

KRYSTYNA TURAŁA-SZYBOWSKA

## Z OSTATNICH BADAŃ NAD ENDOMITOZĄ U *Angiospermae*

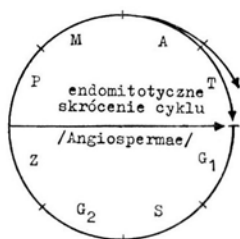
Endomitoza filogenetycznie wywodzi się od mitozy. Endomitoza występująca u *Angiospermae* może być traktowana jako skrócenie cyklu mitotycznego w bardzo wczesnej profazie, w tzw. stadium rozpylenia („Zerstäubung”, Tschermak-Woess i Hasitschka 1953). W cyklu endomitotycznym u roślin nie dochodzi więc do wykształcenia i funkcjonowania wrzeciona, brak jest również spiralizacji chromosomów.

W interfazie zarówno mitotycznego, jak i endomitotycznego cyklu chromosomowego, można wyróżnić kilka stadiów (ryc. 1). W stożku wzrostu korzenia dwóch badanych gatunków *Allium* (Nagl 1968, 1970a, 1970b) stadia  $G_1$  i  $G_2$  jąder interfazowych różnią się strukturą jąder: jądra w stadium  $G_1$  wykazują w drobnoziarnistej strukturze euchromatynowej kilka małych chromocentrów, natomiast jądra w  $G_2$  mają strukturę euchromatynową bardziej gęstą, a chromocentry są powiększone (ryc. 2). Związane jest to z pomnożeniem materiału chromosomowego (replikacją DNA i syntezą histonów), które zachodzi w stadium S, występującym między stadiami  $G_1$  i  $G_2$ . W okresie syntezy DNA heterochromatyna występuje w stanie skondensowanym i tworzy chromocentry (Nagl 1970a). Porównanie objętości jąder interfazowych daje dwuszczytową krzywą, przy czym objętości jąder w stadiach  $G_1$  i S skupiają się wokół jednego wierzchołka, natomiast objętości jąder w stadium  $G_2$  wokół wierzchołka drugiego (ryc. 2).

Dla endomitozy *Angiospermae* charakterystyczne jest tzw. stadium rozpylenia Z (ryc. 1), występujące również w bardzo wczesnej profazie mitotycznej. W stadium tym heterochromatyna ulega dekondukcji: chromocentry rozpadają się na heterochromomery, a elementy euchromatynowe rozkładają się równomiernie w obrębie jądra. W szczytowym punkcie endomitozy wszystkie chromomery wykazują podobną wielkość i barwliwość, tak, że jądro posiada strukturę homogeniczną. W stadium rozpylenia następuje rozdział podwojonych uprzednio chromosomów na nowe chromatydy, a zatem zarówno w mitozie, jak i w endomitozie synteza DNA i rozdział chromatyd przypadają na dwa różne stadia cyklu chromosomowego (Nagl 1970a, 1970b). Bezpośrednio po stadium rozpylenia w jądrze zostaje odtworzona drobnoziarnista struktura euchromatynowa charaktery-

czna dla stadium  $G_1$  i pojawiają się chromocentry; ilość elementów eu- i heterochromatynowych ulega jednak zwiększeniu („Studium der Neu-Organisation”, Nagl 1968).

Stadium rozpylenia zostało stwierdzone we wszystkich przypadkach endomitozy u *Angiospermae*, w jądrach endopoliploidalnych wykazujących różne struktury (Tschermak-Woess i Hasitschka 1953, Carniel 1952, Nagl 1965, Turała 1969a). Średnie objętości jąder będących w tym stadium wykazują wartość pośrednią między objętościami jąder o określonych stopniach ploidalności. W przypadku endomitozy po stadium rozpylenia cykl chromosomowy nie awansuje się dalej, jak w mitozie, lecz następuje przejście do stadium  $G_1$  jądra interfazowego następnego cyklu (ryc. 1).

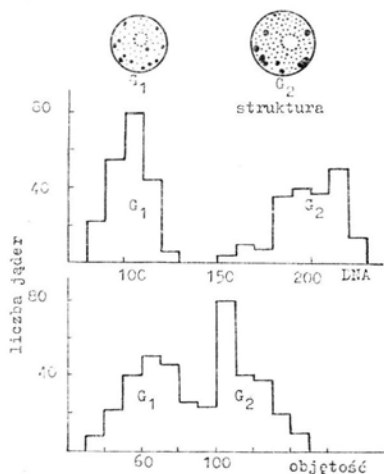


Ryc. 1. Endomitotycznie skrócony cykl chromosomowy u *Angiospermae*.  $G_1$  — stadium pre-syntetyczne; S — okres syntezy DNA;  $G_2$  — stadium post-syntetyczne; Z — stadium rozpylenia („Zerstäubung”) bardzo wczesnej profazy; P — profaza; M — metafaza; A — anafaza; T — telofaza. Strzałki wskazują kierunek przebiegu cyklu (wg Nagla 1971b)

Wynikiem endomitozy jest podwojenie ilości jądrowego DNA i podwojenie objętości jądra stanowiące o podwyższeniu stopnia ploidalności. Ponieważ endomitotyczna poliploidyacja związana jest z różnicowaniem komórek i tkanek, najczęściej występują po sobie liczne endomitozy prowadzące niekiedy do wysokich stopni endopoliploidalności. U *Angiospermae* na skutek braku kondensacji chromosomów w czasie endomitozy, podwyższoną liczbę chromosomów stwierdza się przeważnie pośrednio na podstawie rytmicznego wzrostu ilości DNA oraz objętości jąder poliploidalnych w stosunku do jąder o wyjściowym stopniu ploidalności. Jeżeli chodzi o pomiary DNA, to wykonywane są one metodą spektrofotometryczną lub autoradiograficzną (Tschermak-Woess 1956, Nagl 1968, 1970b, Avanzi, Cionini i D’Amato 1970), natomiast objętości jąder oblicza się mierząc ich trzy średnice (Tschermak-Woess i Hasitschka 1953). W wyjątkowych tylko przypadkach, w jądrach o niższych stopniach poliploidalności po endomitozach obserwowane były spontaniczne mitozy poliploidalne pozwalające na bezpośrednie określenie stopnia ploidalności jąder. W endospermie *Cucumis sativus* (Enzenberg 1961) obserwowane były takie mitozy w jądrach do  $24n$ , natomiast w endospermie *Echinocystis lobata* (Turała 1966a) w jądrach o maksymalnym stopniu ploidalności  $48n$ . Udało się również w niektórych tkankach jądra endopoliploidalne pobudzić do podziałów działaniem substancji wzrostowych lub bodźcami traumatycznymi

(Tschermak-Woess 1971). W parenchymie łodygi *Cereus spachianus* (Fenzl i Tschermak-Woess 1954) indukowano mitozy w jądrach nawet do 64n.

W przeciwieństwie do mitozy, cykl endomitotyczny umożliwia nieprzerwaną syntezę RNA w ciągu całego cyklu chromosomowego (Nagl 1970e, 1971b), co związane jest z brakiem spiralizacji chromosomów. Wzrost ilości RNA, a co za tym idzie — wzrost syntezy białka, przyczyniają się do specyficznego podniesienia aktywności komórki. Uwidacznia się to między innymi w powiększeniu aparatu jąderka, którego rozmiary znacznie przekraczają jego rozmiary w jądrze o wyjściowym stopniu ploidalności. Niekiedy tworzą się w jądrach endopoliploidalnych dodatkowe jąderka (Tschermak-Woess i Enzenberg-Kunz 1965, Turała 1966b Nagl 1967). Cały ten proces ma ważne znaczenie dla szybkiego wzrostu i specjalizacji komórek oraz tkanek, a stała aktywność chromosomów stanowi jedną z najważniejszych cech cyklu endomitotycznego.



Ryc. 2. *Allium flavum*, merystem stożka wzrostu korzenia. Struktura (pólschematycznie), ilość DNA i objętość (w jednostkach względnych) jąder interfazowych (wg Nagla 1970e)

Jeżeli chodzi o występowanie mitoz i endomitoz w obrębie jednego organu, to np. w korzeniu w części merystematycznej przebiegają mitozy, natomiast w strefie różnicowania endomitoz (Tschermak-Woess 1956, Nagl 1971b); podobnie jest i w innych organach. Stwierdzono, że sekwencja nukleotydów w RNA jest inna w strefie merystematycznej niż w pozostałych częściach korzenia (Heyes 1963, Börner i Ramshorn 1968 wg Nagla 1971b), co przemawia za tym, że w różnych strefach tego organu są aktywne różne geny i dlatego zachodzą tam dwa odmienne cykle chromosomowe. Ponadto na podstawie zmieniającego się w czasie rozwoju stosunku histonów do DNA (Sauter 1969) przypuszcza się, że na regulację aktywności genów pośredni wpływ mogą mieć również bogate w lizynę histony, które działają jako represory przez wpływ na kondensację chromatyny. Z badań eksperymentalnych Nagla (1971a) wynika, że poziom substancji wzrostowych w strefie różnicowania wpływa również na pojawienie się endomitoz w miejsce mitoz.

Cykl mitotyczny może być eksperymentalnie skrócony do bardzo wczesnej profazy, czyli do cyklu endomitotycznego przez działanie środków hamujących syntezę RNA: aktynomycyny i bogatego w lizynę histonu (Nagl 1970c). Porównując wpływ tych substancji na oba cykle, można stwierdzić, że mitozy są w większym stopniu przez nie hamowane niż endomitozy. Autor przypuszcza, że dla procesu mitozy związanego z tworzeniem wrzeciona, spiralizacją chromosomów itp., wymagana jest synteza specyficznego RNA, którego obecność nie jest konieczna dla przebiegu endomitozy.

Ponadto endomitoza będąc pewnym określonym genetycznie typem zahamowanej mitozy w jej bardzo wczesnym stadium profazowym, podlega tym samym mechanizmom kontrolnym co mitoza, a więc działaniu takich czynników zewnętrznych, jak: temperatura, odżywianie organizmu, długość okresu świetlnego, działanie substancji chemicznych itp. (Tschermak-Woess 1971, Nagl 1972).

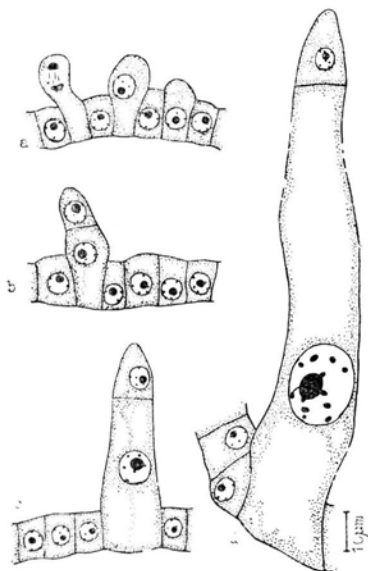
Endomitotyczna poliploidyzacja jest szeroko rozpowszechniona u *Angiospermae* (Geitler 1953, Tschermak-Woess 1956, 1971, D'Amato 1964, Pogan 1964). Opisano ją we wszystkich niemal tkankach, przy czym szczególnie często stwierdzono jej występowanie w tkankach o charakterze wydzielniczym i troficznym, jak: włoski wydzielnicze (Tschermak-Woess i Hasitschka 1953, 1954, Turała 1960 (ryc. 3), tapetum pylnikowe (Carniel 1952, Turała 1963), endosperma (Enzenberg 1961, Tschermak-Woess i Enzenberg-Kunz 1965, Turała 1966a, 1969a). Na rozpowszechnienie procesów endomitozy wskazuje fakt, że dotychczas nie podawano ich tylko w komórkach szparkowych (Tschermak-Woess 1971). W tkankach różniących się na drodze endomitotycznej poliploidyzacji, np. w endospermie (Enzenberg 1961, Turała 1966), często występuje specyficzny układ komórek różniących się stopniem ploidalności jąder, ich strukturą, zdolnością do podziału mitotycznych itp. Układ ten jest wyrazem zróżnicowania kariologicznego danej tkanki, a jego analizą zajmuje się anatomia kariologiczna.

W pewnych grupach systematycznych endomitozy występują bardzo często towarzysząc różnicowaniu licznych tkanek, w innych grupach systematycznych są rzadsze, w jeszcze innych brak ich zupełnie. Przykładami mogą tu być gatunki rodz. *Cucurbitaceae*, gdzie endomitotyczna poliploidyzacja jest bardzo rozpowszechniona (Lauber 1947, Tschermak-Woess i Hasitschka 1953, 1954, Enzenberg 1961, Turała 1960, 1971), natomiast brak jej w rodz. *Compositae* (Tschermak-Woess 1971). Wskazuje to na uwarunkowanie genetyczne występowania tego cyklu chromosomowego.

Wysokie stopnie endopoliploidalności u *Angiospermae* zostały stwierdzone w obrębie woreczka załączkowego (antypody, synergidy, suspensor, haustoria endospermowe, endosperma właściwa). Do najwyższych opisanych dotąd u roślin stopni poliploidalności należą 4096n jądra suspensora *Phaseolus coccineus* (Nagl 1962), 3072n jądra endospermy właściwej *Echinocystis lobata* (Turała 1966a) i wreszcie około 24000n jądra haustorium endospermowego *Arum maculatum* (Erbrich 1965). W wegetatywnych organach stopnie endopoliploidalności są znacznie niższe i np. w komórkach miękiszowych korzenia czy łodygi sięgają przeważnie do 16n (Tschermak-Woess 1956).

Badania ostatnich lat (Hesse 1968, 1969) wykazały, że endomitotyczna poliploidyzacja zachodzi również w galasach wytwarzających się wskutek zaatakowania roślin przez niektóre owady. Stopień endopoliploidalności wzrasta najczęściej w kierunku od zewnętrznych części tumoru do centrum i w tumorze wywołanym przez *Mayetiola poae* (Diptera, Cecidomyidae) występującym na *Poa nemoralis* może sięgać do 4096n (Hesse 1969). Poliploidyzacja tkanek jest przypuszczalnie wywołana działaniem specyficznych substancji wytwarzanych przez owady.

Jądra endopoliploidalne wykazują często odmienną strukturę w porównaniu do jąder o wyjściowym stopniu ploidalności (Tschermak-Woess 1963). Struktury te mogą być różnorodne w obrębie jednej tkanki i dotyczą różnic w stopniu spi-



Ryc. 3. *Cucumis sativus*. Endomitotyczna poliploidyzacja we włoskach pylników. a—c — kolejne stadia rozwojowe włosków; d — wyróżnicowany włoszek: jądro komórki apikalnej diploidalne, jądro komórki basalnej 64n (wg Turała 1960)

realizacji endomitotycznie powstałych chromosomów siostrzanych oraz zwartości ich układu. Klasycznym przykładem różnorodności strukturalnej jest występowanie pięciu typów jąder poliploidalnych w antypodach *Papaver rhoeas* (Hasitschka 1956). Przyczyny tej różnorodności nie zostały jeszcze wyjaśnione, choć wiadomo, że mają tu wpływ takie czynniki, jak temperatura czy występowanie mitoz w jądrach poliploidalnych (Nagl 1970d, 1970e). Szczególnie interesującymi strukturami jąder interfazowych powstałymi w wyniku endomitoz są chromosomy olbrzymie (Tschermak-Woess 1963, Nagl 1962, Geitler 1965, Turała 1969b), które stanowią pęczki zdespiralizowanych chromosomów siostrzanych.

Stadium, w którym cykl chromosomowy ulega zahamowaniu przechodząc do stadium  $G_1$  następnego cyklu, jest u poszczególnych gatunków ustalony genetycz-

nie i charakterystyczny dla określonych komórek względnie tkanek. U *Angiospermae* cykl chromosomowy może być zahamowany w bardzo wczesnej profazie (endomitotyzacja) lub w dalszych stadiach cyklu mitotycznego (restytucja) (Nagl 1970e, schemat s. 256). Oba te procesy prowadzą do somatycznej poliploidalności i są związane z różnicowaniem komórek oraz tkanek.

Zakład Cytologii i Embriologii Roślin

Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

#### LITERATURA

- Avanzi S., Cionini P. G. and D'Amato F. 1970 *Cytochemical and autoradiographic analyses on the embryo suspensor cells of Phaseolus coccineus*. *Caryologia* **23**: 605—638.
- Carniel K. 1952. *Das Verhalten der Kerne im Tapetum der Angiospermen mit besonderer Berücksichtigung von Endomitosen und sogenannten Endomitosen*. *Öst. Bot. Z.* **99**: 318—362.
- D'Amato F. 1964. *Endopolyploidy as a factor in plant tissue development*. *Caryologia* **17**: 41—52.
- Enzenberg U. 1961. *Beiträge zur Karyologie des Endosperms*. *Öst. Bot. Z.* **108**: 245—285.
- Erbrich P. 1965. *Über Endopolyploidie und Kernstrukturen in Endospermhaustorien*. *Öst. Bot. Z.* **112**: 197—262.
- Fenzl E. und Tschermak-Woess E. 1954. *Untersuchungen zur karyologischen Anatomie der Achse der Angiospermen*. *Öst. Bot. Z.* **101**: 140—164.
- Geitler L. 1953. *Endomitose und endomitotische Polyploidisierung*. *Protoplasmatologia VI C*, Springer Verlag, Wien.
- Geitler L. 1965. *Riesenchromosomen bei Pflanzen*. *Forsch. u. Fortschr.* **39**: 295—298.
- Hasitschka G. 1956. *Bildung von Chromosomenbündeln nach Art der Speicheldrüsenchromosomen und andere Struktureigentümlichkeiten in den endopolyploiden Riesenkernen der Antipoden von Papaver rhoeas*. *Chromosoma* **8**: 87—113.
- Hesse M. 1968. *Karyologische Anatomie von Zooeciden und ihre Kernstrukturen*. *Öst. Bot. Z.* **115**: 34—83.
- Hesse M. 1969. *Anatomische und karyologische Untersuchungen an der Galle von Mayetiola poae auf Poa nemoralis*. *Öst. Bot. Z.* **117**: 411—425.
- Lauber H. 1947. *Untersuchungen über das Wachstum der Früchte einiger Angiospermen unter endomitotischer Polyploidisierung*. *Öst. Bot. Z.* **94**: 30—60.
- Nagl W. 1962. *Über Endopolyploidie, Restitutionskernbildung und Kernstrukturen im Suspensor von Angiospermen und einer Gymnosperme*. *Öst. Bot. Z.* **109**: 431—494.
- Nagl W. 1965. *Die SAT-Riesenchromosomen der Kerne des Suspenders von Phaseolus coccineus und ihr Verhalten während der Endomitose*. *Chromosoma* **16**: 511—520.
- Nagl W. 1967. *Die Riesenchromosomen von Phaseolus coccineus L.: Baueigentümlichkeiten, Strukturmodifikationen, zusätzliche Nukleolen und Vergleich mit den mitotischen Chromosomen*. *Öst. Bot. Z.* **114**: 171—182.
- Nagl W. 1968. *Der mitotische und endomitotische Kernzyklus bei Allium carinatum*. I. *Struktur, Volumen und DNS-Gehalt der Kerne*. *Öst. Bot. Z.* **115**: 322—353.
- Nagl W. 1970a. *The mitotic and endomitotic nuclear cycle in Allium carinatum*. II. *Relations between DNA replication and chromatin structure*. *Caryologia* **23**: 71—78.
- Nagl W. 1970b. *Correlation of chromatin structure and interphase stage in nuclei of Allium flavum*. *Cytobiologia* **1**: 395—398.
- Nagl W. 1970c. *Differential inhibition by Actinomycin D and histone f<sub>1</sub> of mitosis and endomitosis in Allium carinatum*. *Zeit. für Pflanzenphysiol.* **63**: 316—326.
- Nagl W. 1970d. *Temperature-dependent functional structures in the polytene chromosomes of Phaseolus with special reference to the nucleolus organizers*. *J. Cell. Sc.* **6**: 87—107.

- Nagl W. 1970c. *Inhibition of polytene chromosome formation in Phaseolus by polyploid mitoses*. *Cytologia* **35**: 252—258.
- Nagl W. 1971a. *Teilweise Umstimmung von Wurzelspitzenmitosen zu Endomitosen durch Phytohormone*. *Zeit. für Naturforsch.* **26**: 1390—1391.
- Nagl W. 1971b. *Molecular and structural aspects of the endomitotic chromosome cycle in Angiosperms*. *Chromosomes Today* **3**: 17—23.
- Nagl W. 1972. *Chromosomen. Struktur, Funktion und Evolution*. W. Goldmann Verlag, München.
- Pogan E. 1964. *Z zagadnień anatomii kariologicznej*. *Wiad. Bot.* **8**: 27—40.
- Tschermak-Woess E. 1956. *Karyologische Pflanzenanatomie*. *Protoplasma* **46**: 798—834.
- Tschermak-Woess E. 1963. *Strukturtypen der Ruhekerne von Pflanzen und Tieren*. *Protoplasmatologia* **V**, 1. Springer Verlag, Wien und New York.
- Tschermak-Woess E. 1971. *Endomitose*. *Hand. Allgemeine Pathol.* **11/2** s. 569, Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York.
- Tschermak-Woess E. und Enzenberg-Kunz U. 1965. *Die Struktur der hoch endopolyploiden Kerne im Endosperm von Zea mays, das auffallende Verhalten ihrer Nukleolen und ihr Endopolyploidiegrad*. *Planta* **64**: 149—169.
- Tschermak-Woess E. und Hasitschka G. 1953. *Veränderung der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen*. *Chromosoma* **5**: 574—614.
- Tschermak-Woess E. und Hasitschka G. 1954. *Über die endomitotische Polyploidisierung im Zuge der Differenzierung von Trichomen und Trichozyten bei Angiospermen*. *Öst. Bot. Z.* **101**: 77—117.
- Turała K. 1960. *Endomitotical processes during the differentiation of the anthers' hairs of Cucumis sativus L.* *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* **3**: 1—13.
- Turała K. 1963. *Studies in endomitotical processes during the differentiation of the tapetal layer of the Cucurbitaceae*. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* **6**: 87—102.
- Turała K. 1966a. *Endopolyploidie im Endosperm vom Echinocystis lobata*. *Öst. Bot. Z.* **113**: 235—244.
- Turała K. 1966b. *Strukturen endopolyploider Kerne im Bereich der Samenanlage einiger Monocotylen*. *Öst. Bot. Z.* **113**: 529—541.
- Turała K. 1969a. *Endopolyploidy and structures of the nuclei in the endosperm of the Cucurbitaceae*. *Ost. Bot. Z.* **116**: 95—111.
- Turała K. 1969b. *Chromosomy olbrzymie u roślin*. *Wiad. Bot.* **13**: 33—42.
- Turała K. 1971. *Mitoses and endomitoses during differentiation of some tissues in the Cucurbitaceae*. *Gen. Pol.* **12**: 281—283.