Działanie kinetyny wyizolowanej z kwasu dezoksyrybonukleinowego (z grasicy) na tkanki roślinne

II. Badania anatomiczne

Effects of kinetin isolated from thymus DNA on plant tissues

II. Anatomical investigations

M. J. OLSZEWSKA, W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYKOWA, E. SEMPIŃSKA

WSTĘP

Ostatnie lata badań nad wzrostem roślin przyniosły odkrycie szeregu nowych czynników stymulujących podziały komórkowe. Substancje te, nazwane kininami, stanowią pod względem chemicznym grupę niejednorodną. Wśród nich szczególną aktywnością wyróżniają się niektóre pochodne adeniny.

Z teoretycznego punktu widzenia na uwagę zasługuje przede wszystkim kinetyna, która została wyizolowana w r. 1955 przez Millera, Skooga i współpr. (1955a, 1955b) z kwasu dezoksyrybonukleinowego (KDN) grasicowego w toku częściowego jego rozpadu i zidentyfikowana jako pochodna adeniny — 6 furfurylometyloaminoadenina. Obecnie kinetynę otrzymuje się głównie na drodze syntezy (Hall, de Roppe, 1955, Bullock, Hand, Stockstad, 1956, Supniewski a. Bany, 1956).

Od momentu ukazania się pierwszych publikacji o kinetynie (Miller, Skoog i współpr. 1955a, 1955b, Skoog 1955), substancja ta wzbudziła ogromne zainteresowanie w pracowniach biologicznych. W wyniku dotychczasowych badań ustalono, że: 1) wg poglądu Skooga oraz Millera, kinetyna jest aktywna tylko w obecności auksyny (kwasu indolooctowego — IAA), stymulując w tych warunkach cytokinezę w wycin-kach łodyg tytoniu hodowanych in vitro. Skinner i Shive (1955) potwierdzili te wyniki na pąkach mchu *Tortella caespitosa*, 2) kinetyna stymuluje wzrost siewek tytoniu oraz kiełkowanie nasion sałaty (Mil-

ler, Skoog i współpr., 1956), 3) znaleziono optymalne i toksyczne dawki kinetyny dla korzeni cebuli (Guttman 1956) i korzeni pomidorów (Skinner, Shive, 1955). Guttman stwierdziła, że koncentracje kinetyny począwszy od 30×10^{-6} hamują wzrost korzeni na skutek zaburzeń w mitozie. Autorka ta przypuszcza, że kinetyna skracając okres interfazy, przedłuża jednak czas trwania mitozy, 4) kinetyna hamuje podziały komórek zwierzęcych (Ham, Eakin, Skinner, 1956, Lettré, Endo, 1956).

Ostatnio opublikowaliśmy wyniki naszych badań wstępnych nad kinetyną wyizolowaną przez nas z KDN grasicowego (Sempiańska, Maciejewska-Potapczykowa, Dmochowski, 1957) i nad jej działaniem na tkanki roślinne (Miller, Skoog i współpr., 1956). W poszukiwaniu szybkich i wygodnych testów spośród szeregu przebadanych roślin wybrano kilka najbardziej wrażliwych na działanie kinetyny i ustalono dla nich optymalne stężenia. Stwierdzono, że reakcją tych roślin na działanie kinetyny jest powstawanie charakterystycznych zgrubień na powierzchni organów, na które działano kinetyną (strąki grochu, korzenie marchwi), oraz szybki wzrost pąków i rozrost przetchlinek kłębow ziemniaczanych i plechy wątrobowca *Riccia*.

Praca niniejsza, będąca kontynuacją tych badań, miała na celu rozstrzygnięcie, czy kinetyna w opisanym uprzednio materiale istotnie stymuluje rozmnażanie komórek, czy też powoduje jedynie ich hipertrofię. Wpływ kinetyny rozpatrywaliśmy od strony działania jej na merystemy wierzchołkowe (pąki ziemniaka w okresie spoczynkowym), merystemy boczne (felogen w przetchlinkach ziemniaka) oraz od strony jej zdolności do pobudzania rozwoju tkanki kallusowej (korzenie marchwi, pędy zgrubiałe kapusty czerwonej, tzw. głąb).

BADANIA WŁASNE

I. MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań anatomicznych stanowiły: szczytowe części kłębu ziemniaka z pąkami i przetchlinkami, przekroje poprzeczne w postaci krążków o grubości ok. 5 mm z korzenia marchwi (ze strefy zawierającej korzenie boczne) oraz łodygi kapusty czerwonej. Po pokrajaniu materiał płukano przez kilka godzin bieżącą wodą, aby usunąć powstające w zniszczonych komórkach hormony przyranne. Obsuszoną powierzchnię odcinków (u marchwi i kapusty morfologicznie górną, u ziemniaka dolną) zwilżano roztworami: 1. kinetyny, 2. IAA, 3. kinetyny i IAA, 4. adeniny, 5. wodą destylowaną (kontrola). Przygotowany w ten sposób materiał umieszczano w warunkach sterylnych, w wilgotnej atmosferze w zamkniętych krystalizatorach.

Roztwory kinetyny otrzymywano w sposób podany w poprzedniej pracy (Dmochowski, Maciejewska-Potapczykowa, Sempińska 1957). Stosowano tylko optymalne stężenia badanych związków, ustalone we wspomnianych wyżej badaniach.

Fragmenty krążków z łodyg i korzeni oraz wycinki z kłąbów utrwalano w płynie Nawaszina, a następnie płukano w wodzie bieżącej przez 24 godz. Materiał przechowywano w 70% alkoholu etylowym.

Z korzeni marchwi wykonywano skrawki tylko ręcznie, z kłąbów zaś ziemniaka i łodyg kapusty sporządzano po uprzednim przeprowadzeniu do parafiny także skrawki mikrotomowe, które barwiono hematoksyliną żelazową Heidenhaina. Skrawki ręczne barwiono odczynnikami genewskim lub przeprowadzano na nich podstawowe reakcje mikrochemiczne na błony komórkowe (floroglucyna ze stęż. HCl, J₂ w ZnCl₂, Sudan IV).

II. WYNIKI

Ziemniak. Po upływie 96 godz. pączki kłąbów kontrolnych wyrosły nieznacznie osiągając długość ok. 1 mm (ryc. 1a). Obserwowano w nich nieliczne podziały mitotyczne.

Pąki kłąbów poddanych działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 96 godz. osiągały długość do 4 mm. W pąkach tych widoczne były liczne zaczątki pędów bocznych (ryc. 1c). W dzielących się komórkach pąków nie znaleziono zaburzeń w kario- i cytokinezie.

Ryc. 1. Przekrój podłużny przez pąki kłąbów ziemniaczanych. a — kłęby kontrolne; b — poddane działaniu adeniny w stężeniu 30×10^{-6} przez 96 godz.; c — poddane działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 96 godz.
Longitudinal section of potato tubers prouts. a — control tubers; b — tubers treated with adenine (concentration 30×10^{-6}) for 96 hrs; c — tubers treated with kinetin (concentr. 10^{-6}) for 96 hrs.

Wydłużenie pąków, jak przy zastosowaniu kinetyny, uzyskano działając adeniną, ale dopiero stężeniem 30-krotnie większym, przy czym pąki osiągały długość nie przekraczającą 3 mm. Tworzyły się w nich nieliczne zaczątki pędów bocznych (ryc. 1b). Obserwowane mitozy wykazywały przebieg prawidłowy.

Podobnie stymulujące działanie wykazywały roztwory IAA w stężeniu 10^{-7} oraz mieszanina kinetyny w stężeniu 10^{-6} i IAA w stężeniu 10^{-7} .

Kinetyna i adenina wzmacniały również aktywność mitotyczną felogenu. Zjawisko to występowało bardzo wyraźnie w przetchlinkach kłąbów ziemniaczanych.

U roślin kontrolnych, wobec względnie małej ilości komórek wypełniających, przetchlinki w przekroju poprzecznym były prawie płaskie (ryc. 2a). W felogenie nie spotyka się mitoz, ponieważ przetchlinka jest całkowicie uformowana.

Ryc. 2. Przekrój poprzeczny przez przetchlinki kłąbów ziemniaczanych. a — z materiału kontrolnego; b — z materiału poddanego działaniu adeniny w stężeniu 30×10^{-6} przez 96 godz; c — z materiału poddanego działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 96 godz.

Cross section of potato tuber lenticels. a — control material; b — material treated with adenine (concentr. 30×10^{-6}) for 96 hrs.; c — material treated with kinetin (concentr. 10^{-6}) for 96 hrs.

W kłąbach, na które działała adenina, w felogenie pod przetchlinką występowały nieliczne mitozy. Przebieg ich był normalny. Dzięki wzmożonej aktywności felogenu wzrastała ilość komórek wypełniających, wskutek czego przetchlinka rozszerzała się (ryc. 2b).

Pod wpływem kinetyny w stężeniu 10^{-6} zwiększała się ilość podziałów w felogenie. Podziałom przebiegającym głównie w kierunku stycznym ulegały również komórki miękiszowe leżące pod felogenem. Dzięki zwiększeniu ilości podziałów w felogenie oraz dzięki podziałom mitotycznym komórek miękiszowych, w przetchlinkach, na które działała kinetyna, warstwa twórcza nie odgraniczała się tak wyraźnie od komórek zróżnicowanych, jak w materiale kontrolnym i poddanym działaniu adeniny. Zewnętrzne komórki wypełniające przetchlinkę zamierały i były z niej wysunięte. Na ich miejsce pojawiały się nowe komórki, kilkakrotnie od dawnych większe (ryc. 2c).

W przetchlinkach kłąbów ziemniaczanych, na które działała IAA w stężeniu 10^{-7} oraz mieszaniną kinetyny w stężeniu 10^{-6} oraz IAA w stężeniu 10^{-7} , obserwowano również liczne podziały w felogenie. W wyniku tych podziałów zwiększyła się ilość komórek wypełniających przetchlinkę, komórki te jednak nie były tak duże, jak w materiale poddanym działaniu kinetyny.

Marchew. W wycinkach z korzeni marchwi obserwowano powstawanie tkanki kallusowej z miękiszu drewna i łyka. Proces ten zachodził znacznie szybciej na morfologicznie górnej stronie wycinków poddanych działaniu kinetyny, IAA oraz mieszaniny tych związków.

Po upływie 96 godz. w materiale kontrolnym zaobserwowano komórki, które powstały z podziału miękiszu drewna i łyka. Podziały te zachodziły w kierunku stycznym do powierzchni rany, w obrębie drugiej lub trzeciej warstwy komórek, dając regularne pasmo nowej tkanki, złożonej z 1—3 rzędów ułożonych nad sobą komórek (ryc. 3A). Na powierzchni cięcia widoczne były szczątki zdrewniałych i skorkowaciałych błon zniszczonych komórek. Zdrewniałe były również ściany w pierwszej warstwie nieuszkodzonych komórek.

Ryc. 3. Przekrój podłużny przez kallus w korzeniu marchwi. A — materiał kontrolny, drewno z górnej strony krążka; B — materiał poddany działaniu adeniny w stężeniu 30×10^{-6} przez 96 godz., drewno z górnej strony krążka; C-E — materiał poddany działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 96 godz., drewno; C — górna strona krążka; D — dolna strona krążka; E — łyko, górna strona krążka; F — materiał poddany działaniu IAA w stężeniu 10^{-13} przez 96 godz., drewno, górna strona krążka; G-K — materiał poddany działaniu mieszaniny kinetyny w stężeniu 10^{-6} i IAA w stężeniu 10^{-13} przez 96 godz.; G — drewno, górna strona krążka; H — drewno, dolna strona krążka; I — łyko, górna strona krążka; K — łyko, dolna strona krążka. Longitudinal section of carrot root callus. A — control material, xylem of the top portion of the slice; B — material treated with adenine (conc. 30×10^{-6}) for 96 hrs., xylem of the top portion of the slice; C-E — material treated with kinetin (conc. 10^{-6}) for 96 hrs., xylem; C — top portion of the slice; D — bottom portion of the slice; E — phloem, top portion of the slice; F — material treated with IAA (conc. 10^{-13}) for 96 hrs., xylem, top portion of the slice; G-K — material treated with the mixture of kinetin (conc. 10^{-6}) and IAA (conc. 10^{-13}) for 96 hrs.; G — xylem, top portion of the slice; H — xylem, bottom portion of the slice; I — phloem, top portion of the slice; K — phloem, bottom

W materiale poddanym działaniu adeniny w stężeniu 30×10^{-6} przez 96 godz. w wyniku podziałów zachodzących w obrębie odróżnicowanych komórek powstało pasmo złożone z 5—6 rzędów komórek ułożonych nad sobą. Komórki najbardziej płaskie (tzn. o najkrótszych ścianach prostopadłych do powierzchni rany) znajdowały się w górnej części tej warstwy; można więc przypuszczać, że stanowiły one strefę twórczą, odkładającą stopniowo rozrastające się komórki potomne w głąb krążka (ryc. 3B).

Pod działaniem kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 96 godz. proces powstawania kallusa w porównaniu z materiałem kontrolnym i poddanym działaniu adeniny był znacznie bardziej zaawansowany. Tkanka kallusowa składała się tu z 20—25 rzędów komórek (ryc. 3C, E). Podziały komórkowe przebiegały głównie w kierunku stycznym do powierzchni rany, wskutek czego w tkance kallusowej występowały regularne rzędy komórek leżących jedna nad drugą, przypominające wyglądem korek. Po-

Ryc. 4. Fragmenty kallusa w korzeniu marchwi, poddanego działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 96 godz. a, b — widoczne komórki powstałe z podziałów stycznych, promienistych i ukośnych w stosunku do powierzchni rany; c — powiększenie fragmentu z ryc. 3C; widoczne perforacje w naczyniach

Fragments of carrot roots callus treated with kinetin (conc. 10^{-6}) for 96 hrs. a, b — cells arose from the divisions tangential, radial and diagonal to the cut; c — enlargement of the fragment of picture 3C, perforations in the vessels are visible

dobnie jak w preparatach z krążków potraktowanych adeniną, najdrobniejsze komórki można było wyróżnić w górnej części tkanki kallusowej. Ponad nimi znajdowała się jedna warstwa komórek, w której nastąpiło wyróżnicowanie strefy twórczej. W dolnej części kallusa komórki były już stosunkowo duże. Wśród nich występowały pojedyncze naczynia, któ-

re wyróżnicowały się z komórek kallusa, powstałego na terenie drewna (ryc. 4c). Błony wtórne tych naczyń wykazywały różny stopień zdrewnienia. Niekiedy spotykano podziały biegnące w kierunku promienistym lub ukośnym do powierzchni rany (ryc. 4a, b).

Powstawanie tkanki kallusowej, złożonej z 3—5 rzędów komórek, obserwowano także na dolnej stronie badanych krążków — w odróżnieniu od materiału kontrolnego i poddanego działaniu adeniny (ryc. 3D).

Na górnej stronie krążka zarówno w drewnie, jak i w łyku jedynie szczątki błon komórkowych leżących na powierzchni rany były zdrewniałe i skorkowaciałe. W dolnej części krążka zdrewniałe były również błony pierwszej warstwy komórek przylegających do rany. Wszystkie komórki kallusa — z wyjątkiem naczyń — posiadały błony celulozowe.

W preparatach z krążków potraktowanych IAA w stężeniu 10^{-13} w ciągu 96 godz. oraz mieszaniną kinetyny w stężeniu 10^{-6} i IAA w stężeniu 10^{-13} obraz kallusa przedstawiał się podobnie jak w materiale potraktowanym samą kinetyną (ryc. 3F-K).

Pod działaniem samego IAA widoczne były w kallusie powstałym w drewnie pasma naczyń, ciągnące się wzdłuż dolnej jego części (ryc. 3F). W kallusie powstałym pod wpływem mieszaniny kinetyny i IAA naczynia zgrupowane po kilka stanowiły wysepki tak samo w dolnej, najstarszej części kallusa (ryc. 3G). Błony tych naczyń wykazywały różny stopień zdrewnienia.

Kapusta. W łądych kapusty zarówno w materiale kontrolnym, jak i doświadczalnym, odróżnicowanie komórek następowało w miększu leżącym w pobliżu miejsca zranienia; powstający stąd kallus nie miał więc żadnego związku z kambium.

W materiale kontrolnym po upływie 120 godz. widoczne były w niektórych miejscach pierwsze, z reguły styczne podziały komórek miększowych. Zachodziły one w trzeciej lub czwartej warstwie komórek pod powierzchnią rany (ryc. 5A), która była pokryta zdrewniałymi szczątkami błon komórkowych. Jądra komórek ulegających dedyferencjacji nieco silniej barwiły się hematoksyliną i zawierały większe jąderko niż jądra sąsiednich komórek miększowych (ryc. 6a, b).

W preparatach z fragmentów łądy, na które działano adeniną w stężeniu 10^{-6} przez 120 godz., wytworzyły się już wyraźne odcinki złożone z płaskich komórek, biegnące równolegle do powierzchni cięcia (ryc. 5B). Komórki znajdujące się nad tą warstwą posiadały ściany zdrewniałe. Zdrewniałe były również resztki błon komórkowych, znajdujące się na powierzchni rany.

Na morfologicznie górnej stronie wycinków z łądy kapusty poddanych działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} , IAA w stężeniu 10^{-7} oraz mie-

szaniny kinetyny w stężeniu 10^{-6} i IAA w stężeniu 10^{-7} po 120 godz. tworzyły się charakterystyczne guzki o średnicy ok. 5 mm, wysokości ok. 3 mm.

Ryc. 5. Przekrój podłużny przez kallus w łodydze kapusty. A — materiał kontrolny; B — materiał poddany działaniu adeniny w stężeniu 10^{-6} przez 120 godz.; C i D — materiał poddany działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 120 godz.; C — przekrój przez guzek zawierający wybujałe, wachlarzowato ułożone komórki, powstające ponad częścią naczyniową wiązki; D — przekrój przez guzek o budowie najczęściej spotykanej; E — przekrój przez guzek powstały pod wpływem mieszaniny kinetyny w stężeniu 10^{-6} i IAA w stężeniu 10^{-7} przez 120 godz.; a — warstwa twórcza; b — komórki kallusa powstałe w wyniku działania warstwy twórczej; c — szczątki błon komórek leżących na powierzchni rany

Longitudinal section of the stalk cabbage callus. A — control material; B — material treated with adenine (conc. 10^{-6}) for 120 hrs.; C, D — material treated with kinetin (conc. 10^{-6}) for 120 hrs.; C — section of the tuber containing overgrown cells fan-like in pattern growing above the vascular part of the bunch; D — section of a typical tuber; E — section of the tuber growth under the influence of the mixture of kinetin (conc. 10^{-6}) and IAA (conc. 10^{-7}) for 120 hrs. a — initiating region, b — callus cells due to the action of the generating region, c — remnants of the cell membranes lying on the cut surface

Na skrawkach podłużnych widoczny był kallus, w którym zwracała uwagę warstwa komórek występująca na jego górnym brzegu. Komórki te były silnie spłaszczone i zawierały małe, intensywnie barwiące się jądro ze stosunkowo dużym jądrem (ryc. 6d, i), co jest typowe dla komórek merystematycznych (B u v a t, 1944/45). Większość obserwowanych mitoz zachodziła w tej właśnie warstwie.

Guzki powstające w wyniku podziałów tych komórek znajdowały się nad miejscami, w których najwcześniej wyróżnicowały się odcinki warstwy twórczej. Zaobserwowano, że w niektórych fragmentach łodyg

kapusty warstwa twórcza mogła rozszerzać się i na strefy pomiędzy guzkami.

Podziały w warstwie twórczej zachodziły głównie w kierunku stycznym. Odkładała ona komórki potomne przede wszystkim do strony wewnętrznej. W wyniku tych procesów powstawały promieniście ułożone rzędy komórek leżących jedna nad drugą (ryc. 5D, E).

Ryc. 6. Jądra w komórkach kallusa oraz w miękiszu łodygi kapusty. a, b — materiał kontrolny; a — jądro z komórki, która uległa dopiero jednemu podziałowi; b — jądro z komórki miękiszowej łodygi; c-e — materiał poddany działaniu kinetyny w stężeniu 10^{-6} przez 120 godz.; c — jądro z dużych komórek kallusa; d — jądro z warstwy twórczej kallusa; e — jądro z komórki miękiszowej łodygi; f-j — materiał poddany działaniu IAA w stężeniu 10^{-7} przez 120 godz.; f, g, h — jądra z dużych komórek kallusa; i — jądro ze strefy twórczej kallusa; j — jądro z komórki miękiszowej łodygi; k-m — materiał poddany działaniu mieszaniny kinetyny w stężeniu 10^{-6} i IAA w stężeniu 10^{-7} przez 120 godz.; k, m — jądra z dużych komórek kallusa; l — jądro komórki miękiszowej łodygi

Nuclei of the callus cells and cabbage stalk parenchyma. a, b — control material; a — nucleus of the cell after one division; b — nucleus of the stalk parenchyma cell; c-e — material treated with kinetin (conc. 10^{-6}) for 120 hrs.; c — nucleus of the large callus cell; d — nucleus of the callus generating region; e — nucleus of stalk parenchyma cell; f-j — material treated with IAA (conc. 10^{-7}) for 120 hrs.; f, g, h — nuclei of callus cells; i — nucleus from the callus generating region; j — nucleus of the stalk parenchyma cell; k-m — material treated with the mixture of kinetin (conc. 10^{-6}) and IAA (conc. 10^{-7}) for 120 hrs.; k, m — nuclei of callus great cells; l — nucleus of stalk parenchyma cell

W obrębie guzka można było wyróżnić trzy części. Tuż pod jego powierzchnią lub nieco głębiej przebiegała opisana wyżej strefa twórcza (ryc. 5D-a i E-a). Ponad nią występowała cienka warstewka złożona z zamierających komórek miękiszowych łodygi oraz jedna warstwa komórek, w obrębie których nastąpiło wyróżnicowanie strefy twórczej. Niekiedy ponad strefą twórczą występowały 1–2 rzędy komórek odłożonych przez nią wyjątkowo na zewnątrz. Poniżej strefy twórczej znajdowały się powstałe z niej komórki, których wymiary stopniowo się zwiększały w kierunku podstawy guzka.

Niektóre guzki całkowicie odbiegały swoją strukturą od opisanych powyżej. Były one utworzone z ogromnych, wydłużonych w kierunku

prostopadłym do rany komórek, których układ na przekroju podłużnym przypominał wachlarz (ryc. 5 C).

U podstawy takiego guzka znajdowała się tkanka twórcza kallusa, pod którą widoczne były nieliczne wytworzone przez nią komórki. W przeważającej części badanych przypadków guzki te, zbudowane z komórek, które uległy hipertrofii, znajdowały się ponad częścią naczyniową wiązki. Charakterystyczne jest, że w materiale kontrolnym spotykano w analogicznych miejscach podobne pęcherzykowate komórki, wystające ponad powierzchnię rany. Wydaje się więc prawdopodobne, że czynnik powodujący hipertrofię tych komórek związany jest z ksylemem.

Występowanie wybujałych komórek w okolicy części naczyniowej wiązki wydaje się potwierdzać przypuszczenie J a b ł o Ń s k i e g o i S k o o g a (1954, cyt. wg G a u t h e r e t 1955 i S u p n i e w s k i e g o 1956), że w elementach drewna występuje jakiś czynnik hormonalny, stymulujący wzrost sąsiadujących z ksylemem tkanek.

Jeżeli pomiędzy guzkami występuje również warstwa twórcza, to działa ona podobnie jak w obrębie guzka, odkładając komórki potomne do strony wewnętrznej.

Komórki kallusa posiadały ściany celulozowe. Zdrewnieniu zaś ulegały komórki, przylegające do powierzchni rany.

Jak wspomniano wyżej, warstwa twórcza zawierała jądra o wyglądzie typowym dla komórek merystematycznych (ryc. 6d, i). W materiale, na który działano samym IAA lub IAA z kinetyną, duże komórki leżące u podstawy guzka zawierały ogromne jądra, których jąderka miały często nieregularne kształty (ryc. 6 g, h, k, m). W komórkach tych spotykano obrazy, które mogą być interpretowane zarówno jako początek amitotycznego podziału jądra, jak też jako zlewanie się jąder (ryc. 6 f). W świetle danych z literatury (M i l l e r, S k o o g i w s p ó ł p r. 1955) bardziej uzasadniona wydaje się interpretacja druga. Wyniki cytowanej pracy wskazują bowiem, że w obecności IAA powstają komórki wielojądrowe wskutek braku cytokinezy.

W materiale poddanym działaniu samej kinetyny duże komórki kallusa, leżące u podstawy guzka, zawierały jądra wyglądające podobnie jak jądra komórek mięksiszowych łodygi (ryc. 6 c, e). Te obserwacje są więc również zgodne z danymi M i l l e r a, S k o o g a i w s p ó ł p r. (1956), według których w obecności kinetyny komórki rdzenia tytoniu hodowane *in vitro* zawierały jedno jądro, podczas gdy w tym samym materiale poddanym działaniu tylko IAA występowały komórki wielojądrowe.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że kinetyna jest czynnikiem zwiększającym ilość podziałów komórkowych. Związek ten jest bardzo aktywny zarówno w stosunku do obecnych w roślinie tkanek merystematycznych, jak i w odniesieniu do komórek powstającej tkanki kallusowej.

Podobnie jak w hodowlach *in vitro* (Gautheret 1953) kierunek podziałów komórkowych w kallusie jest prostopadły do kierunku działania stymulatorów, wskutek czego powstają rzędy komórek ułożone prostopadle do powierzchni rany. Kallus posiada więc budowę regularną i zawiera strefę twórczą o określonym kierunku działania. W łodydze kapusty obserwuje się w niektórych wypadkach występowanie ogromnych komórek charakterystycznych dla kallusa powstającego w okolicy drewna.

Interesujące jest zjawisko, że stężenia optymalne kinetyny są podobne dla bardzo różnych obiektów roślinnych. Na podstawie wyników pracy niniejszej oraz danych innych autorów (Skooog 1955, Dmochowski, Maciejewska-Potapczykowa, Sempłńska 1957) wiadomo, że stężenia te zawierają się w granicach 10^{-8} — 10^{-6} .

Jeśli chodzi o proliferację tkanek, to porównanie aktywności kinetyny, adeniny i IAA wskazuje, że adenina stosowana nawet w stężeniach 30-krotnie większych niż kinetyna, jest związkiem znacznie mniej aktywnym. Stężenia optymalne IAA w zależności od obiektu wahają się w szerokich granicach (Gautheret 1953, 1955).

Toksyczność tych związków dla korzeni cebuli przedstawia się następująco: kinetyna uszkadza komórki począwszy od koncentracji 3×10^{-6} (Guttman 1956); adenina jest trująca dla komórek dopiero w stężeniu 5×10^{-4} (Deysson 1954, cyt. wg Deysson 1955); według badań Therman (1951) IAA jest toksyczny po 5 dniach począwszy od stężenia 3×10^{-6} .

Większość badań Skoooga przeprowadzana była na jednym obiekcie — na hodowanych *in vitro* fragmentach rdzenia łodygi *Nicotiana glauca* $\times$ *N. langsdorfii*. Autor ten brał pod uwagę ilość IAA wprowadzoną do środowiska z zewnątrz. W swoich badaniach nad udziałem nukleinowych substancji wzrostowych w tworzeniu się pąków (Skooog 1955) wyprowadza wniosek, że w mechanizmie procesów wzrostowych rola auksyny polega na stymulacji syntezy kwasów nukleinowych. Hipoteza ta może być słuszna, należy jednak zwrócić uwagę na inne możliwości.

IAA tworzy w komórce kompleksy z jej podłożem białkowym. Świadczy o tym fakt, że przy pomocy enzymów proteolitycznych, jak np. chymotrypsyny, możliwe jest oddzielenie IAA od podłoża białkowego. Nie jest wykluczone, że w mechanizmie uwalniania się aktywnych substancji wzrostowych z kompleksów białkowych, kinetyna jest czynnikiem sty-

mulującym aktywność enzymów związanych z tym procesem (Maciejewska-Potapczykowa 1957).

Ilość uwolnionego IAA może podlegać regulacji dzięki występowaniu w komórce enzymu utleniającego IAA — oksydazy kwasu indoloocetowego. Aktywność oksydazy IAA może ulegać zahamowaniu na skutek działania występujących w komórce specyficznych inhibitorów tego enzymu (Maciejewska-Potapczykowa 1957). Można więc przypuścić, że kinetyna mogłaby być czynnikiem regulującym aktywność tej oksydazy.

Badania nasze nie potwierdzają jednak poglądu o współdziałaniu kinetyny z IAA, ponieważ wyniki uzyskane działaniem samej kinetyny są bardzo zbliżone do rezultatów otrzymanych pod wpływem IAA oraz mieszaniny IAA z kinetyną.

Wydaje się, że w materiale poddanym działaniu IAA w porównaniu z kinetyną: 1. następuje szybciej różnicowanie się komórek (w kallusie marchwi większa ilość naczyń tworzy się w materiale potraktowanym auksyną), 2. wskutek hamowania cytokinezy powstają komórki zawierające więcej niż jedno jądro.

Wyniki uzyskane przez Millera, Skooga i współpr. (1956) oraz w niniejszej pracy wskazujące na rolę kinetyny jako czynnika stymulującego cytokinezę wymagają jednak ostatecznego potwierdzenia w odpowiednio postawionym eksperymencie, opartym na zastosowaniu związków specyficznie hamujących cytokinezę.

STRESZCZENIE

Pąki i przetchlinki kłębów ziemniaczanych, krążki wycięte z korzeni marchwi i łodyg kapusty czerwonej poddano działaniu: 1. kinetyny, 2. IAA, 3. mieszaniny kinetyny i IAA, 4. adeniny, 5. wody destylowanej (kontrola). Z utrwalonego materiału sporządzano skrawki ręczne i mikrotomowe.

Stwierdzono, że kinetyna jest czynnikiem zwiększającym ilość podziałów komórkowych. Związek ten jest bardzo aktywny zarówno w stosunku do już obecnych w roślinie tkanek merystematycznych, jak i w odniesieniu do komórek powstającej tkanki kallusowej. W obrębie kallusa występuje warstwa tkanki twórczej, która odkłada komórki potomne głównie do wnętrza.

Nie potwierdzono poglądu Skooga o współdziałaniu kinetyny z IAA. Wyniki bowiem uzyskane działaniem samej kinetyny na tkanki roślinne są bardzo zbliżone do rezultatów otrzymanych pod wpływem mieszaniny IAA z kinetyną.

SUMMARY

Sprouts and lenticels of potato tubers, fragments of carrot roots and red cabbage stalks were treated with: 1. kinetin, 2. IAA, 3. a mixture of kinetin and IAA, 4. adenine, 5. distilled water (control material).

Microtome and hand-slices from the fixed material were studied.

Kinetin was found to increase the number of cell divisions and to be very active with regard to the meristematic tissues already present in the plants as much as to the cells of the growing callus. Within the callus formed in both carrot root and cabbage stalk a layer of centripetally dividing cells was observed.

Skoog's opinion concerning the cooperation of kinetin and IAA was not confirmed. The results obtained by the treatment of plant tissues with kinetin were very similar to those obtained by treatment with IAA alone or with a mixture of kinetin and IAA.

LITERATURA

- Buvat R., 1944/45, Recherches sur la différenciation des cellules végétales, Ann. Sc. Nat. Bot. 5—6: 1—228.
- Bullock M. W., Hand J. J., Stockstad L. R., 1956, Synthesis of 6-substituted purines, J. Amer. Chem. Soc. 78: 3693.
- Deysson M., 1955, Influence de l'adenosine sur la croissance et la division des cellules végétales, Bull. Soc. Bot. Fr. 102: 9—13.
- Dmochowski A., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempłowska E., 1957, Działanie kinetyny wyizolowanej z kwasu dezoksyrybonukleinowego (z grasicy) na tkanki roślinne, Acta Soc. Bot. Pol. 26 (2): 361—371.
- Gautheret R. J., 1953, Recherches anatomiques sur la culture des tissus de rhizomes de Topinambour et d'hybrides de soleil et de Topinambour, Rev. Gén. Bot. 60: 1—90.
- Gautheret R. J., 1955, The nutrition of plant tissue culture, Ann. Rev. of Plant Phys. 6: 446—466.
- Guttman R., 1956, Effects of kinetin on cell division with special reference to initiation and duration of mitosis, Chromosoma 8: 341—350.
- Hall R. S., de Roppe R. S., 1955, Formation of 6-furfurylaminopurine from DNA breakdown products, J. Amer. Chem. Soc. 77: 6400.
- Ham R. G., Eakin R. E., Skinner Ch. G., 1956, Inhibition of regeneration in Hydra by certain new 6 (phenylalkyl)-aminopurines, J. Amer. Chem. Soc. 78: 2648.
- Lettré H., Endo H., Zur Wirkung von Kinetin und Analogen auf tierische Zellen, Naturwiss. 43: 84.
- Maciejewska-Potapczykowa W., 1957, Substancje wzrostowe w rozwoju roślin, Postępy Nauk Roln. 2 (44): 45—59.
- Miller O., Skoog F., Saltza M., Strong F., 1955a, Kinetin a cell division factor from desoksyribonucleic acid, J. Amer. Chem. Soc. 77: 1392.
- Miller O., Skoog F., Okumura F., Saltza M., Strong F., 1955b, Structure and synthesis of kinetin, J. Amer. Chem. Soc. 77: 2662.

- Miller O., Skoog F., Okumura F., Saltza M., Strong F., 1956, Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division, J. Amer. Chem. Soc. 78: 1375.
- Sempłńska E., Maciejewska-Potapczykowa W., Dmochowski A., 1957, Isolation of kinetin from thymus DNA and investigations of its effects in simple plant tests, Bull. de l'Ac. Pol. des Sc. 5 (3): 79—81.
- Skinner Ch., Shive W., 1955, Synthesis of some 6 (substituted)-aminopurines, J. Amer. Chem. Soc. 77: 6692.
- Skoog F., 1955, Growth factors polarity and morphogenesis, L'année biol. (1—4).
- Supniewski J., Bany F., 1956, Synthesis of kinetin and its derivatives, Bull. de l'Ac. Pol. des Sc. 4: 361.
- Therman E., 1951, The effect of indole-3-acetic acid on resting plant nuclei. I. *Allium cepa*, Ann. Ac. Sc. Fennicae, Ser. A, IV Biol. (16): 1—40.