

Wpływ glukozy na elementy strukturalne jądra u *Lupinus albus* L.

Influence du glucose sur les éléments structuraux du noyau chez Lupinus albus L.

M. J. OLSZEWSKA

WSTĘP

Jądro i jego elementy strukturalne oraz jąderko reagują na stan odżywienia komórki.

U roślin głodzonych następuje zmniejszenie średnicy jądra, zmniejszenie a nawet zanik jąderka oraz zanikanie struktur chromatynowych jądra. Ostatnio podałam (1955) przegląd literatury dotyczącej tego zagadnienia oraz wyniki moich własnych obserwacji.

Tematem niniejszej pracy jest zachowanie się jądra u roślin uprzednio głodzonych, następnie umieszczonych na pożywce z glukozą. Zagadnienie to rozpatrywało szereg autorów: Sabline (1903) u *Vicia faba*, Maige (1922 a, b i 1925) u *Phaseolus vulgaris* i *Solanum tuberosum*, Hocquette i Prudhomme (1952), Hocquette, Montreuil i Serge (1952), Hocquette i Hocquette (1953) u *Phaseolus vulgaris* i *Cucurbita*, Olszewska (1953b) u *Lupinus albus* i *L. luteus*.

Według wspomnianych autorów po przeniesieniu roślin uprzednio głodzonych do pożywek zawierających cukier (najczęściej sacharozę) następuje: 1. Stosunkowo nieznaczny wzrost średnicy jądra, natomiast wybitny wzrost wymiarów jąderka (Maige 1922 a, b, 1925, Hocquette i Prudhomme 1952, Olszewska 1953 b). Sabline (1903) stwierdził jedynie wzrost wymiarów jądra. 2. Wzbogacenie jąder w chromatynę (Sabline 1903). U *Phaseolus vulgaris* według badań Hocquette'a i Prudhomme'a (1952) następuje wzrost liczby chromocentrów w jądrze. 3. Pojawienie się przy jąderku związanych z nim chromocentrów (Hocquette i Prudhomme 1952). 4. W porównaniu z roślinami głodzonymi następuje wzrost poziomu fosforu KRN (kwasu rybonukleinowego) (Hocquette, Montreuil i Serge, 1952). 5. Poziom fosforu KDN (kwasu dezoksyrybonukleinowego) u roślin

kontrolnych, u roślin głodzonych oraz u roślin uprzednio głodzonych, a następnie przeniesionych na pożywkę z sacharozą, nie ulega zmianie (Hocquette, Montreuil i Serge, l. c.).

W publikacjach Hocquette'a i jego współpracowników, ukazujących się w postaci krótkich komunikatów, brak jest danych dotyczących metodyki oraz liczebności materiału. Z tego względu wydało mi się celowe podjęcie badań dokładniejszych i przeprowadzonych na innym materiale.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły korzenie i części podliścieniowe *Lupinus albus* L. 2—3 dniowe zarodki pozbawione liścieni umieszczone były przez 15 dni w sterylizowanym piasku zwilżanym wodą destylowaną, w ciemności; temp. otoczenia wynosiła 18—21°C. Po tym okresie głodzenia rośliny były przenoszone do piasku zwilżanego wodnym roztworem glukozy i pozostawione również w ciemności, w tej samej temperaturze. Przed rozpoczęciem doświadczenia piasek był całkowicie zwilżony roztworem glukozy. Co 24 godziny dolewano do kultur odpowiednio dobraną ilość tej pożywki tak, aby utworzyła się na powierzchni piasku warstwa grubości ok. 2 mm. Stosowałam roztwory 1%, 2%, 4% i 6%. Przy tak postawionym doświadczeniu należało się liczyć z tym, że w miarę upływu dni doświadczenia stężenie glukozy w pożywce ulega zmianie. W tych samych dniach, kiedy pobierano materiał do utrwalania, oznaczano zawartość glukozy w pożywce metodą Hagedorna i Jensena. Po 24 godz. od przeniesienia roślin na pożywki z cukrem stężenie glukozy było najwyższe (dwukrotnie wyższe od stężeń początkowych), w następnych dniach stężenie glukozy przekraczało o ok. 25% stężenie początkowe.

Z każdego stężenia glukozy utrwalalam materiał po upływie 1 dnia, 2 dni, 4 dni i 7 dni przebywania roślin na tych pożywkach. Był to więc odpowiednio 1, 2, 4 i 7 dzień doświadczenia. Hodowle na 4% i 6% glukozy zakażały się po 5—6 dniach, wskutek czego nie udało mi się uzyskać zdrowego materiału z 4% i 6% glukozy po upływie 7 dni doświadczenia.

Rośliny kontrolne były wysiewane do doniczek z ziemią ogrodową i pozostawione w pracowni w normalnych warunkach oświetlenia. Utrwalano materiał równy wiekiem najstarszym roślinom doświadczalnym, tzn. liczącym 22 dni.

Korzenie długości ok. 7 mm licząc od wierzchołka wzrostu oraz wycinki z hypokotyli długości 0,5—1 cm od granicy korzenia utrwalalam w płynie Helly. Następnie materiał był płukany przez 48 godz. w wodzie bieżącej i po odwodnieniu zatopiony w parafinie. Skrawki mikrotomowe podłużne były krajane na grubość ok. 8 μ ; preparaty z hypokotyli roślin kontrolnych były krajane na grubość ok. 19 μ . Skrawki barwiłam hema-

toksyliną żelazową Heidenhaina, pyroniną i zielenią metylową według Chayena (1952) oraz stosowałam reakcję Feulgena, przy czym jąderka zabarwiałam zielenią jasną według Semmensa i Bhaduri; preparaty kontrolne były umieszczane w odczynniku Schiffa bez uprzedniej hydrolizy. Ekstrakcję KRN przeprowadzałam za pomocą 10% kwasu nadchlorowego według wskazówek Ericksona, Saxa i Ogura (1949); preparaty kontrolne były umieszczane w wodzie destylowanej.

Statystyczną istotność różnicy obliczałam według wzorów podanych przez Barbackiego (1951). Uzyskaną stąd wartość t porównywałam z wartością t z tabeli Fishera. Wartość ta zależy od ilości stopni swobody n i prawdopodobieństwa P wynosi:

	$P = 95\%$	$P = 99\%$
$n = 30$	2,042	2,750
$n = 60$	2,000	2,660
$n = 100$	1,960	2,576

Średnią ilość chromocentrów ustalałam na podstawie obliczeń u co najmniej 50 jąder dla kory pierwotnej strefy wydłużania korzenia oraz co najmniej 100 jąder miększu kory pierwotnej hypokotyła. Obok wartości średniej arytmetycznej \bar{x} podaję wartość odchylenia średniego s .

BADANIA WŁASNE

Po upływie kilku dni od przeniesienia roślin głodzonych na pożywkę z glukozą obserwuje się wyraźny wzrost roślin. Długość strefy merystematycznej korzenia znacznie się zwiększa. Już po 24 godz. przebywania roślin na pożywce z glukozą widoczne jest na preparatach zakładanie się korzeni bocznych.

Podobnie jak w badaniach przeprowadzonych u roślin głodzonych w niniejszej pracy obserwowałam zachowanie się euchromocentrów, euchromocentrów jąderkowych, jąderka oraz przebieg mitoz.

EUCHROMOCENTRY

U roślin kontrolnych, tj. posiadających liścienie, rosnących w ziemi ogrodowej, w normalnych warunkach oświetlenia, najczęściej spotyka się w jądrach 26—30 euchromocentrów, przy czym w miarę różnicowania tkanek średnia ilość euchromocentrów wzrasta (Olszewska 1954). Średnia ilość euchromocentrów w jądrach komórek kory pierwotnej w strefie wydłużania korzenia wynosi 27,6 ($s = 2,9$), a w jądrach miększu kory pierwotnej hypokotyła — 31,9 ($s = 7,7$). U roślin głodzonych (Olszewska 1955) w strefie wydłużania korzenia jest średnio 24,3

euchromocentrów ($s = 4,4$), w miększu kory pierwotnej hypokotyła — 28,2 ($s = 7,1$). Różnica średniej ilości euchromocentrów u roślin kontrolnych i głodzonych jest istotna statystycznie; dla strefy wydłużania korzenia $t = 8,25$, dla jąder miększu kory pierwotnej hypokotyła $t = 4,62$.

Wyniki obliczeń euchromocentrów u roślin uprzednio głodzonych, a następnie przeniesionych na pożywkę z glukozą przedstawione są na tabeli 1 i 2.

Tabela 1

L. albus L. Średnia ilość euchromocentrów w jądrach strefy wydłużania korzenia u roślin rosnących na pożywce z glukozą po uprzednim 15-dniowym głodzeniu
Quantité moyenne d'euchromocentres dans les noyaux de la zone d'allongement de la racine des plantes croissantes sur la substance nutritive contenant le glucose et précédé d'un jeûne de 15 jours

Początkowe stężenie glukozy w pożywce Concentration initiale du glucose dans la substance nutritive	Dni doświadczenia Jours de l'expérience							
	1		2		4		7	
	x	s	x	s	x	s	x	s
1%	23,7	4,2	27,5	5,0	brak danych		brak danych	
2%	24,8	6,4	28,0	3,4	27,5	6,3	28,8	4,3
4%	26,7	5,7	29,4	6,7	29,4	6,3	brak danych	
6%	27,1	3,4	28,8	4,0	30,0	4,0	brak danych	

Tabela 2

L. albus L. Średnia ilość euchromocentrów w jądrach miększu kory pierwotnej u roślin uprzednio głodzonych przez 15 dni, a następnie przeniesionych na pożywkę z glukozą

Quantité moyenne d'euchromocentres dans les noyaux du parenchyme corticale de l'axe hypocotylé des plantes croissantes sur la substance nutritive contenant le glucose et précédé d'un jeûne de 15 jours

Początkowe stężenie glukozy w pożywce Concentration initiale du glucose dans la substance nutritive	Dni doświadczenia Jours de l'expérience							
	1		2		4		7	
	x	s	x	s	x	s	x	s
1%	28,2	4,1	30,4	4,3	32,0	5,3	35,3	7,0
2%	29,0	4,9	29,3	4,1	32,0	4,0	37,7	6,1
4%	28,2	4,8	29,9	7,6	36,1	8,0	brak danych	
6%	29,2	1,6	30,6	5,8	39,2	8,1	brak danych	

Jak wynika z powyższych tabel, wydaje się, iż średnia ilość euchromocentrow w jądrze jest zależna od stężenia glukozy w pożywce. Jednak nie we wszystkich przypadkach różnice te są istotne statystycznie.

W strefie wydłużania korzenia różnica statystycznie istotna jest jedynie w 1 dniu doświadczenia między roślinami rosnącymi w 1% i 4% glukozy ($t = 2,63$), oraz między 1% i 6% glukozą ($t = 4,7$). W dalszych dniach doświadczenia wartość t obliczona dla 1% i 4% glukozy bliska jest wartości t z tablic Fishera, lecz jej nie przekracza.

W jądrach hypokotyli średnia ilość euchromocentrow różni się istotnie w różnych stężeniach glukozy dopiero w 4 dniu doświadczenia (z wyjątkiem glukozy 1% i 2%); dla roślin rosnących na pożywkach, w których początkowe stężenie glukozy wynosiło 2% i 4%, $t = 4,65$; przy początkowych stężeniach 4% i 6% $t = 2,63$. Dla glukozy 1% i 2% nawet w 7 dniu doświadczenia różnica nie jest istotna.

Średnia liczba euchromocentrow w jądrze wzrasta w miarę długości okresu przebywania roślin na pożywce z glukozą. Różnice między pierwszym a ostatnim dniem doświadczenia są w większości wypadków istotne statystycznie:

strefa wydłużania korzenia:

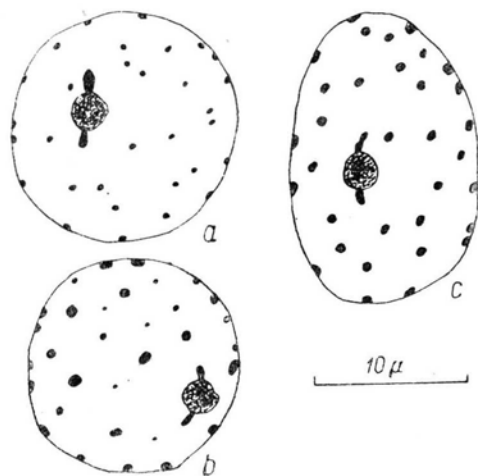
początkowe stęż. glukozy w pożywce	1%	1—2	dzień doświadczenia
$t = 4,18$			
początkowe stęż. glukozy w pożywce	2%	1—7	dzień doświadczenia
$t = 3,79$			
początkowe stęż. glukozy w pożywce	4%	1—4	dzień doświadczenia
$t = 1,75$ (różnica nieistot.)			
początkowe stęż. glukozy w pożywce	6%	1—4	dzień doświadczenia
$t = 3,76$			

miękkisz kory pierwotnej hypokotyli:

początkowe stężenie glukozy w poż.	1%	1—7	dzień doświadczenia
$t = 8,76$			
początkowe stężenie glukozy w poż.	2%	1—7	dzień doświadczenia
$t = 4,03$			
początkowe stężenie glukozy w poż.	4%	1—4	dzień doświadczenia
$t = 6,88$			
początkowe stężenie glukozy w poż.	6%	1—4	dzień doświadczenia
$t = 12,04$			

U roślin kontrolnych, równych wiekiem najstarszym roślinom doświadczalnym (a więc liczącym 22 dni), średnia liczba euchromocentrow

w jądrach strefy wydłużania korzenia wynosi 27,6, w korze pierwotnej hypokotyła — 30,6. W zestawieniu ze średnią ilością euchromocentrów w strefie wydłużania korzenia u roślin z 2% glukozy różnica nie jest istotna statystycznie, $t = 1,6$. (Z innych stężeń glukozy brak mi danych, dotyczących 7 dnia doświadczenia). Różnica w średniej ilości euchromocentrów w hypokotyli roślin kontrolnych 22-dniowych i w hypokotyli roślin z 1% glukozy, 7 dzień doświadczenia, jest istotna statystycznie, $t = 4,7$.



Ryc. 1. *L. albus* L. Różna wielkość chromocentrów w jądrach mięksiszu kory pierwotnej hypokotyła u roślin rosnących na pożywce z glukozą po uprzednim 15-dniowym głodzeniu

Grandeur différente d'euchromocentres dans les noyaux du parenchyme corticale de l'axe hypocotylé des plantes cultivées sur la substance nutritive, additionnée de glucose et précédées d'un jeûne de 15 jours

podobnie jak u roślin kontrolnych — na kolor niebiesko-zielony.

U roślin kontrolnych wszystkie euchromocentry są mniej więcej tej samej wielkości (Olszewska 1954). Natomiast u roślin uprzednio głodzonych, a następnie przeniesionych na pożywkę z glukożą obserwuje się różną wielkość euchromocentrów w poszczególnych jądrach (ryc. 1); najmniejsze euchromocentry leżą na granicy widzialności.

EUCHROMOCENTRY JĄDERKOWE

U roślin kontrolnych występują przy jąderku najczęściej 2 euchromocentry jąderkowe (Olszewska 1954). U roślin głodzonych zmniejsza się % jąder posiadających więcej niż 2 euchromocentry jąderkowe i nie-

Średnia ilość euchromocentrów w jądrach strefy wydłużania korzenia u roślin umieszczonych na pożywce z glukożą jest — podobnie jak u roślin kontrolnych i głodzonych — zawsze niższa od średniej ilości euchromocentrów w mięksiszu kory pierwotnej części podziemnej. Różnice te są istotne statystycznie z wyjątkiem 1 i 2 dnia na 4% glukozie.

W ciągu wszystkich dni doświadczenia euchromocentry reagują pozytywnie na odczynnik Schiffa (średnia ilość euchromocentrów obliczona na preparatach barwionych hematoksyliną jest bliską średniej ilości euchromocentrów uzyskanej z preparatów poddanych reakcji Feulgena). Zieleń metylowa barwi euchromocentry —

znacznie wzrasta % jąder z 1 euchromocentrem jąderkowym (Olszewska 1955).

U roślin rosnących na pożywce z glukozą (po uprzednim 15 dniowym głodzeniu) kształt euchromocentrow jąderkowych jest w zasadzie podobny do kształtu euchromocentrow jąderkowych u roślin kontrolnych (ryc. 2). Spotyka się jednak szereg obrazów, których nie widziałam u roślin kontrolnych. Widuje się

euchromocentry jąderkowe połączone „mostkiem“ Feulgen-pozytywnym, przebiegającym poprzez jąderko (ryc. 2c). Niekiedy spotykałam euchromocentry jąderkowe leżące blisko siebie, a nie na przeciwległych krańcach jąderka, jak u roślin kontrolnych (ryc. 2d). Bardzo częstym zjawiskiem jest występowanie na końcach euchromocentrow jąderkowych kulek

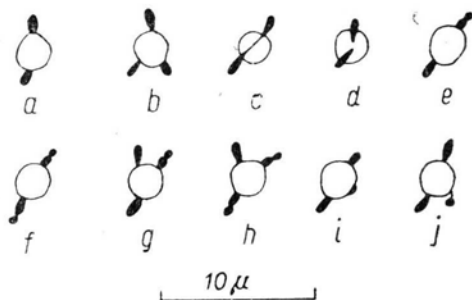
reagujących pozytywnie na odczynnik Schiffa. Kuleczki takie można obserwować zarówno przy 2 euchromocentrach jąderkowych (mogą występować na jednym z euchromocentrow jąderkowych — jak na ryc. 2e, lub na obu euchromocentrach jąderkowych — ryc. 2f), jak i w przypadku większej ich ilości (ryc. 2g, h). Nigdy nie obserwowałam więcej niż jedną kuleczkę odcinającą się od końcowej części euchromocentru jąderkowego.

Niekiedy można zauważyć pojawianie się na powierzchni jąderka drobnych ziarenek dających pozytywną reakcję Feulgena (ryc. 2i). Być może, że są to te same ziarenka Feulgen-pozytywne, które w innych jądrach znajdują się w pewnej odległości od jąderka, ale połączone są z nim nitką reagującą pozytywnie na odczynnik Schiffa (ryc. 2j).

Euchromocentry jąderkowe u roślin doświadczalnych, podobnie jak u kontrolnych, reagują pozytywnie na odczynnik Schiffa i barwią się zielenią metylową na charakterystyczny dla KDN niebiesko-zielony kolor.

Ilość jąder o różnej liczbie euchromocentrow jąderkowych jest zestawiona na tabeli 3. W obliczeniach tych euchromocentr jąderkowy z Feulgen-pozytywną kulką na końcu był liczony jako 1. (Dla przykładu: ryc. 2e—2 euchromocentry jąderkowe).

Na podstawie tych danych nie można znaleźć żadnej prawidłowości między stężeniem glukozy a ilością jąder, których jąderka mają więcej niż 2 euchromocentry jąderkowe, ani wpływem dni doświadczenia a ilością jąder zawierających więcej niż 2 euchromocentry jąderkowe.



Ryc. 2. *L. albus* L. Jąderka z chromocentrami jąderkowymi
Nucléoles avec les chromocentres nucléolaires

Tabela 3

Lupinus albus L. Ilość euchromocentrów jąderkowych w % w jądrach mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli u roślin rosnących na pożywce z glukozą

Quantité d'euchromocentres nucléolaires en % dans les noyaux du parenchyme corticale de l'axe hypocotylé des plantes cultivées sur les solutions du glucose

Początkowe stężenie glukozy w pożywce Concentration initiale du glucose dans la substance nutritive	Dzień doświadczenia Jour de l'expérience	Ilość jąder o liczbie euchromocentrów jąderk. La quantité de noyaux contenant le nombre d'euchromocentres nucléolaires			
		brak euchromocentrów jąderkowych l'absence d'euchr. nucléolaires	1	2	3 i więcej
1%	1	29	—	41	30
	2	—	—	71	29
	4	—	—	75	25
	7	—	—	82	18
2%	1	2	1	80	19
	2	—	—	87	13
	4	—	6	85	9
	7	—	—	52	48
4%	1	—	—	64	36
	2	—	—	65	35
	4	1	3	64	32
	7	—	brak danych		
6%	1	—	—	65	35
	2	—	—	90	10
	4	—	3	74	18
	7	—	brak danych		

W porównaniu z mięksiszem kory pierwotnej hypokotyli roślin głodzonych obserwuje się zmniejszenie ilości jąder z 1 euchromocentrem jąderkowym lub pozbawionych euchromocentrów jąderkowych, natomiast następuje wybitne zwiększenie ilości jąder z 3 lub więcej euchromocentrami jąderkowymi.

W porównaniu z mięksiszem kory pierwotnej hypokotyli roślin kontrolnych jest mniejszy % jąder z 3 lub więcej euchromocentrami jąderkowymi, przy czym obserwuje się duże wahania: od 10% do 48% jąder posiada więcej niż 3 euchromocentry jąderkowe. Maksymalna obserwowana przeze mnie ilość euchromocentrów jąderkowych wynosi 6 — znalazłam 1 takie jądro w mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli z 1% glukozy w 1 dniu doświadczenia; jądro to posiadało 24 euchromocentry.

JĄDERKO

W jądrach roślin kontrolnych występuje z reguły tylko 1 jąderko. U roślin głodzonych w strefie wydłużania korzenia 11%, a w mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli 40% jąder nie posiadało jąderka. Średnia wielkość jąderka ulega wskutek głodzenia zmniejszeniu o przeszło 90% (Olszewska 1953a, 1955).

Po przeniesieniu roślin głodzonych na pożywkę z glukozą następuje wzrost średnicy jąderka, przy czym obserwuje się pewną zależność między wymiarami jąderka a stężeniem glukozy w pożywce. W glukozie 6% w jądrach mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli wymiary jąderka przekraczają wymiary jąderka u roślin kontrolnych (Olszewska 1953b).

W jądrach strefy wydłużania korzenia, a także w jądrach merystemu korzeniowego przy obecności glukozy w pożywce (po uprzednim 15 dniowym głodzeniu) następuje jedynie wzrost średnicy jąderka. Natomiast w niektórych jądrach mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli poza zwiększeniem średnicy jąderka pojawiają się 2, zupełnie wyjątkowo 3 lub 4 jąderka. Na tabeli 4 zestawione są dane dotyczące ilości jąder posiadających więcej niż 1 jąderko.

Tabela 4

L. albus L. Ilość jąder w % posiadających 2 lub więcej jąderek w mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli roślin rosnących na pożywce z glukozą

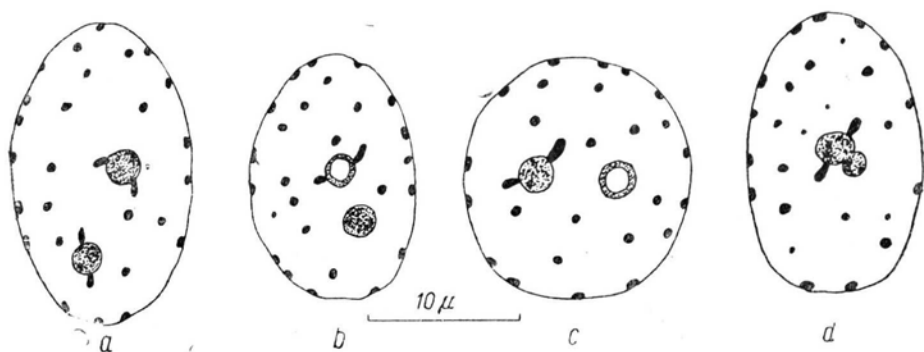
Quantité de noyaux en % contenant 2 ou davantage de nucléoles dans la parenchyme corticale de l'axe hypocotylé des plantes cultivées sur les solutions du glucose

Początkowe stężenie glukozy w pożywce Concentration initiale du glucose dans la substance nutritive	Dni doświadczenia Jours de l'expérience			
	1	2	4	7
1%	6	—	2	—
2%	10	5	—	—
4%	2	5	—	brak danych
6%	1	2	—	brak danych

Z danych tych wynika, że w mięksiszu kory pierwotnej hypokotyli jądra o dwóch i więcej jąderkach spotyka się głównie w dwóch początkowych dniach doświadczenia. Ponieważ w dalszych dniach doświadczenia takich obrazów nie spotyka się, można przypuścić, że jąderka te zlewają się w jedno. Na słuszność tego przypuszczenia wskazują także obrazy jąder, w których widoczne są 2 jąderka ściśle do siebie przylegające lub połączone wspólnym przesmykiem (ryc. 3).

W jądrach posiadających więcej niż 1 jąderko zupełnie wyjątkowo spotyka się przy jąderkach więcej niż 2 euchromocentry jąderkowe.

Nie zauważyłam żadnej prawidłowości w rozmieszczeniu komórek zawierających jądro z 2 lub więcej jąderkami. Komórki takie mogą występować po kilka w grupie, ale częściej występują one pojedynczo, otoczone komórkami posiadającymi 1 jąderko.



Ryc. 3. *L. albus* L. Jądra z dwoma jąderkami (a, b, c) i zlewanie się jąderek (d) w miększu kory pierwotnej hypokotyła
 Noyaux avec deux nucléoles (a, b, c) et la fusion des nucléoles (d) dans la parenchyme corticale de l'axe hypocotylé

W miększu kory pierwotnej hypokotyła roślin rosnących na glukozie 1% przez 1 dzień (po uprzednim 15 dniowym głodzeniu) jeszcze 100% jąder nie posiada jąderka.

W niektórych jąderkach znajdują się wakuole. Wakuole te (ryc. 3b, c) — podobnie jak u roślin głodzonych — nie przyjmują barwników i silnie załamują światło. Warstwa o różnej grubości otaczająca wakuole barwi się wszystkimi stosowanymi przeze mnie barwnikami (pyronina, zielń jasna, hematoksylina). W ten sposób substancja zawierająca KRN, stanowiąca otoczkę wakuoli jąderkowej, zajmuje w stosunku do swej objętości bardzo dużą powierzchnię i znajduje się w najbardziej zewnętrznej części jąderka.

Jąderka bez wakuol jednolicie przyjmują barwniki i barwią się pyroniną na charakterystyczny dla KRN malinowo-czerwony kolor.

PRZEBIEG MITOZY

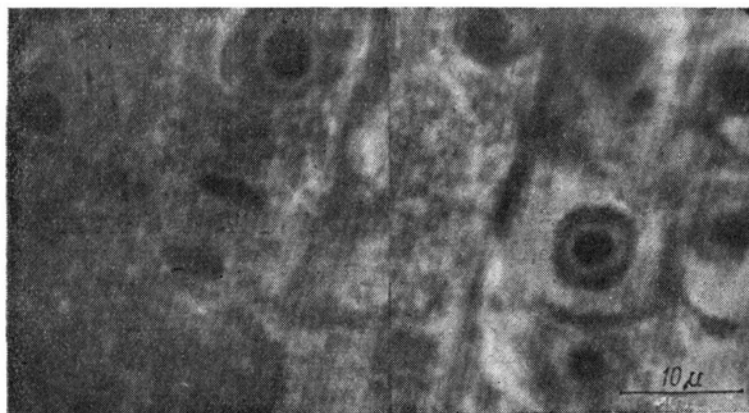
U roślin głodzonych przez 15 dni obserwuje się całkowity zanik aktywności mitotycznej (Olszewska 1955).

U roślin przeniesionych po 15-dniowym głodzeniu na pożywkę z glukozą już po 24 godz. widoczne są podziały mitotyczne w komórkach merystemu wierzchołkowego korzenia (z wyjątkiem roślin rosnących w 1% glukozie, u których mitozy pojawiają się później).

Na 206 mitoz zaobserwowanych w merystemie korzeniowym rośliny głodzonej przez 15 dni, a następnie umieszczonej przez 24 godz. w 2% glukozie, telofazy stanowią 51,5%, anafazy — 19,5%, metafazy — 28,6%, profazy — 0,4%. Zważywszy, że czas trwania mitozy wynosi kilka godzin, można przyjąć, że po około 20 godz. przebywania roślin na 2% glukozie pojawia się seria mitoz, które są prawdopodobnie pierwszymi mitozami zachodzącymi po okresie głodzenia.

W 7% mitoz (metafaz, anafaz i telofaz) zachowane jest jąderko, podczas gdy u roślin kontrolnych jąderko jest zachowane w 20% mitoz.

W początkowym okresie doświadczeń z glukożą obszar występowania mitoz ograniczony jest do kilku najbardziej zewnętrznych warstw komórek peryblemu. Komórki te także i pod innymi względami różnią się od innych komórek merystemu korzeniowego. W komórkach znajdujących się w tej części wierzchołka wzrostu, gdzie zachodzą mitozy, cytoplazma jest gęsta i barwi się na intensywny czerwony kolor pyroniną.



Ryc. 4. *L. albus* L. 5 zewnętrznych warstw peryblemu w merystemie korzenia. Z lewej strony widoczne są komórki z gęstą pyroninofilną cytoplazmą
Cinq couches externes du périlème dans le méristème racinaire. On remarque à gauche des cellules avec le cytoplasme compacte et pyroninophile

(Za pomocą metody ekstrahowania KRN stwierdziłam, że zabarwienie to odpowiada obecności KRN w cytoplazmie). Wakuole są drobne, często nawet nitkowate, jądro znajduje się pośrodku komórki (ryc. 4). Natomiast komórki, w których mitozy na razie nie zachodzą, znajdujące się w wewnętrznej części peryblemu, wyglądają podobnie jak komórki merystemu korzeniowego roślin głodzonych; duża, jedyna wakuola wypełnia prawie całą komórkę, a jądro jest zepchnięte do błony komórkowej. Cytoplazma, stanowiąca przyścienną warstwę, nie barwi się pyroniną.

DYSKUSJA

Zmiany w ilości euchromocentrow w jądrach komórek roślinnych w zależności od warunków odżywienia były dotąd opisane w pracach Hocquette'a i jego współpracowników (Hocquette i Prudhomme 1952, Hocquette i Hocquette 1953, Hocquette 1954a).

Ubywanie euchromocentrow (lub utrata przez nie tych cech chemicznych i fizyko-chemicznych, dzięki którym wykrywa się je za pomocą stosowanych metod) jest związane prawdopodobnie z zanikaniem z jądra substancji, które zostały włączone w procesy o charakterze anabolicznym (dominujące w warunkach głodzenia) i nie zostały odtworzone (Olszewska 1955).

Znana hipoteza Casperssona (1950; Rodkiewicz, Przełęczka, Poznanska 1956) przypisuje główną i decydującą rolę jądra w syntezie białkowej. Według Casperssona pierwszym etapem w syntezie białek jest intensywne produkcje dezoksyrybonukleoproteidów i białek bogatych w kwasy dwuaminowe oraz mniejsze ilości rybonukleotydów w odcinkach chromozomów związanych bezpośrednio z jąderkiem, tzw. heterochromatycznych.

U roślin głodzonych a następnie przeniesionych na pożywkę z glukozą istnieją — jak się wydaje — warunki do intensywnej produkcji białek. Materiał wyjściowy istnieje w postaci dużych ilości azotu w połączeniach nieorganicznych, przede wszystkim azotanów, jako wyniku głodzenia (wykazały to badania Hocquette i Bustraen, 1953), oraz glukoza dodana do pożywki. Zwiększona ilość euchromocentrow mogłaby być — zgodnie z cytowaną wyżej hipotezą Casperssona — wyrazem intensywnej syntezy białkowej.

Podobne stanowisko w sprawie związku między pojawianiem się nowych ziarnistości chromatynowych a wzmożoną produkcją białek zajmuje Hocquette ze swymi współpracownikami, czemu daje wyraz w licznych cytowanych już pracach. Jednak Hocquette i Hocquette (1953) posługując się nie przekonywającą techniką cytochemiczną (metoda barwienia May-Grünwalda i Giemsy) stwierdzają pojawianie się na chromocentrach w okresie „regeneracji“ (co oznacza, według tych autorów, okres po przeniesieniu roślin uprzednio głodzonych na pożywkę z glukozą) zabarwienia odpowiadającego obecności KRN. W moim materiale takiego zjawiska nie stwierdziłam.

Hocquette uznaje — dyskutowane ciągle — prawo Boivin-Vendrey o stałości poziomu KDN. Popiera je zresztą badaniami o charakterze ilościowym (Hocquette, Montreuil i Serge, 1952), z których wynika, że zarówno w okresie głodzenia, jak i w okresie „re-

generacji“ zawartość KDN utrzymuje się na tym samym poziomie. Metody stosowane przeze mnie mają charakter jedynie jakościowy, wydaje mi się jednak, że przy tak dużych różnicach w ilości chromocentrów nie jest możliwe zachowanie stałego poziomu KDN niezależnie od rodzaju doświadczenia. Prace Holmesa, Mee, Hornseya i Gray'a (1955), Konarewa (1955), Gruna (1956) wskazują, że w miarę różnicowania tkanek wzrasta poziom KDN w jądrach. W moim materiale — zarówno kontrolnym (1954), jak i doświadczalnym (1955 i praca niniejsza) — w miarę różnicowania tkanek wzrasta przeciętna ilość i wielkość euchromocentrów w jądrach. Na tych podstawach można wysunąć przypuszczenie, że ilość i wielkość euchromocentrów może być wskaźnikiem poziomu KDN w jądrze. W takim razie zmiany w ilości i wielkości euchromocentrów w różnych warunkach doświadczenia mogłyby wskazywać na zmianę w ilości KDN.

Poprzednio przedyskutowałam (1954 i 1955) rolę euchromocentrów jąderkowych. Wydaje się, że ze względu na heterochromatynowy charakter i połączenie z jąderkiem mogą one pełnić szczególnie aktywną rolę w jądrze metabolicznym. Podobny pogląd na te utwory wyrazili ostatnio Ohno i Kinoshita (1956). U roślin głodzonych euchromocentry jąderkowe można wyróżnić nawet po zaniknięciu jąderka (Olszewska 1955). Badania Gottschalka (1955) wskazują, że u niektórych roślin w tkankach merystematycznych występują chromocentry, a w tkankach zróżnicowanych zamiast chromocentrów widoczna jest siateczka chromatynowa; w jądrach tkanek zróżnicowanych zawsze jednak przy jąderkach występują fragmenty SAT-chromozomów pod postacią chromocentrów. Fakty te wskazują na trwały charakter morfotyczny chromocentrów jąderkowych. Powstawanie Feulgen-pozytywnych ziarenek na krańcach euchromocentrów jąderkowych w doświadczeniach z glukozą, opisane w niniejszej pracy, potwierdza moje przypuszczenia o dużej aktywności tych utworów.

Przy rozpatrywaniu, w jaki sposób — z punktu widzenia morfologicznego — powstają nowe euchromocentry w doświadczeniach z glukozą, należałoby rozpatrzyć co najmniej 3 możliwości: 1) nowe euchromocentry wyłaniają się bezpośrednio z kariolimfy, 2) nowe euchromocentry powstają na drórze „pączkowania“ euchromocentrów jąderkowych, 3) nowe euchromocentry wytwarzają się na powierzchni jąderka, następnie odrywają się od niego i wędrują w kierunku błony jądrowej.

Na poparcie przypuszczenia pierwszego można przytoczyć występowanie w niektórych jądrach bardzo drobnych chromocentrów, których wymiary leżą na granicy widzialności mikroskopu. Więcej jednak dowodów przemawia za słusznością przypuszczenia wysuniętego w p. 2 i 3: występowanie okrągłych ciałek Feulgen-pozytywnych na krańcach eu-

chromocentrów jąderkowych oraz pojawianie się na powierzchni jąderka większej ilości chromocentrów. Powstawanie przy jąderku ziarenek Feulgen-pozytywnych przy doświadczeniach z glukozą obserwowali także Hocquette i Prudhomme (1952).

Wobec zależności liczby euchromocentrów od stanu odżywienia komórki należałoby przyjąć, że w jądrach o tym typie struktury mogą istnieć dwa rodzaje ziarnistości chromatynowych. Jedne z nich są genetycznie związane z chromozomami; są to właściwe euchromocentry. Drugi rodzaj — to ziarnistości pojawiające się w związku ze wzmożonym metabolizmem komórki; Hocquette i współpracownicy nazywają je „les amas chromatiques“. Odróżnienie obu tych typów ziarnistości w jądrze spoczynkowym nie jest w tej chwili możliwe i dlatego wydaje mi się słuszniejszy dla tego typu elementów strukturalnych jądra termin bardziej ogólny: chromocentry.

Zmniejszanie się zawartości KRN przy głodzeniu, połączone ze zmniejszaniem się i zanikiem jąderka, podnoszenie się poziomu KRN i zwiększanie średnicy jąderka zgodne jest z poglądem, że wzmożonej produkcji białek w komórce towarzyszy wzrost poziomu KRN.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

Rośliny głodzone przez 15 dni (tj. pozbawione liścieni i rosnące na wodzie destylowanej) przenoszono na pożywki zawierające wodne roztwory glukozy w różnym stężeniu. W jądrach strefy wydłużania korzenia i w miększu kory pierwotnej hypokotyła pojawiają się nowe chromocentry. Średnia ilość chromocentrów: 1) wzrasta w miarę upływu doświadczenia z glukozą, 2) wydaje się być zależna od stężenia glukozy w pożywce, 3) w jądrach miększu kory pierwotnej hypokotyła jest większa niż w strefie wydłużania korzenia. Różnice te są w większości wypadków istotne statystycznie.

U roślin rosnących na pożywce z glukozą od 10% do 48% jąder zawiera więcej niż 2 euchromocentry jąderkowe. Na krańcach chromocentrów jąderkowych pojawiają się ziarenka Feulgen-pozytywne.

Po przeniesieniu roślin głodzonych na pożywki z glukozą następuje wzrost średnicy jąderka, a w początkowym okresie doświadczeń z glukozą obserwuje się jądra z 2, wyjątkowo 3 i 4 jąderkami. Jąderka te następnie zlewają się w jedno.

Po upływie 24 godzin od przeniesienia roślin głodzonych na pożywkę z glukozą w merystemie korzeniowym pojawiają się mitozy, które początkowo zachodzą jedynie w zewnętrznych warstwach peryblemu, w komórkach zawierających gęstą, pyroninofilną cytoplazmę.

Nowe chromocentry prawdopodobnie powstają: 1) na drodze „pączkowania“ chromocentrów jąderkowych, 2) bezpośrednio na powierzchni jąderka, 3) wyłaniają się z kariolimfy.

Pojawianie się nowych chromocentrów jest związane ze wzmożoną syntezą białkową.

Prof. drowi F. Skupieńskiemu i prof. dr A. Wałek-Czarneckiej serdecznie dziękuję za cenne wskazówki i rady.

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 13.IV.1956 r.)

R É S U M É

Les plantes soumises au jeûne de 15 jours (c. à. d. dépourvues de cotylédons et nourries à l'eau distillée) furent placées sur les substratums contenant les solutions de glucose aux différentes concentrations. Dans les noyaux de la zone d'allongement de la racine et dans la parenchyme corticale de l'axe hypocotylé apparaissent des nouveaux chromocentres. La quantité moyenne de chromocentres 1. augmente déjà à la suite de la manipulation avec le glucose, 2, semble dépendre de la quantité de glucose dans le milieu nutritif, 3. dans les noyaux du parenchyme corticale d'hypocotyle elle est plus grande que dans la zone d'allongement de la racine. Ces différences sont dans la majorité de cas significatives au point de vue statistique.

Chez les plantes cultivées sur la glucose il y a 10% à 48% de noyaux ayants plus que 2 chromocentres nucléolaires. Sur les bouts des chromocentres nucléolaires apparaissent des granules Feulgen-positifs.

Après avoir transporté les plantules privées de nourriture sur le substratum contenant la solution de glucose, on constate l'acroissement du diamètre du nucléole et dans la première phase de l'expérience on observe les noyaux à 2 et quelquefois 3 et 4 nucléoles. Ces derniers se fusionnent finalement en un seul.

Après 24 h. depuis le transport des plantules privées de nourriture sur le substratum contenant le glucose, on observe dans le méristème radiculaire l'apparition de mitoses dans les cellules contenant le cytoplasme compacte et pyroninophile.

Des nouveaux chromocentres apparaissent probablement 1. à la suite du bourgéonnement de chromocentres nucléolaires, 2. directement sur la périphérie du nucléole, 3. naissent dans la caryolympe. Apparition de nouveaux chromocentres est en liaison avec l'augmentée synthèse protidique.

L I T E R A T U R A

- Barbacki S., 1951, Doświadczenia kombinowane, PWRiL, Warszawa, 96 s.
Caspersson T. O., 1950, Cell growth and cell function, W. W. Norton and Comp. Inc., New York, 185 pp.
Chayen J., 1952, The methyl-green-pyronin-method, Exp. Cell. Res., 3, nr 4.

- Erickson R. O., Sax K. B., Ogur M., 1949, Perchloric acid in the cytochemistry of pentose nucleic acid, *Science* 110 : 472—473.
- Gottschalk W., 1955, Vergleichend cytologische Untersuchungen an den Ruhe- und Arbeitskernen verschiedener pflanzlicher Gewebe, *Planta* 45 : 147—165.
- Grun P., 1956, Changes during interphase in nucleic acid and protein content of *Tradescantia* root tip nuclei, *Exp. Cell. Res.* 10 : 29—39.
- Hocquette M., 1954a, Amas chromatiques, nucléoles et synthèse protidique, *C. R. Ac. Sc.* 238 : 607—609.
- Hocquette M., 1954b, Noyaux interphasiques et noyaux quiescents (types à eu-chromocentres), acides désoxyribonucléiques et individualité des chromosomes, VIII-e Congr. Intern. Bot. Paris, sec. 9 et 10, 106—107.
- Hocquette H., Gilbin B., Hutin R., 1955, Action de l'acide β -indoloacétique sur les noyaux quiescents au cours de la synthèse protidique (noyaux à eu-chromocentres), *C. R. Ac. Sc.* 240 : 1126—1127.
- Hocquette M. et M-me Hocquette, 1953, Les régions hétérochromatiques du noyau quiescent de *Cucurbita* et de *Phaseolus*. Action de l'acide folique, *C. R. Ac. Sc.* 236 : 841—844.
- Hocquette M. et M-me Hocquette, 1954, Rôle physiologique du nucléole dans le noyau quiescent, VIII-e Congr. Intern. Bot. Paris sec. 9 et 10, 107—108.
- Hocquette M., Montreuil J. et Serge P., 1952, Variations quantitatives du phosphore total, du phosphore des acides ribo- et désoxyribonucléiques dans l'axe hypocotylé de *Phaseolus vulgaris* au cours de la germination normale, jeûne glucidique après ablation des cytolédons et de la régénération cellulaire, *C. R. Ac. Sc.* 235 : 1525—1527.
- Hocquette M. et Bustræen G., 1953, L'azot et ses variations quantitatives dans les axes hypocotylés de *Phaseolus* au cours du jeûne et de la régénération cellulaire par nutrition glucidique, *Bull. Soc. Bot. Nord Fr.*, 6 : 55—57.
- Hocquette M. et Prudhomme V., 1952, Structure nucléaire dans l'axe hypocotylé de *Phaseolus vulgaris* L. pendant le jeûne glucidique et au cours des diverses étapes de la régénération cellulaire, *C. R. Ac. Sc.* 234 : 1472—1474.
- Holmes B. E., Mee L. K., Hornsey B., Gray L. H., 1955, The nucleic acid content of cell in meristematic, elongating and fully elongated segments of roots of *Vicia faba*, *Exp. Cell Res.* 6 : 101—113.
- Konarew W. G., 1953, O powiedzeniu nukleinowych kisłot rastienij w usłowjach gołodogo obmiena, *D. A. N. S. S. S. R.* 89 : 554—555.
- Konarew W. G., 1955, O razpriedelenii nukleinowych kisłot w toczkach rosta pobiega i kornia, *D. A. N. S. S. S. R.* 102 : 361—364.
- Maige A., 1922a, Influence de la nutrition organique sur les noyaux des cellules végétales, *C. R. Soc. Biol.* 87 : 1297—1300.
- Maige A., 1922b, Influence de la nature des substances organiques sur la formation de l'amidon dans les cellules végétales, *C. R. Soc. Biol.* 87 : 303—304.
- Maige A., 1925, Alimentation hydrocarbonée de la cellule et variations nucléaires et plastidales, *La Cellule* 35 : 327—340.
- Ohno S., Kinoshita R., 1956, On the nucleolus associated chromatin, *Exp. Cell Res.* 10 : 66—70.
- Olszewska M. J., 1953a, Influence du jeûne forcé sur la grandeur de noyaux et du nucléole chez *Lupinus albus* L. et *Lupinus luteus* L. *Bull. Soc. Sc. et Let. de Łódź Cl. III*, 4 (13).

- Olszewska M. J., 1953b, L'influence de différentes concentrations de glucose sur les dimensions du noyau et du nucléole chez *Lupinus albus* L. et *Lupinus luteus* L. Bull. Soc. Sc.^e et Let. de Łódź Cl. III, 4 (10).
- Olszewska M. J., 1954, Obserwacje nad euchromocentrami i jąderkiem u *Lupinus albus* L. i *Lupinus albus* L., Acta Soc. Bot. Pol., 23 : 699—725.
- Olszewska M. J., 1955, Obserwacje nad wpływem głodzenia na jądro i jąderko u *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus* L., Acta Soc. Bot. Pol., 24: 647—662.
- Rodkiewicz B., Przełęcka A., Pozn'ańska H., 1956, Kwasy nukleinowe w komórce, Postępy Biochemii 2: 283—296.
- Sablina M. V., 1905, L'influence des agents externes sur la division des noyaux dans les racines de *Vicia faba*, Rév. Gén. Bot. 15: 481—497.