Powstawanie komórek dwujądrowych drogą amitotyczną i mitotyczną u *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus* L.

Formation amitotique et mitotique des cellules binucléaires chez Lupinus albus L. et Lupinus luteus L.

MARIA JOANNA OLSZEWSKA

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło, dn. 9.X.53 r.)

WSTĘP

Amitozy u roślin wyższych opisywano wielokrotnie jako reakcję na podrażnienie i działanie niektórych związków chemicznych (eter, wodoru chloralu). Nie cytuję tych obserwacji, ponieważ zjawiska, które opiszę poniżej, zachodzą w tkankach roślin nie poddawanych tego rodzaju czynnikom.

K ü s t e r (1951) traktuje amitozy u roślin wyższych jako wyraz degeneracji i patologii komórki. Podkreśla on, że przy prawdziwej amitozie wykluczony jest równomierny podział masy jądra macierzystego na dwa potomne. K ü s t e r odmawia więc amitozie znaczenia w normalnym rozmnażaniu komórek roślin wyższych. Takie mniemanie w świetle najnowszych badań nie jest słuszne.

E l l e n h o r n, G ł u s z c z e n k o i A f a n a s j e w a (1951) stwierdzili, że rozmnażanie się jąder i komórek może następować na drodze amitotycznej i nie tylko w przypadkach patologicznych i degeneracyjnych.

F l i n t i M o r e l a n d (1946) znaleźli amitozy zachodzące przy tworzeniu się komórek szparkowych u trzciny cukrowej. E l l e n h o r n, G ł u s z c z e n k o i A f a n a s j e w a (1951) ogłosili pracę o niemitotycznych podziałach jąder w ogonku liściowym normalnie rosnącego osobnika *Hedera helix*. Stwierdzili oni rozmnażanie się jąder przez przewężenie, a więc amitozy oraz przez powstawanie jąder potomnych wewnątrz jądra macierzystego. K a r o l i n s k a j a (1951) opisała amitozy w korzeniach i cebulach czosnku, tulipana i cebuli. R o d k i e w i c z (1953) znalazł amitozy w tkankach marchwi hodowanych in vitro.

M a t e r i a ł i m e t o d y

Badania przeprowadzałam na korzeniach i hypokotylach *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus* L.

Nasiona tych roślin wysiewałam do doniczek z ziemią ogrodową, umieszczonych w świetle dziennym w pracowni. Po dwóch tygodniach od dnia wysiewu odcinałam wierzchołkowe części korzeni długości 6—8 mm i części podliścieniowe długości 1 cm od granicy korzenia. Uzyskany w ten sposób materiał utrwalalam w płynie Nawaszina, Helly oraz Bendy (bez kwasu octowego). Po przeprowadzeniu do parafiny sporządzałam z hypokotyli skrawki mikrotomowe podłużne i poprzeczne grubości 10 μ ; korzenie krajałam na skrawki podłużne i poprzeczne grubości 6 μ . Barwiłam hematoksyliną żelazową Heidenheina, safraniną, fioletem gencjanowym i oranżem G według metody Flemminga oraz stosowałam reakcję Feulgena, a jąderka podbarwiałam zielenią świetlistą.

B a d a n i a w ł a s n e

U *L. albus* i *luteus* jądra tkanek stałych mają strukturę prochromosomową. Liczba prochromosomów waha się w pewnych granicach u *L. albus* najczęściej jest ich 28. W jądrze znajduje się jedno jąderko. (W telofazie powstają kilka jąder, lecz wkrótce, zwykle jeszcze w późnej telofazie, zlewają się w jedno). Jądra merystemu wierzchołkowego korzenia — mimo zastosowania różnych płynów utrwalających — na ogół wykazują strukturę jednolitą, homogenną.

Szereg komórek w różnych tkankach korzenia i hypokotyli obu gatunków łubinu zawiera dwa jądra. Komórki dwujądrowe obserwowałam w skórce, w wewnętrznych warstwach miękiszu kory pierwotnej, w endodermie, w perycyklu, który składa się z kilku warstw komórek miękiszowych, rzadko w kambium wiązkowym, z reguły w kambium międzywiązkowym oraz w rdzeniu hypokotyli.

W korzeniu komórki dwujądrowe zdarzają się rzadziej, niż w hypokotylu. Obserwowałam je na granicy strefy wzrostu i strefy wydłużania — w peryblemie i w dermatogenie, oraz w strefie wydłużania i różnicowania — w skórce i w korze pierwotnej.

Komórki dwujądrowe występują pojedynczo lub częściej — w grupie. Można to dokładnie prześledzić na skrawkach seryjnych.

Ustaliłam, że komórki dwujądrowe powstają trzema sposobami: 1) wskutek amitozy — w przeważającej większości wypadków, 2) drogą fragmentacji jądra, 3) z powodu wytworzenia niekompletnej przegrody pierwotnej w telofazie.

1. ROZMNAŻANIE SIĘ JĄDER DROGĄ AMITOZY

Jak wspomniałam wyżej, komórki dwujądrowe zwykle spotyka się w grupach. W takiej grupie można dokładnie prześledzić poszczególne stadia rozmnażania się jąder, wskazujące na amitotyczny charakter tego podziału.

Jądra w cyklu amitotycznym wykazują strukturę charakterystyczną dla tkanki, w której komórkach się znajdują: w merystemie wierzchołkowym — homogenną, w tkankach stałych — prochromosomową.

H y p o k o t y l. Na fig. 1 przedstawiłam kolejne stadia podziału amitotycznego w komórkach wewnętrznej części mięszku kory pierwotnej. W pierwszym stadium (b) widać dwa jąderka i wydłużenie jądra. W dalszych stadiach (c, d) następuje stopniowe przewężanie się jądra, zachodzące zwykle w połowie jądra macierzystego. Jądra potomne oddalają się od siebie zachowując tzw. mostek. Następnie jądra potomne oddzielają się, początkowo zachowując resztki mostka (e); po ostatecznym zakończeniu podziału amitotycznego jądra potomne pozostają zwykle w tym samym skupieniu cytoplazmy, nie przedzielone wakuolą. (Faza podziału amitotycznego przedstawiona na rys. 1c przypomina obrazy zle-

Fig 1. *Lupinus albus* L. Mięszko kory pierwotnej hypocotyła. Studia podziału amitotycznego jądra. a — jądro macierzyste; b — jąderko podzieliło się na dwa potomne, jądro uległo wydłużeniu; c — przewężenie jądra macierzystego, dzielące je na dwie części; d — oddalanie się od siebie jąder potomnych, połączonych ze sobą tzw. mostkiem; e — jądra potomne oddzieliły się, przy każdym z nich widać resztki mostka; f — jądra potomne po zakończeniu podziału amitotycznego.

Lupinus albus L. Parenchyme cortical de l'axe hypocotylé. Stades de la division amitotique du noyau, a — noyau maternel; b — nucléole divisé en deux nucléoles fils, le noyau s'est allongé; c — étranglement du noyau maternel; d — éloignement de noyau-fils, reuni entre eux par une anastomose; e — les noyaux-fils sont complètement libres et chacun garde le restant d'anastomose; f — noyaux-fils après l'amitose. $\times 400$.

wania się jąder; jednak mniejsze rozmiary oddzielających się jąder potomnych w porównaniu z jądrami nie dzielącymi się wskazują, iż zachodzi tu podział, a nie zlewanie się jąder; w wypadku zlewania się jąder w stadium, które mógłby przypominać rys. 1c, następuje zwykle już zlewanie się jąder; w końcu, resztki mostka z widocznymi śladami rozzerwania — przedstawione na rys. 1e — ostatecznie dowodzą, że nastąpiło tu rozdzielenie jąder).

Fig. 2. *L. albus* L. Mięszk kory pierwotnej hypokotyła. Pierwsze stadium podziału amitotycznego jądra. Widać 55 prochromozomów.
L. albus L. *Parenchyme corticale de l'axe hypocotylé*. Premier stade de l'amitose. On voit 55 prochromosomes. $\times 900$.

W przebiegu amitozy, zachodzącej w jądrach o widocznej strukturze prochromozomowej, można wyróżnić dwa warianty:

I. Pierwszemu stadium cyklu amitotycznego (podział jąderka, wydłużenie jądra) towarzyszy powielenie liczby prochromozomów do kilkudziesięciu 30—55, (fig. 2). Jądra potomne otrzymują wtedy zwykle niejednakową ilość prochromozomów, ale w każdym jest więcej niż po 14 (fig. 3).

Fig. 3. *L. albus* L. Mięszk kory pierwotnej hypokotyła. Podział amitotyczny jądra. W jądrach potomnych znajduje się 25 (a) i 22 (b) prochromozomów.

L. albus L. *Parenchyme cortical de l'axe hypocotylé*. La division amitotique du noyau. Dans les noyaux-fils on remarque 25 (a) et 22 (b) prochromosomes. $\times 900$.

II. W pierwszym etapie podziału amitotycznego następuje jedynie podział jąderka i wydłużenie jądra. Prochromozomy zostają podzielone pomiędzy jądra potomne najczęściej równomiernie, (fig. 4), lub nierównomiernie. (fig. 7 — na rys. b widać dwa jądra w komórce skórki, z których jedno ma 20 prochromozomów, drugie — 8). Po pewnym czasie od zakończenia podziału ilość prochromozomów stopniowo dochodzi do liczby charakterystycznej.

Fig. 4. *L. albus* L. Mięszk kory pierwotnej hypokotyła. Podział amitotyczny jądra. W obu jądrach potomnych znajduje się po 14 prochromozomów.

L. albus L. *Parenchyme cortical de l'axe hypocotylé*. La division amitotique du noyau. Dans les noyaux-fils il y a dans chacun 14 prochromosomes $\times 900$.

Pragnę podkreślić, że w żadnym z opisywanych przeze mnie wypadków nie zachodzi zjawisko tzw. pseudoamitozy. Przy pseudoamitozie podział jądra odbywa się przez przewężenie, lecz wyróżnicowujące się chromozomy dzielą się tak, jak w mitozie (K ü s t e r, 1951).

W obserwowanych przeze mnie amitozach nigdy nie spotykałam chromosomów, które w jądrach o budowie prochromosomowej łatwo byłoby zauważyć.

Amitoza w moim materiale nie prowadzi do degeneracji ani nie jest zjawiskiem patologicznym; jądra pochodzące z podziałów amitotycznych są normalne i odbudowują już po podziale prochromosomy do ilości charakterystycznej.

Amitozy i komórki dwujądrowe obserwowałam w takich tkankach, które w dalszej ontogenezie obumierają, oraz w takich, które pozostają żywe i w których jądro stanowi istotny element. Pierwszą grupę tkanek reprezentują naczynia (fig. 5), w tkankach drugiego typu spotykałam opisane wyżej zjawiska w rdzeniu (fig. 6), w skórce (fig. 7), w miększu kory pierwotnej, w miększu perycyklu i w kambium.

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7

Fig. 5. *L. albus* L. Dwa jądra w naczyniu metaksylenu.

L. albus L. Deux noyaux dans un vaisseau du métaxylème. $\times 400$.

Fig. 6. *L. luteus* L. Komórka dwujądrowa w rdzeniu hypocotyła.

L. luteus L. Cellule à deux noyaux dans la moelle de l'axe hypocotylé. $\times 400$.

Fig. 7. *L. albus* L. Skórka hypocotyła. Amitoza i komórka dwujądrowa. Na rys. b jedno jądro ma 8 prochromosomów, drugie — 20.

L. albus L. Epiderme de l'axe hypocotylé. Amitose et cellule à deux noyaux. Fig. b — dans un noyau on remarque 8 prochromosomes, dans le second — 20. $\times 400$.

W kambium międzywiązkowym nie widziałam ani jednej mitozy, w przeciwieństwie do kambium wiązkowego, dzielącego się na ogół mitotycznie. Na fig. 8 przedstawiony jest typowy obraz komórek ze strefy kambium międzywiązkowego na przekroju podłużnym stycznym. Fig. 9 przedstawia komórki kambium międzywiązkowego w przekroju poprzecznym. W komórkach kambium międzywiązkowego oraz w pasmach komórek do niego przylegających niemal zawsze występują komórki dwu-

Fig. 8. *L. albus* L. Mikrofotografia fragmentu tkanki ze strefy kambium międzywiązkowego (przekrój styczny). Widoczne komórki dwujądrowe oraz stadia podziału amitotycznego.

L. albus L. Microphotographie d'un fragment de région du cambium interfasciculaire en formation en coupe tangentielle. On remarque des cellules à deux noyaux ainsi que différentes phases de l'amitose. $\times 400$.

jądrowe, a także i trzyjądrowe, powstające drogą amitozy. Widać również podziały komórek — najczęściej styczne, a także promieniste. Ponieważ — jak wspomniałam wyżej — w strefie kambium międzywiązkowego nie spotyka się mitoz, trzeba przyjąć, że po amitotycznym podziale jądra następuje podział komórki.

Fig. 9. *L. luteus* L. Kolejne stadia amitozy w kambium międzywiązkowym. Przekrój poprzeczny.

L. luteus L. Stades progressifs de l'amitose dans le cambium interfasciculaire de l'axe hypocotylé. Coupe transversale. $\times 900$.

Dlaczego właśnie w kambium międzywiązkowym znajduje się z reguły komórki dwujądrowe? W tej sprawie można by wysunąć następującą hipotezę: jak wiadomo, dla komórek tkanki twórczej charakterystyczne są duże jądra i duże jąderka w stosunku do wielkości komórki. (Podkreśla to B u v a t, 1944). U obu gatunków łubinu w kambium międzywiązkowym występują wprawdzie niewielkie jądra, ale zwykle po dwa w komórce. Być może, że w ten sposób osiągnięty zostaje stosunek powierzchni jądra do objętości cytoplazmy, który jest właściwy tkankom twórczym i konieczny do ich normalnego funkcjonowania.

Fig. 10. *L. luteus* L. Korzeń, górna część strefy wzrostu; a — dermatogen, b — peryblem.

L. luteus L. Racine. Partie supérieure de la région d'accroissement, a — dermatogène, b — peribleme.

× 630

K o r z e ń. W korzeniu komórki dwujądrowe często są zgrupowane obok siebie. Spotykałam je w dermatogenie i w peryblemie obszaru przejściowego między wierzchołkiem wzrostu a strefą wydłużania (fig. 10). W korze pierwotnej i w skórze strefy wydłużania i różnicowania można zaobserwować wszystkie fazy amitotycznego podziału jąder, doprowadzającego do powstania komórek dwujądrowych (fig. 11).

Fig. 11. *L. albus* L. Korzeń. Strefa różnicowania. Kolejne stadia amitotycznego podziału jądra.

L. albus L. Racine. Région différenciée. *Studies progressifs de l'amitose.*

× 630

2. FRAGMENTACJA JĄDER

Fragmentację jąder obserwowałam w młodych elementach floemu (fig. 12), oraz w komórkach przekształcających się w elementy ksylemu (fig. 13). Każda część jądra, powstała drogą fragmentacji posiada jąder-

ko; co się tyczy prochromozomów, to można stwierdzić niekiedy, że wszystkie części powstałe z rozpadu jądra macierzystego mają w sumie 28 prochromozomów, a więc ilość najczęstszą w jądrach łubinu białego (fig. 12). W moim materiale fragmentacja jest już pierwszym stadium degeneracji jądra; prowadzi ona do zaniku jądra, którego nie posiadają już ostatecznie wykształcone elementy przewodzące.

Fig. 12

Fig. 12. *L. albus* L. Fragmentacja jądra w komórce różnicującej się na elementy floemu. (hypokotyl).

L. albus L. Fragmentation du noyau dans la cellule, qui se différencie dans la direction de phloème. (l'axe hypocotylé).

× 630

Fig. 13. *L. luteus* L. Fragmentacja jądra w komórce różnicującej się na elementy ksylemu (hypokotyl).

L. luteus L. Fragmentation du noyau. Cette cellule se différencie dans la direction du xylème.

× 630

Fig. 13

3. POWSTAWANIE NIEKOMPLETNEJ PRZEGRODY PIERWOTNEJ W TELOFAZIE

W młodych częściach hypocotyła obserwowałam późne telofazy, w których fragmoplast nie dochodził z jednej strony do błony komórki macierzystej (fig. 14), a także komórki z dwoma interfazalnymi jądrami, przedzielnym odcinkiem błony komórkowej z jednej strony dochodzącej do błony komórki macierzystej, z drugiej strony kończącym się w połowie komórki macierzystej (fig. 15). Obrazy te są podobne do tych, jakie obserwował B u v a t (1944). B u v a t w oparciu o zjawisko, iż

Fig. 14. *L. albus* L. Kora pierwotna hypocotyła. Niekompletne wytworzenie przegrody pierwotnej w telofazie. Fragmoplast nie dochodzi do błony komórki macierzystej.

L. albus L. Partie corticale de l'axe hypocotylé. La formation incomplète de la cloison primaire en télophase. Le phragmoplaste n'atteint pas la paroi de la cellule maternelle.

× 900

Fig. 14

przy cytokinezie dużych komórek (mięksisz, kambium) fragmoplast tworzy się wolno i długo się utrzymuje, stwierdził, że niekiedy wrzeczono cytokinetyczne nie mogąc się przebić przez wakuole, daje w efekcie niekompletną przegrodę pierwotną.

Fig. 15. *L. albus* L. Kora pierwotna hypocotyła. Komórka dwujądrowa powstała wskutek niekompletnie wytworzonej przegrody pierwotnej.

L. albus L. Région cortical de l'axe hypocotylé. La cellule à deux noyaux est née à la suite de la formation incomplète de la cloison primaire.

× 630

Taką genezę komórek dwujądrowych stwierdzałam jedynie wyjątkowo; komórki dwujądrowe w moim materiale powstawały głównie drogą amitotyczną.

* * *

Ukazujące się w ostatnich latach doniesienia o podziale amitotycznym jądra w komórkach roślin wyższych, a także przytoczone powyżej moje obserwacje nasuwają przypuszczenie, iż zjawisko to jest bardziej powszechne, niż dotąd uważano.

Serdecznie dziękuję profesorowi dr F. Skupieńskiemu i prof. dr A. Wałek Czerneckiej za opiekę i cenne uwagi oraz mgr S. Wisłockiemu za wykonanie mikrofotografii.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. Stwierdzono występowanie komórek dwujądrowych w dermatogenie, peryblemie, skórcie i korze pierwotnej korzenia, oraz w skórcie, miększku kory pierwotnej i walca osiowego, w kambium międzywiązkowym i wiązkowym hypocotyła *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus* L., niepoddawanych działaniu żadnych sztucznych czynników zewnętrznych.

2. Komórki dwujądrowe powstają głównie drogą amitozy.

3. W strefie kambium międzywiązkowego występują jedynie amitozy, doprowadzające do powstania komórek dwujądrowych; amitozy te znów prowadzą do podziału komórek.

4. Stwierdzono podziały jąder przez fragmentację w młodych komórkach różnicujących się na elementy ksylemu i floemu.

5. W nielicznych wypadkach komórki dwujądrowe powstają wskutek niekompletnego wytworzenia przegrody pierwotnej w telofazie.

RÉSUMÉ

Dans le présent travail on a établi l'existence de cellules à deux noyaux dans le dermatogène, le periblème, dans l'épiderme et l'écorce primaire de la racine, ainsi que dans l'épiderme, le parenchyme cortical et cylindrique, dans le cambium interfasciculaire et fasciculaire de l'axe hypocotylé de *Lupinus albus* L. et *Lupinus luteus* L., sans que ces éléments soient soumis à l'action de facteurs artificiels externes.

Les cellules à deux noyaux se forment principalement amitotiquement.

Dans la région du cambium interfasciculaire il y a uniquement des amitoses, conduisant à la formation de cellules binucléaires; ces amitoses conduisent à leur tour à la division des cellules.

On a établi dans les cellules du cambium fasciculaire, dans la direction du xylème et du floème, la division de noyaux par fragmentation.

Rarement les cellules binucléaires prennent naissance à la suite de la formation incomplète de la cloison primaire.

L I T E R A T U R A

1. Buvat R., 1944. Recherches sur la différenciation des cellules végétales. Ann. des Sc. Nat. Botanique, 5: 1-113.
2. Ellenhorn J. E., Głuszczenko I. E., Afanasjewa A. S., 1951. Niektóre sprawy genezy i rozwoju komórki rastitelnoj kletki. Izv. Ak. Nauk SSSR, ser. biol., nr. 5, 12-34.
3. Flint L. H., Moreland C. F., 1945. Study of the stomate in sugarcane. Amer. Journ. of Bot., 33: 80-82.
4. Karolinskaja H. M., 1951. Znaczenie amitozy w procesie rozmnożenia komórek. Agrobiologia, nr. 3, 98-103.
5. Küster E., 1951. Die Pflanzenzelle. 866 pp. G. Fischer, Jena.
6. Rodkiewicz B., 1953. Amitotyczne podziały jąder w tkankach marchwi hodowanych in vitro. Acta Soc. Bot. Poloniae, 22: 349-354.