Cytomiksja w skórcie łusek cebuli i w skórcie liści
oraz w merystemie wierzchołkowym korzenia *Allium cepa* L.
*Cytomixis in the epidermis of scales and leaves and in meristemes of root
apex of Allium cepa* L.

J. TARKOWSKA

WSTĘP

Zjawiska przemieszczania jąder komórkowych w obrębie komórki oraz przenikania jąder przez ściany do sąsiednich komórek obserwowane i badane były już od dawna. Przyczyną przemieszczeń jąder komórkowych mogą być bodźce różnego rodzaju, np. uszkodzenia mechaniczne, szoki temperatury, wirowanie.

Jak podaje Nestler (1898, str. 709), Tangl już w 1885 r. stwierdził, że jeżeli uszkodzić za pomocą noża płatek skórki z łusek cebuli, to w sąsiednich, nienaruszonych komórkach następują traumatotropowe przesunięcia jąder komórkowych w kierunku uszkodzenia (rany).

Kontynuacją pracy Tangla jest praca Nestlera (1898). Badał on różne rośliny spośród jedno- i dwuliściennych (łodygi, liście) na przekrojach poprzecznych i podłużnych. Nestler dokonywał zranienia tkanek nożem, igłą lub stężonym kwasem siarkowym. Podobnie jak Tangl obserwował on zawsze przesunięcia jąder i plazmy, rozpoczynające się od pierwszego rzędu komórek przy ranie i stopniowo postępujące dalej. Pierwsze przesunięcia jąder dostrzega się w kilka czy kilkanaście godzin po zranieniu (*Allium cepa* 12—15 godz., *Hemerocallis fulva* — 6 godz.). Po 48 godzinach, w większości przypadków, przesunięcie osiąga maksimum. Po 3 dniach jądra zaczynają wracać do normalnego położenia, a po 4—6 dniach nie ma żadnych oznak przesunięć. Tylko w nielicznych komórkach pierwszego rzędu jądra pozostają przy ścianie od strony rany; komórki te, jak wskazuje plazmoliza, nie są martwe. Tak więc opisane powyżej traumatotaktyczne ruchy jąder są zwykle odwracalne i nie powodują śmierci komórek, ani nie zachodzą w komórkach martwych.

Hanstein, jak podaje Nestler (str. 726), twierdził, że są to własne ruchy jąder, niezależne od prądów plazmy. Nie dają się one wytłumaczyć czynnikami mechanicznymi, lecz wydają się być związane z bliżej nieokreślonym bodźcem ruchu w żywym protoplasście.

Loos (1931) stwierdza, że takimi samymi przesunięciami reagują jądra na działanie soku wyciśniętego ze świeżej tkanki lub ekstraktu z autolizatów. Przesunięcia te wzrastają wraz z siłą bodźca ku ośrodkowi działania, ale tylko przy odpowiednio niskich koncentracjach związku pobudzającego. Koncentracje wysokie dają ujemną reakcję jąder.

Küster (1956, str. 214) sądzi, że traumatotaktyczne ruchy jąder należy rozpatrywać jako reakcję na działanie substancji chemicznych, powstających w wyniku zranienia i rozprzestrzeniających się do komórek dalej położonych. Siła bodźca będzie więc malała w miarę oddalania się od środka rany.

Reakcją komórek na zranienie może być nie tylko przemieszczanie jąder i plazmy w granicach własnej komórki, ale także przenikanie jąder poprzez otwory w ściankach komórkowych. To niezwykle zjawisko opisał po raz pierwszy Miehe (1901), a potwierdzili je, między innymi, Němec (1910), Gavaudan (1936), Su-Süan (1955a, b).

Miehe (1901) ściągał skórę i robił skrawki brzytwą z nasady młodych liści wielu roślin jednoliściennych (różne gatunki *Allium*, *Iris* i inne). Na materiale żywym obserwował przechodzące jądra zarówno w ściągniętej epidermie, jak i w warstwach subepidermalnych, ale na materiale utrwalonym podobne figury widoczne były tylko na brzegach cięcia dokonanego przed utrwaleniem. Nie każde jednak uszkodzenie mechaniczne powoduje przechodzenie jąder przez ściany komórkowe. Miehe podkreśla, że muszą być spełnione odpowiednie, bliżej nieokreślone warunki wewnątrz komórek, że żywy protoplast musi w sposób czynny uczestniczyć w zjawisku przemieszczania jąder. Proces przeciskania się jądra odbywa się błyskawicznie, a kierunek przemieszczania jest na ogół przeciwny kierunkowi ściągnięcia skórki (str. 124). Na preparatach mikrotomowych Miehe nie stwierdza jednak takiej kierunkowości przesuwania jąder ku ranie; część jąder podąża nawet w kierunku przeciwnym (str. 119).

W ostatnich latach zagadnieniem przechodzenia jąder przez otwory w ścianach komórkowych zajmują się badacze chińscy z Su-Süan na czele (1955a, b). Badali oni skórę z łusek i młodych liści różnych gatunków *Allium* — żywą i utrwaloną. Su-Süan uważa przenikanie jąder za zjawisko normalne, odbywające się w żywej tkance. Wędrować mogą jądra spoczynkowe, a także pojedyncze chromosomy lub ich zespoły, w różnych fazach mitozy. Dodatkowa substancja chromatynowa włączać

się ma aktywnie w procesy życiowe komórek, do których została przesunięta i to wg Su-Süan ma świadczyć przeciwko ciągłości i indywidualności chromosomów.

Milovidov (1949) zwraca uwagę na plastyczność substancji jądrowej i z tą plastycznością wiąże wszelkie deformacje jąder, a więc i przenikanie jąder przez otwory w ścianach komórkowych.

Podobne przemieszczanie jąder przez ściany komórkowe obserwowane było w komórkach macierzystych pyłku. Pierwszy zjawisko to opisał Körnicke w 1901 r. u *Crocus vernus* (podają za Kattermannem (1933, str. 774)). Jako przyczynę zjawiska podaje autor zranienie pylników pincetą podczas preparowania materiału. Przejście chromatyny odbywa się błyskawicznie w momencie działania bodźca (ucisku).

Gates (1911) obserwował podobne zjawisko u *Oenothera* i nazywał je cytomiksją. Cytomiksję określa Gates jako proces przedostania się chromatyny z jądra jednej komórki macierzystej do cytoplazmy przyległej komórki macierzystej pyłku (str. 918). Określenie Gates jest ogólnie przyjęte i cytowane w literaturze, chociaż w r. 1934 Kihara i Lilienfeld pojęcie to zawęzili i terminem cytomiksja określili przejście kropeł chromatyny pozbawionych struktury (cytują za Leván'em (1941, str. 249)).

Tischler (1951, str. 530) cytuje około 40 publikacji, w których opisano zjawisko cytomiksji u bardzo licznych roślin jedno i dwuliściennych. Jest to zjawisko bardzo częste, a za jego główną przyczynę uważa się uszkodzenia mechaniczne towarzyszące preparowaniu i utrwalaniu materiału. Analizowali je dokładniej: Levitsky (1928), Kattermann (1932) i Gates (1911).

Levitsky (1928) przecinał lub ucinał szczytową część pylników i po zgnieceniu w acetokarminie stwierdzał przemieszczanie chromosomów lub całych jąder przez ściany komórkowe. Autor nie wspomina o degeneracji komórek, w których zaszły te przemieszczenia. Chromosomy wg Levitsky'ego mogą przechodzić zarówno w I, jak i w II podziale (inni badacze obserwowali cytomiksję tylko w profazie I podziału).

Jedną z podstawowych prac na ten temat, zasługującą na dokładniejsze omówienie, jest publikacja Kattermanna (1932), który badał komórki macierzyste pyłku mieszańca *Triticum vulgare* var. *ferrugineum* × *Secale cereale*. Autor podaje i opisuje liczne mikrofotografie i rysunki komórek macierzystych pyłku, w obrębie których nastąpiło przemieszczenie chromatyny. Jest cechą charakterystyczną, że komórka, która przyjmuje dodatkową chromatynę, może znajdować się we wszystkich fazach I podziału mejozytycznego, zaś komórka, z której część jądra zostaje przesunięta ("Restzelle") jest najczęściej w stadium leptotenu i zygotenu, cza-

sem w pachytenie, a w nielicznych tylko przypadkach — w stadium diakinezy. Początkowe więc stadia profazy są momentami krytycznymi, kiedy to zachodzi cytomijsja. Kattermann tłumaczy to odpowiednim stanem elastyczności i plastyczności chromatyny we wczesnej profazie I podziału. Komórki, do których przemieszczona została dodatkowa chromatyna, w wielu przypadkach rozwijają się normalnie. Struktura chromatyny po przemieszczeniu przez ścianę komórkową może być różna. W pracy zamieszczono fotografie nici chromatynowych o strukturze charakterystycznej dla leptotenu czy zygotenu. Świadczy to o tym, że chromatyna po przejściu do innej komórki może zachować właściwą sobie strukturę. W większości jednak przypadków chromatyna przeciskając się przez ścianę komórkową traci swoją strukturę i przybiera postać kuleczek. Kattermannowi nie udało się stwierdzić, co dzieje się z tą dodatkową chromatyną po I podziale komórki. Autor przypuszcza, że jest ona albo resorbowana przez cytoplazmę, albo może doprowadzić do powstania ziaren pyłku ze zwiększoną ilością chromosomów, a więc do powstania poliploidów.

Wg Bleiera, jak podaje Kattermann (str. 769), możliwość dalszego rozwoju przemieszczonej chromatyny uzależniona jest od tego, czy wraz z nią przesunięty został także sok jądrowy. Bleier utrzymuje, że sama chromatyna w obcej komórce wcześniej lub później ulegnie zniszczeniu. Kattermann obserwował także zachowanie się „Restzellen“. W jego doświadczeniach komórki te prawie zawsze były anormalne, a często degenerowały. Co dzieje się z tymi komórkami w czasie dalszego ich rozwoju — nie zostało wyjaśnione.

Strukturą chromatyny, po jej przejściu przez ścianę komórkową, zajmował się także Gates (1911). Podaje on, że w pierwszym momencie po przecięnięciu nici chromatynowej przez ścianę komórkową tworzy ona gęstą, zbitą, jednorodną masę. Wkrótce jednak struktura jej rozluźnia się i upodabnia do takiej, jaką miało jądro, z którego pochodzi. Dalszych przemian nie udało się prześledzić. Prawdopodobnie dodatkowa chromatyna zostaje resorbowana przez cytoplazmę komórki, na teren której została przemieszczona. Autor przypuszcza, że „Restzellen“ (wg terminologii Kattermanna) nie degenerują. Jądro, z którego ubyło już trochę chromatyny, wygląda normalnie i przesuwa się z powrotem w kierunku środka komórki. Także jąderka i cytoplazma nie wykazują oznak degeneracji (str. 918).

Levitsky i Kattermann przypuszczają, że w naturze drogą cytomijsji mogą powstawać żywotne gamety ze zwiększoną liczbą chromosomów, co prowadziłoby do powstania poliploidów. Tischler

(1951) natomiast jest zdania, że dodatkowa chromatyna, która przedostaje się do sąsiedniej komórki, zostaje tam zniszczona.

Niektórzy autorzy używali terminu cytomiksja dla następstw zaburzeń w mitozie lub cytokinezie, doprowadzających do powstania komórek wielojądrowych lub komórek z dodatkowymi chromosomami. W tak luźnym znaczeniu stosują termin cytomiksja Müntzing i Prakken (1941) oraz Levan (1941). Większość autorów używa tego terminu w pierwotnym znaczeniu, wprowadzonym przez Gatesa.

Z przeglądu powyższego wynika, że reakcja jąder na zranienie tkanki może być dwójaka:

1. wewnątrzkomórkowe, odwracalne przesunięcia jąder w kierunku rany,

2. przenikanie jąder przez ściany komórkowe do sąsiednich komórek.

Dotychczas termin cytomiksja stosowany był na określenie przemieszczania jąder przez ściany komórkowe w komórkach macierzystych pyłku, podczas gdy oba zasadniczo różne typy reakcji jąder w komórkach somatycznych opisywane były jako reakcje traumatotaktyczne.

Sądzę, że termin cytomiksja należy stosować do wszystkich tkanek, określając nim przenikanie chromatyny do sąsiedniej komórki poprzez ściany komórkowe, zachowując określenie — traumatotaktyczna reakcja jąder — jedynie dla odwracalnych przemieszczeń jąder wewnątrz komórek. W tym rozszerzonym więc znaczeniu używać będę w tej pracy terminu „cytomiksja“.

Niezwykłe zjawisko cytomiksji nasuwa liczne problemy. Najważniejsze z nich to: jakie są przyczyny tego zjawiska, jaki jest jego mechanizm, jaki jest los przeciśniętych części jądra i los obu komórek — tej z ubytkiem chromatyny i tej ze zwiększoną jej ilością.

Celem mojej pracy jest danie choćby częściowej odpowiedzi na powyższe pytania.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem moich badań były skórka łusek i skórka młodego liścia oraz wierzchołki korzeni *Allium cepa*. Skórkę badano żywą i utrwaloną, wierzchołki korzeni — tylko utrwalone.

Skórkę zewnętrzną łuski i skórę młodego liścia ściągano gwałtownie, bez nacięć i bez infiltracji, przy pomocy pincety (Strugger (1949, str. 6—7) podaje sposób izolowania skórki łuski, pozwalający otrzymać jak najmniej uszkodzone tkanki). Część skrawków oglądana była bez barwienia w wodzie wodociągowej lub w 8% roztworze sacharozy, inne utrwalano i barwiono acetokarminem, albo — po utrwaleniu CrAF —

barwiono hematoksyliną Haidenheina, hematoksyliną Ehrlicha lub metodą Feulgena. Materiał żywy nie barwiony oglądany był dodatkowo w kontraście fazowym i w ciemnym polu.

Dla wywołania cytomiksji w merystemie wierzchołkowym korzenia, szczytowe części korzeni długości 8—10 mm gnieciono aż do ich pęknięcia (charakterystyczny trzask) między dwoma szkiełkami podstawowymi i bezpośrednio po zgnieceniu utrwalano w modyfikacji utrwalcza Nawaszy na — CrAF 0,5—1—20, w ciągu 24 godzin. Materiał kontrolny utrwalano w ten sam sposób, ale po delikatnym odpreparowaniu. Skrawki grubości 5, 8, 10 μ barwiono fioletem gencjanowym z zielenią jasną i stosowano metodę Feulgena.

Żywotność komórek skórki sprawdzano poprzez obserwacje w kontraście fazowym i w ciemnym polu, barwienie vitalne czerwienią obojętną i plazmolizę. Żywotność komórek korzenia badano stosując bezpośrednio po zgniataniu plazmolizę (40% sacharoza, 4 godziny), po czym splazmolizowane korzenie utrwalano w CrAF i sprawdzano stan splazmolizowania komórek na preparatach mikrotomowych. Splazmolizowane korzenie utrwalano w zwykłym utrwalczu albo w utrwalczu zawierającym 40% sacharozy. Wynik utrwalania był taki sam w obu wypadkach.

CYTOMIKSJA W SKÓRCIE ŁUSEK CEBULI I W SKÓRCIE MŁODYCH LIŚCI *ALLIUM CEPA* L.

Komórki zewnętrznej skórki łusek cebuli przylegają bardzo silnie do warstw subepidermalnych. Charakteryzują się one grubymi ścianami komórkowymi z dużymi jamkami prostymi (wielkość jamek 0,6—2,6 μ). W delikatnie ściągniętych płatkach skórki komórki są żywe, jednojądrowe. Posiadają one jądra o strukturze drobnoziarnistej, chondriom kulisty i pałeczkowaty. W takich komórkach cytomiksji nie obserwuje się zupełnie.

Aby spowodować przenikanie jąder przez ściany komórkowe, trzeba bardzo gwałtownie ściągnąć skórkę, ale i wtedy nie na każdym płatkach obserwuje się cytomiksję. Niekiedy na 10—15 płatkach nie występuje żadne jądro przechodzące, ale na innych może ich być kilka, najczęściej w pobliżu miejsca uszkodzenia. Ze względu na sporadyczność zjawiska łuski cebuli nie są dogodnym obiektem do eksperymentowania.

Gwałtowne ściągnięcie skórki powoduje silne naprężenie ścian komórkowych i uszkodzenia komórek. Na płatkach skórki występują zespoły komórek, których dolna część została oderwana i pozostały tylko górne ściany komórkowe z przylegającymi do nich bocznymi ścianami. Wśród pozostałych komórek, pozornie mechanicznie nie uszkodzonych, część komórek jest martwa, część — żywa, ale wyraźnie są one zmienione-

W czasie zabiegu ściągania skórki z bardzo wielu komórek jądra zostają usunięte. Ilość komórek bezjądrowych jest szczególnie duża na terenach z oderwaną dolną ścianą; znacznie mniejsza wśród komórek pozornie nie uszkodzonych mechanicznie. W obrębie komórek uszkodzonych i rozerwanych występują komórki pozornie dwujądrowe. Przy pobieżnych obserwacjach łatwo popełnić omyłkę sądząc, że są to nie uszkodzone komórki dwujądrowe i że ich dwujądrowość jest wynikiem cytomiksji. Staranna analiza mikroskopowa doprowadza do wniosku, że drugie jądro dostało się do tych komórek z przyległych komórek rozerwanych. W płynie, w którym zamknięty jest płatek skórki, znajduje się duża ilość luźnych jąder wypadłych z komórek. Z wielką łatwością dostać się one mogą do komórek rozerwanych. Jądra z dwujądrowych komórek można łatwo usunąć przez przemywanie skrawka wodą. Obserwując te same wybrane miejsca na płacie skórki przed i po przemywaniu, stwierdzono wielokrotnie wypłukiwanie jąder z komórek pozornie dwujądrowych. Często podobne wyniki daje ucisk na szkiełko przykrywkowe.

W częściach skórki zawierających całe, mechanicznie nie uszkodzone komórki nie ma komórek dwujądrowych. Badania w kontraście fazowym pozwalają twierdzić, że na terenie tym występują zarówno komórki martwe, jak i jeszcze żywe. W komórkach martwych cytoplazma jest ścięta, chondriom i leukoplasty trudne do wyróżnienia. Komórki te nie plazmolizują, a czerwień obojętna zabarwia ich jądro i lekko podbarwia cytoplazmę. W ciemnym polu silnie świeci ściana komórkowa, sferosomy i jądro, słabiej — strącona cytoplazma. W komórkach jeszcze żywych obserwuje się różne stopnie morfologicznych zmian: chondriom wyłącznie kulisty lub w postaci krótkich pałek, leukoplasty kuliste, często z dużą wakuolą. Jądra posiadają strukturę pozornie drobnoziarnistą, inne — gruboziarnistą, a niekiedy nawet mają zaznaczone terytoria chromosomowe. Komórki te jednak w różnym stopniu plazmolizują, a niekiedy można je nawet zdeplazmolizować. Czerwień obojętna zabarwia tylko ich wakuolę. W ciemnym polu świeci ściana komórkowa i sferosomy, niekiedy także lekko jądro. Cytomiksja występuje wyłącznie na terenach płatu z komórkami mechanicznie nie uszkodzonymi (nie rozerwanymi).

Wydaje się, że samo zjawisko przeciskania się jądra odbywa się błyskawicznie w momencie ściągania skórki. Dokonany natychmiast dodatkowy ucisk (zgniecenie komórek), nie wywołuje dalszego przemieszczania jąder, które wędrówkę rozpoczęły, ani też nie powoduje żadnych przesunięć pozostałych jąder (zgodnie z obserwacjami M i e h e g o). Silny ucisk może tylko spowodować pęknięcie jądra przechodzącego w miejscu jego przejścia przez ścianę komórkową.

Wędrowka jęder jest bezkierunkowa, nie udało się ustalić żadnych zależności ani prawidłowości. Można tylko stwierdzić, że odbywa się częściej przez błony podłużne niż poprzeczne.

Tablica I, fot. 1 przedstawia jądro, którego niewielki „pączek” przedostał się do sąsiedniej komórki przez jedną jamkę. Obrazy takie spotyka się najczęściej. Jeżeli jednak przez kilka obok siebie położonych jamek przejdzie kilka „pączków” i to dostatecznie dużych, mogą one łączyć się ze sobą i otrzymujemy figury jak na tabl. I, fot. 2 i 3. Jąderka pozostają zawsze w komórce macierzystej.

Część jądra, która przeszła przez ścianę, nie wykazuje zwykle żadnej struktury (tabl. I, fot. 1 i 3). Jest to najczęściej gęsta, jednorodna substancja. Obie części jądra dają pozytywną reakcję Feulgen’a.

Szczególną uwagę zwrócono na sprawdzenie żywotności komórek biorących udział w cytomiksji, wobec sprzecznych wypowiedzi podanych w literaturze. Miehe (1901) i Gavaudan (1936) opisywali je jako zamierające lub martwe komórki, Su-Süan (1955a) — jako żywe.

W celu zbadania żywotności komórek i stopnia zmian składników protoplazmatycznych stosowano opisane już wyżej metody: kontrast fazowy, ciemne pole, czerwień obojętna, plazmoliza. Komórki, z których jądro przenika, wykazują wszystkie oznaki zamierania lub śmierci. Komórki, do których jądro przechodzi, najczęściej są także martwe lub w nielicznych przypadkach jeszcze żywe, ale z wyraźnymi objawami degeneracji. Tabl. I, fot. 4 przedstawia wynik barwienia czerwienią obojętną sąsiadujących ze sobą komórek żywych i martwych. Widoczne są na niej dwa jądra przenikające. Tabl. I, fot. 5 ilustruje wynik działania 40% sacharozy na ściągnięty płatek skórki: komórki z jądrami przechodzącymi nie zostały splazmolizowane. Obie te fotografie są dokumentacją twierdzenia, że komórki, z których jądra są przemieszczane są martwe.

W skórcie ściągniętej z młodych, zielonych liści *Allium cepa* cytomiksję obserwuje się znacznie częściej niż w skórcie łusek.

Tabl. II, fot. 1 i 2 przedstawiają fragmenty skórki młodego liścia. Liczne komórki z jądrami przechodzącymi do sąsiednich komórek występują nie tylko na brzegach płatka ale i w centralnej jego części, zarówno w komórkach skórki jak i w mezofilu. Kierunek cytomiksji jest nieokreślony. Skórka liści cebuli nie jest jednak dobrym obiektem do dokładniejszej analizy cytomiksji. Trudno jest oderwać skórkę liścia bez przyległych do niej komórek. Do zerwanego płata skórki przylegają zwykle 1—2 warstwy miękiszu, co utrudnia obserwacje i może być przyczyną fałszywych interpretacji.

Najlepszym obiektem do analizy zjawiska cytomiksji okazały się komórki korzeni.

CYTOMIKSJA W WIERZCHOŁKACH KORZENI *ALLIUM CEPA* L.

Nieliczni tylko badacze obserwowali cytomiksję w tkankach korzenia. Tischler podaje, że Miehe i Hottes badali ją w korzeniach *Vicia faba* umieszczonych poprzednio w nienormalnej temperaturze. Gavaudan (1936) obserwował cytomiksję w komórkach korzeni *Scilla peruviana* i *Muscari botryoides*. Żaden ze wspomnianych wyżej autorów nie podaje jednak, w jaki sposób wywoływano przemieszczanie jąder. Wiadomo przecież, że przy ostrożnym utrwalaniu korzeni, nie obserwuje się w ich tkankach cytomiksji.

Němec (1910) badał wierzchołki korzeni *Allium cepa* i *Pisum sativum*. Preparaty przygotowywał w następujący sposób: wierzchołki korzeni wkładał między dwa szkiełka, a następnie uciskał palcem aż do momentu, kiedy usłyszał charakterystyczny trzask (pęknięcie korzenia). Zgniecione wierzchołki utrwałał dopiero po upływie 48 godz. Podczas zgniatania część komórek zamierała, ale większość tkanek korzenia pozostawała żywa i w tych żywych komórkach mogły zachodzić podziały. W przyrannej części tkanki korzenia znajdowały się często wielkie komórki z dużymi jądrami. Niekiedy były to komórki dwu- lub trzyjądrowe, a czasem widać było zlewanie się tych jąder w jedno duże jądro. Němec widzi dwie drogi powstawania takich komórek: zakłócenia cytokinezy po normalnej mitozie i cytomiktyczne przenikanie jąder. Obserwował także na zgniecionych korzeniach komórki ze zwiększoną liczbą chromosomów, prawdopodobnie tetraploidalne. Němec przypuszcza, że takie tetraploidalne jądra mogły powstawać w wyniku cytomiksji.

Opisywane przez Němeca zjawiska były prawdopodobnie następstwem zaburzeń w cytokinezie i zlewania się jąder siostrzanych. Nie mogą być interpretowane jako nie budzące wątpliwości następstwa cytomiksji. Charakterystycznych figur cytomiktycznych Němec nie opisuje.

Struktury przypominające figury cytomiktyczne mogą powstawać przy zakłóceniach przebiegu podziałów komórkowych. Dufrenoy i Duseau (1939) podają przykłady powstawania ściany komórkowej w dzielącej się komórce, jeszcze przed zupełnym rozejściem się chromosomów. Zjawiska te obserwowano przy działaniu niskiej temperatury podczas formowania się ziaren pyłku u *Nicotiana glauca* lub braku boru w komórkach merystematycznych pąków bobu. Powstające wtedy „mostki chromosomowe“, przebiegające przez nowo powstałą przegrodę pierwotną, sprawiają wrażenie przechodzenia chromosomów z jednej komórki do drugiej.

Doświadczenia nad wyzwoleniem cytomiksji w komórkach skórki przez jej gwałtowne ściąganie nasunęły myśl, że występuje ona pod wpływem

gwałtownego rozciągnięcia komórki. Opierając się na tym przypuszczeniu należało oczekiwać, że i w korzeniu przy zastosowaniu odpowiednich zabiegów, powodujących podobne rozciągnięcie i naprężenie ścian, można będzie także obserwować zjawisko przemieszczania jąder komórkowych w miejscach maksymalnego rozciągnięcia. Jednym z najprostszych takich sposobów jest zgniecenie całego korzenia, aż do spowodowania pęknięcia. Zastosowanie tej metody do wywołania cytomiksji w korzeniu pozwala jednocześnie sprawdzić wysuniętą wyżej hipotezę. Metoda gniecenia wierzchołków korzeni między dwoma szkiełkami podstawowymi okazała się bardzo dobrą. Tkanka korzenia zostaje w kilku miejscach rozerwana podłużnymi szczelinami, najczęściej w górnych jego partiach. Część dolna — merystematyczna jest najbardziej odporna na uszkodzenie.

Na skrawkach mikrotomowych ze zgniecionej uprzednio korzenia figury cytomiktyczne spotyka się przeważnie w bezpośrednim i w dalszym sąsiedztwie szczelin powstałych przy pęknięciu.

Kierunek, w którym przesuwają się jądra, jest tutaj przeważnie określony: jądra „wędrują” w kierunku uszkodzenia (tabl. II, fot. 3, 4). Zasada ta dotyczy nie tylko komórek najbliższej położonych, ale także 3 czy 4 rzędu komórek od rany. Stąd często szczelina otoczona bywa pączkami z jąder komórek otaczających (tabl. II, fot. 4).

Istotnym zagadnieniem w zjawisku cytomiksji jest droga przenikania — miejsce w ścianie komórkowej, przez które przechodzi chromaty-na. Miehe (1901) i Su-Süan (1955a, b), twierdzą że przemieszczanie chromatyny odbywa się poprzez jamki w ścianach komórkowych. Miehe przypuszcza, że przenikanie to odbywa się poprzez drobne otwory pola jamkowego, po uszkodzeniu połączeń plazmatycznych, tj. przez pory plazmodesmów. Jungers (1930) uwzględniając małą średnicę por plazmodesmów nie zgadza się z interpretacją Miehego. Jungers przypuszcza, że jądro wypycha błonę dna jamkowego: jest ona delikatna i łatwa do przerwania. Farmer (podaję za Jungersem str. 73) przypuszczał, że błona dna jamkowego może być przez jądro rozpuszczona.

W opisie cytomiksji w skórcie łusek cebuli wskazano, że odbywa się ona poprzez jamki. Jest to szczególnie dobrze widoczne na tabl. I, fot. 3. W komórkach wierzchołka korzenia łatwo można zaobserwować jamki z góry z tkwiącą w nich substancją chromatynową (tabl. III, fot. 1 i 2). Tabl. III, fot. 2 przedstawia zniekształcone jądro (widoczne z góry) z wyraźnymi fragmentami przenikającymi do sąsiedniej komórki. Nie ulega więc wątpliwości, że chromaty-na przenika przez jamki. Wobec niewielkich rozmiarów jamek i submikroskopowej średnicy por w merystematycznych komórkach korzenia cebuli, bezpośrednie obserwacje mikro-

skopowe nie mogą rozstrzygnąć, czy przenikanie chromatyny odbywa się poprzez pory plazmodesmów, czy też poprzez całą jamkę. Jednakże jednorodna, zbita struktura chromatyny przeciąśniętej do sąsiedniej komórki wskazuje raczej na przenikanie jej przez pory.

Ilość chromatyny przechodzącej do sąsiedniej komórki bywa bardzo różna. Najczęściej są to mniejsze lub większe, pojedyncze krople (tabl. III, fot. 3, 4; tabl. IV, fot. 1, 2, 4, 6). Z tabl. IV, fot. 1, 2, 4, 6 wynika, że przez jedno pole jamkowe może przejść znaczna część jądra. Pączków wychodzących z jednego jądra może być kilka i mogą znaleźć się w różnych komórkach (tabl. III, fot. 5).

Wszystkim tym wyżej opisanym obrazom towarzyszy nieznaczne odkształcenie jądra — jego przesunięcie i wydłużenie w kierunku ściany komórkowej. W nielicznych tylko przypadkach jądro ulega bardzo silnemu rozciągnięciu przez całą komórkę, a jego części przemieszczane być mogą nawet do kilku komórek otaczających (tabl. V, fot. 1 i 2). G a v a u d a n (1936) obserwował w korzeniu *Scilla* i *Muscari* nici chromatynowe, mogące ciągnąć się nawet przez dziesiątki komórek. Podobnie S u - S ü a n (1955a) i K ü s t e r (1956) w komórkach epidermy cebuli opisują i podają ilustracje jądra przeciągniętego aż do komórki trzeciej. Ja nie obserwowałam tak wydłużonych jąder ani w skórcie, ani w korzeniu cebuli.

W korzeniu chromatyna przemieszczona do innej komórki, podobnie jak i w większości wypadków w skórcie, nie wykazuje żadnej struktury. Po przejściu przez jamkę tworzy się mniejsza lub większa bryła jednorodnej, skondensowanej, silnie barwiącej się substancji (tabl. IV, fot. 1—6).

W części jądra, pozostałej we własnej komórce, rozmieszczenie chromatyny zmienia się i bywa bardzo różne. Na terenie jądra najbliższym jamki obserwuje się zagęszczenie chromatyny (tabl. IV, fot. 4, 5, 6). Na pozostałym terenie jądra rozkład chromatyny jest raczej równomierny. Jąderka są wyraźnie wyodrębnione i położone centralnie (tabl. IV, fot. 1, 2).

Tabl. IV, fot. 6 przedstawia wynik reakcji F e u l g e n a. Obie części jądra dają pozytywną reakcję. Zagęszczenie DNA jest większe w „pączku“.

Szczególny układ chromatyny obserwuje się w jądrach, które ulegają odkształceniu i rozciągnięciu, a o których już powyżej wspomniano (tabl. V, fot. 1, 2). Substancja chromatynowa układa się w „nitki“ biegnące w kierunku jamek, przez które przenika do sąsiedniej komórki. Przy różnokierunkowym przesuwaniu się różnych części tego samego jądra otrzymuje się rozciągniętą siatkę. Takie deformacje jądra wskazują na działanie sił ssących.

Przedstawione powyżej opisy dotyczyły przemieszczania jąder interfazowych.

W literaturze spotyka się wiele danych o przemieszczaniu jąder w cza-

sie ich podziału, a więc o przemieszczaniu chromosomów. Dotyczy to przede wszystkim cytomiksji w komórkach macierzystych pyłku (Levitsky i inni). Su-Süan opisuje takie przypadki także w komórkach skórki nasady młodego liścia.

W wierzchołku korzenia cebuli zaobserwowałam także komórki dzielące się, z których część chromosomów była przemieszczana do sąsiednich komórek. Udało się stwierdzić cytomiksję niemal we wszystkich fazach podziału: tabl. VI, fot. 1 — profaza i prometafaza, fot. 2 — anafaza, fot. 3, 4, 5 — telofaza. Szczególnie silnie uwidoczniła się tutaj homogenizacja chromatyny po przejściu przez jamki. Chromosomy tworzą zbitą, bezstrukturalną masę. Na tabl. VI, fot. 3 i 4 wyraźnie zaznaczony jest fragmoplast. Wraz z chromosomami uległ on przesunięciu w kierunku ściany komórkowej, ale nie został zgnieciony. Podobnie, jak we wszystkich przypadkach przemieszczania jąder spoczynkowych w komórkach skórki lub korzenia, tak i przy cytomiksji podczas mitozy nie obserwuje się znaczniejszej deformacji tej części jądra, która pozostaje we własnej komórce. Można więc przypuszczać, że działają tutaj zlokalizowane siły ssące, które wyciągają część chromatyny z komórki, ale nie deformują reszty jądra. Odkształcenie powinno by towarzyszyć siłom tłoczącym jądro przez jamkę.

W korzeniach plazmolizowanych bezpośrednio po zgnieceniu cytomiksję obserwuje się bardzo rzadko. Można by wytłumaczyć to w następujący sposób. Przemieszczanie jąder, odbywające się w momencie zgniecenia korzenia, zachodzi w komórkach jeszcze żywych. Następstwem cytomiksji jest silna degeneracja komórek, prowadząca do ich zamierania lub natychmiastowej śmierci. Jeżeli śmierć komórki, w której zaszła cytomiksja, nastąpi dopiero po plazmolizie, skurcz splazmolizowanego protoplastu może spowodować cofnięcie jądra z jamki. Jeżeli natomiast śmierć komórki jest natychmiastowym następstwem cytomiksji, komórka nie splazmolizuje i chromatyna pozostaje w jamce.

40% roztwór sacharozy powoduje bardzo silną plazmolizę żywych komórek wierzchołka korzenia. Komórki, z których jądra przechodzą, nie plazmolizują (tabl. V, fot. 3, 4), ale komórki, do których jądra są przemieszczane w nielicznych przypadkach mogą lekko plazmolizować.

Badania przeprowadzone na korzeniu potwierdziły wyniki analizy skórki: komórki, z których jądro przenika, zostają podczas cytomiksji znacznie silniej uszkodzone od komórek, do których jądro jest wciągane. W czasie obserwacji mikroskopowych stwierdza się śmierć komórek oddających chromatynę oraz silną degenerację lub także całkowite zamieranie komórek przyjmujących chromatynę dodatkową.

DYSKUSJA

Zjawisko cytomiksji, jak wynika z danych literatury i własnych obserwacji, stwierdzane było na różnym materiale: w skórcie i w warstwach subepidermalnych liści, w tkankach korzeni, w tapetum i w komórkach macierzystych pyłku.

Cytomiksja jest zjawiskiem niezwykle i zaskakującym. W związku z tym, narzuca się konieczność zanalizowania jej przyczyn i mechanizmu, zbadania drogi i sposobu przenikania chromatyny poprzez ścianę komórkową oraz jej stanu po przeniknięciu do sąsiedniej komórki, jak również sprawdzenie stanu żywotności komórek o zwiększonej i zmniejszonej ilości chromatyny.

Bodźce chemiczne nie powodują przemieszczania jąder z jednej komórki do drugiej. Bodźce te mogą jedynie wywoływać chemotaktyczne przesunięcia jąder na terenie własnej komórki: ruchy te są zwykle odwracalne. Traumatotaktyczne ruchy jąder są takimi właśnie reakcjami.

Najczęściej wymienianą w literaturze przyczyną przenikania jąder przez ściany komórkowe są uszkodzenia mechaniczne tkanki. Uszkodzenia mechaniczne mogą być spowodowane nieświadomie podczas utrwalania materiału (Tischler; Miehe, Kattermann) lub spowodowane celowo (Němec, Levitsky). Su-Süan wyklucza bodziec mechaniczny jako przyczynę zjawiska, jednakże wyniki jego doświadczeń podane w pracy z 1955 (a) roku wskazują właśnie na czynniki mechaniczne jako na bodziec cytomiksji. Su-Süan prowadził badania na ściągniętych płatkach skórki *Allium cepa*, *A. sativum* i *A. fistulosum*, starając się zerwać skórę razem z przylegającymi do niej warstwami komórek. Przenikanie jąder w głębszych warstwach sprawdzał na skrawkach poprzecznych. Na tak przygotowanych preparatach obserwował często występowanie cytomiksji sądząc, że jest to zjawisko normalne, nie spowodowane przez siły działające z zewnątrz.

Nie każde mechaniczne uszkodzenie tkanki wywołuje cytomiksję. Cytomiksję w skórcie łusek cebuli wywołuje jedynie gwałtowne odrywanie skórki, nie powoduje jej natomiast przecięcie łuski lub nakłucie igłą. Cytomiksja nie jest więc bezpośrednią reakcją na zranienie tkanki, ani następstwem różnic w ciśnieniu osmotycznym między żywymi i martwymi komórkami na granicy rany.

Wydaje się, że warunkiem powstania cytomiksji jest nagle rozprężenie hydrostatyczne, nagle rozciągnięcie komórek. Takie rozprężenie powstaje przy gwałtownym i silnym odrywaniu skórki i przy pękaniu zgniatanego korzenia. Pęknięcie tkanki w korzeniu następuje w miejscu najsilniejszego naprężenia; rozerwanie jest już przekroczeniem maksimum

tego naprężenia. Takie właśnie metody stosowano w tej pracy i wtedy powodowano występowanie cytomiksji.

W świetle takiej hipotezy staje się zrozumiała błyskawiczność zjawiska, o czym wspomina Miehe, a na co już i w tej pracy uprzednio zwracano uwagę.

Nagle rozprężenie hydrostatyczne w tkankach jest przyczyną wystąpienia sił ssących, działających między komórkami. W komórkach oddających chromatynę nie obserwuje się zniekształceń morfologicznych, co wskazuje właśnie na działanie sił ssących, a nie tłoczących (tabl. VI, fot. 3 i 4). Przenikanie jąder następuje w kierunku zmniejszonego ciśnienia, o czym świadczy przemieszczanie jąder w kierunku szczeliny.

Droga przenikania chromatyny z jednej komórki do drugiej nie budzi wątpliwości. Cytomiksja odbywa się poprzez jamki. Mogą być jednak dwa różne sposoby przenikania przez jamkę: chromatyna może być wessana przez pory plazmodesmów albo przez otwory powstałe przez częściowe lub całkowite przerwanie błony zamykającej jamkę.

Wg obliczeń badaczy amerykańskich (Scott, Hamner, Baker, Bowler 1956), posługujących się mikroskopem elektronowym, wielkość jamek w komórkach merystematycznych korzenia cebuli waha się w granicach: $1-2\mu$ dla jamek okrągłych, oraz $ca\ 3\times 5\mu$ dla eliptycznych. Średnica por plazmodesmów wynosi $0,07-0,17\mu$. Własne pomiary wielkości jamek na badanym materiale zgodne są z wyżej podanymi. Średnicy por oczywiście nie dało się obliczyć. Komórki cebuli, mające bardzo małe pory dna jamkowego, nie są dogodnym obiektem do rozstrzygnięcia poprzez bezpośrednie obserwacje, w jaki sposób chromatyna przenika przez jamki. Jednakże analiza struktury wessanej chromatyny pozwala przypuszczać, że są dwa różne sposoby przenikania jej przez jamki. W większości przypadków ta część jądra, która została przemieszczona do innej komórki, tworzy zbitą jednorodną masę (tabl. I, fot. 3; tabl. III, fot. 3, 4; tabl. IV, fot. 1-6), co wskazywałoby na wessanie jej przez submikroskopowe pory plazmodesmów. Czasem jednak chromatyna po przejściu przez jamki zachowuje swoją strukturę (tabl. I, fot. 2). W takich wypadkach jądra są prawdopodobnie wciągane poprzez większe otwory w zerwanej błonie dna jamki.

Następnym z kolei zagadnieniem, nasuwającym się przy analizie cytomiksji, obok mechanizmu tego zjawiska, jest żywotność komórek o zwiększonej i zmniejszonej ilości chromatyny.

We wstępie pracy przedstawiono poglądy niektórych badaczy na żywotność komórek macierzystych pyłku oddających lub przyjmujących substancję jądrową. Zagadnienie to nie zostało definitywnie rozstrzygnięte. Różne są również opinie na temat żywotności komórek skórki i komórek korzenia, w których wystąpiła cytomiksja. Miehe twierdzi, że komórki

skórki z jądrami przechodzącymi zamierają bardzo szybko. Także Gaudan badając cytomiksję w komórkach korzenia stwierdza, że komórki te są martwe. Inny pogląd reprezentuje Su-Süan. Twierdzi on, że wędrówka jąder jest normalnym zjawiskiem zachodzącym w komórkach żywych, w normalnie rozwijających się organach rośliny. Sądzi on, że dodatkowa chromatyna może łączyć się z jądrem komórki, do której została przemieszczona. Tylko bardzo ogólnikowo wspomina o zmianach i depresjach w komórce, wywołanych wędrówką jąder, nie przypisując im jednak istotniejszego znaczenia.

Badania moje, prowadzone na takim samym materiale, na jakim pracował Su-Süan, prowadzą do zgoła przeciwnych wniosków. Wyniki obserwacji komórek w kontraście fazowym i w ciemnym polu, zastosowanie barwienia witalnego i plazmolizy pozwala stwierdzić, że komórki, z których jądra zostały przemieszczone, są martwe lub zamierające. Komórki, do których jądro jest przesuwane, są zawsze silnie uszkodzone, często zamierające lub także martwe. Przenikanie jąder zachodzi prawdopodobnie w żywych jeszcze komórkach, ale jego następstwem jest śmierć komórek, przynajmniej tych, z których jądra są przemieszczane.

W świetle tych obserwacji uważam za nieprawdopodobne przypuszczenia Levitsky'ego i Kattermanna o możliwości powstawania poliploidów drogą cytomiksji w komórkach macierzystych pyłku.

Cytomiksji w komórkach macierzystych pyłku nie badałam. Na podstawie danych z literatury wiadomo, że cytomiksja w komórkach macierzystych pyłku wywoływana jest uszkodzeniami mechanicznymi oraz że w zasadzie ma taki sam charakter, jak w tkankach somatycznych. Można więc oczekiwać, że mechanizm jej i następstwa będą takie same, jak w komórkach skórki i korzenia. Zakładając, że w obu wypadkach istnieją takie same bezpośrednie przyczyny cytomiksji, tj. nagle różnice w ciśnieniu hydrostatycznym, przypuszczam, że różnice te w pylnikach wywoływane są przez nagłe zwolnienie naturalnego stanu rozprężenia w zwartej jeszcze tkance komórek macierzystych pyłku. W skórce i w korzeniu przyczyną tych różnic jest lokalne rozprężenie, powstające przy zrywaniu skórki lub zgniataniu korzenia.

Hipotezę tę zamierzam sprawdzić w dalszych eksperymentalnych badaniach cytomiksji.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań wyciągnąć można następujące wnioski:

1. Termin „cytomiksja” stosować należy do wszystkich tkanek,

określając nim przenikanie chromatyny do sąsiedniej komórki poprzez jamki w ścianach komórkowych, zostawiając określenie „traumatotaktyczna reakcja jąder“ jedynie dla odwracalnych przemieszczeń jąder wewnątrz komórek.

2. Zjawisko cytomiksji można wywołać w zewnętrznej skórce łusek cebuli, w skórce liścia i w tkankach wierzchołka korzenia przez zabiegi mechaniczne, powodujące nagłe różnice w stanie rozciągnięcia mechanicznego komórek (nagle ściąganie skórki pincetą, gniecie korzenia aż do pęknięcia). Stan maksymalnego rozciągnięcia osiągany jest w miejscach szczególnie mocnego przytwierdzenia komórek skórki do warstw subepidermalnych w liściu lub w miejscach pęknięcia korzenia.

3. Na ściągniętej skórce łusek cebuli figury cytomiktyczne są zjawiskiem sporadycznym; występują najczęściej przy brzegach płatka skórki. W skórce liścia cytomiksja jest zjawiskiem bardzo częstym i występuje na całej powierzchni skrawka. W zgniecionym korzeniu cytomiksja występuje wokół każdej szczeliny, powstałej w wyniku rozerwania tkanki pod wpływem ucisku.

W ściągniętej skórce przenikanie jąder jest pozornie bezkierunkowe, w korzeniu — skierowane do szczelin.

4. Cytomiksja jest zjawiskiem błyskawicznym.

Jądra przenikają do sąsiedniej komórki poprzez jamki w ścianach komórkowych. Wydaje się, że przemieszczanie to odbywa się zarówno przez pory plazmodesmów, jak i przez większe otwory powstałe przez rozerwanie błony zamykającej jamkę.

5. Do sąsiednich komórek mogą przenikać mniejsze lub większe części jąder, przy czym jąderka nie są przemieszczane.

Cytomiksji podlegają zarówno jądra spoczynkowe, jak i jądra we wszystkich stadiach mitozy (przemieszczanie chromosomów).

6. Chromatyna, po przeniknięciu przez jamkę, tworzy zwykle zbitą, jednorodną masę, czasem jednak zachowuje właściwą dla jądra komórkowego strukturę. Wydaje się, że struktura przemieszczonej chromatyny jest związana z drogą jej przenikania. Po przeciśnięciu przez małe otwory plazmodesmów chromatyna staje się jednorodna i zbita, przeciskając się zaś przez większe otwory jamek — może zachować wyjściową strukturę.

7. Obserwacje kształtu jąder, konfiguracji i układu chromatyny oraz innych składników komórkowych pozwalają przypuszczać, że przemieszczanie jąder jest wywołane przez siły ssące, a nie tłoczące.

8. Komórki pozbawione części chromatyny są zamierające lub martwe, zaś komórki, do których chromatyna została przemieszczona, są bardzo silnie zdegenerowane, często zamierające lub martwe.

9. Rozważania nad mechanizmem cytomiksji skłaniają do przyjęcia hipotezy opartej na działaniu ciśnienia hydrostatycznego.

Zjawisko cytomiksji polega prawdopodobnie na wessaniu jądra poprzez otwory w jamkach do sąsiedniej komórki, mającej znacznie niższe ciśnienie hydrostatyczne. Nagle różnice w wewnętrznym ciśnieniu hydrostatycznym sąsiednich komórek powstają wskutek nierównomiernego rozciągnięcia mechanicznego tych komórek, przy odrywaniu skórki lub gniecieniu korzenia. Maksymalny stan rozprężenia hydrostatycznego powstaje w miejscach maksymalnego rozciągnięcia mechanicznego komórek, tj. w miejscach szczególnie mocnego przytwierdzenia komórek skórki lub w miejscach pęknięcia tkanek korzenia. Cytomiksja w tkankach rozgniatanego korzenia lub zrywanej pincetą skórki byłaby więc następstwem eksperymentalnie wywołanego rozprężenia.

Cytomiksja w komórkach macierzystych pyłku jest prawdopodobnie następstwem nagłych, lokalnych zaburzeń naturalnej równowagi hydrostatycznej w zwartej jeszcze tkance komórek macierzystych pyłku.

Praca niniejsza została wykonana w Katedrze Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego. Panu profesorowi dr H. Teleżyńskiemu wyrażam podziękowanie za kierownictwo pracy i cenne wskazówki udzielane w czasie prowadzenia badań. Profesorowi dr J. Szulecie składam także serdeczne podziękowanie za cenne rady.

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Warszawskiego

(Wpłynęło dn. 9.10.1959 r.)

SUMMARY

There are numerous reports on the displacement of nuclei within one cell or through the cell-wall from one cell to another. Such displacements occur after mechanical injuries of the tissue.

The reaction of cell nuclei to injuries of the tissue may be twofold:

- 1) intra-cellular reversible displacements of the nuclei in the direction of the injury, described for the first time by T a n g l (1885),
- 2) displacements of nuclei through the cell-wall to neighbouring cells, described for the first time by M i e h e (1901) in the epidermis peeled with forceps from leaves of *Allium cepa* and *Iris*.

The latter type of response by nuclei to mechanical injury is especially frequent in pollen mother cells. The process of extrusion of chromatin from the nucleus of one pollen mother cell into the cytoplasm of the adjacent mother cell, observed for the first time by K ö r n i c k e (1901), was called by G a t e s (1911) cytomixis.

The term cytomixis has been applied so far only to pollen mother cells, whereas both types of nuclear reactions in somatic tissues, which are essentially different in their character, have been defined as traumatotactic reactions. In the opinion of this author the term cytomixis

should be applied to all tissues and should refer to the penetration of the chromatin from one cell to neighbouring cell through the pits in cell-walls. On the other hand, the term traumatotactic nuclear reaction should be restricted only to reversible displacements of nuclei within one cell.

The aim of this investigation has been to search for an explanation of the causes and the mechanism of this unusual phenomenon and to investigate the manner in which chromatin penetrates through the cell-wall as well as the state of chromatin after it penetrated into a neighbouring cell. Moreover, the viability of cells with an increased and reduced amount of chromatin was also studied.

For experiments the epidermis of bulb scales, the epidermis of young leaves, and root tips of *Allium cepa* were used.

The outer epidermis of onion scales and of leaves was torn off with forceps by a sharp movement. Root tips were pressed till they burst between two slides and fixed immediately. The epidermis was examined in vivo and in fixed preparations (CrAF, acetocarmine), whereas only fixed root tips (CrAF) were studied. The isolated epidermis and thin sections of roots were stained by various methods (Feulgen reaction, gentian violet, Heidenhain's haematoxylin, Ehrlich's haematoxylin, acetocarmine).

The viability of epidermal cells was checked by phase contrast and dark field examinations, by in vivo staining, and by plasmolysis. The viability of root cells was controlled by plasmolysing them in 40% saccharose during 4 hours directly after crushing, fixing in CrAF, and examining the state of plasmolysis on microtome sections.

The conclusions to be drawn from the results of these experiments can be summarized as follows:

- 1) Cytomixis can be brought out in the outer epidermis of bulb scales, in the epidermis of leaves, and in the tissue of root tips by mechanical factors causing sudden differences in the state of mechanical strain in cells (the sudden tearing off of the epidermis or the crushing of root tips). The greatest strains arise where epidermal cells are most strongly attached to the subepidermal layer in leaves, or at the points where the tissue breaks in root tips.

- 2) On the peeled epidermis of onion scales cytomixis is observed only occasionally usually at the borders of a torn off flake. In the epidermis of leaves cytomixis is very frequent and occurs on the whole surface of the torn off flakes. In crushed roots cytomixis occurs along every crack in the tissue injured by crushing.

In the peeled epidermis the displacement of nuclei seems to take place in all directions, whereas in root tips it is directed towards the cracks.

- 3) Cytomixis is an instantaneous phenomenon. The nuclei penetrate to neighbouring cells through the pits in cell-walls. It seems that this displacement can take place both through the pores of the plasmodesmata as well as through larger perforations torn in the membrane closing the pits.

- 4) The part of a nucleus which penetrates into a neighbouring cell may be small or large, however, the nucleoli are not transferred. No instances of unquestionably whole nuclei penetrating a neighbouring cell have been observed.

Cytomixis affects both the resting nuclei and the dividing ones at all stages of mitosis (the displacement of chromosomes).

5) After penetrating a cell through the pits in the cell wall chromatin usually forms a compact homogeneous mass, but sometimes it retains the structure characteristic for cell nuclei. It seems that the structure of displaced chromatin is associated with the manner in which it penetrates into the cell. If it is forced through the small pores it is homogeneous and compact, but when it passes through larger perforations it can retain its original structure.

6) Observations of the shape of nuclei as well as of the configuration and the arrangement of chromatin seem to indicate that the displacement of chromatin is caused by suction forces not by pressure.

7) Cells from which chromatin is displaced die and the ones into which chromatin penetrates either die or are strongly injured.

8) Considerations on the mechanism of cytomixis seem to support the hypothesis that it is based on hydrostatic pressure.

Cytomixis probably consists in the sucking in of a nucleus through pores or large perforations in the pit membrane into a neighbouring cell where the hydrostatic pressure is much lower. The sudden differences of internal pressures between neighbouring cells are brought out by the unequal mechanical stretching of these cells when the epidermis is being torn off or the root tips crushed. The lowest pressure is at the places where the mechanical stretching of a cell is greatest, i.e. mainly where epidermal cells are most strongly attached or where root tissue breaks. Cytomixis in pollen mother cells is probably the result of sudden local disturbances of the natural hydrostatic pressure equilibrium in the still compact tissue of those cells.

It is the author's intention to check the above hypothesis in the course of future experimental investigations on the problem.

The experiments here reported were carried out at the Department of Plant Anatomy and Cytology of the Warsaw University. The author's most sincere gratitude is due to Professor H. Teleżyński for his kind guidance and help in the course of this investigation and to Professor J. Szuleta for his valuable advices.

LITERATURA

- Dufrénoy J. et Dusseau A., 1939, Connexions nucléaires entre cellules voisines, *Rev. de Cytol. et de Cytophysiologie Végét.* 3: 173—180.
- Gates R. R., 1911, Pollen formation in *Oenothera gigas*, *Ann. of Bot.* 25: 909—940.
- Gavaudan P., 1936, Sur les phénomènes de diapédèse nucléaire dans les cellules végétales, *C. R. Soc. Biol. France* 123: 889—891.
- Jungers V., 1930, Recherches sur les plasmodesmes chez les végétaux I, *La Cellule* 40: 7—82.
- Kattermann G., 1933, Ein Beitrag zur Frage der Dualität der Bestandteile des Bastardkernes, *Planta* 18: 751—785.
- Küster E., 1956, *Die Pflanzenzelle*, Jena, G. Fischer.

- Levitsky G. A., 1928, Experimentally induced translocation of chromosomes from one cell to another, Journ. Soc. Bot. Russie 13: 19—25.
- Levan A., 1941, Syncyte formation in the pollen-mother-cells of haploid *Phleum pratense*. Hereditas 27: 243—252.
- Loos W., 1931, Zur Kenntnis der Wundreaktionen des pflanzlichen Zellkerns. Protopl. 14: 331—340.
- Miehe H., 1901, Ueber Wanderungen des pflanzlichen Zellkerns, Flora 88: 105—142.
- Milovidov P., 1949, Physik und Chemie des Zellkerns. Protoplasma-Monographien, Bd. 20, Berlin-Nikolassee, Gebrüder Borntraeger.
- Müntzing A. und Prakken R., 1941, Chromosomal aberrations in rye populations, Hereditas 27: 273—308.
- Němec B., 1910, Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen, Berlin, Verlag Gebr. Borntraeger.
- Nestler A., 1898, Über die durch Wundreiz bewirkten Bewegungserscheinungen des Zellkerns und des Protoplasmas, Sitz. ber. Akad. Wiss. Wien. math.-naturw. Kl. 107: 708—730.
- Scott F. M., K. C. Hamner, E. Baker and E. Bowler, 1956, Electron microscope studies of cell wall growth in the onion root, Amer. Journ. Bot. 43: 313—324.
- Strugger S., 1949, Praktikum Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer-Verlag.
- Su-Süan W., 1955a, Predvaritel'noe soobščenje o javlenii peredviženija jader čerez otverstija oboločki rastitel'noj kletki, Acta. Bot. Sin. 4: 91—100.
- Su-Süan W., 1955b, Vopros o javlenii peredviženija jader čerez otverstija oboločki rastitel'noj kletki, Acta. Bot. Sin. 4: 233—243.
- Tischler G., 1951, Allgemeine Pflanzenkaryologie. Hand. der Pflanzenanatomie, K. Linsbauer, Berlin-Nikolassee, Gebrüder Borntraeger.

Tablica I

Fragmenty zewnętrznej skórki z łusek cebuli *Allium cepa*

- Fot. 1. Widoczny fragment jądra **przeciśnięty** przez jamkę. CrAF, hemat. żel.
(Haidenheina)
- Fot. 2. Widoczne przeciśnięcia się jądra przez dwie jamki. Acetokarmin
- Fot. 3. Część jądra przedostała się do sąsiedniej komórki przez liczne jamki.
CrAF, hemat. żel.
- Fot. 4. Wynik barwienia czerwienią obojętną: w żywych komórkach zabarwiona
wakuola, w martwych — jądra (także jądra przechodzące)
- Fot. 5. Fragment skórki po splazmolizowaniu. Komórki z jądrami przechodzący-
mi nie zostały splazmolizowane

Wszystkie mikrofotografie reprodukowane są w trzech powiększeniach: ca 500×, ca 1000×,
ca 1500×.

Plate I

Fragments of outer bulb scales epidermis of *Allium cepa*

- Fig. 1. Note the fragment of nucleus forced through a pit. CrAF, Heidenhain's
haematoxylin
- Fig. 2. A nucleus forced through two pits into a cell. Acetocarmine
- Fig. 3. Part of a nucleus which penetrated a neighbouring cell through several
pits. CrAF, Heidenhain's haematoxylin
- Fig. 4. Results of staining with neutral red: vacuoles are stained in living cells
and nuclei (also displaced nuclei) in dead ones
- Fig. 5. Fragment of epidermis after plasmolysis. Cells with displacing nuclei are
not plasmolysed

* All the microphotographs are magnified ca. 500, 1000, or 1500 times.

TABLICA I — PLATE I

Tablica II

Fot. 1 i 2. Fragmenty skórki z młodego liścia. Widoczne liczne jądra przechodzące. CrAF, hemat. Ehrlicha

Fot. 3 i 4. Zgnieciony korzeń cebuli. Przemieszczenie jąder w kierunku szczeliny. CrAF, fiolet gencjanowy

Plate II

Fig. 1 and 2. Fragments of epidermis from young leaf. Note the numerous displacing nuclei. CrAF, Ehrlich's haematoxylin

Fig. 3 and 4. Crushed root of onion. The nuclei are displacing towards the break. CrAF, gentian violet

TABLICA II — PLATE II

Tablica III

Fragmenty skrawków mikrotomowych zgniecionego korzenia *Allium cepa*, CrAF, fiolet gencjanowy i zielen jasna

Fot. 1 i 2. Widoczna substancja jądrowa (chromatyna) tkwiąca w jamkach (widok z góry)

Fot. 3. Część jądra przemieszczona do przyległej komórki

Fot. 4. Do jednej komórki przecięśnięte zostały części jąder z dwu różnych komórek

Fot. 5. Fragmenty jednego jądra przemieszczone do dwu różnych komórek

Plate III

Microtome sections fragments of crushed root of *Allium cepa*. CrAF, gentian violet, and light green

Fig. 1 and 2. Note the nuclear substance (chromatin) caught in the pits (top view)

Fig. 3. Part of nucleus displaced into a neighbouring cell

Fig. 4. Parts of nuclei from two neighbouring cells displaced to one cell

Fig. 5. Fragments of one nucleus displaced to two cells

TABLICA III — PLATE III

Tablica IV

Fragment skrawków mikrotomowych zgniecionego korzenia *Allium cepa*. Fot. 1—5 utrwalane w CrAF, barwione: fiolet gencjanowy i zieleń jasna

Fot. 1 i 2. Do jednej komórki przeciśnięte zostały części jąder z dwu różnych komórek. Jąderka nie ulegają przemieszczeniu

Fot. 3. Jamki w ścianie komórkowej w przekroju optycznym

Fot. 4 i 5. Deformacje struktury jądra podlegającego cytomiksji. Jednorodna struktura części przeciśniętych

Fot. 6. Jak wyżej. Reakcja Feulgena

Plate IV

Microtome sections fragments of crushed root of *Allium cepa*. CrAF, gentian violet, and light green

Fig. 1 and 2. Fragments of nuclei from two cells displaced to one cell. The nucleoli are not displaced

Fig. 3. Optical section of pits in cell-wall

Fig. 4 and 5. Structural deformation of a nucleus undergoing cytomixy. Note the homogeneous structure of that part of the nucleus which penetrated the neighbouring cell

Fig. 6. As above. Feulgen reaction

TABLICA IV — PLATE IV

Tablica V

Fragmenty skrawków mikrotomowych zgnieczonego korzenia *Allium cepa*. CrAF, fiolet gencjanowy i zielen jasna

Fot 1 i 2. Zniekształcenia struktury jąder ulegających cytomiksji

Fot. 3 i 4. Skrawek z korzenia splazmolizowanego po zgnieceniu. Komórki oddające lub przyjmujące chromatynę są niesplazmolizowane

Plate V

Microtome sections fragments of crushed root of *Allium cepa*. CrAF, gentian violet, and light green

Fig. 1 and 2. Deformed structures of nuclei undergoing cytomixis

Fig. 3 and 4. Section of a root plasmolysed after crushing. Cells giving up or accepting chromatin are not plasmolysed

TABLICA V — PLATE V

Tablica VI

Fragmety skrawków mikrotomowych zgnieczonego korzenia *Allium cepa*. CrAF, fiolet gencjanowy i zieleń jasna

Fot. 1. Przemieszczanie chromosomów w profazie (u góry), prometafazie (u dołu)

Fot. 2. Przemieszczanie chromosomów w anafazie

Fot. 3 i 4. Przemieszczanie chromosomów w telofazie. Fragmoplast nie został zniekształcony

Fot. 5. Przemieszczanie chromosomów w późnej telofazie

Plate VI

Microtome sections fragments of crushed root of *Allium cepa*. CrAF, gentian violet, and light green

Fig. 1. Displacement of chromosomes at prophase (above) and at prometaphase (below)

Fig. 2. Displacement of chromosomes at anaphase

Fig. 3 and 4. Displacement of chromosomes at telophase. The phragmoplast is not deformed

Fig. 5. Displacement of chromosomes in late telephase

TABLICA VI — PLATE VI