Spostrzeżenia nad budową jąderek

Observations on the nucleolus structure in some plants

M. ZENKTELER

WSTĘP

Jąderka jako stałe składniki jąder stanowią nadal interesujący obiekt licznych badań nad ich strukturą, funkcją i biochemizmem. W pracach dawnych przeważały poglądy, iż jąderka są ciałami homogennymi. Zanikanie ich w profazie i pojawianie się w telofazie przypisywano działalności przewężenia wtórnego i trzonka satelity (Heitz 1931) lub organizatora jąderka (Mc Clintock 1934). W latach ostatnich dzięki zastosowaniu nowych metod utrwalania i barwienia próbuje się budowę jąderek oraz ich losy w mitozie przedstawić w sposób zupełnie odmienny. Interesujące obserwacje nad strukturą jąderek i ich zanikaniem w profazie przeprowadzili Estable i Sotelo (1952) posługując się metodami: impregnacji srebrzem, utrwalania i barwienia, utrwalania bez impregnacji i barwienia, badania *in vivo* w mikroskopie fazowym lub w ciemnym polu widzenia. Wykazali oni, iż każde jąderko zarówno zwierzęce, jak i roślinne (autorzy zajmowali się głównie obiektami zwierzęcymi) zbudowane jest z dwóch układów: a. struktury taśmowej, tzw. nukleolonemy, b. części homogennej, tzw. *par amorpha*. Nukleolonema stanowi trwałą strukturę komórki, nigdy nie zanika i nigdy też nie tworzy się *de novo*. W profazie wypływa z jąderka i podąża w kierunku chromosomów, które obejmuje i przy których pozostaje przez resztę stadiów. W metafazie ulega podziałom wraz z chromosomami, w telofazie skraca się, grubieje i spływając z chromosomów formuje nowe jąderka. Widoczne na chromosomach zgrubienia powstają na skutek przeplatania się nukleolonemy lub zaginania się jej fragmentów i końców. *Pars amorpha* nie stanowi trwałej struktury, ale zanika i pojawia się znowu wraz z wykształceniem chromosomów. Według autorów jąderko stanowi trwałą organelę komórki.

Ukazały się też już dalsze prace wykazujące istnienie w jąderkach struktury włókienkowej lub ziarnistej. Borysko i Bang (1951) przy użyciu mikroskopu elektronowego oraz Bernhard i Oberling (1952,53) dostrzegli w jąderkach strukturę siateczkową lub włókienkową. Lettre (1954) u zarodków kurcząt hodowanych *in vitro* stwierdził, iż przy obserwacjach *in vivo* widoczna jest w jąderkach struktura włókienkowa lub w postaci nici ze zgrubieniami.

Na uwagę zasługuje też praca F. F. Flint, D. A. Johansen (1958), a przypisująca substancji homogennej wydalanej z jąderka do cytoplazmy wytwarzanie wrzeciona kariokinetycznego oraz promieniowania, powodującego ruch i odpowiednie rozmieszczanie się jąder w woreczku załączkowym podczas I podziału mejozy. Istnieją też publikacje, w których autorzy wykazują, iż jąderka nie biorą udziału w podziale jądra (Haurowitz 1954), że powstają z soku jądrowego (Frey-Wyssling 1953) lub że są wypełnione uwodnionymi chromosomami (Ris i Mirsky 1949, D' Angelo 1950, Anderson 1953). Rattenbury i Serra (1952) dowodzą, iż jąderka w telofazie mogą powstać z dwóch źródeł: a) z chromatyny, b) z periplazmy (mieszanina karioplazmy i cytoplazmy). Autorzy jednak są skłonni uważać, że periplazma jest właśnie tą substancją, która buduje jąderko.

Jak dotąd dużo jest jeszcze w literaturze sprzecznych obserwacji dotyczących budowy i funkcji jąderek.

W pracy mojej na różnych obiektach roślinnych badanych *in vivo* oraz stosując metody utrwalania i barwienia chciałem stwierdzić, jaka jest budowa jąderek i jakie są ich losy w kariokinezie oraz czy pod względem morfologicznym należy uważać jąderko za ciało homogenne, czy też o pewnej właściwej organizacji i strukturze.

MATERIAŁ I METODY

1. Materiał: przy wyborze materiału starałem się znaleźć obiekty posiadające duże jąderka i małą ilość chromosomów. Obserwacje przeprowadzałem na następujących obiektach: wewnętrzna epiderma młodych strąków grochu — *Pisum sativum*, łuski cebuli — *Allium cepa*, znamiona traw: *Melica uniflora* i *M. nutans*, korzenie *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Allium porum*, *Hordeum vulgare*, *Rhaphanus sativus*, *Albuca transvaalensis* (korzenie zebrane i utrwalone w Południowej Afryce przez prof. S. Krupko).

2. Metody:

A. Obserwacje *in vivo*

B. Obserwacje na materiale utrwalonym przy użyciu następujących utrwalaczy: 100% formalina; formalina, kwas octowy lodowaty, alkohol etylowy 70%, w stosunku 5:5:90; alkohol absolutny, kwas octowy w stosunku 1:3; utrwalacz Sanfelice (10% kwas chromowy 16 ml, formalina stęż. 8 ml, kwas octowy lod. 1 ml).

C. Obserwacje na materiale utrwalonym i barwionym:

a) metoda Sotelo: utrwalac w 100% formalinie lub w utrwalaczu Sanfelice; zatopić w parafinie; skrawki zanurzyć w 30% roztworze alunu żelazowego przez 10 min.; szybko przepłukać wodą destylowaną; zanurzyć w 1—30% roztworze żelazocyjanku potasu na okres 30 sek; dodawać kilka kropel 20% kwasu pirogalowego; przepłukiwać; odwadniać i zatapiać w balsamie kanadyjskim. Jądro wybarwia się na kolor niebieskozielony, nukleolonema na brunatnoczarny, chromosomy na brunatny;

b) metoda Estable'a: utrwalacz: 96% alkohol etyl. 60 ml, woda dest. 30 ml, formalina 5 ml, eter 5 ml, azotan uranu 1 g; przetrzymać w utrwalaczu przez

okres od 20—24 godz.; impregnacja: działanie w ciągu od 36—48 godz. 20/0 roztworu azotanu srebra w temperaturze 37°C w ciemności; zanurza w mieszaninie alkohol + woda dest. na okres od 3—5 min.; redukowa w ciągu 5—10 godz. w roztworze: kwas pirogalowy 1 g, formalina 10 ml, alkohol etyl. 960/0—20 ml, woda dest. — 70 ml; reduktor wypukiwa dużymi ilościami wody przez 5 min.; zatapia w parafinie; pokrojone skrawki zanurzy w 0,20/0 chlorku złota na okres od kilku do kilkadziesiciu sekund; przenosi do 40/0 roztworu tiosiarczuanu sodu na 10 min.; odwadnia i zatapia w balsamie kanadyjskim. Podbarwianie chlorkiem złota nie jest konieczne celem wyronienia nukleolonemu w jąderkach spoczynkowych, ważne natomiast dla dostrzeżenia jej na chromosomach podczas mitozy. Metoda Estable'a pozwala wybarwić nukleolonem na kolor wyraźnie czarny;

c) metoda Feulgena z zieleni świetlną;

d) barwienie roztworem ditizonu (dwufenylotiokarbazon rozpuszczony w czterochlorku węgła) celem wykrycia cynku.

Materiał utrwalony i barwiony w przypadku obiekt ciekich (epiderma grochu, łuska cebuli) zamykałem w balsamie kanadyjskim. Z utrwalonych znamion traw robiłem rozmazy, podobnie z niektórych korzeni (*Allium porum*, *Hordeum*, *Pisum*). Korzenie wszystkich wymienionych obiekt zatapiaem w parafinie, robiąc potem skrawki o grubości od 3—10 mikronów.

SPOSTRZEŻENIA NAD JĄDERKAMI W INTERFAZIE I KARIOKINEZIE

Na obiektach obserwowanych *in vivo* wyatkowo łatwo dostrzega się jdερka w epidermie strąka grochu. Stosując metodą Sotelo stwierdza się wyraźnie występowanie tu nukleolonemu (tab. I, 1; tab. II, 3 i 4). Jdρα są duże i zawierają na ogół jedno większe lub dwa mniejsze jdερka. Wielko i ilo jąderek w pozostałym materiale jest rona. Bardzo duże jdερka występują w korzeniu jęczmienia, czasem zajmuj one większą cz powierzeni jdρα. W korzeniach spotyka się czsto w partiach komerek waca osiowego (także w korze pierwotnej i w epidermie jęczmienia) wyatkowo duże jdερka, rozmiarami swymi przekraczając czasem 2- lub 3-krotnie powierzeni pozostałych.

A oto kilka przykładów wielkości jdερ i jąderek na obiektach:

1. Jęczmień (barwienie met. Sotelo, oraz fuksyn i zieleni świetlną): przeciena średnica jdερ ok. 5,7 mikr., jąderek 2,7 mikr. Występują też jdερka duże o średnicy od 3,5—4,5 mikr. przy zachowaniu tej samej wielkości jdρα. Wraz ze zwiększaniem się średnicy jdρα zauważa się jednak na ogół wzrost powierzeni jąderek.

2. Epiderma strąka grochu (barwienie met. Sotelo): rednica jdερ ok. 11,3 mikr., jąderek 3,7 mikr. W wypadku występowania dwóch jąderek, powierzenia obu wynosi ok. 5,8 mikr.

3. Korzenie grochu (barwienie met. Sotelo): rednica jdερ 6,8 mikr., jąderek 3 mikr.

Powyższe pomiary zostały przeprowadzone przy pomocy śrubowego mikrometru okularowego i to w takich komórkach, gdzie jądra i jąderka miały kształt okrągły.

W jąderkach utrwalonych i barwionych można wyróżnić część centralną przypominającą wakuolę oraz część korową — zewnętrzną (tab. III fot. 20). „Wakuoli” jest czasem kilka. Przy barwieniu fuksyną i zielenią świetlną, metodą Sotelo a lub tylko na materiale utrwalonym, wyróżniają się one bardzo wyraźnie, często nie zabarwiając się w ogóle lub słabo (przy użyciu fuksyny i zieleni świetl. są lekko różowe na tle zielono zabarwionego jąderka). Należy zaznaczyć, iż w jąderkach oprócz „wakuoli” można czasem dostrzec moc małych ziarenek lub kulek świecących (duża ich ilość jest dość typowa dla jąderek wybitnie dużych). Przy obserwacjach *in vivo* „wakuole” również są widoczne, choć nie widać tutaj tak wyraźnej granicy między częścią centralną a korową.

Na obiektach utrwalonych wokół jąderek interfazalnych pozostaje wolny obszar pozbawiony chromatyny. Przy obserwacjach *in vivo*, obszar ten wydaje się być węższy, a czasem chromatyna wyraźnie przylega do jąderek. W partii korowej znajduje się właściwa struktura włókienkowa lub taśmowa jąderka. Na obiektach obserwowanych *in vivo*, w kontraście fazowym, anoptralnym i przy obiektywie fluorytowym treść jąderek ma postać posplatanych włókienek lub skręconej taśmy ze zgrubieniami i ziarnistościami (tab. II fot. 1, 2, 3). Podobną strukturę dostrzega się przy zastosowaniu metody barwienia Sotelo a oraz na materiale nie barwionym, a tylko utrwalonym (tab. II, fot. 4, 5, 6, 7, 8).

Przy stosowaniu metody barwienia Estable'a w jąderkach w każdym mikroskopie dostrzega się moc posplatanych czarnych włókienek, przedstawiających często postać krótkich odcinków ze zgrubieniami (tab. III fot. 10, 11, 12, 18). Przy małych powiększeniach struktura ta wydaje się być ziarnista lub złożona z licznych czarnych pałeczek. Powiększenie jednak duże pozwala dostrzec, że pałeczki te są połączone ze sobą przypominając odcinki różańca (tab. I rys. 1, 2). Metoda ta, choć powoduje ogromne zniekształcenia komórki oraz wybarwia chondriosomy, których jest dużo zwłaszcza w partiach szczytowych stożków wzrostu, pozwala jednak dostrzec bardzo wyraźnie strukturę jąderek na każdym badanym obiekcie.

Barwiąc Feulgenem i zielenią świetlną nie potrafiłem stwierdzić występowania nukleolonemy, choć przy użyciu obiektywów anoptralnego i fluorytowego jest ona w jąderkach zawsze dostrzegalna zarówno na materiale barwionym, jak i nie barwionym.

Podczas profazy widać zachodzące zmiany w kształcie i wielkości jąderka. Często wydłuża się ono i przybiera postać ameboidalną. Struktura włókienkowa jest najlepiej w tym okresie widoczna. Partia korowa ulega pewnemu rozluźnieniu, powodując powiększenia jąderek. Wykształcone chromosomy w wielu miejscach przylegają teraz do jąderek zakrywając wolny wokół nich obszar (tab. III fot. 13, 17). Widać połączenia między włókienkami jąderka a chromosomami. Takich punktów styku może być wiele. Przy zastosowaniu impregnacji srebrowej (metoda

Establ'e'a) widoczne są do wyrazne czarne odcinki taśmy lub pałeczki splywajce z jdarka na chromosomy (tab. I rys. 2, tab. III fot. 14, 20). W metafazie na chromosomach widać czarne zgrubienia w postaci włókienek. W fazie tej najtrudniej stosunkowo wyrzni te ciałka przylegające do chromosomów (tab. I rys. 3, 4, tab. III fot. 16).

W anafazie, zwszcza późnej, położenie czarnych odcinków na chromosomach jest najwyrazniejsze (tab. I rys. 5; tab. III fot. 15). W telofazie chromosomy najobficiej pokryte są tymi pasemkami wraz ze zgrubieniami w postaci jakby kulek (tab. I rys. 6, tab. III fot. 19). Wraz z wytworzeniem si jąderek w telofazie zanikają zgrubienia i taśmy na chromosomach.

Przy zastosowaniu metody barwienia Sotelo dostrzega się podobne obrazy w mitozie, choć trudniej jest wyrzni leżące na chromosomach włókienka (chromosomy podobnie jak włókienka jdarka barwi się na kolor ciemnobraunaty). Metoda ta w zastosowaniu do mitoz nie dała takich obrazów, jakie opisuje autor.

Przy barwieniu metodą Feulgena i zielenią swietln oraz na materiale tylko utrwalonym bez barwienia widoczne są w profazie również połączenia między chromosomami a włókienkami jdarka. W pozostałych stadiach mitozy można dostrzec pewne zgrubienia na chromosomach, choć brak tu wyraźnie widocznych odcinków nukleolonemy.

Reakcj z ditizonem używałem na preparatach utrwalonych. Po wyciu skrawków z alkoholu absolut. wkraplaem pod szkiełka nakrywkowe kilka kropeł ditizonu. Wtedy „wakuole” w jąderkach lub występujące w ich nieobecności jasne kuleczki wybarwiay się na czerwono, co stanowi charakterystyczną reakcj na cynk (Fuji 1955). W metafazie na chromosomach można dostrzec maenkie czerwone ciałka, są one wyraźniej widoczne w telofazie. W jąderkach dużych oraz w takich, gdzie nie widać wakuoli i kulek, na czerwono zabarwia się nukleolonema (tab. III fot. 11). Trudnością przy stosowaniu ditizonu jest bardzo szybkie wyparowywanie roztworu (podczas obserwacji należy dodawa stale nowe porcje) oraz to, że chromosomy są tu trudno dostrzegalne na tle pełnej ziarnistości cytoplazmy. W jąderkach spoczynkowych czerwone zabarwienie po ditizonie jest doskonale widoczne.

DYSKUSJA

Moje obserwacje jąderek roślinnych *in vivo* oraz utrwalonych i barwionych potwierdzają twierdzenia Establ'e'a i Sotelo (l.c) i innych autorów o występowaniu tu trwałej struktury taśmowej zwanej nukleolonem. Nukleolonema widoczna jest na każdym badanym obiekcie i przedstawia postac posplatanej taśmy ze zgrubieniami. Wygląd nukleolonemy zależy od metod utrwalania i barwienia; może ona ulec fragmentacji na drobne odcinki lub na paski ze zgrubieniami przypominającymi rzaniec. Czasem też nukleolonema rozpada się na małe kłębki silnie zbite lub duże ziarna, które pod dużym powiększeniem wykazują wzajemne połączenia.

Przypomina to obrazy podane przez Lettre'a (l.c.). Na obiektach obserwowanych *in vivo* grubość nukleolonemy nie różni się optycznie od chromatyny jądra, nie przedstawia też postaci uwodnionych chromosomów, jak sugerują Ris i Mirsky (l.c.). Trudno jest też przypuszczać, że jąderka powstają z soku jądrowego (Frey-Wyssling, l.c.), choć z pewnością sok ten tu występuje, ale jako składnik nukleolonemy. Niezależnie od postaci nukleolonemy w jąderkach interfazalnych lub jej wyglądu na chromosomach w mitozie, w profazie występuje wyraźnie łączenie się chromosomów z jąderkiem i tu dokonuje się przechodzenie substancji jąderkowej na chromosomy.

Wydaje się też wątpliwe twierdzenie niektórych autorów, iż jąderka nie biorą udziału w mitozie jądra. Jąderko zanika pod koniec profazy. Bardzo rzadko można go zauważyć jeszcze w początkach metafazy, w każdym razie w okresie, gdy chromosomy już się wykształciły. Uważać wobec tego jąderko za źródło budowy *matrix* wydaje się również nieuzasadnione, z czym godzą się także Rattenbury i Serra (l.c.) zwracając uwagę na różny skład chemiczny jąderek *a matrix*. Autorzy ci także dostrzegli w przewężeniu pierwotnym chromosomów u *Vicia faba* zagęszczenie substancji jąderkowej w postaci pasma i stwierdzili, iż w tym przykładzie proces powstawania jąderek rozpoczął się już w metafazie, a substancja ta pochodzi z periplazmy. Typ występowania substancji jąderkowej w postaci zgęszczonego pasma nazywają typem warstwowym powstawania jąderek, w odróżnieniu od kropelkowego sposobu, kiedy to z dużej ilości kropelek formują się w telofazie jąderka. Podobnie Mc Clintock (l.c.) w wypadku kiedy wśród chromosomów nie występował organizator jąderka, także widziała ziarenka rozrzucone na chromosomach. Może odpowiadają one zgrubieniom, jakie tworzy nukleolonea na chromosomach, choć pochodzenie ich w myśl teorii Estable'a i Stolela oraz moich własnych obserwacji jest zupełnie odmienne.

Estable i Sotelo uważają, iż kulki lub wakuole nie są normalnymi składnikami jąderek, twierdząc, iż pojawiają się one wtedy, gdy utrwalanie i barwienie jest przeprowadzone niewłaściwymi metodami.

Obserwacje moje, przeprowadzone *in vivo* oraz na materiale utrwalonym i barwionym, pozwalają sądzić, iż w partii centralnej jąderek leżą „wakuole” lub kulki niezależnie od występowania nukleolonemy. Fakt występowania „wakuoli” podkreślali już też Mc Clintock (l.c.) oraz Chayen (1952).

Najbardziej przekonującym dowodem na występowanie nukleolonemy są obserwacje *in vivo* w mikroskopie fazowym, anoptralnym oraz przy użyciu obiektywu fluorytowego. Barwienia przeprowadzone niewłaściwymi metodami nie potrafią jej wyróżnić, a wręcz odwrotnie, przedstawiają jąderka jako ciała homogenne. Flint i Johansen (l.c.) uważają, iż pory w nukleolonemie absorbują barwnik podobnie jak gąbka wodę i jeżeli nie usunie się go stąd w odpowiednich ilościach, to całość przedstawia homogenną masę. Twierdzenie to tłumaczy dobrze fakt, iż wielu autorów stosując różnego rodzaju barwniki (nie właściwe dla jąderek) nie dostrzega w jąderkach struktur, a przedstawia je jako jednolite, zbite kulki.

OBJASNIENIA DO TABLIC

Tablica I

1 — Jąderko w epidermie strąka *Pisum sativum* met. Sotelo', fluoryt, 15×100 ; $2200 \times$. 2 — Jąderko w profazie korzenia *Pisum sativum* 12×100 ; $2060 \times$. 3 — Metafaza w korzeniu *Phaseolus vulgaris*, 12×100 ; $2060 \times$. 4 — Metafaza w korzeniu *Pisum sativum*, 8×100 ; $1660 \times$. 5 — Anafaza w korzeniu *Pisum sativum*, 12×100 ; $2060 \times$. 6 — Telofaza w korzeniu *Pisum sativum*, 8×100 ; $1660 \times$. 2—6 — przedstawiają obiekty barwione metodą Estable'a, mikrosk. Neozet (Reichert), kontrast anoptralny

Table I

1 — Nucleolus in scales epiderm of *Pisum sativum*, Sotelo's technic. object. fluorite, 15×100 ; $2200 \times$. 2 — Root of *Pisum sativum*, nucleolus in prophase, 12×100 ; $2060 \times$. 3 — Metaphase in root of *Phaseolus vulgaris*, nucleolonema distributed on chromosomes, 12×100 ; $2060 \times$. 4 — Metaphase in root of *Pisum sativum*, 8×100 ; $1660 \times$. 5 — Anaphase in root of *Pisum sativum*, nucleolonema along the chromosomes, 12×100 ; $2060 \times$. 6 — Telphase in root of *Pisum sativum*, 8×100 ; $1660 \times$. 2—6 — Estable's technic., microsc. Neozet (Reichert), anoptral contrast.

Tablica II

1 — Jąderka w skórcie *Allium cepa*, *in vivo*, 17×100 ; $3200 \times$. 2 — Jąderka w merystemie korzenia *Allium porum*, *in vivo* 17×100 ; $3200 \times$. 3 — Jąderko w epidermie strąka *Pisum sativum*, *in vivo*, 8×100 ; $1900 \times$. 4 — Jąderko w epidermie strąka *Pisum sativum*, met. Sotelo, 17×100 ; $4000 \times$. 5 — Jąderko w korzeniu *Hordeum vulgare*, met. Sotelo 17×100 ; $4000 \times$. 6, 7, 8 — Jąderka w profazie w korzeniu *Albica transvaalensis*, niebarwione, 8×100 ; $2000 \times$. 9 — Jąderko w korzeniu *Phaseolus vulgaris*, met. Estable'a, mikrosk. Leitz 12×90 , $2500 \times$

Table II

1 — Nucleoli in epiderm of *Allium cepa*, *in vivo*, 17×100 ; $3200 \times$. 2 — Nucleoli in root meristem of *Allium porum*, *in vivo*, 17×100 ; $3200 \times$. 3 — Nucleolus in scale's epiderm of *Pisum sativum*, *in vivo*, 8×100 ; $1900 \times$. 4 — Nucleolus in scales epiderm of *Pisum sativum*, Sotelo's technic. 5 — Nucleolus in root meristem of *Hordeum vulgare*, Sotelo's technic. 17×100 ; $4000 \times$. 6, 7, 8 — Nucleoli in prophase in root meristem of *Albica transvaalensis* only fixative, 8×100 ; $2000 \times$. 9 — Nucleolus in root meristem of *Phaseolus vulgaris*, Estable's technic, microsc. Leitz 12×90 ; $2500 \times$

Tablica III

10, 18 — Jąderko w korzeniu *Pisum sativum*, met. Estable'a, 8×100 ; $2000 \times$. 11 — Jąderko w korzeniu *Pisum*, reakcja z ditizonem, 17×100 ; $4250 \times$. 12 — Jąderko w korzeniu *Phaseolus*, met. Estable'a 12×100 ; $3200 \times$. 13, 17 — Jąderka w profazie w korzeniach *Hordeum vulgare*, *Pisum sativum*, met. Sotelo'a, 8×100 ; $2000 \times$. 14 — Jąderko w profazie w korzeniu *Pisum*, met. Estable'a. 8×100 ; $2000 \times$. 15 — Nukleolonema wzdłuż chromosomów w anafazie korzenia *Allium porum*, met. Sotelo'a, 8×100 ; $2000 \times$. 16 — Metafaza, nukleolonema rozmieszczona na chromosomach, korzeń *Pisum*, met. Estable'a, 8×100 ; $2000 \times$. 19 — Nukleonema w początkowych stadiach telofazy, korzeń *Pisum*, met. Estable'a technic. 8×100 ; $2000 \times$. 20 — Jąderko w profazie, korzeń *Phaseolus*, met. Estable'a, mikrosk. Leitz, 6×90 ; $1250 \times$. Fotografie 2, 3, 4, 5, 15, 13, 17 — mikroskop Neozet (Reichert), obiektyw fazowy: 1, 6, 7, 8, 11, 14, 16, 19 — obiektyw anoptralny; 10, 18, 12 obiektyw fluorytowy

Table III

10, 18 — Nucleoli in root meristem of *Pisum sativum*, Estable's technic. 8×100 ; $2000 \times$. 11 — Nucleolus in root of *Pisum sativum*, dithizone reactive, 17×100 ; $4250 \times$. 12 — Nucleolus in root of *Phaseolus*, Estable's technic. 12×100 ; $3200 \times$. 13, 17 — Root meristems of *Hordeum vulgare* and *Pisum sativum*, Nucleoli in prophase, Sotelo's technic. 8×100 ; $2000 \times$. 14 — Nucleolus in prophase in root of *Pisum*, Estable's technic. 8×100 ; $2000 \times$. 15 — Anaphase in root meristem of *Allium porum*, nucleolonema along the chromosomes, Sotelo's technic. 8×100 ; $2000 \times$. 16 — Metaphase in root of *Pisum*, nucleolonema distributed on chromosomes, Estable's technic. 8×100 ; $2000 \times$. 19 — Nucleolonema at the beginning of telophase in root of *Pisum*, Estable's technic. 8×100 ; $2000 \times$. 20 — Root of *Phaseolus*, nucleolus in prophase, microsc. Leitz, Estable's technic. 6×90 ; $1250 \times$. Photos fig. 2, 3, 4, 5, 15, 13, 17 — microscop Neozet (Reichert), phase contrast; fig. 1, 6, 7, 8, 11, 14, 16, 19 — anoptral; contrast; fig. 10, 18, 12 — fluorite objective

Tablica I

Tablica II

Tablica III

Spostrzeżenia moje nad występowaniem cynku w jąderkach spoczynkowych i pojawianiem się go na chromosomach, potwierdzają obserwacje Fuji (l.c.) przeprowadzone nad jąderkami u *Tradescantia*.

Na podstawie dotychczasowych wyników badań można sądzić, iż jąderka odgrywają bardzo ważną rolę w metabolizmie komórki i przenoszeniu substancji dziedzicznych z jądra do cytoplazmy, a pod względem morfologicznym są wyspecjalizowaną organellą, o właściwej sobie trwałej strukturze. Szczegółowy przegląd najnowszej literatury dotyczącej budowy jąderek roślinnych oddałem do druku do „Wiadomości Botanicznych”.

WNIOSKI

1. Obserwacje przeprowadzone nad jąderkami kilku roślin przy użyciu metod obserwacji *in vivo*, barwienia metodą Sotelo, metodą Estable'a i metodą Feulgena z podbarwianiem zielenią świetlną, wreszcie obserwacje nad preparatami utrwalonymi nie barwionymi wykazują istnienie w jąderkach struktury włókienkowo-taśmowej wraz ze zgrubieniami, nazwanej przez Estable'a i Sotela nukleolonemą.

2. Nukleolonema podczas mitozy jądra pozostaje w styczności z chromosomami i nie zanika w profazie, ale przechodzi w odcinkach na chromosomy.

3. W jąderkach utrwalonych i barwionych można wyróżnić część centralną i korową w której znajduje się nukleolonema.

4. Korzystnym obiektem obserwacji jąderek *in vivo* o widocznej strukturze jest wewnętrzna epiderma strąka grochu.

5. Użycie ditizonu pozwala wykryć w jąderkach występowanie cynku. Cynk również występuje na chromosomach metafazalnych w postaci ziaren.

Panu Prof. dr S. Krupko składam serdeczne podziękowanie za podanie tematu oraz kierownictwo podczas wykonywania pracy.

Zakład Botaniki Ogólnej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
w Poznaniu

(Wpłynęło dn. 20.3.1959 r.)

SUMMARY

The aim of the present investigation is twofold:

1. to study the morphology vitally and on the fixed and stained material of the interphase nucleoli,
2. to study their morphology and behaviour during mitosis.

The observations have been carried out on the following material: pod's internal epiderm of *Pisum sativum*; scales epiderm of *Allium cepa*; the stigmas of *Melica uniflora* and *M. nutans*; root tips of *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Allium porum*, *Hordeum vulgare*, *Rhaphanus sativus*, *Albica transvaalensis*.

The staining methods used were: Sotelo's technique, silver impregnation (Estable's technique), method with light green, dithizone reaction for zinc.

The vital observations (using phase and anoptral contrast and the fluorite objective) revealed the existence of nucleolonema in the nucleoli. Using the Sotelo's and Estable's technique it can be observed in every light microscope. In the prophase of mitosis the nucleolonema spreads to the karioplasm, close to the chromosomes, and in metaphase and anaphase it occurs as short bands or bands with knobs (like a rosary) lying on the chromosomes. During telophase it becomes thicker (it is best seen at this stage) and forms nucleoli. After staining with dithizone many red spots were seen in the nucleoli, during mitosis they were visible on chromosomes, especially distinct in the telophase. Some giant nucleoli with distinct nucleolonema inside, became wholly red after dithizone. Thus the present investigation confirms the occurrence of zinc in nucleoli. Our observations show that the nucleolus consists of one or few light regions like vacuoles, which don't stain. When these so called „vacuoles” appear in the central part of the nucleolus, the nucleolonema is clustered in the marginal layer of the nucleolus. The nucleoli differ much in size. The largest ones occur in *Hordeum vulgare* in which the diameter amounts to 3,5—4,5 microns (average nucleus diameter 5,7 microns). In all observed species some cells occur in which the exceptionally large nucleoli may be seen, especially in the root meristems.

These observations corroborate the work of Estable and Sotelo (1951) which describes the existence of the nucleolonema as a permanent structure persisting in the interphase nuclei, and taking part in mitosis.

Acknowledgements:

I express my gratitude to Prof. dr. S. Krupko, Head of the General Botany Department for his guidance and valuable advice during the course of the work.

Department of General Botany

Adam Mickiewicz University, Poznań

LITERATURA

- Anderson N. G., 1953, Exptl. Cell Research 5: 361*.
 Bernhard W., Hagenau F., Oberling Ch., 1952, L'ultra structure du nucleole de quelques cellules animales, révélée par le microscope électronique, Experientia 8: 58.
 Borysko E., Bang F. B., 1951, Structures of the nucleolus as revealed by the electro microscope. Bulletin of the John Hopkins Hospital 89, (6): 468—473 (przeczytano streszczenia).
 Chayen J., 1952, Symposia Soc. Exptl. Biol. 6: 290*.
 D'Angelo E. G., 1950, Ann. N. Y. Acad. Sci 50: 910*.
 Estable C., Sotelo J., 1952, Technical procedures for the study of nucleolonema. Stain Technology 27 (6).
 Estable C., Sotelo J., 1954, The behaviour of nucleolonema during mitosis. Symp. at the VIII th Congress of Cell Biol. Leiden, Series B, Nr 21: 170—190.

- Flint F. F., Johansen D. A., 1958, Nucleocytoplasmic relationships in the *Fritillaria* type of metagametogenesis, Amer. Jour. Bot. 45 (6): 464—473.
- Frey-Wyssling A., 1953, Submicroscopic morphology of protoplasm, 2-nd ed. Elsevier, Huston. 1953*.
- Fuji T., 1955, Observations on the behaviour of zinc during mitosis in fresh staminal hair cells of *Tradescantia*, Jour. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. Sect. 4 Zool. v. 7 (3): 327—334.
- Fuji T., 1955, Presence of zinc in nucleoli and chromosomes and its possible role in mitosis, Jour. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. Sect. 4 Zool. v. 7 (3): 313—325.
- Gates R. R., 1942, Nucleoli and related nucleolar structures, Botanical Rev. 8: 337.
- Heitz E., 1931a, Die Ursache der gesetzmässigen Zahl, Lage, Form und Grosse pflanzlicher Nukleolen, Planta 12: 775—844.
- Heitz E., 1931b, Nukleolen und Chromosomen in der Gattung *Vicia*, Planta 15: 495—505.
- Lettre R., 1954, Observations on the behaviour of nucleolus of cell in vitro, Symp. at the VIII-th Congress of Cell Biol. Leiden, Series B. Nr 21: 141—150.
- Mc Clintock B., 1934, The relation of particular chromosomal element to the development of nucleoli in *Zea mays*, Zeits. Zellf. Bd 21: 294.
- Rattenbury J. A., Serra J. A., 1952, Types of nucleolus reconstitution in telophase and the question of „nucleolar organizer”, Portugal. Acta Biol. 3, (3): 240—260.
- Ris H., Mirsky A. E., 1949, J Gen Physiol. 32: 489*.
- Shigeyasu Amano, 1954, Structure and function of the central body and the nucleolus. Extension fiber theory of the mitotic mechanism, Acta Scholae medicinalis Univ. Kioto 32 (1).
- Vincent W. S., 1955, Structure and chemistry of nucleoli, Internat. Rev. Cytol. 4: 269—295.

* Publikacja nie przeczytana w oryginale, ale znana tylko z pracy Vincenta.