Wzrost i różnicowanie w korzeniu *Phleum pratense*

I. Rozmieszczenie wzrostu podłużnego w korzeniu

Growth and differentiation in the root of Phleum pratense

I. *Growth distribution in the root*

Z. HEJNOWICZ

Znajomość rozmieszczenia wzrostu w korzeniach jest bardzo powierzchowna; niewiele wykracza poza stan wiedzy ustalonej w tym zakresie przez S a c h s a w końcu ubiegłego wieku.

Badania S a c h s a (1873) polegały na pomiarach przyrostów odległości między znaczkami na powierzchni korzenia. Jest zrozumiałe, że badania tego rodzaju mogły dać tylko przybliżony obraz rozmieszczenia wzrostu; wykazały przede wszystkim to, że najsilniej rośnie część korzenia położona w pewnej odległości od szczytu.

Pełniejszy obraz rozmieszczenia wzrostu w korzeniu nakreśliły dopiero współczesne prace: B r u m f i e l d (1942), G o o d w i n i S t e p k a (1945), oparte na mikroskopowym badaniu powierzchni rosnącego korzenia. Obie wymienione prace zajęły się rozmieszczeniem wzrostu w korzeniu roślin tego samego gatunku, a mianowicie w korzeniu pierwotnym *Phleum pratense*, jednak wnioski, do jakich doprowadziły, nie są zgodne. Pierwszą zatem rzeczą, jaką należało zrobić w związku z podjęciem badań nad rozmieszczeniem wzrostu w korzeniach, było sprawdzenie wyników i metod wymienionych dwu prac.

STRESZCZENIE PRACY B R U M F I E L D A ¹

Młoda siewka *Phleum pratense* rosła w wilgotnej kamerze umieszczonej na stole zgiętego do poziomu mikroskopu tak, że korzeń znajdował się w pionowym położeniu. Co pół godziny, przez okres prawie 1,5 doby autor fotografował powierzchnię korzenia lub tylko wybraną grupę komórek skórki. Otrzymana w ten sposób seria zdjęć stanowiła podstawę do pomiarów długości wybranych komórek w kolejnych stadiach rozwoju.

¹ Streszczenie obejmuje tylko tę część pracy, która dotyczy rozmieszczenia wzrostu w korzeniu. To samo w przypadku pracy Goodwina i Stepki.

Wyniki zestawiał Brumfield na wykresach, z których jeden reprodukowany jest na ryc. 1. Oś pionowa na wykresie podaje logarytm długości komórki, oś pozioma — czas.

Ryc. 1. Długość komórki skórki w kolejnych odstępach czasu wg Brumfielda 1942.

Fig. 1. Growth curve for an epidermal cell as it passed from the meristematic condition to maturity. Logarithmic plotting. From Brumfield 1942, fig. 4.

Logarytmiczne przedstawienie długości komórek ułatwia ocenę szybkości wzrostu. Jak wiadomo bowiem, długość rosnącej komórki w różnych momentach czasu można opisać za pomocą równania $l_t = l_0 k^t$ gdzie: l_t — długość komórki po upływie czasu t , l_0 — długość początkowa komórki, k — współczynnik względnej szybkości wzrostu, t — czas w jednostkach. Gdy współczynnik wzrostu „ k ” jest stały, to logarytm długości komórki jest wprost proporcjonalny do czasu, czyli na wykresie w układzie osi „ l_t ” i „ t ” otrzymuje się prostą. Odwrotnie, gdy linia wykresu jest prosta w tym układzie osi, to można na tej podstawie wnioskować, że współczynnik wzrostu jest stały. Gdy linia odchyła się do góry — współczynnik wzrasta, gdy odchyła się ku dołowi — współczynnik maleje.

Z danych Brumfielda zestawionych w formie wykresów podobnych do tego, jaki jest reprodukowany na ryc. 1, wynika, że istnieją dwie fazy wzrostu komórek korzenia *Phleum*, charakteryzujące się stałą szybkością wzrostu (stałym współczynnikiem „ k ”), oddzielone fazą przejściową, w której szybkość wzrostu ulega stopniowej zmianie. W fazie pierwszej szybkość wzrostu jest mała, w fazie przejściowej stopniowo wzrasta, w fazie następnej znów ustala się, ale na wyższym poziomie niż w pierwszej i pod jej koniec gwałtownie spada do zera. Ponieważ można było ustalić położenie komórek w krytycznych momentach czasu (przejście z jednej fazy do drugiej), nietrudno było wykazać, że granice wyróżnionych faz odpo-

wiadają określonym miejscom korzenia. Każdej fazie przyporządkował Brumfield określoną strefę korzenia, wyznaczając w ten sposób rozmieszczenie wzrostu podłużnego w korzeniu. Wyróżnione przez Brumfielda strefy różnią się szybkością wzrostu, przy czym w pierwszej i ostatniej szybkość wzrostu jest stała. W pierwszej strefie rozciągającej się na odcinku 0,0—0,14 mm od szczytu szybkość wzrostu wynosi 5,8% na godzinę, w strefie przejściowej — na odcinku 0,14—0,31 mm stopniowo wzrasta, w następnej — na odcinku 0,31—0,98 mm jest stała i wynosi 41% na godzinę. W końcu tej ostatniej strefy szybkość wzrostu gwałtownie spada do zera. Obraz rozmieszczenia wzrostu w korzeniu *Phleum pratense* wg Brumfielda przedstawia ryc. 2.

Ryc. 2. Strefy wzrostu w korzeniu *Phleum* i szybkość wzrostu w tych strefach wg Brumfielda.

Fig. 2. Diagram showing the growth zones observed in a living root of *Phleum* and the growth rates of epidermal cells in each zone. From Brumfield 1942, Fig. 6.

STRESZCZENIE PRACY GOODWINA I STEPKI

Korzeń siewki *Phleum* o długości około 1 cm rósł w kamerze wypełnionej pożywką. Kamera była umieszczona w pionowym położeniu w uchwytach stolika krzyżowego, połączonego za pomocą dźwigni z ruchomym lusterkim rzucającym obraz włosa z projektora na ekran, tak jak to przedstawia ryc. 3.

Oglądając pod dużym powiększeniem powierzchnię korzenia, autorzy dokonywali wyboru pewnych charakterystycznych punktów siatki ścian komórek skórki. Przesuwając stolik krzyżowy doprowadzali do pokrycia się z włosem okularu każdego wybranego punktu, zaczynając od granicy między kalyptragenem a osiową częścią korzenia. Przesunięcie stolika powodowało odpowiednie przesunięcie linii z projektora na ekranie powiększając odległości między znaczkami 1600 razy. Wykonując co 10 minut tego rodzaju pomiary ustalili autorzy przyrosty odległości punktów od szczytu, skąd mogli wyliczyć prędkość odsuwania się odeń punktów oznaczając ją symbolem r_x . Wyniki pomiarów autorzy zestawili w formie wykre-

sów, z których jeden reprodukowany jest na ryc. 4. Z interpolowanej krzywej r_x autorzy wyznaczali pochodną charakteryzującą szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia².

Ostateczny wniosek z badań Goodwina i Stepki dotyczących rozmieszczenia wzrostu jest następujący: szybkość wzrostu najmniejszych odcinków zmienia się wzdłuż całej strefy wzrostu, przy czym osiąga bardzo wąskie, ale wysokie maksimum mniej więcej w środku strefy. Obraz rozmieszczenia wzrostu w korzeniu wg Goodwina i Stepki podaje kreskowana linia na wykresie (ryc. 4), będąca pochodną krzywej r_x .

Ryc. 3. Schemat urządzenia Goodwina i Stepki. A, B — stolik zgiętego mikroskopu, C — kondensor znajdujący się z tyłu, D — szkiełko przedmiotowe z kamerą, E — siewka, F — stały punkt oparcia, G, H — lustrzana dźwignia, I — lampa projekcyjna rzucająca obraz włosa, J — ekran.

Fig. 3. The device for recording growth increments which has been applied by Goodwin and Stepka. From Goodwin and Stepka 1945, Fig. 1.

Jak wynika z powyższych streszczeń, wnioski autorów jednej i drugiej pracy, dotyczące rozmieszczenia wzrostu w korzeniu *Phleum*, nie są zgodne. Nasuwa się pytanie, który z tych wniosków jest słuszny; czy

² Znajomość rozmieszczenia wzrostu sprowadza się do poznania szybkości wzrostu kolejnych odcinków korzenia. Będzie ona tym precyzyjniejsza, im odcinki te będą krótsze. Szybkość wzrostu odcinka zawartego między punktami x_1 i x_2 łatwo ustalić odejmując r_1 od r_2 , bowiem różnica w szybkości przesuwania punktów wynika właśnie ze wzrostu, jaki zachodzi na odcinku korzenia między tymi punktami. Gdy porównywane punkty leżą bardzo blisko siebie, wówczas różnica szybkości przesuwania jest bardzo mała. Nie można więc szybkości wzrostu najmniejszych odcinków wyrazić w jednostkach prędkości, można natomiast wyrazić ją jako granicę stosunku różnicy r_x dwu punktów do odległości między tymi punktami, gdy ta odległość dąży do zera, co jest pochodną funkcji r_x w punkcie x . Pochodna funkcji r_x charakteryzuje więc szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia — tym samym charakteryzuje najprecyzyjniej rozmieszczenie wzrostu.

wniosek Brumfielda o istnieniu stref stałej szybkości wzrostu i o gwałtownym spadku szybkości na końcu ogólnej strefy wzrostu korzenia, czy wniosek Goodwina i Stepki o wąskiej strefie bardzo intensywnego wzrostu i o zmianach szybkości w całej strefie wzrostu. Trudno na to pytanie odpowiedzieć na podstawie samego tylko porównania prac. W stosunku do obu bowiem można wysunąć zastrzeżenia tej samej wagi. Znaczny rozrzut danych r_x utrudniający prawidłową interpolację, brak opisu metody interpolowania podaje w wątpliwość wnioski Goodwina i Stepki. Budzi również zastrzeżenia metoda wyznaczania r_x za pomocą mechanicznego powiększalnika takiego, jaki przedstawia ryc. 3. Metoda Brumfielda natomiast jest za mało subtelna; jeżeli rzeczywiście strefa maksymalnego wzrostu jest tak wąska, jak to sugerują Goodwin i Stepka, to metodą Brumfielda nie można by tego wykryć, gdyż komórki w tej części wierzchołka, w której to maksimum miałyby występować, są za długie w porównaniu z postulowaną szerokością strefy i zbyt szybko zmieniają swoje położenie.

Aby odpowiedzieć na postawione wyżej pytanie, trzeba było przeprowadzić nowe badania na tym samym obiekcie unikając dostrzeżonych błędów.

Dość dawno już Gautheret (1935) podał prostą i łatwą metodę wyznaczania szybkości wzrostu podłużnego w różnych częściach korzenia. Dotychczas, o ile to wiadomo autorowi, nie była ona wykorzystywana; zasługuje jednak w pełni na wydobycie z zapomnienia. Metoda ta polega na wyznaczaniu pod mikroskopem szybkości przesuwania się wybranych punktów korzenia posiadającego unieruchomioną podstawę. Szybkość tego przesunięcia to szybkość wzrostu między unieruchomioną podstawą a danym punktem korzenia; tym samym różnica szybkości

Ryc. 4. Wykres danych r_x wraz z interpolowaną krzywą r_x linia ciągła i jej pochodną charakteryzującą szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia — linia przerywana, wg Goodwina i Stepki.

Fig. 4. Elongation of *Phleum* root after Goodwin and Stepka. The rate of elongation of the smallest segments of the root is characterized by a broken line.

przesuwania dwu punktów to szybkość wzrostu odcinka zawartego między tymi punktami. Za pomocą tej metody można bezpośrednio ustalać szybkość wzrostu różnych części korzeni. Precyzyjność jej można jednak zwiększyć, łącząc ją z teoretyczną metodą *G o o d w i n a i S t e p k i*. Mianowicie, z danych, jakie uzyskuje się za pomocą metody *G a u t h e r e t a* — szybkości przesuwania punktów względem podstawy korzenia, czyli p_x — z łatwością można przejść na dane, jakie potrzebne są do obliczeń według metody *G o o d w i n a i S t e p k i* — szybkości odsuwania się punktów od szczytu, czyli r_x . Między p_x a r_x istnieje bowiem ścisły związek, mianowicie $r_x = p_0 - p_x$, gdzie p_0 jest szybkością przesunięcia punktu zerowego (szczytu korzenia). Można nawet poprzestać na znajomości p_x nie przeliczając ich na r_x , bowiem pochodna krzywej p_x jest identyczna z pochodną krzywej r_x , jeżeli pominąć zmieniony znak.

METODA

Nasiona *Phleum pratense* wysiewano na merli obciążonej na szalce, przy czym zwisające brzegi merli były zanurzone w pożywce *K n o p a*. Nieco pożywki znajdowało się również wewnątrz szalki. Po dwóch dobach wykiełkowane rośliny z korzeniem długości około 1 cm przenoszono na szkiełko z kamerą, do której wsuwano korzonek. Kamera utworzona była ze szkiełka nakrywkowego grubości 0,1 mm, przyklepionego balsamem za pośrednictwem dwu wąskich szkiełek o grubości 0,17 mm na szkiełku przedmiotowym w ten sposób, że między szkiełkiem nakrywkowym a przedmiotowym istniała wolna przestrzeń otwarta z dwu przeciwnych stron i przebiegająca wzdłuż szkiełka przedmiotowego. W przestrzeń tę, wypełnioną pożywką, wsuwano korzonek młodej rośliny tak, że w położeniu pionowym ziarniak opierał się o krawędź kamery, a coleoptile odchyłało się od szkiełka przedmiotowego. W ten sposób przygotowany obiekt umieszczano na stoliku horyzontalnie zgiętego mikroskopu. Ażeby zapewnić przewietrzanie wokół korzenia, urządzono przepływ pożywki przez kamerę z ustawionego powyżej naczynia za pośrednictwem knota przeciągniętego przez zagiętą i zawieszoną na krawędzi naczynia rurkę szklaną. Dolny, rozszczepiony na pojedyncze nitki koniec knota dotykał brzegu kamery w ten sposób, że przepływ po obu stronach korzenia był równomierny. Pożywka spływała następnie na pasmo bibuły, a stąd do podstawionego naczynia. W czasie 24 godzin przepływało około 300 ccm pożywki.

Do oświetlenia obiektu użyto lampy punktowej z żarówką 35 watów, przepuszczając promienie przez filtr z nasyczonego roztworu FeSO_4 o grubości 50 mm celem eliminowania promieni podczerwonych, ponadto przez filtry szklane matowo-białe i barwne, dla osłabienia intensywności

ności światła. Pracowano przy dwu mikroskopach jednocześnie — przy jednym był użyty filtr zielony, przy drugim czerwony (nie zauważono wpływu barwy światła na wzrost korzenia).

Stosowano imersję olejową 90x n. a. 1,30 i okular 6x z podziałką. Jednostka podziałki odpowiadała w jednym zestawie 0,96 μ , w drugim 1,0 μ . Obserwacje (pomiar) rozpoczynano po 3—5 godzinach od założenia obiektu. Pomiar dla jednego korzenia trwał około 6 godzin. Oświetlenie obiektu i szybkość przepływu pożywki były jednakowe i stałe w okresie wstępnym i w okresie pomiarów. Oświetlenie pokoju było naturalne — dzienne. Temperatura wynosiła 20—26°C i była mniej więcej stała dla każdej obserwacji.

Stwierdzono, że osadzenie roślinki na brzegu kamery jest stałe i że przesunięcia korzenia zachodzą tylko na skutek wzrostu w obrębie merystemu wierzchołkowego. Prędkość przesuwania wyznaczano na podstawie przesunięcia ściany poprzecznej w protodermie względem skali okularu w czasie 5 minut. Czas mierzono stoperem. Obrany punkt przed pomiarem orientowano względem punktu zerowego, to jest względem granicy między czepkiem a osiową częścią korzenia, która daje się wyznaczyć z dokładnością około 10 μ na centralnym przekroju optycznym korzenia. Przesuwając stolik mikroskopowy z umocowanym nań obiektem odmierzano odległość między wybranym punktem a punktem zerowym na tej samej skali, na której następnie odczytywano przesunięcie punktu. Ścianę poprzeczną, której przesunięcie śledzono, obierano w czasie mierzenia odległości od szczytu. Przesunięcia odnoszono do pierwotnej odległości punktu. Wybór punktów ze względu na odległość od szczytu przeprowadzano losowo z tym, że co 5—7 pomiar odnosił się do punktu zerowego. Punktem zerowym w wypadku pomiaru jego przesunięcia był jakiś stały punkt w obrębie czepka, właściwy bowiem punkt zerowy nie daje się wyznaczyć z potrzebną dokładnością.

Aby uzyskać większe wartości p_x , wyznaczoną wartość mnożono przez dwa, to znaczy przeliczano na 10 minut.

Badania przeprowadzono w lecie (w sierpniu) 1952 r. Wykonano pomiary dla 7 korzeni. Wiele innych korzeni trzeba było zdyskwalifikować już we wstępnym okresie obserwacji na skutek występowania wygięć bądź zahamowań wzrostu.

WYNIKI

Szybkość wzrostu korzeni w warunkach doświadczenia raczej nie odbiegała od szybkości wzrostu korzeni na merli. Nie przeprowadzono wprawdzie ścisłych pomiarów szybkości wzrostu korzeni rosnących na merli, ale wzrokowe porównanie długości korzeni, które 24 godz. znaj-

dowały się w oświetlonej kamerze z korzeniami roślin rosnących cały czas na merli, nie wykazywało różnic.

Szybkość wzrostu korzeni w warunkach doświadczenia odpowiada w pełni szybkości wzrostu, jaką dla warunków normalnych podają Goodwin i Stepka, i jest większa niż w warunkach obserwacji mikroskopowych Brumfielda oraz Goodwina i Stepki. Odpowiednie zestawienie podaje tabela 1.

T a b e l a 1

Szybkość wzrostu korzeni *Phleum pratense* i długość strefy wzrostu
Growth rates of roots and length of growth zone

Pochodzenie danych	Szybkość wzrostu - growth rate		długość strefy length of zone
	w warunkach obserwacji mikroskopowej in microscopic mounts	w szalce in dish	
	mm/godzinę	mm/hour	
Wg Brumfielda	0,266	—	0,98
In work of Brumfield	0,390	—	—
Wg Goodwina i Stepki	0,13	0,40—0,44	1,0
In work of Goodwin and Stepka			
Własne — in this work			
korzeń-root nr A	0,545		1,8
„ B	0,417		1,7
„ C	0,454		1,7
„ D	0,530		1,5
„ E	0,425		1,5
„ F	0,474		1,5
„ G	0,412		1,5

Stosunkowo szybki wzrost wskazuje na normalne zachowanie się korzeni w warunkach obserwacji mikroskopowych.

Wyniki pomiarów p_x zestawione są w tabeli 2 oraz na wykresach ryc. 6 w układzie osi p_x i x .

Jak widać, wielkości p_x nie układają się liniowo, ale wykazują pewien stopień rozproszenia. Przyczyną tego rozproszenia jest:

- 1) niedokładność pomiarów,
- 2) nierównomierny wzrost.

Niedokładność pomiarów wynika choćby stąd, że ta sama ściana poprzeczna, nachylona względem płaszczyzny obrazu, będzie widoczna w różnych punktach skali. Wynikająca stąd różnica nie przekracza jednak 2μ . Większy błąd popełnia się przy wyznaczaniu położenia punktów — zwłaszcza w wypadku punktów położonych daleko od szczytu. W tym wypadku różnice mogą sięgać do 30μ .

T a b e l a 2.

Wyniki pomiarów przesuwania się punktów — p_x w $\mu/5$ min. — położonych w różnych odległościach od szczytu korzenia — x w μ .

Displacement of points — p_x in $\mu/5$ min. — lying at various distances from root tip. — x in μ .

korzeń root	A		B		C		D		E		F		G	
	x	p_x	x	p_x	x	p_x	x	p_x	x	p_x	x	p_x	x	p_x
0	45		0	33	0	40	0	44	0	35	0	38	0	35
0	46		400	30	680	28	500	34	364	31	920	14	560	27
400	44		358	31	630	31	820	25	905	8	480	34	700	21
645	34		500	30	1010	18	0	44	672	19	740	23	1100	9
0	45		442	32	360	35	710	31	0	35	970	12	1300	2
540	41		690	25	0	39	540	35	643	21	0	40	0	33
650	37		609	28	360	36	950	18	1065	3	510	32	0	33
750	32		705	24	285	38	870	22	585	21	700	24	700	19
950	21		614	28	450	37	570	37	691	18	400	37	1090	7
0	42		0	33	0	38	300	42	806	13	600	28	500	29
0	45		910	18	0	40	590	32	0	36	840	19	0	36
1100	15		790	20	385	36	1150	13	432	30	1300	3	870	13
0	47		1000	14	450	35	920	24	691	18	450	35	460	29
655	38		1180	10	720	29	1110	12	528	26	0	39	840	17
510	40		0	34	1300	11	500	39	814	14	330	37	0	33
770	32		670	24	885	22	0	44	537	26	830	17	0	32
860	29		860	20	1160	11	1030	16	634	18	1430	0	390	32
0	45		600	29	810	21	900	22	768	16	1140	8	0	37
910	26		510	32	0	38	1100	15	0	36	670	25	300	33
1120	14		400	33	790	23	1380	6	1094	5	290	37	900	13
680	37		525	32	1280	9	1460	4	845	13	480	34	650	24
1130	23		810	23	1100	14	0	44	384	32	860	15	580	23
0	44		0	38	0	35	650	34	797	16	0	39	580	23
1020	20		400	36	1540	5	780	31	682	20	250	39	0	34
975	23		850	23	860	20	890	25	1219	2	970	13	1030	9
1035	20		50	38	0	35	1720	0	1126	3	1280	4	0	34
0	44		400	35	1660	1	1300	8	624	23	640	27	275	34
950	26		300	37			1600	0	816	14	1060	9	400	30
1180	16		425	34			410	38	528	25	1420	2	950	11
1030	20		530	34			0	45	778	15	520	32	850	15
1260	14		700	28			700	33	960	9	0	41	1200	3
620	38		810	24			370	42	845	12	240	38	660	24
1090	19		930	21			1230	10	0	35	880	17	1020	9
490	45		1040	17			1500	1	528	28	660	26	1060	8
660	41		1280	8	E		370	42	960	10	980	15	860	11
810	33		1370	6	x	p_x	1350	7	403	34	800	21	265	33
0	48		1570	2					566	29	0	41	0	34
1070	20		1700	1		20			701	21	1020	12	890	10
0	45		0	32	1400	5			701	20	300	38	810	12
480	41		0	33	1027	6			912	11	1000	9	990	9
740	38				0	34			0	36	1150	7	480	30
0	50				412	30			893	12	0	38	0	40
1100	20				0	36	G		989	8	1240	5	450	31
1280	13				202	36			269	36	600	29	1350	0
1540	10				288	35	x	p_x	0	36	1180	8	1100	4
1780	1				403	31	850	13	260	34	1440	2	1240	2
					0	37	750	20	1200	3	1480	1	1270	1,5
					480	28	300	34	346	32	1520	1	1310	1
					1094	5	790	16	0	34	1600	0	1350	0
					1257	2	960	10	394	29	0	38	0	33

Ryc. 5. Szybkość przesuwania się punktu zerowego w kolejnych 2-minutowych odstępach czasu.

Fig. 5. Rate of displacement of zero point (root apex) at successive intervals of time (interval = 2 min.)

Niedokładność pomiarów wyjaśnia jednak tylko częściowo rozproszenie danych. Znacznie większą rolę odgrywa tu nierównomierność wzrostu. Można było przekonać się o tym bezpośrednio, badając w ciągły sposób przesunięcia punktu zerowego korzenia *A* pod koniec wstępnego okresu. Wykres na ryc. 5 podaje szybkość przesuwania się punktu zerowego, reprezentowanego przez dobrze widoczny punkt siatki ścian w obrębie czepka w kolejnych 2-minutowych odstępach czasu. Niedokładność pomiarów nie wchodzi tu w ogóle w rachubę, gdyż punkt był dobrze widoczny i odpadał błąd związany z wyznaczaniem położenia. Na wykresie tym dają się wyróżnić:

- 1) wahania szybkości przesuwania wokół pewnej średniej,
- 2) zmiany szybkości przebiegające w pewnym określonym kierunku: zmniejszanie albo zwiększanie szybkości.

Różnice szybkości przesuwania punktu zerowego są wyrazem różnic w szybkości wzrostu korzenia. Mogą one wynikać stąd, że zmienia się szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia (wszystkich albo tylko niektórych), bądź stąd, że zmienia się długość strefy wzrostu. Zmiana długości strefy wzrostu wystąpiła całkiem wyraźnie w wypadku korzenia *D* i *F*. Wydaje się, że ma ona większe znaczenie w wypadku kierunkowych zmian szybkości wzrostu. Wskazuje na to korzeń *D*^{*}, w którym wzrost ogólnej szybkości wzrostu łączył się z przedłużeniem strefy wzrostu korzenia. W wypadku krótkotrwałych wahań natomiast główną rolę odgrywa prawdopodobnie zmiana szybkości wzrostu najmniejszych odcinków bez zmian długości strefy wzrostu. Należy przypuszczać więc, że zmienia się rozmieszczenie wzrostu. Gdybyśmy mogli obserwować w czasie krzywą rozmieszczenia wzrostu, to zapewne okazałoby się, że ta krzywa faluje, że maksimum jej przesuwa się, wznosi i opada. To właśnie najprawdopodob-

* Patrz ryc. 6, bowiem w tabeli 2 dane dla korzenia *D* odnoszą się tylko do pomiarów w godz. 16—20.

Ryc. 6. Wykresy danych p_x . Dla korzeni E, F, G przeprowadzono interpolację metodą najmniejszych kwadratów — (linia ciągła) oraz wyznaczono pochodną z interpolowanej krzywej (linia przerywana) charakteryzującą szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia.

Fig. 6. Displacement of various points on the surface of the root — p_x — plotted as a function of distance from the apex. Broken line: (on diagram E, F, G) first derivative of the curve p_x characterizing the growth of the smallest segments of the root.

niej jest główną przyczyną rozproszenia danych p_x . Jeżeli teza powyższa jest słuszna (badanie zmian rozmieszczenia wzrostu będzie przedmiotem osobnej pracy), to nasuwa się pytanie: czy można w ogóle wyznaczyć rozmieszczenie wzrostu w korzeniu taką metodą, jaką przyjęto w niniejszej pracy?

Z danych przedstawionych na wykresach ryc. 6 wynika, że istnieje możliwość przeprowadzenia prawidłowej ich interpolacji, a tym samym możliwość wyznaczenia rozmieszczenia wzrostu w oparciu o tę interpolowaną krzywą. Należy jednak podkreślić, że wyznaczone tą metodą rozmieszczenie wzrostu to tylko przeciętny stan rozmieszczenia wzrostu w korzeniu.

Na wynik pomiaru p_x wpływa również to, czy wybrano ścianę apikalną trichoblastu, czy też zwykłej komórki skórki. Jak to bowiem wykazali *Sinnot i Bloch* (1939) oraz *Brumfield* (1942), trichoblasty rosną wolniej niż zwykłe komórki skórki, przy czym brak jakichkolwiek poślizgów jednej komórki względem drugiej. Przesunięcie zatem apikalnej ściany trichoblastu jest mniejsze niż przesunięcie apikalnej ściany zwykłej komórki skórki na tym samym poziomie. Jest to jedna z dodatkowych przyczyn rozproszenia danych p_x .

Jest rzeczą ciekawą, że mimo wahań szybkości wzrostu korzeń może rosnąć pionowo-prosto bez jakichkolwiek wychyleń. Wynika stąd, że zmiany szybkości wzrostu zachodzą w tym samym stopniu na całym przekroju poprzecznym.

Kierunkowe zmiany szybkości wzrostu, niekiedy bardzo duże, występują przede wszystkim w związku ze zmianą warunków, a mianowicie w okresie wstępnym, gdy korzeń przyzwyczaja się do nowych warunków oświetlenia i przepływu pożywki. Występują jednak również bez jakichkolwiek widocznych wpływów zewnętrznych dyskwalifikując pomiary do wykorzystania. Szybkość przesunięcia punktu zależy wówczas nie tylko od położenia w korzeniu, ale również od fazy wzrostu korzenia. Żeby móc ustalić obraz rozmieszczenia wzrostu, należałoby wyznaczyć w takim wypadku przesunięcie różnych punktów jednocześnie, a nie kolejno w różnych momentach czasu. Z kilkunastu wziętych do obserwacji korzeni tylko kilka, po upływie okresu wstępnego, nie zmieniało w kierunkowy sposób szybkości wzrostu i tylko dla tych kilku korzeni zebrano dostateczną ilość pomiarów, obserwację innych przerywając już na początku.

Analizując rozkład danych p_x na wykresach dziwnym może się wydawać nierównomierne zagęszczenie tych danych, a w szczególności brak liczniejszych danych na odcinku 1—400 μ . Uzasadnienie tego jest następujące: na wspomnianym odcinku wzrost jest na tyle słaby, że szybkość przesuwania punktów niewiele różni się od szybkości przesuwania punktu zerowego. Różnice wynikające z położenia w tej strefie nie tylko że są nie-

znaczne, ale co gorsze są maskowane przez różnice wynikające z wahań szybkości wzrostu. Jak to wyjaśniono już poprzednio, punkty na powierzchni korzenia przesuwają się na skutek wzrostu, jaki zachodzi między tymi punktami a unieruchomioną podstawą korzenia. Im dłuższa ta strefa, im bliżej szczytu położone są rozważane punkty, tym większe wahania w szybkości przesuwania. Podobnie bowiem jak przesunięcie punktu jest sumą wzrostu odcinków oddzielających punkt od podstawy korzenia, tak wahania w szybkości przesunięcia punktu są sumą wahań w szybkości wzrostu poszczególnych odcinków. Gdy wyznacza się przesunięcia punktów w kolejnych momentach czasu, to często różnice wynikające z położenia punktów maskowane są różnicami wynikającymi z wahań szybkości wzrostu, przy czym maskowane są one w różnym stopniu w różnych częściach wierzchołka. W rezultacie obraz rozmieszczenia wzrostu nie jest jednakowo jasny w różnych częściach wierzchołka; jest on najbardziej wątpliwy dla strefy przyszczytowej. Dlatego właśnie z góry rezygnowano z wyznaczania p_x w pobliżu szczytu.

Analizując rozkład punktów p_x na wykresach, dochodzi się do przekonania, że odpowiadają one funkcji $p_x = k - x^b 10^{a + cx}$ gdzie „ k ” — średnia szybkość przesuwania punktu zerowego. Po sprawdzeniu innych możliwości matematycznego wyrażenia p_x przeprowadzono interpolację metodą najmniejszych kwadratów wg tego rodzaju funkcji, ale wyrażonej w logarytmach, przy czym p_x dla wyrazistości wzięto 100 krotnie większe:

$$\log 100 (k - p_x) = a + b \log x + cx$$

Interpolację przeprowadzono tylko dla trzech korzeni (E, F i G). Interpolowane krzywe wykreślone są na wykresach ryc. 6 ciągłą linią.

Dla uzyskania obrazu rozmieszczenia wzrostu należało wyznaczyć pochodną funkcji p_x . Równanie pochodnej przedstawia się następująco:

$\frac{dp_x}{dx} = -p_x \left(\frac{b}{x} + c \ln 10 \right)$ Krzywe odpowiadające tej pochodnej po zmianie znaku minus na plus wykreślone są na ryc. 6 liniami przerywanymi.

Jak widać, szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia zmienia się stopniowo osiągając szerokie maksimum w odległości około 700 μ od szczytu przy długości strefy wzrostu około 1500 μ . Spadek szybkości wzrostu od maksimum do zera dokonuje się na długim odcinku korzenia.

DYSKUSJA

Podane wyżej wnioski o rozmieszczeniu wzrostu w korzeniu *Phleum* nie zgadzają się ani z wnioskami B r u m f i e l d a, ani z wnioskami G o o d w i n a i S t e p k i. W czym tkwi przyczyna tych rozbieżności?

Ażeby móc odpowiedzieć na to pytanie, trzeba przede wszystkim porównać dane, które były podstawą wniosków w każdej z prac. Porównując dane niniejszej pracy z danymi B r u m f i e l d a, trzeba je w pierwszej kolejności sprowadzić do wspólnego mianownika. W tym celu należy przeliczyć szybkość przesuwania punktów wyrażoną jako funkcja odległości od szczytu na przyrost odległości między punktami w zależności od czasu. Nietrudno to zrobić.

Zmianę odległości punktu względem szczytu w zależności od czasu łatwo ustalić wychodząc z równania:

$$k - p_x = r_x = \frac{dx}{dt} = \frac{x^b 10^a + cx}{100} \quad \text{skąd: } dt = x^{-b} 10^{(cx-a)} 100 \, dx$$

(znak przy c poprawiono z minus na plus, ponieważ współczynnik ten jest ujemny)

$$t = \frac{100}{10^a} \int x^{-b} 10^{cx} dx + C \quad \text{przechodząc z } 10 \text{ na } e \quad 10^{cx} = e^{cx \ln 10},$$

$$\text{kładąc } \ln 10 = h, \quad e^{cx \ln 10} = e^{xh}$$

$$\text{otrzymujemy: } t = \frac{100}{10^a} \int x^{-b} e^{xh} dx + C;$$

rozwijając wyrażenie e pod całką w szereg i całkując otrzymujemy ostatecznie:

$$t = \frac{100}{10^a x^b} \sum_1^n \frac{h^{n-1} x^n}{n-b} \frac{1}{(n-1)!} + C.$$

Szereg ten jako szybko zbieżny obliczano z dostateczną dokładnością licząc n do 10. Zakładamy, że dla $x = 1$ $t = 0$. Wykres zależności $t = f(x)$ w tych warunkach dla merystemu wierzchołkowego korzenia E przedstawia ryc. 7.

Punkty położone w końcu strefy wzrostu oddalają się od szczytu z szybkością wzrostu korzenia, można więc ten moment wykorzystać dla sprawdzenia poprawności obliczeń. Okazuje się, że stosunek drogi do czasu w końcu strefy wzrostu, wyliczony z krzywej na ryc. 7, odpowiada dokładnie szybkości wzrostu korzenia, dla którego ten wykres był sporządzony. Świadczy to o prawidłowości obliczeń przy sporządzaniu wykresu.

Mając krzywą $t = f(x)$ można, naśladując B r u m f i e l d a, zbadać zmiany odległości między punktami w zależności od czasu. W tym celu należy wybrać dwa punkty i przesuwając je po krzywej o taki sam odstęp

czasu. Np. wybieramy dwa punkty położone na krzywej w odległości $10\ \mu$ (mierzone względem osi pionowej), które ilustrują nam bazalny i apikalny koniec komórki o długości początkowej $10\ \mu$. Przesuwamy następnie jeden i drugi punkt o taki sam odstęp czasu (mierzony względem osi poziomej). Odległość między punktami w nowym położeniu podaje nam długość komórki po upływie czasu, o jaki przesunęliśmy punkty. Podany sposób wyznaczania długości komórki w kolejnych momentach czasu odpowiada w zupełności sposobowi, jaki zastosował Brumfield w swojej pracy. Autor ten mierzył długości komórek na rosnącym korzeniu; w naszym wypadku są one mierzone na modelu rosnącego korzenia, o którym wiemy, jakiemu rozmieszczeniu wzrostu odpowiada. Można więc sprawdzić metodę Brumfielda; można tą metodą wyznaczyć rozmieszczenie wzrostu na modelu i porównać je z rozmieszczeniem wzrostu, na podstawie którego model ten został skonstruowany.

Ryc. 7. Wykres zależności między położeniem punktu względem szczytu i czasem podczas wzrostu korzenia *Phleum*.

Fig. 7. The distance from tip of a point on the surface of growing root plotted as a function of time. Point at first ($t = 0$) located at distance $100\ \mu$ from tip.

Ryc. 8. Długość komórki w kolejnych odstępach czasu; na podstawie funkcji $t = f(x)$. Cyfry pod wykresem podają położenie komórki względem szczytu.

Fig. 8. Length of cell at successive intervals of time; on the basis of function $t = f(x)$.

Długość komórki, która w odległości $400\ \mu$ od szczytu posiadała długość $21\ \mu$ (zgodnie z rzeczywistymi stosunkami długości komórek), w kolejnych półgodzinnych odstępach czasu przedstawia tabela 3. Na tabeli tej podane są również przyrosty długości komórki w % oraz położenie komórki względem szczytu, ustalone dla jej środka w kolejnych odstępach czasu. Wykres logarytmu długości komórki w zależności od czasu przedstawia ryc. 8.

Z danych o przyrostach długości komórki w kolejnych odstępach czasu wynika, że po okresie silnego wzrostu, w którym zmiany szybkości

T a b e l a 3.

Długość komórki, jej położenie i przyrost w kolejnych odstępach czasu; na podstawie funkcji $t = f(x)$.

Length of cell, its position and growth in % at successive intervals of time; on the basis of function $t = f(x)$.

czas - time jedn.=10 min. unit=10 min.	położenie - position			długość length	log 1	przyrost growth $\frac{1_2 - 1_1}{1_1} \cdot 100$
	gran. apik. apic. end	środek middle	gran. baz. basal end			
t		x		1		
0	390	400	411	21	1,322	
3	418	430	443	25	1,398	19,0
6	452,5	467	482,5	30	1,477	20,0
9	491	510	529	38	1,580	26,6
12	542	566	590	48	1,681	26,3
15	606	638	670,5	64,5	1,809	30,3
18	692	734	776	84	1,924	30,2
21	802	855	908	106	2,025	26,2
24	945	1009	1074	129	2,111	21,7
27	1114	1190	1266	152	2,182	17,8
30	1314	1394	1475	157	2,196	3,3

wzrostu są niewielkie, następuje dość gwałtowny spadek tej szybkości. Wniosek jest więc podobny do tego, jaki wyprowadził Brumfield w swojej pracy. Jeszcze lepiej pod tym względem wypada porównanie wykresów logarytmicznych; krzywa na wykresie ryc. 8. odpowiada dokładnie prawej części krzywej Brumfielda przedstawionej na ryc. 1. Na przebiegu tej krzywej daje się wyróżnić odcinek mniej więcej prosty, po którym następuje gwałtowne odchylenie się do poziomu. Znaczy to, że logarytm długości komórki na tym odcinku jest wprost proporcjonalny do czasu. Wynikałoby stąd dalej, że w okresie czasu odpowiadającemu prostemu odcinkowi linii wykresu komórka rosła z jednakową stałą szybkością względną. Odpowiadałaby temu pewna strefa o stałej szybkości wzrostu i ostro zaznaczonej granicy bazalnej — jeżeli powtórzyć tok rozumowania Brumfielda.

Wyznaczając rozmieszczenie wzrostu na modelu metodą Brumfielda, dochodzimy więc do takiego wniosku, do jakiego doszedł Brumfield w swojej pracy, ale sprzecznego z rozmieszczeniem wzrostu w korzeniu, na podstawie którego ten model został skonstruowany. Wniosek uzyskany metodą Brumfielda jest więc fałszywy w odnie-

sieniu do modelu. Prawdopodobnie w tym samym stopniu jest fałszywy wniosek *B r u m f i e l d a* w odniesieniu do korzenia *Phleum*.

Dlaczego metoda *B r u m f i e l d a* prowadzi do błędnego wniosku o istnieniu ostrej granicy strefy wzrostu? Wystarczy spojrzeć na cyfry podające położenie komórki w różnych momentach czasu zawarte w tabeli 3 oraz cyfry wypisane pod wykresem na ryc. 8 (tymi danymi, jak się wydaje, *B r u m f i e l d* nie rozporządzał). Widać, że ten krótki okres czasu, w którym następuje spadek szybkości wzrostu, odpowiada bardzo długiej strefie na wierzchołku. To, co wydaje się być nagłym załamaniem krzywej pod koniec strefy wzrostu, jest nagłe tylko w czasie, a rozciągnięte w przestrzeni.

Czy istnieją strefy o stałej szybkości wzrostu takie, jakie sugerował *B r u m f i e l d*? Według *B r u m f i e l d a* istnieją dwie takie strefy: jedna w pobliżu szczytu, druga nieco dalej. Co do pierwszej strefy trudno zająć określone stanowisko. Jak to już bowiem było podane, nie zebrano dla strefy przyszczytowej dostatecznej ilości danych p_x , a rozmieszczenie wzrostu w tej strefie wyznaczono na zasadzie ekstrapolacji danych dla dalej położonych punktów. Wydaje się całkiem prawdopodobne, że *B r u m f i e l d* ma rację co do szybkości wzrostu w pobliżu szczytu, gdyż w tej części korzenia metoda jego była niewątpliwie w pełni poprawna. Wniosek *B r u m f i e l d a* o istnieniu drugiej strefy o stałej szybkości wzrostu nie odbiega wiele od wyników niniejszej pracy, bowiem różnice szybkości wzrostu najmniejszych odcinków korzenia w strefie wokół maksimum rozciągającej się na odcinku 500—900 μ są na tyle małe, że można je ostatecznie pominąć. Niewielka wypukłość krzywej szybkości wzrostu najmniejszych odcinków w tej strefie, być może, wynika jedynie z charakteru funkcji przyjętej do interpolacji. Równie dobrze dane p_x w tej strefie można by interpolować prostą linią, otrzymując w rezultacie stałą szybkość wzrostu w tej strefie. W każdym bądź razie spadek od tej maksymalnej, prawie stałej szybkości wzrostu nie jest tak gwałtowny, jak to sądził *B r u m f i e l d*.

Przejdźmy do konfrontacji naszych wniosków z wnioskami *Goodwina i Stepki*. Odszukanie źródła sprzeczności między tymi wnioskami nie jest trudne. Wystarczy zestawzić następujące fakty:

- 1) korzenie w doświadczeniu *Goodwina i Stepki* rosły nie normalnie wolno, w naszym doświadczeniu rosły z szybkością normalną;
- 2) rozproszenie danych r_x w pracy *Goodwina i Stepki* jest znacznie większe niż w naszej pracy i jest tak duże, że właściwie uniemożliwia poprawną interpolację.

Nienormalne zachowanie się korzeni i duże rozproszenie danych nie mogło nie odbić się na wynikach pracy Goodwina i Stepki. Niewątpliwie bliższe prawdy są wnioski uzyskane w niniejszej pracy. Ale i tu trzeba pamiętać o tym, że podany obraz rozmieszczenia wzrostu jest jedynie obrazem przeciętnego stanu i że rozmieszczenie wzrostu w konkretnym korzeniu *Phleum* w danej chwili może daleko odbiegać od rozmieszczenia nakreślonego tutaj.

PODSUMOWANIE

Zadaniem niniejszej pracy było sprawdzenie niezgodnych między sobą wyników badań Brumfielda (1942) oraz Goodwina i Stepki (1945) nad rozmieszczeniem wzrostu w korzeniu *Phleum pratense*.

Na podstawie danych o szybkości przesuwania się różnych punktów powierzchni korzenia pod mikroskopem ustalono, że szybkość wzrostu najmniejszych odcinków korzenia zmienia się stopniowo wzdłuż całej strefy wzrostu, osiągając szerokie maksimum w odległości około 700μ od szczytu, przy długości strefy wzrostu około 1500μ . Spadek szybkości wzrostu od maksimum do zera dokonuje się powoli na dość długim odcinku korzenia. Powyższy wynik nie zgadza się ani z wnioskiem Brumfielda, wg którego istnieje gwałtowny spadek szybkości wzrostu na końcu długiej strefy o stałej maksymalnej szybkości wzrostu, ani z wnioskiem Goodwina i Stepki, że istnieje bardzo wąskie, ale wysokie maksimum szybkości nieco przed środkiem strefy wzrostu.

Aby odpowiedzieć na pytanie: co jest przyczyną rozbieżności między wynikiem niniejszej pracy a wnioskiem Brumfielda, sprawdzono metodą Brumfielda na modelu sporządzonym na podstawie własnych danych o rozmieszczeniu wzrostu w korzeniu. Wyznaczono metodą Brumfielda rozmieszczenie wzrostu na modelu i porównano je z rozmieszczeniem, na podstawie którego ten model został skonstruowany. Na tej podstawie wykryto błąd związany z metodą Brumfielda. Przyczyna rozbieżności między wynikami niniejszej pracy a wnioskiem Goodwina i Stepki tkwi w nienormalnym zachowaniu się korzeni i dużym rozproszeniu danych uniemożliwiającym poprawną interpolację w badaniach wymienionych autorów.

Praca niniejsza została wykonana pod kierunkiem prof. dr Henryka Teleżyńskiego. Dużą pomoc w matematycznym ujęciu okazali mi prof. dr Wacław Skrzywan oraz mgr Andrzej Jagielski.

Instytut Botaniczny

Uniwersytetu Wrocławskiego im. B. Bieruta
we Wrocławiu

(Wpłynęło dn. 1.III.1956 r.)

S U M M A R Y

The aim of the present work was to check on the discordant results reported by Brumfield (1942) and by Goodwin and Stepka (1945) from their researches on the distribution of growth in the root of *Phleum pratense* (figs. 2 and 4). For determining the distribution of growth in the present investigation Gautheret's (1935) method was used. This consisted in observing with a microscope the rate of displacement of various points on the surface of the root. The theoretical interpretation was based on the method of Goodwin and Stepka, namely by determining the derivative from the curve plotted for the displacement rate of points. By using a simple arrangement making possible the normal rapid growth of roots in the course of observations with the microscope data on the displacement rate of points in the net of epidermal cell walls were gathered for 7 roots. These results are assembled in Table I and illustrated in fig. 6. By interpolating the data with the least squares method of and by computing the derivative from the interpolated curve, the average conditions of the distribution of growth in *Phleum* roots were defined (fig. 6 E, F, G). It was found that the growth rate of the smallest elements of the root changed gradually along the whole of the zone of growth giving a wide maximum at a distance of about $700\ \mu$ away from the tip when the length of the whole zone was about $1500\ \mu$. The drop in the growth rate from maximum to zero was gradual over a fairly long segment of the root. This result is in disaccord with the results reported both by Brumfield, according to whom there is a sudden drop in growth rate at the end of a long zone of constant maximum growth rate, and by Goodwin and Stepka who state that there is a very narrow but high maximum in the growth rate just before the middle of the zone of growth.

To define the reason for the inconsistency between the present results and those reported by Brumfield his method was checked on a model prepared from the author's own data defining the distribution of growth in roots. The distribution of growth was determined with Brumfield's method and this was compared with the distribution from which the model had been constructed. The result obtained disagreed with the distribution which served for making the model. With Brumfield's method a sharp drop in growth rate similar to the drop observed by that writer was obtained. The error in Brumfield's method arises when the position of the measured cell at the successive time intervals is not considered and consequently the circumstance that the sharp drop in the growth rate with time takes place gradually in space passes unnoticed.

The present investigation was carried out under the guidance of Professor Henryk Teleżyński. Very helpful in the mathematical approach was the advice given by Professor Waław Skrzywan and Andrzej Jagielski M. Sc.

L I T E R A T U R A

- Brumfield R. T., 1942, Cell growth and division in living meristems, Amer. Jour. Bot., 29: 533—543.
Gautheret R. J., 1935, Recherches sur la culture des tissus végétaux, Paris Librairie E. Le François.

- Goodwin R. H., and Stepka W., 1945, Growth and differentiation in the root tip of *Phleum pratense*, Amer. Jour. Bot. 32: 36—46.
- Sinnott E. W., and Bloch R., 1939, Changes in intercellular relationships during the growth and differentiation of living plant tissues, Amer. Jour Bot., 26: 625—634.
- Sachs J., 1873, Über das Wachstum der Haupt und Neben-Wurzeln, Arb. Bot. Inst. Würzburg, 1.