

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 1590/1969

Elemente des endoplasmatischen Retikulums (Nikotiana-Gewebekultur)

Mit 2 Abbildungen

GÖTTINGEN 1970

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Elemente des endoplasmatischen Retikulums (*Nicotiana*-Gewegekultur)¹

W. URL, Wien

Allgemeine Vorbemerkungen

Das endoplasmatische Retikulum (ER) — 1945 mit dem Elektronenmikroskop entdeckt — ist ein, im Protoplasma liegendes, Membransystem, das spezielle Kompartimente formt. Frühe elektronenmikroskopische Bilder zeigen oft zwei eng aneinanderliegende Membranen; doch klaffen diese oft und schließen einen Raum ein, der den „Inhalt“ des ER darstellt. KLIMA [8] unterschied im Protoplasma die „extrazisternale Phase“ (EZP), das ist das Grundplasma, in dem die Organellen liegen, von der „intrazisternalen Phase“ (IZP), die von den Membranen des ER umschlossen ist. Deren Inhalt, er ist meist massearm und im wesentlichen wäßriger Natur, wurde von FREY-WYSSLING [6] „Enchylema“ genannt.

Selbst im Falle eines ER, wo beide Membranen eng aneinanderliegen und etwa noch zusätzlich mit Ribosomen besetzt sind („rough surfaced“), ist theoretisch die Dimension zu klein, um im Lichtmikroskop aufgelöst zu werden. Trotzdem wurden aber schon früh Beobachtungen publiziert, wonach in verschiedenen tierischen und embryonalen Pflanzenzellen im Phasenkontrast sichtbare, dunkle Linien Elemente des ER sein sollen.

Eine strenge Parallelisierung licht- und elektronenmikroskopischer Befunde gelang dann FAWCETT und ITO [4] an Spermatozoiden vom Meerschweinchen. Es erwies sich, daß im Phasenkontrast sichtbare dunkle Linien optische Querschnitte durch flächige, zisternenförmige Elemente des ER sind, die in der Richtung der optischen Achse des Mikroskopes liegen. Theoretische Untersuchungen von BAYER [1] bewiesen später die Möglichkeit der lichtmikroskopischen Auflösung solcher Strukturen.

Hier liegen also zwei Membranen eng aneinander und außerdem parallel zur Achse des Mikroskops orientiert, was den Kontrast verstärkt. Eine lichtmikroskopische Sichtbarkeit von Elementen des ER könnte

¹ Angaben zum Film und Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 9.

aber selbst im Falle eines Klaffens der Membranen dann gegeben sein, wenn die IZP durch Bildung von Sekretkörpern oder dgl. massereicher ist als das umgebende Grundplasma, doch ist das offenbar nur selten der Fall.

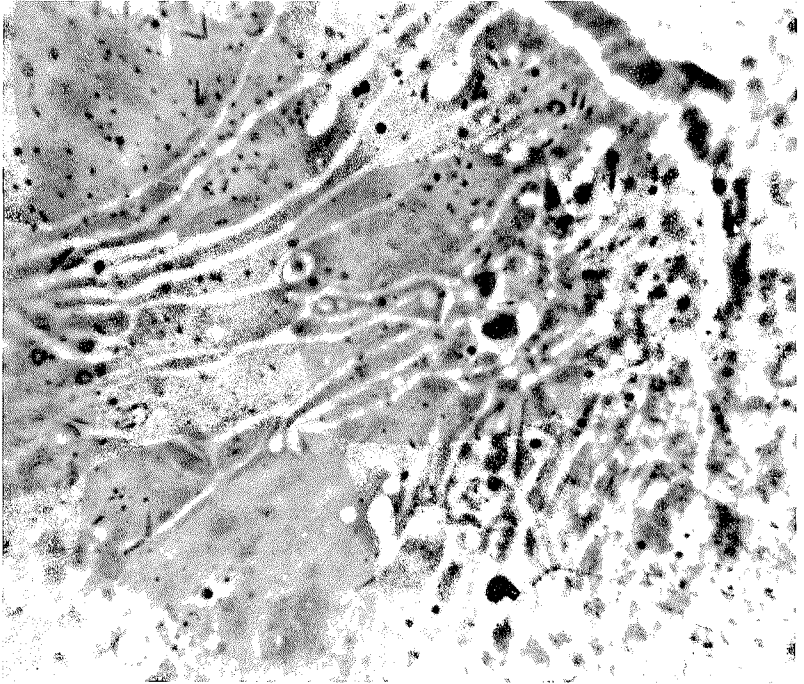


Abb. 1. *Nicotiana tabacum*. Gewebekulturzelle, Protoplasma-Wandbelag. Positiver Phasenkontrast. Neben runden Sphärosomen und länglichen Mitochondrien erkennt man einige große Leukoplasten in der rechten Bildhälfte. Die unkontrastierten schlauchförmigen Elemente des endoplasmatischen Retikulums haben Verzweigungen und überkreuzen sich an einigen Stellen. Ölimmersion 63 : 1. Aufnahme auf Ilford Pan F mit Reichert-Mikroblitz. Abbildungsmaßstab 800 : 1

In Anlehnung an die Befunde von tierischen und embryonalen Pflanzenzellen wurden dann im Phasenkontrast sichtbare, dunkle Linien auch in erwachsenen Pflanzenzellen als Elemente des ER angesprochen (THAINE [10], DRAWERT und MIX [3], HONDA et al. [7]). Nun erscheint bei erwachsenen Pflanzenzellen mit ihrer großen Vakuole und dem dünnen Plasmawandbelag die Möglichkeit gering, daß flächige Elemente des ER auf eine längere Strecke — wenn überhaupt — in der optischen Achse des Mikroskops orientiert sein können.

Eine genauere Analyse (SOLBERG und BALD [9], URL [11], URL und BOLHAR-NORDENKAMPF [12]) zeigte, daß es sich bei den dunklen Linien um Grundplasma handelt, in dem Organellen liegen, also um EZP. Die schmalen, im Phasenkontrast gut sichtbaren leistenförmigen Plasma-

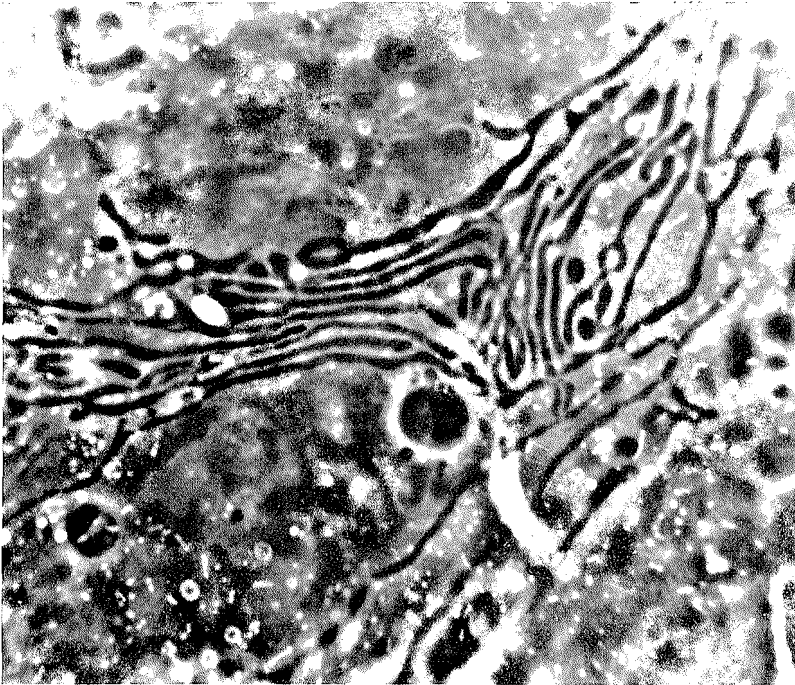


Abb. 2. Wie Abb. 1. Anoptralkontrast. Die Elemente des endoplasmatischen Retikulums sind hier noch deutlicher als im positiven Kontrast. Neben den länglichen Mitochondrien und den kleinen runden Sphärosomen erkennt man in der Mitte der linken Bildhälfte einen großen Leukoplasten. Anoptral-Ölimmersion 63 : 1. Sonst gleiche technische Daten wie Abb. 1.

partien trennen nun schlauchförmige vakuolenartige Gebilde, „intraplasmatische Vakuolen“, die eine wesentlich geringere Masse haben als das Grundplasma. In ihnen liegen nie Organellen, sie sind im Phasenkontrast unkontrastiert und heben sich dadurch deutlich vom schwach kontrastierten Grundplasma mit seinen Einschlüssen ab (Abb. 1 und 2).

Bei den schlauchförmigen Vakuolen handelt es sich nun um Elemente des endoplasmatischen Retikulums, wobei im Phasenkontrast natürlich nicht die Membranen zu sehen sind, sondern der Unterschied zwischen

der massereichereren EZP und der massearmen IZP. Wenn die Membranen aneinanderliegen, ist bei erwachsenen Pflanzenzellen nichts zu sehen. Das Volumen der IZP — und damit die Möglichkeit einer Sichtbarkeit der Elemente des ER — wechselt offenbar mit dem physiologischen Zustand der Zelle und ist auch durch Außeneinflüsse wie Plasmolyse, Strahlung, Deckglasdruck, O₂-Mangel usw. zu beeinflussen (BOLHAR-NORDEN-KAMPF [2], FELDMANN [5]).

Eine lichtmikroskopische Sichtbarkeit von Elementen des ER in erwachsenen Pflanzenzellen hängt also davon ab, ob die IZP mächtig genug ist, damit im Phasenkontrast der Masseunterschied gesehen werden kann. Die Membranen selbst sind nicht zu sehen, aber natürlich vorhanden, was man sehr gut sieht, wenn man anprallende Organellen beobachtet. Schlauchförmige Elemente des ER sind in einer großen Zahl erwachsener Pflanzenzellen beobachtet worden, doch eignen sich große Gewebekulturzellen wegen des ausgedehnten, zur Beobachtung verfügbaren Plasmaareals in besonderem Maße für mikrokinematographische Aufnahmen.

Die aufgenommene Zelle stammt aus einer Gewebekultur, die aus einem Explantat aus dem Mark von *Nicotiana tabacum* var. WISCONSIN gewonnen wurde¹.

Zur Entstehung des Films

Die Aufnahmen wurden im Juni 1968 im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien durchgeführt. Kamera: Bolex-H-16-Reflex mit Kindervater- und Bolexmotor. Mikroskop: Zetopan der Firma C. Reichert mit Scheibenkondensator und Ölimmersionsachromaten 63 : 1 positiver und negativer Phasenkontrast (Anoptralkontrast), Anoptralöl-immersion 100 : 1 und einer Fluorit-Ölimmersion, positiver Phasenkontrast 100 : 1. Die Ölimmersionen 63 : 1 bewährten sich wegen des größeren Arbeitsabstandes und der hohen Brillianz in besonderer Weise. Negativmaterial: Kodak-Plus-X, 16 mm. Zur Dimension vergleiche man die Abb. 1 und 2.

Filmbeschreibung²

4 B/s bis 18 B/s

1. 4 B/s, positiver Phasenkontrast, Ölimmersion 63 : 1.
2. 4 B/s, Anoptralkontrast, Ölimmersion 63 : 1.

Der Plasmawandbelag der Gewebekulturzelle. Die Plasmaströmung geht in verschiedene Richtungen. Schlauchförmige Elemente des ER

¹ Die Gewebekultur wurde mir freundlicherweise von Frau Dr. W. RÜCKER (Reaktorzentrum Seibersdorf) zur Verfügung gestellt.

² Die *Kursiv*-Überschrift entspricht dem Zwischentitel im Film.

liegen oft mehr oder weniger parallel in Hauptströmungsbahnen. Die Elemente des ER werden durch die Plasmaströmung gezerrt, verformt und manchmal mitgeschleppt. Sie sind im Plasmawandbelag nicht dispers verteilt, sondern häufen sich in gewissen Arealen. Neben den langen schlauchförmigen ER-Elementen gibt es größere rundliche vakuolenartige Gebilde im Plasma. Sie stehen manchmal in Verbindung mit den dünnen „Schläuchen“.

3. 12 B/s, Anoptralkontrast, Ölimmersion 100 : 1.

Neben dünnen schlauchförmigen Elementen des ER liegen große Vakuolen im Plasma. Verschiedene Strömungsbahnen schleppen Elemente des ER mit. Es kommt zu Überkreuzungen von Elementen des ER.

4. 18 B/s, Anoptralkontrast, Ölimmersion 63 : 1.

Elemente des ER liegen oft in den verschieden gerichteten Strömungsbahnen. Eine „Fahrt“ zeigt das große Plasmaareal, das bei Gewebeskulturzellen der Beobachtung zur Verfügung stehen kann.

5. 12 B/s, Anoptralkontrast, Ölimmersion 100 : 1.

Die Verformbarkeit der Elemente des ER ist bei der schwachen Zeitraffung gut zu beobachten. Das Anstoßen der Organellen an die — selbstverständlich nicht aufgelösten — Membranen, die die Elemente des ER umgeben, ist deutlich zu sehen.

6. 18 B/s, positiver Phasenkontrast, Fluorit-Ölimmersion 100 : 1.

Die Plastizität der Elemente des ER im strömenden Plasma ist hier besonders gut zu beobachten. Man sieht Zerfall und Verschmelzung von Elementen des ER, daneben Überkreuzungen, wobei die Elemente zunächst unabhängig bleiben, um nach einiger Zeit zu verschmelzen. Solche Bilder sind bedeutsam für die Beurteilung von Eigenschaften biologischer Membranen.

Literatur

- [1] BAYER, H.: Zur Abbildung extrem dünnwandiger nichtabsorbierender Röhren im Lichtmikroskop. *Wissensch. Veröffentlichungen. Jenaer Jahrbuch* 1966, 173—184.
- [2] BOLHAR-NORDENKAMPF, H.: Cytomorphologische Studien am Plasma der Innenepidermiszellen von *Allium cepa* L., unter besonderer Berücksichtigung der „Plasmaschläuche“. *Protoplasma* 61 (1966), 85—113.
- [3] DRAWERT, H., und M. MIX: Zur Frage von Struktur und Funktion des „Golgi-Apparates“ in Pflanzenzellen. *Sitz.-Ber. Ges. Beförd. ges. Naturwiss. Marburg* 83/84 (1962), 361—382.

- [4] FAWCETT, D. W., und S. ITO: Observations on the cytoplasmic membranes of testicular cells, examined by phase contrast and electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **7** (1958), 135—142.
- [5] FELDMANN, A.: Phasenoptische Beobachtungen über Vakuolisierungserscheinungen bei *Allium cepa* L. *Protoplasma* **62** (1966), 317—338.
- [6] FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Cytologie. Schleiden-Vorlesung, *Nova Acta Leopoldina* **22** (1960), Nr. 147.
- [7] HONDA, S. L., T. HONGLADAROM und S. G. WILDMAN: Characteristic movements of organells in streaming cytoplasm of plant cells. In: "Primitive motile systems in cell biology", ed. by ALLEN und KAMYIA, Academic Press, New York und London (1964), 485—502.
- [8] KLIMA, J.: Das Bild des endoplasmatischen Reticulums von *Planaria alpina* in Abhängigkeit vom pH-Wert des Fixierungsmittels (I). *Protoplasma* **55** (1959), 415—435.
- [9] SOLBERG, R. A., und J. G. BALD: Cytoplasmic structure of healthy and TMV-infected living cells. *Amer. J. Bot.* **49** (1962), 149—157.
- [10] THAINE, R.: Surface associations between particles and the endoplasmic reticulum in protoplasmic streaming. *The New Phytologist* **64** (1965), 118—130.
- [11] URL, W.: Phasenoptische Untersuchungen an Innenepidermen der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* L. *Protoplasma* **58** (1964), 264—311.
- [12] URL, W., und H. BOLHAR-NORDENKAMPF: Beiträge zur Frage der lichtmikroskopischen Sichtbarkeit des endoplasmatischen Retikulums in Pflanzenzellen. *Österr. Bot. Z.* **112** (1965), 586—602.

Angaben zum Film

Der Film ist ein Forschungsdokument und wurde 1969 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 54 m, 5 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1968 im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien (Direktor: Prof. Dr. R. BIEBL); Dr. W. URL. Bearbeitet und veröffentlicht durch das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen (Direktor: Prof. Dr.-Ing. G. WOLF), Sachbearbeitung: Dr. H.-K. GALLE.

Inhalt des Films

Der Film zeigt in mäßiger bis schwacher Zeitraffung (4, 12 und 18 Bilder) im Phasenkontrast den Protoplasma wandbelag einer Gewebekulturzelle von *Nicotiana tabacum*.

Neben den Organellen, wie Leukoplasten, Mitochondrien, Sphärosomen und anderen nicht eindeutig zu identifizierenden, sieht man schlauchförmige, nicht kontrastierte, vakuolartige Gebilde, bei denen es sich um Elemente des endoplasmatischen Retikulums handelt. Der Film zeigt das Verhalten dieser Elemente in der Plasmaströmung, Verformbarkeit, Zerfallen und Verschmelzen.

Summary of the Film

By means of moderate to slight quick motion effects (4, 12 and 18 frames) the film shows in phase contrast the protoplasmic wall covering of a tissue culture cell of *Nicotiana tabacum*.

Aside from the organelles like leucoplasts, mitochondriae, sphaerosomes and others not readily identifiable, there are elements of the endoplasmic reticulum. The film shows the movements of the elements in the plasma flow, deformability, division and fusion.

Résumé du Film

Par des prises de vue effectuées dans un premier temps à 4, 12 i/sec. et dans un deuxième temps à 18 i/sec., on montre dans un contraste de phases l'enduit de protoplasme sur la paroi d'une cellule tissulaire de culture de la *Nicotiana tabacum*.

A part les organites tels que les leucoplastides, mitochondries, micrococcus et d'autres, qui ne sont pas nettement identifiables, on voit des formations utriculaires, non contrastées, et vacuolaires. Il s'agit là d'éléments du réticulum endoplasmatique. Le film montre le comportement de ces éléments dans le fluide plasmatique, leur aptitude à la déformation, leur décomposition et la restitution.