deutlich erkennbar. Der Cu- und Si-peak ist auf die Präparation zurückzuführen.

rung der Raphidenzelle durch plasmatische Lamellen könnte mit der Produktion und Speicherung von Schleim in Verbindung stehen. Bei den Membranen welche die plasmatischen Lamellen sowohl gegen die Wabenkammern (Wabenvakuolen) als auch gegen die Zentralvakuole begrenzen handelt es sich, wie die graphische Darstellung auf Abb. 8 veranschaulicht, naturgemäß um Tonoplasten. Daß auch die Grenzschicht zwischen Zentralvakuole und der das Raphidenbündel umgebenden Schleimmasse (Abb. 8, GS) eine Biomembran darstellt ist unwahrscheinlich, kann aber nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Über die chemische Natur des Raphidenbündels weist schon MOLISCH (1917) darauf hin, daß die Kristalle aus oxalsaurem Calcium bestehen. Dieser Befund wurde in orientierenden Untersuchungen mit Hilfe energie-dispersiver Röntgenanalyse (EDAX) durch den eindeutigen Nachweis von Calcium (Abb. 9) erhärtet.

Literaturverzeichnis

- DISKUS A. & KIERMAYER O. 1954. Die Raphidenzellen von *Haemaria discolor* bei Vitalfärbung. – Protoplasma 43: 450–454.
- KIERMAYER O. 1968. The distribution of microtubules in differentiating cells of *Micrasterias denticulata* BRÉB. – Planta 83: 223–236.
- MEINDL U. 1983. Cytoskeletal control of nuclear migration and anchoring in developing cells of *Micrasterias denticulata* and the change caused by the antimicrotubular herbicide amiprofos-methyl (APM). – Protoplasma 118: 75–90.
- MOLISCH H. 1917. Das Plasmamosaik in den Raphidenzellen der Orchideen *Haemaria* und *Anoectochilus*. – Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. 126: 231–242.
- NEUHAUS-URL G. & KIERMAYER O. 1982. Observation of microtubules and microtubule – microfilament associations in osmotically treated cells of *Micrasterias denticulata* BRÉB. – Europ. J. Cell. Biol. 27: 206–216.
- TREIBLMAYR K. & POHLHAMMER K. 1974. Die Verwendung eines Mikrofiltergerätes bei der Fixierung und Entwässerung kleiner Objekte in der Elektronenmikroskopie – Mikroskopie 30: 229–233.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: [26_2](#)

Autor(en)/Author(s): Meindl Ursula, Kiermayer Oswald

Artikel/Article: [Elektronenmikroskopischer Aspects von Raphidenzellen der Orchidee Haemaria discolor. 157-164](#)