W sprawie t. zw. „enclaves protéiques” Vandendries’a.

Napisała

IRENA LACHERTOWA.

(Tablica II).

Vandendries umieścił w „La Cellule” z roku 1909 pracę pod tytułem „Contributions à l’histoire du développement des Crucifères”; jeden z rozdziałów poświęcony jest kwestji rozwoju warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy. Warstwa ta różnicuje się u gatunków, badanych przez autora, w okresie, kiedy woreczek zalążkowy zawiera osiem jąder. Wyjątek stanowi *Draba verna*, u której komórki wyścielające przez dłuższy czas nie różnią się od pozostałych komórek ośrodka; zróżnicowanie ich odbywa się dopiero w okresie tworzenia się liścieni. W komórkach warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy wyróżnił autor specjalne twory, położone w pobliżu jądra. Uważał je za ciała pochodzenia protoplazmatycznego i na podstawie zabarwienia, otrzymanego przez działanie odczynnika Millon’a zaliczył do ciał białkowatych („enclaves protéiques”). Vandendries nie opracował dokładnie rozwoju tych ciał; ograniczył się tylko do stwierdzenia, że zjawiają się po zapłodnieniu i pod wpływem rozrastającego się woreczka zalążkowego zostają zniszczone razem z szybko degenerującą warstwą tapetową. Kształt utworów jest według autora bardzo zmienny: występują one w postaci nieregularnych, kulistych skupień, bądź też tworzą podłużne ciała, otaczające jądro. Budowę wewnętrzną mają włóknistą lub siatkowatą. W komórkach leżących bliżej okienka występują znacznie mniej wyraźnie niż w pobliżu części sznureczkowej.

Celem mojej pracy było zbadanie ciał rzeczonych pod względem ich morfologii i rozwoju. Z gatunków opisanych przez Vandendries’a wybrałam następujące: *Cardamine pratensis*, *Sisymbrium Thalianum* i *Draba verna*. Z tych trzech roślin zatrzymałam się prze-

dewszystkiem na *Cardamine pratensis*, ponieważ komórki warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy różnicują się u tego przedstawiciela wcześniej, a utwory opisane przez Vandendries'a występują najwyraźniej.

Materiał do badań został początkowo utrwalony w utrwalaczach Bendy, Carnoy i Flemminga. Ponieważ utrwalacz Bendy dał obrazy najbardziej zgodne z obrazami widzianymi przez Vandendries'a, przeto posługiwałam się nim przy ustalaniu kolejnych stadiów rozwojowych ciał badanych, oraz przy obserwowaniu ich struktury. Na *Cardamine pratensis* i *Sisymbrium Thalianum*, utrwalonych metodą Bendy, zastosowany został szereg reakcji mikrochemicznych w celu stwierdzenia, w jakiej mierze słusznem jest zaliczenie przez Vandendries'a ciał, występujących w warstwie wyścielającej u *Cruciferae* do utworów o charakterze białkowatym. Wszakże ani odczynnik Millon'a, ani reakcja ksantoproteinowa, ani Raspail'a, jak również siarczan miedzi z ługiem potasowym, eożyna i J+KJ nie dały charakterystycznych dla białka reakcyj barwnych. Jednocześnie materiał z Flemminga i Bendy wykazywał wyczerzenia i wyżółcenia badanych utworów, spowodowane przez działanie kwasu osmowego i chromowego. Obserwacje te doprowadziły do wniosku, że zaliczenie ciał będących w mowie do substancyj białkowatych jest niesłuszne i że należą one albo do tłuszczów albo do garbników. Rozstrzygnięcie tej sprawy dały mi badania przyżyciowe oraz utrwalenie materiału w Regaud i Ciaccio, jako w utrwalaczach nie zawierających kwasu osmowego. Sudan wszakże ani na świeżym materiale, ani na utrwalonym nie wykazał obecności tłuszczów. Natomiast działanie FeCl_3 , błękitu metylowego, dwuchromianu potasu, kwasu osmowego oraz zieleni jodowej po formalinie dały bardzo charakterystyczne zabarwienia dla substancyj garbnikowych. Materiał z Regaud i Ciaccio wykazywał również czerwono-brunatne osady w komórkach warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy. Te rezultaty doprowadziły do przekonania, że utwory opisane przez Vandendries'a nie składają się z substancyj białkowatych, lecz stanowią złoża garbnikowe na terenie wakuol, o czym przekonało mnie porównanie skrawków z wybarwionymi przyżyciowo wakuolami (błękit krezyłowy, czerwień neutralna) i tych, które były badane na obecność związków garbnikowych. Niektórzy autorowie (Bokorny, Baccarini) znaleźli w wakuolach garbnikowych u *Leguminosae* białko w stanie rozpuszczonym. Pfeffer i Solereder zajęli wobec tego spostrzeżenia stanowisko krytyczne, wychodząc

z założenia, że garbniki strącają substancje białkowe. Dekkeri Heinricher posługują się nawet substancjami garbnikowymi dla ilościowego oznaczania białka. Przypuszczam, że gdyby w badanych przeze mnie wakuolach białko występowało w postaci strąceń, wtedy zostałyby ujawnione stosowanymi metodami, jako to: odczynnikiem Millon'a, reakcją Raspail'a, reakcją ksantoproteinową itd.

Kolejne stadja rozwojowe warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy *Cruciferae* oraz utworów w niej zawartych były badane na materiale utrwalonym metodą Bendy i barwione hematoksyliną. U *Cardamine pratensis* warstwa rzeczona różnicuje się wtedy, gdy woreczek zalążkowy zawiera osiem jąder. Składa się ona wówczas z komórek bogatych w plazmę (Tabl. II, fig. 1) i znacznie większych od pozostałych komórek ośrodka; jądra ich są duże o wyraźnym jąderku, w zarodku znajduje się skrobia i utwory o charakterze plastydalnym, wybarwione zielenią świetlistą. Każdy z tych elementów zawiera jedno lub dwa małe ciała, wycernione kwasem osmowym (tłuszcze?) Miejscami warstwa wyścielająca składa się z paru pokładów komórek. W okresie tym garbników jeszcze nie ma; zjawiają się one nieco później w małych wakuolach z silnie łamiącą światło ziarnistością i czerniejącą pod wpływem hematoksyliny (Tabl. II, fig. 2). Wakuole te mają wygląd małych jasnych pęcherzyków, ziarnistość zaś stanowi bezwątpienia strącenie substancji, rozpuszczonej w ich płynnej treści. W następnym stadium wakuole powiększają się, a na brzegach ich występują drobne, coraz gęstsze czarne strącenia (Tabl. II, fig. 3). Plazma wykazuje w tym okresie liczne ziarnistości i pałeczki o charakterze chondriomu. Jednocześnie z rozwojem woreczka zalążkowego rosną wakuole garbnikowe; leżą one przeważnie po obu stronach jądra na dłuższej osi komórek, które zczasem stają się bardziej wydłużone w kierunku promienistym. Strącenia w wakuolach są coraz większe i liczniejsze, hematoksylina wybarwia je na czarno (Tabl. II, fig. 4 i 5). W tym mniej więcej okresie zachodzą znaczne zmiany w wyglądzie komórek warstwy wyścielającej: ziarnistości plazmy zanikają, jądro zaś zatracą wyrazistość konturu. Charakter wakuol garbnikowych ulega również zmianie; nie widać już w nich czerniejących pod wpływem hematoksyliny zawieszin, natomiast są one całe jakby zalane jednolitą substancją, wybarwioną przez ten sam barwnik na ciemnobrunatno (fig. 8 i 9). Chwilami w wakuolach widać jakby dwie różne substancje: jedna, wybarwiona hematoksyliną na jasnobrunatno, wypełnia całą wakuolę, druga występuje w postaci zawieszonych w niej ciemnobronzowych kłaczków (Tabl. II, fig. 6 i 7). Niekiedy znów w wakuoli dominują substancje ciemno-

brunatne, zaś substancje jaśniejsze znajdują się w nich w postaci regularnych kropeł, otoczonych ciemnym konturem (Tabl. II, fig. 10). Degeneracja warstwy wyścielającej szybko się posuwa; komórki jej ulegają zniekształceniu pod wpływem rosnącego woreczka zalążkowego; wakuole garbnikowe zajmują prawie całą komórkę, bądź otaczając jądro, bądź też spychając je ku błonie komórkowej. Zawartość wakuol jest uboższa, ze znaczną przewagą substancji żółtych (p. niżej). Wreszcie warstwa wyścielająca składa się z dużych spłaszczonych komórek, w których granica wakuol schodzi się prawie z granicą komórki. Jądra w wielu komórkach nie widać, tam gdzie je można dostrzec posiada kontur bardzo niewyraźny i nieregularny, oraz duże jąderko również o nieregularnym kształcie. W komórkach gdzieś-niegdzie pozostały resztki plazmy oraz w wakuoli niewielkie ilości substancji garbnikowych. Wśród nich przeważają substancje żółte, pozatem widać brunatne plamy i drobniutkie czarne ziarnistości. Kontury komórek są zniekształcone, błony miejscami poprzerywane, komórki zostały zgniecione przez rozrastający się woreczek zalążkowy (Tabl. II, fig. 11). Vandendries w swej pracy podkreśla również tę szybko następującą degenerację warstwy wyścielającej. Należy jednak zaznaczyć, że nie wszystkie komórki wyścielające tego samego woreczka zalążkowego dają jednakowe obrazy: zarówno co do zawartości wakuol, jak i stosunku jej wielkości do wielkości komórek zachodzą znaczne różnice i wahania.

Poszczególne stadia wakuol garbnikowych w warstwie wyścielającej woreczek zalążkowy *Cardamine pratensis* są zupełnie zgodne z temi, które opisał Pierre Dangeard w pracy o systemie wodniczkowym u nagonasiennych. W zawartości wakuol wyróżnia autor dwie odrębne substancje: metachromatynę, występującą według niego we wszystkich wakuolach bez względu na ich zawartość, oraz pochodne fenolowe czyli właściwe garbniki. W młodszych stadiach w wakuolach przeważa metachromatyna, czem właśnie Dangeard tłumaczy wybarwienie się ich hematoksyliną na czarno. W późniejszym rozwoju zaczynają dominować właściwe garbniki i zawartość wakuoli zmienia stopniowo barwę na złocistożółtą, wywołaną działaniem kwasu chromowego: hematoksylina jej nie zabarwia. U *Cardamine pratensis* zmiany, zachodzące w wybarwianiu się treści wakuol garbnikowych odbywały się zupełnie zgodnie z obserwacjami Dangeard'a. Co do błon wakuol garbnikowych, wyróżnionych przez p. Herszlikówną u *Phaseolus*, to na badanych obiektach stwierdzić ich nie mogłam.

U *Sisymbrium Thalianum* przebieg rozwoju warstwy wyścielającej i wakuol u niej zawartych przedstawia się nieco odmiennie, niż u *Cardamine pratensis*. Zróżnicowanie się komórek wyścielających następuje co prawda mniej więcej w tym samym okresie, to jest wtedy, kiedy woreczek zalążkowy zawiera osiem jąder, ale jest znacznie mniej wyraźne. Na preparatach barwionych safraniną z zielenią świetlistą w komórkach rzeczonego pokładu widać wówczas dużo ziarn skrobi (Tabl. II, fig. 12). Nieco później zjawiają się małe wakuole z leżącymi w nich drobnymi ziarenkami (Tabl. II, fig. 13). Następne stadia różnią się zasadniczo u obu tych roślin. U *Sisymbrium Thalianum* poza pierwszym stadiem zawartość wakuol jest przez cały czas trwania żółtawozielna. Na żadnym z preparatów nie widać było ani drobnych czarnych strąceń, ani też ciemnobrunatno barwiących się substancyj. Zabarwienie żółtawozielne występuje zarówno na preparatach barwionych jako też i niebarwionych, należy więc je przypisać działaniu kwasu chromowego utrwalacza. U *Sisymbrium Thalianum* koncentracja garbników w wakuoli jest dużo słabsza, niż u *Cardamine pratensis*. Kolejne stadia rozwojowe wakuol garbnikowych widać na rysunkach 14-ym aż do 18-go włącznie (Tabl. II). Nawet w późniejszych stadiach, kiedy wakuola wypełnia prawie całą komórkę, garbniki nie występują w niej w tak znacznych ilościach, jak u poprzednio opisanej rośliny. Zniszczenie warstwy wyścielającej następuje tu również w okresie tworzenia się liścieni zarodka. Komórki są wtedy zgniecione, błony miejscami porzyrywane. Jądra degenerują w podobny sposób jak u *Cardamine pratensis*, a całą komórkę wypełnia wakuola, w której widać żółtawozielne substancje garbnikowe i ciemniejsze, silnie łamiące światło ciała (Tabl. II, fig. 19 i 20).

Co się tyczy rozwoju t. zw. „enclaves protéiques” Vandendries’a u *Draba verna*, to nie obserwowałam wszystkich stadiów. Mogę tylko stwierdzić, że zróżnicowanie warstwy wyścielającej następuje tu dopiero w okresie tworzenia się liścieni zarodka. Vandendries podaje rysunki komórek warstwy wyścielającej zupełnie zgodne z obrazami widzianymi przez niego u *Cardamine pratensis*. Czas trwania warstwy wyścielającej jest tutaj bardzo krótki.

Istnieje cały szereg teoryj o roli, którą odgrywa warstwa wyścielająca woreczek zalążkowy u okrytonasiennych. Jedni autorzy widzą w niej warstwę odżywczą, inni tylko ochronną. Do tych ostatnich należy również Vandendries. Stwierdzenie występowania wakuol garbnikowych w warstwie tapetowej u *Cruciferae* nie przyczynia się do wyjaśnienia tej sprawy, ponieważ garbniki są substan-

cjami mało zbadanymi. W szeregu prac, z których większość przypada na koniec dziewiętnastego wieku, spotyka się zdania najzupełniej rozbieżne. Klerker (1888) i Dangeard (1923) uważają garbniki za wydzieliny, Arnhold za substancje stojące w związku z procesem oddychania, Stahl za środek ochronny przeciwko zwierzętom, Kraus przeciwko gniciu. Według Warminga wpływają one na zmniejszenie parowania, Albo uznał je za substancje odżywcze, Möller zaś za formy przejściowe węglowodanów. Z tego krótkiego wyszczególnienia widać, że niema prawie ważniejszej funkcji życiowej rośliny, z którąby garbniki nie były łączone. Pogląd Vandenries'a na rolę warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy u *Cruciferae* pozostaje w zgodzie z hipotezą Dangeard'a, którego zdaniem wakuole garbnikowe zwiększają turgor i tem samem usztywniają komórkę lub warstwę, w której występują.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Botanicznym Uniwersytetu Warszawskiego. Czuję się w obowiązku złożyć wyrazy głębokiej wdzięczności p. prof. Wóycickiemu za pomoc i wskazówki w toku mych badań. Składam również gorące podziękowanie p. Dr. Luksenburgowej za okazywanie mi życzliwości i za wszystkie ułatwienia, których od Niej doznałam.

Objaśnienie tablicy II.

Rys. z obj. im. $\frac{1}{12}$ i ok. 7 (Zeiss'a), powiększenie 750-krotne.

Fig. 1. *Cardamine pratensis*. Komórki warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy z okresu ośmiodrdowego woreczka zalążkowego: *j* — jądro, *pl* — utwory plastydalne, *s* — skrobia. Przekrój poprzeczny.

Fig. 2. *C. pr.* Komórki warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy, nieco później. Zjawienie się wakuol garbnikowych (*w*).

Fig. 3—11. *C. pr.* Kolejne stadia rozwojowe komórek warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy oraz wakuol w nich zawartych.

Fig. 12. *Sisymbrium Thalianum*. Komórki warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy z okresu ośmiodrdowego woreczka zalążkowego: *j* — jądro, *s* — skrobia.

Fig. 13. *S. Th.* Komórki warstwy wyścielającej woreczek zalążkowy w okresie zjawienia się wakuol garbnikowych (*w*).

Fig. 14—20. *S. Th.* Kolejne stadia rozwojowe komórek warstwy wyścielającej oraz wakuol w nich zawartych.

Literatura.

1. Wallin. Über gerbstoffähnliche Tröpfchen im Zellsafte der Bromeliaceenblätter. Bot. Cbl. 1898. Bd. 75.

2. Braemer. Les tannoïdes. Introduction critique à l'histoire physiologique des tannins et des principes immédiats des végétaux, qui leur sont chimiquement alliés. Toulouse 1890—1891.

3. Klerker. Über Gerbstoffvacuolen. Prihangstill K. Svensk. Vet. Ak. Handl. Band XIV 1888 r. ref. w Bot. Jahresber. w 1888 r.
4. Möller. Über das Vorkommen der Gerbsäure und ihre Bedeutung für den Stoffwechsel in den Pflanzen. Mitteil. d. Naturw. für Neupommern und Rügen in Greifswald. 1887. Bot. Jahresber. 1888.
5. Molisch. Mikrochemie der Pflanzen. 1918.
6. Tunmann. Pflanzenmikrochemie. 1913.
7. Czapek. Biochemie der Pflanzen. 1922.
8. Vandendries. Contribution à l'histoire du développement des Crucifères. La Cellule 1909.
9. Herszlikówna. Wodniczki garbnikowe niektórych odmian fasoli (*Phaseolus vulgaris*). Bulletin de l'Acad. Pol. des Sciences et des Lettres. Série B. Année 1925.
10. Dangeard Pierre Ant. Comptes rendus 1920.
11. Dangeard Pierre. Évolution du système vasculaire chez les végétaux. Le Botaniste. 1923.
12. Guillermond, A. Sur les éléments figurés du cytoplasme. Comptes Rendus. 1920.

Résumé.

Dans „La Cellule“ de l'année 1909 parût le travail de Vandendries: „Contributions à l'histoire du développement des *Crucifères*“. Un des chapitres de cet ouvrage est consacré au développement de la couche épithéliale du sac embryonnaire des *Crucifères*. Selon l'auteur, les cellules de cette couche contiennent des corps spéciaux, entourant le noyau et se colorant sous l'action du réactif de Millon en rouge brique intense. Il les appelle des „enclaves protéiques“ et ne leur prête aucune signification spéciale, n'attribuant à l'épithélium des *Crucifères* que le caractère d'une couche mécanique.

Les méthodes de coloration vitales ainsi que celles qu'on applique sur les objets fixés m'ont donné les résultats suivants.

1. Les éléments appelés par Vandendries „enclaves protéiques“ sont des vacuoles tannifères. Elles ont donné des colorations caractéristiques sous l'action des réactifs suivants: FeCl_3 , le bleu de méthyle, le bichromate de potassium, l'acide osmique et le vert d'iode.

2. Chez *Cardamine pratensis* ces vacuoles apparaissent au moment où le sac embryonnaire contient huit noyaux. Leur développement est tout à fait conforme à celui des vacuoles tannifères décrites par Dangeard chez les *Gymnospermes*. Dans les phases plus jeunes elles contiennent de la métachromatine, qui se colore en noir par l'action de la hématoxyline. Plus tard commencent à dominer les vraies substances phénoliques, auxquelles l'acide chromique du fixatif prête une teinte jaune d'or.

3. Les vacuoles tannifères de la couche épithéliale chez *Sisymbrium Thalianum* montrent un contenu beaucoup moins riche que les précédentes et ne renferment jamais de la métachromatine. Elles restent pendant toute leur durée jaunées et ne se colorent pas par l'action de la hématoxyline.

4. Les vacuoles tannifères de l'épithélium du sac embryonnaire chez les Crucifères ne possèdent pas de membranes spéciales et aucun réactif n'y a signalé des substances protéiques.

5. Conformément aux observations de Vandendries l'épithélium du sac embryonnaire des *Crucifères* est un tissu d'une dégénération précoce. Ses cellules s'applatissent sous la pression du sac embryonnaire, ses membranes se déchirent, les noyaux dégénèrent et les vacuoles tannifères occupent finalement toute la cavité de la cellule. Mais leur contenu devient aussi de moins au moins dense.