

ZUR FEINSTRUKTUR DER DRÜSEN
VON *RIBES SANGUINEUM* PURSCH

Von

IOANNES TSEKOS

(Lehrstuhl für Zellenlehre der Universität Heidelberg)

(Received, 4.2.1974)

Summary: *On the Fine Structure of the Glands of Ribes sanguineum Porsch.*

The glands of Ribes sanguineum Porsch. were studied by electron microscopy. They consist of a multicellular head and a multicellular, relatively long stalk. The secretory cells of the head are characterized by a well developed, tubular endoplasmic reticulum (ER). Presumably this plays a major role in the synthesis of the lipophilic excretion products. The plastids may likewise be of a function in the process of synthesis and excretion and appear enveloped by elements of the ER. The excretion products seem to move through the cell walls into the subcuticular space.

Zusammenfassung: *Die Drüsenhaare von Ribes sanguineum Porsch. wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Sie bestehen aus einem vielzelligen, eiförmigen Köpfchen und einem auch vielzelligen, relativ langen Stiel. Die sekretorischen Köpfchenzellen sind durch ein sehr stark entwickeltes glattes, tubuläres endoplasmatisches Reticulum (ER) gekennzeichnet, das vermutlich an der Synthese der lipophilen Exkrete wesentlichen Anteil hat. Die von Elementen des ER eingehüllten Plastiden scheinen dabei eine gewisse Rolle zu spielen. Die Exkretkomponenten scheinen über die Zellwände in den Cuticularbeutel zu wandern.*

EINLEITUNG

Aus den bisherigen elektronenmikroskopischen Untersuchungen an pflanzlichen Harz-, Öl-, Wachs- und Flavon - Drüsen (AMELUNXEN 1965, SCHNEPF 1969a, b, c, d, VASILIEV 1969, 1970, WOLLENWEBER und SCHNEPF 1970, WOLLENWEBER, EGGER und SCHNEPF 1971, SCHNEPF und KLASOVÁ 1972) geht hervor, dass das tubuläre endoplasmatische Reticulum (ER), meist in der ribosomenfreien Modifikation, sehr ausgeprägt ist und kommt damit als Ort für die Bildung der lipophilen Ausscheidungen in Betracht. Bei lysigenen Drüsen scheint als sehr wahrscheinlich, dass die Synthese der lipophilen Substanzen in den Plastiden stattfindet (HEINRICH 1966, 1970, AMELUNXEN und ARBEITER 1967, AMELUNXEN und GRONAU 1969, VASILIEV 1970, SCHNEPF 1972 und die dort angegebene Literatur). Die *Viscaria* - Drüsen (TSEKOS

und SCHNEPF 1974), obwohl sie lipophile Substanzen ausscheiden, unterscheiden sich in ihrer Feinstruktur von den obengennanten Drüsen-Typen in verschiedener Hinsicht.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, durch elektronenmikroskopische Untersuchungen an Drüsenhaaren von *Ribes sanguineum* Pursch. die Verbreitung der obengennanten Typen festzustellen. Ferner wurde versucht, die eventuell vorhandene charakteristische Aktivität des ER durch eine Osmiumimprägnierung nach FRIEND und BRASSIL (1970) nachzuweisen. Wenn Zellen Steroide oder ähnliche Substanzen synthetisieren, erwartet man, dass das ER dieser Zellen positiv reagieren soll. Die Feinstruktur der Drüsen des nahe verwandten *Ribes nigrum* ist von VASILIEV (1970) beschrieben; dort ist das tubuläre glatte ER die vorherrschende Zellkomponente.

MATERIAL UND METHODE

Als Objekt diente *Ribes sanguineum* Pursch. aus dem Garten des Zoologischen Institutes der Universität Heidelberg. Es wurden Blütenknospen verschiedenen Alters und gerade geöffnete Blüten verwendet. Handschnitte im Blütenbereich wurden mit 1 % OsO₄ in Phosphatpuffer, pH 7,3, 1 Stunde, oder mit 1 % Glutaraldehyd in Phosphatpuffer, pH 7,3, 1 Stunde, nachfolgend 1 % OsO₄, oder mit 1 % KMnO₄ in Aqua dest., 10 Minuten fixiert, über Alkoholstufen entwässert und über Propylenoxyd in eine Epon-Araldit-Mischung eingebettet. Die Osmiumimprägnierung erfolgte mit 2 % OsO₄ in Aqua dest., 2 × 24 Stunden, 40° C im Dunkeln. Die Ultradünnschnitte wurden mit dem Elmiskop IA und 101 (Siemens) untersucht.

ERGEBNISSE

Die Drüsenhaare im Blütenbereich von *Ribes sanguineum* gliedern sich in ein vielzelliges, eiförmiges Köpfchen mit Drüsenzellen und einen vielzelligen, relativ langen Stiel (Abb. 1). Die Drüsen scheiden ein öliges Material aus, vermutlich terpenartiger Natur (vgl. die Angaben von VASILIEV (1970) an *Ribes nigrum*). Die Köpfchenzellen zeichnen sich in ihrer Feinstruktur durch ein sehr dichtes Plasma und ein ausgeprägtes glattes endoplasmatisches Reticulum (ER) aus (Abb. 2, 3 und 4). Dieses besteht vorwiegend aus dicht gepackten leicht gewundenen Röhren. Ribosomen — in jungen Drüsen häufiger als in älteren — kommen meistens als freie Ribosomen vor. Die Tubuli des ER sind nach KMnO₄-

Fixierung (Abb. 5 und 6) stets sehr englumig, in OsO_4 - und Glutaraldehyd + OsO_4 -Fixierungen (Abb. 2, 4 und 9) sind sie dagegen stärker aufgebläht. Die Binnenräume des ER sind fast immer weniger elektronendicht als der interzisternale Raum. Das tubuläre ER füllt in den Köpfchenzellen der Drüse fast den ganzen Raum zwischen den übrigen Zellstrukturen (Abb. 2, 3, 4, 5, und 7). Weiter zur Köpfchenbasis hin nimmt die Menge der Röhren ab.

Sowohl die Köpfchen- als auch die Stielzellen enthalten viele Plastiden (Abb. 1, 2, 4 und 5). Die Plastiden der Stielzellen haben grosse Stärkekörner. In Drüsenzellen liegen unregelmässig geformte stärkeführende Plastiden (Abb. 2, 4 und 5); sie können Grana aus Stapeln von 3 bis 10 Thylakoiden enthalten (Abb. 4), besonders auffällig sind einzelne weitlumige Thylakoide, die sich hell von der nach Glutaraldehyd - OsO_4 sehr dunkel erscheinenden Matrix abheben (Abb. 2 und 4). Die Plastiden werden von Zisternen und Röhren des ER eingehüllt (Abb. 2 und 4), so dass eine Art von "periplastidärem ER" entsteht (vgl. WOODING und NORTHCOTE 1965, SCHNEPF 1969a, b). Das ist gut erkennbar, wenn die Plastiden dicht nebeneinander liegen (Abb. 2 und 4). Sie sind dann immer durch Zisternen oder Tubuli des ER getrennt.

Dictyosomen kommen in den reifen Drüsen nur sehr selten vor (Abb. 5). Das stimmt mit der Annahme überein, dass sie in pflanzlichen Zellen mit der Kondensation oder dem Umbau von Polysacchariden zu tun haben, die zum Teil für den Zellwandbau benötigt werden (NORTHCOTE und PICKETT - HEAPS 1966); während sie an der Bildung der lipophilen Substanzen direkt nicht beteiligt sind.

Die Mitochondrien sind zahlreich (Abb. 2, 4 und 5). Sie sind häufig geschwollen. In den reifen Drüsen enthalten die Mitochondrien nur relativ wenig Sacculi.

Die einzelnen Zellen stehen durch Plasmodesmen miteinander in Verbindung (Abb. 7). Ihre Zahl ist jedoch auffallend gering.

Die Vacuolen der Köpfchenzellen sind in Form und Inhalt sehr variabel (Abb. 1, 3, 4, 5 und 6); auch innerhalb eines Drüsenhaares erscheint der Zellsaft in einigen Zellen feinflockig und mehr oder weniger elektronendicht, in anderen ist er fast homogen schwarz und dann nur schwer schneidbar (Abb. 1). In alternden Drüsen nimmt die Vacuolisation zu. Die Stielzellen sind stark vacuolisiert; oft ist nur eine grosse Zentralvacuole vorhanden, derer Zellsaft feinflockig erscheint (Abb. 1).

Auffallend sind die gelegentlich in den Plastiden auftretenden elektronendichten Gebilde (nur nach KMnO_4 -Fixierungen beobachtet). Ähnliche Aggregate liegen auch im Grundplasma (Abb. 6).

Die "Cuticula" ist sehr kräftig. Sie besteht (Abb. 1, 3 und 8) aus der eigentlichen Cuticula und einer darunter befindlichen cutinisierten Schicht. Bei den sehr jungen Drüsen ist dagegen die Cuticula gleichmässig dünn.

Im apikalen Teil des Drüsenhaares lockert sich die Struktur sowohl der Aussen- als auch der Innenwände während der Aktivitätsperiode stark auf (Abb. 1 und 3). Es entstehen erst kleine, dann grosse Spalten zwischen den Zelluloseschichten (Abb. 3); ausserdem hebt sich die "Cuticula" ab (Abb. 1 und 3). Die so entstandenen Räume erscheinen anfangs weitgehend leer; später enthalten sie ein mehr oder weniger grobschaumiges, elektronendicht dargestelltes Material. Wenn die "Cuticula" platzt, treten die ausgeschiedenen Substanzen aus (Abb. 8). In Abb. 7 erkennt man auch die Ablagerungen zwischen Plasmalemma und Zellwand. Öltröpfchen treten aber auch im Cytoplasma der sekretorischen Zellen auf (Abb. 3 und 7). Die Hauptmasse des Exkretes, das den Subcuticularraum füllt, wird, wie es scheint, durch OsO_4 und Glutaraldehyd nicht ausreichend fixiert und während der Entwässerung und Einbettung teilweise extrahiert. KMnO_4 scheint besser mit dem ausgeschiedenen öligen Material zu reagieren.

Als Besonderheit wurden bei einigen Köpfcenzellen rundlich geformte Gebilde mit feingranulärem Inhalt gefunden, die an Microbodies erinnern (Abb. 2).

Durch eine Osmiumimprägnierung reagierten das ER und die Thylakoide positiv. In der Abb. 9 sind die starke Osmiumniederschläge im ER und in Thylakoiden zu erkennen.

DISKUSSION

Aus den elektronenmikroskopischen Untersuchungen ergibt sich, dass die Drüsenhaare von *Ribes sanguineum*, wie die von *Ribes nigrum* (VASILIEV 1970), durch ein aussergewöhnlich gut entwickeltes tubuläres ER, in der ribosomenfreien Modifikation, gekennzeichnet sind. Ferner reagierte das ER der Drüsenzellen durch eine Osmiumimprägnierung nach FRIEND und BRASSIL (1970) positiv (vgl. auch SCHNEPF und KLASOVÁ 1972).

Es soll darauf hingewiesen werden, dass alle übrigen bisher untersuchten mit lipophilen Ausscheidungen pflanzlichen Drüsen (vgl. die Angaben in der Einleitung) und die steroidproduzierenden tierischen Zellen (FAWCETT 1966 und die dort angegebene Literatur) durch ähnlich stark ausgeprägtes ER charakteristisch sind.

Man darf also für sehr wahrscheinlich halten, dass in den *Ribes*-Drüsen das ER an der Synthese der lipophilen Exkrete wesentlich beteiligt ist. Hinweise darüber, dass die Ausscheidungen in den Vacuolen akkumuliert werden, konnten nicht erhalten werden. Allerdings ist der Zellsaft meist stark durch OsO_4 und durch KMnO_4 kontrastiert.

Bei einigen ähnlichen Drüsen (WOODING und NORTHCOTE 1965, HEINRICH 1966, 1970, AMELUNXEN und ARBEITER 1967, VASILIEV 1970 u.a.) liegt eine ganze Reihe von Beobachtungen vor, welche die Beteiligung der Plastiden an der Exkretbildung sehr wahrscheinlich machen. Die Plastiden der *Ribes*-Drüsen sind von Elementen des ER eingehüllt. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Plastiden an der Exkretion einen Anteil haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. E. SCHNEPF für die Einführung in die Elektronenmikroskopie und für kritische Bemerkungen zum Text der vorliegenden Arbeit. Mein Dank gilt auch an Frä. G. DEICHGRÄBER für ihre wertvolle Hilfe; desgleichen der Alexander von Humboldt-Stiftung für die Gewährung eines Dozentenstipendiums.

L I T E R A T U R

- AMELUNXEN, F., 1965: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Drüsen-schuppen von *Mentha piperita* L. *Planta medica* 13, 457 - 473.
- und H. ARBEITER, 1967: Untersuchungen an den Spitzdrüsen von *Dictamnus albus* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 58, 49 - 69.
- FAWCETT, D. W., 1966: An atlas of fine structure. The cell. Its organelles and inclusions. Philadelphia - London: Saunders.
- FRIEND, D. S., and G. E. BRASSIL, 1970: Osmium staining of endoplasmic reticulum and mitochondria in the rat adrenal cortex. *J. Cell. Biol.* 46, 252 - 266.
- HEINRICH, G., 1966: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Genese der Exkrete in den lysigenen Exkretträumen von *Citrus medica*. *Flora* 156A, 451 - 456.
- 1970: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Drüsenzellen von *Poncirus trifoliata*; zugleich ein Beitrag zur Wirkung ätherischer Öle auf Pflanzenzellen und eine Methode zur Unterscheidung flüchtiger von nichtflüchtigen lipophilen Komponenten. *Protoplasma* 69, 15 - 36.
- NORTHCOTE, D. H., and J. D. PICKETT - HEAPS, 1966: A function of the Golgi apparatus in polysaccharide synthesis and transport in the root-cap cells of wheat. *Biochem. J.* 98, 159 - 167.

- SCHNEPF, E., 1969a: Über den Feinbau von Öldrüsen. I. Die Drüsenhaare von *Arctium lappa*. Protoplasma 67, 185 - 194.
- 1969b: Über den Feinbau von Öldrüsen. II. Die Drüsenhaare von *Calceolaria* - Blüten. Protoplasma 67, 195 - 203.
- SCHNEPF, E., 1969c: Über den Feinbau von Öldrüsen. III. Die Ölgänge von *Solidago canadensis* und die Exkretschläuche von *Arctium lappa*. Protoplasma 67, 205 - 212.
- 1969d: Über den Feinbau von Öldrüsen. IV. Die Ölgänge von Umbelliferen: *Heracleum sphondylium* und *Dorema ammoniacum*. Protoplasma 67, 375 - 390.
- 1972: Tubuläres endoplasmatisches Reticulum in Drüsen mit lipophilen Ausscheidungen von *Ficus*, *Ledum* und *Salvia*. Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP) 163, 113 - 125.
- und A. KLASOVÁ, 1972: Zur Feinstruktur von Öl- und Flavon-Drüsen. Ber. dtsh. bot. Ges. 85, 249 - 258.
- TSEKOS, I., und E. SCHNEPF, 1974: Der Feinbau der Drüsen der Pechnelke, *Viscaria vulgaris*. Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP) (Im Druck).
- VASILIEV, A. E., 1969: Some peculiarities of the endoplasmic reticulum in secretory cells of *Heracleum* sp. (russisch). Akad. Nauk. SSSR, Citologia XI, 298 - 307.
- 1970: Über die Lokalisation der Synthese von Terpenoiden in pflanzlichen Zellen (russisch). Akad. Nauk SSSR, V, 29 - 45.
- WOLLENWEBER, E., und E. SCHNEPF, 1970: Vergleichende Untersuchungen über die flavonoiden Exkrete von "Mehl"- und "Öl"-Drüsen bei Primeln und die Feinstruktur der Drüsenzellen. Z. Pflanzenphysiol. 62, 216 - 227.
- K. EGGER, und E. SCHNEPF, 1971: Flavouoid - Aglykone in *Alnus* - Knospen und die Feinstruktur der Drüsenzellen. Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP) 162, 193 - 201.
- WOODING, F. B. P., and D. H. NORTHCOTE, 1965: The fine structure of the mature resin canal cells of *Pinus pinea*. J. Ultrastr. Res. 13, 233 - 244.

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

ΠΕΡΙ ΤΗΣ ΛΕΠΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΑΔΕΝΩΝ ΤΟΥ
RIBES SANGUINEUM PURSCH

ὑπὸ

ΙΩΑΝΝΟΥ ΤΣΕΚΟΥ

(Ἔδρα Κυτολογίας τοῦ Πανεπιστημίου τῆς Χαϊδελεβέργης)

Αἱ ἀδενώδεις τρίχες τοῦ φυτοῦ *Ribes sanguineum* Pursch ἠρευνήθησαν ὑπὸ τὸ ἠλεκτρονικὸν μικροσκόπιον. Αὗται συνίστανται ἐκ μιᾶς πολυκυττάρου, ὠσειδοῦς μορφῆς κεφαλῆς καὶ ἐξ ἑνὸς ἐπίσης πολυκυττάρου σχετικῶς μακροῦ μίσχου. Τὰ ἐκκριτικὰ κύτταρα τῆς κεφαλῆς χαρακτηρίζονται δι' ἑνὸς λίαν ἰσχυρῶς ἀνεπτυγμένου λείου σωληνώδους ἐνδοπλασματικοῦ δικτύου, τὸ ὁποῖον κατὰ πᾶσαν πιθανότητα συμμετέχει οὐσιωδῶς εἰς τὴν σύνθεσιν τῶν λιποφίλων ἀπεκκριμάτων. Τὰ ὑπὸ στοιχείων τοῦ ἐνδοπλασματικοῦ δικτύου περιτυλισσόμενα πλαστίδια φαίνεται ὅτι ἔχουν ἓνα ὠρισμένον ρόλον εἰς τὸ φαινόμενον τῆς ἐκκρίσεως. Τὰ ἀπεκρίματα φαίνεται ὅτι μετακινοῦνται διὰ τῶν κυτταρικῶν τοιχωμάτων εἰς τὸν μεταξὺ τῆς ἐφυμενίδος καὶ κυτταρικῶν τοιχωμάτων χῶρον.

Abb. 1.

Längsschnitt durch ein Drüsenhaar einer noch nicht geöffneten Blüte, Übersicht. Fix.: Glutaraldehyd - OsO₄, 2250X.

Abb. 2.

Äussere Zelle des Köpfchens eines jungen Drüsenhaares mit Plastiden; ER tubulär. M = Mitochondrium, MB = Microbody(?), P = Plastide, ZW = Zellwand. Fix.: Glutaraldehyd - OsO₄, 14.000X.

Abb. 3.

Apikaler Teil des Köpfchens eines jungen Drüsenhaares. Abgehobene Cuticula mit relativ leer erscheinendem Subcuticularraum (SR). C + CS = Cuticula + Cuticularschicht. Auch auf die Cuticula exzerniertes Material. Fix.: Glutaraldehyd - OsO₄, 4.000X.

Abb. 4.

Zentraler Teil des Köpfchens eines alten Drüsenhaares. P = Plastide, V = Vacuole. Fix.: Glutaraldehyd - OsO₄, 18.000X.

Abb. 5.

Äussere Zelle des Köpfchens eines alten Drüsenhaares. D = Dictyosom, M = Mitochondrium, P = Plastide, V = Vacuole, ZW = Zellwand. Fix.: KMnO₄, 14.000X.

Abb. 6.

Innere Zelle des Köpfchens eines jungen Drüsenhaares. M = Mitochondrium, P = Plastide, V = Vacuole, ZW = Zellwand. Fix.: KMnO₄, 20.000X.

Abb. 7.

Apikaler Teil des Köpfchens eines jungen Drüsenhaares. Extreite (Pfeil) zwischen Plasmalemma und Zellwand. O = abgeschiedene Öltröpfchen im Cytoplasma, P = Plastide, V = Vacuole. Fix.: Glutaraldehyd - OsO₄, 15.000X.

Abb. 8.

Apikaler Teil des Köpfchens eines alten Drüsenhaares. Im Subcuticularraum (SR) verschiedenartige Substanzen. C + CS = Cuticula + Cuticularschicht. Fix.: KMnO₄, 4.000X.

Abb. 9.

Alte Drüsenzelle. Osmiumniederschläge im vesiculär dargestellten ER und in den Thylakoiden der Plastiden (P). M = Mitochondrium. Fix.: OsO₄, 24.000X.













