X-ciała u *Althaea rosea* (L.) Cav.

X-bodies in Althaea rosea (L.) Cav.

A. WAŁEK-CZERNECKA i M. KWIATKOWSKA

W toku pracy nad elajoplastami znaleziono w tkankach szeregu roślin utwory podobne do tzw. x-ciał, o których wiadomo, że towarzyszą pewnym wirozom. Występowały one w komórkach zawierających elajoplasty. W pewnych stadiach podobieństwo pomiędzy utworami tych dwóch kategorii było tak uderzające, że dopiero testy cytochemiczne pozwalały na dokładne ich rozróżnienie. To było przyczyną, że zajęliśmy się bliżej x-ciałami u roślin posiadających elajoplasty. W pracy niniejszej przedstawione są wyniki obserwacji x-ciał u *Althaea rosea* (L.) Cav.

O ile nam wiadomo, x-ciała nie były dotąd obserwowane w rodzinie *Malvaceae*. Inkluzje w rurkach sitowych u *Abutilon Thompsoni* porażonego chlorozą infekcyjną, które opisuje Klebahn (1928), mają inną postać: są to nici skręcone śrubowato, długości 10—24 mikr., szerokości 1 mikr. Klebahn zaznacza, że nie są one przyczyną chlorozy.

Identyfikacja wirusa czy wirusów, powodujących zjawianie się x-ciał w tkankach *A. rosea*, nie leżała na razie w naszych zadaniach. W materiale, którym rozporządzano, inkluzje występowały w cytoplazmie wszystkich oglądanych okazów. Wśród nich znalazły się rośliny pozornie zdrowe. U osobników wyraźnie dotkniętych wirozą barwa liści była zmieniona, niejednolicie zielona. Charakter zmian w liściach przypomina symptomy choroby wirusowej malw Stockrosen-Mosaik (Hollyhock-mosaic) stwierdzonej w Anglii (Klinkowski 1958, Smith 1957), a mianowicie pstrość liści, niekiedy przejaśnienie żyłek. Często jednak żółtzielone plamy na liściach były raczej drobne, okrągłe. Zdarzały się również liście, zwłaszcza odroślowe, a także liście górne w kłosokształtnych kwiatostanach, różniące się wielkością i kształtem od liści typowych i wykazujące pewne zmiany plastyczne w postaci pomarszczonej powierzchni

lub lokalnych wzdęć pęcherzykowatych. Liście te nie miały płam, a barwy były ciemnozielonej.

Jak wiadomo, *Althaea rosea* figuruje również na listach gospodarzy innej choroby wirusowej, która jest rozpowszechniona w Europie. Jest to tzw. infekcyjna pstrość *Abutilonu* [syn. *Abutilon infections veriegation*, *Abutilon virus* (Baur) Smith., Infektiöse Buntblättrigkeit, *Abutilon* mozaic itp. (Klinkowski l. c., Smith l. c.)]. Oznaki zewnętrzne tej wirozy są inne niż zaobserwowane u *A. rosea*.

Należy jednak pamiętać, że wg Klinkowskiego obraz tej choroby u różnych gatunków *Malvaceae* bywa zmienny, co tłumaczy on występowaniem u tych roślin chlorozy A i chlorozy B, bądź jednocześnie, bądź osobno. Wśród gospodarzy wirozy wymienia *Althaea rosea*.

W literaturze polskiej jedyną wzmiankę o wirozach u *Malvaceae* w Polsce znaleziono w publikacji Kochmana i Stachyry (1958), którzy podają, że infekcyjna pstrość *Abutilonu* notowana była często na *Abutilon striatum* i raz jeden pod Warszawą u *Kitaibelia vitifolia* Willd.

MATERIAŁY I METODY

Materiał badany pochodził przeważnie z ogrodów łódzkich (ogród przy Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin U. Ł., Ogród Botaniczny, Szkolny Ogród Miejski). Część roślin przywieziona była spoza Łodzi z ogródków wiejskich.

Badania przeprowadzono na skórcie ściąganej lub ścinanej z powierzchni organu. Oglądano skrawki w wodzie wodociągowej lub w roztworze cukru. Stosowano barwienia przyżyciowe, postwitalne oraz szereg testów cytochemicznych.

Rozporządzano również dużym materiałem utrwalonym dla badań nad elajoplastami. Materiał ten był utrwalony w płynie Nawaszina i Lewickiego, metodą Mevesa i Regaud, barwiony hematoksyliną żelazową Heidenhaina i kwaśną fuksyną (wg Altmanna). Stosowano metodę selektywnego barwienia wirusów Balda w modyfikacji Rawlinsa (1957), reakcję Bracheta (barwienie zielenią metylową i pironiną, kontrola — trawienie rybonukleazą) dla wykrycia RNA. Białka wykrywano metodą bromofenolową (wg Mazia i współpr. 1953). Charakter tłuszczów ustalano stosując mieszaninę w równych ilościach Sudanu III i IV w alk. 70% i błękit Nilu po utrwalaczu formalinowo-wapniowym Bakera oraz Sudan czarny B. wg McManusa (Pearse 1957). Kontrola: ekstrakcja pirydyną po utrwaleniu w rozcieńczonym płynie Bouina.

Posługiwano się mikroskopem Zeissa typu „Lumipan“ z urządzeniem do kontrastu fazowego.

OBSERWACJE

X-ciała u *Althaea* są to nieforemne masy wyraźnie odcinające się na tle jaśniejszej cytoplazmy. Granice ciała nie zarysowują się ostro, nie ma błony granicznej. Struktura ciał jest siateczkowata, utworzona z delikatnych nici. Zakończenia poszczególnych nici mogą wystawać poza obręb ciała. Wewnątrz leżą ziarenka różnej wielkości i błyszczące krople. Niekiedy występują drobne kryształy dwójłomne izodiametryczne lub podługowate (Tabl. I, fig. 1, 2, 3).

Przeważnie w komórce występuje jedno ciało, które często — zwłaszcza w kieliszku i w przylistkach — leży przy jądrze. Nie jest to jednak regułą. W komórkach płatków zdarzają się dwa, a nawet więcej ciał. Wielkość x-ciał jest różna. Ich średnice wahały się od 50 μ do 70 μ . Leżą w cytoplazmie. Podczas cyklozy przemieszczają się ruchem powolnym w strumieniach cytoplazmy. Granicą niekiedy bezpośrednio z wodniczkiem wkraczając nawet na jego teren: kiedy w wodniczku zabarwionym błękitem metylenowym lub czerwienią obojętną następowało odmieszanie w postaci ciemniej zabarwionych kul, osadzały się te ostatnie na powierzchni ciała.

X-ciała występowały stale w kieliszku, działkach kielicha, płatkach korony, w przylistkach. Znajdowano je również w ogonkach i blaszkach liści plamistych, w blaszkach częściej w skórce dolnej nad nerwem. Jesienią w październiku skonstatowano obecność x-ciał w górnych liściach, z kątów których wyrastały kwiaty. Liście te były zielone wielkości 1—2 cm. Zdarzały się również x-ciała w zniekształconych, ale nie plamistych liściach przyziemnych — odroślowych.

X-ciała u *Althaea* wykazują duże podobieństwo do analogicznych utworów, powstających przy innych wirozach. Są odporne na działanie różnych odczynników (bardziej trwale niż elajoplasty w tych samych komórkach). Nie niszczył ich alkohol, aceton, eter, ksylen, kwas octowy lodowaty, kwas pikrynowy, 1n HCl itp. Zachowywały się często w postaci zupełnie nie zmienionej po działaniu różnych utrwalaczy, wymienionych w poprzednim ustępie.

O charakterze białkowym ciał świadczy dodatni wynik reakcji bro-mofenolowej (wg Ma z i a i innych), żółto-brunatne zabarwienie po jodzie w jodku potasu, żółte po kwasie pikrynowym. Zastosowanie metody Balda w modyfikacji Rawlinsa, oraz metody Bracheta (barwienie błękitem metylenowym i pironiną sprawdzone testem trawienia rybonukleazą) pozwoliło na stwierdzenie w x-ciałach obecności kwasu rybonukleinowego.

Barwią się w sposób charakterystyczny dla inkluzji typu wirusowego barwnikami zasadowymi i kwaśnymi (Miličić i Bralić 1958). Wszyst-

kie barwniki użyte były w dużym rozcieńczeniu, dodawane do preparatu w wodzie wodociągowej wprost pod szkiełko przykrywkowe. Błękit metylenowy, błękit krezylowy, błękit Nilu, czerwień obojętna, błękit trypanowy i błękit metylowy barwiły x-ciała przyżyciowo (w komórkach występowała cykloza), fiolet Dahlia i zieleń metylowa postwitalnie. Zabarwienie było często wybiórcze (fiolet Dahlia). Kiedy barwiły się i inne części komórki, zabarwienie x-ciał następowało najpierw, wcześniej niż wodniczków.

Czerwień rutenowa w roztworze wodnym z dodatkiem i bez dodatku amoniaku nie dała zabarwienia. Czasem barwiły się nieliczne kropelki wewnątrz x-ciał, co świadczy, że i tutaj znalazły się śluzki pektynowe występujące w komórkach *Althaea rosea*.

Przebieg barwienia był zawsze jednakowy. Najpierw — prawie natychmiast — i najintensywniej barwiły się drobne kuleczki wewnątrz ciała i kuleczki leżące na zakończeniach nici poza ciałem. Siateczka z początku wykazywała nikiłe zabarwienie, które stopniowo stawało się coraz mocniejsze. W żywej komórce zabarwienie czerwienią obojętną po jakimś czasie znikało.

Drobne kryształki leżące na terenie x-ciał barwiły się intensywnie wszystkimi wyżej wymienionymi barwnikami.

Objaśnienie tablicy I

Table I. Explanation

- Fig. 1 — x-ciało w skórze kieliszka *A. rosea*. Materiał utrwalony
x-body in the epidermis of the epicalyx. Fixed material
- Fig. 2 — x-ciało w skórze działki kielicha. Preparat w wodzie
x-body in the epidermis of the petal. Fixed material
- Fig. 3 — x-ciało w skórze płatk. Materiał utrwalony
x-body in the epidermis of the petal. Fixed material
- Fig. 4 — Zmienione x-ciało o charakterze gąbczastym w skórze płatk. Materiał utrwalony
Changed x sponge-like x-body in the epidermis of the petal. Fixed material
- Fig. 5 i 6 — Kryształiczne formy powstałe z kulistych x-ciał. Górna skórka liścia zniekształconego pod pąkiem. Materiał utrwalony
Crystalline form derived from globular x-bodies. Upper epidermis of the deformed leaf below the bud. Fixed material
- Fig. 7 — Kuliste x-ciało w górnej skórze liścia zniekształconego pod pąkiem, barwione czerwienią rutenową po uprzednim zadziałaniu alkoholem
Globular x-body from upper epidermis of the deformed leaf below the bud, stained with ruthenium red after metanol treatment.
- Fig. 8 — Kuliste x-ciało w górnej skórze liścia plamistego. Żywa komórka
Globular x-body from the upper epidermis of spotted leaf. Living cell
- Fig. 9, 10, 11, 12, 13 — Ten sam liść, powstawanie kryształów w kulistych x-ciałach
The same leaf. The formation of crystalline forms in the spherical bodies.

Tablica I -- Table I

Podobne obrazy zabarwienia x-ciał otrzymano na materiale utrwalonym. W skrawkach utrwalonych płynami Mevesa, Regaud, Lewickiego, Nawaszina ciała te barwiły się intensywnie kwaśną fuksyną; po zastosowaniu metody McManusa — czerwienią obojętną, którą podbarwiane były skrawki; po utrwalaczu formalinowo-wapniowym Bakera i po płynie Bouina — błękitem Nilu (0,02% i 0,1%). Jak już wspomniano, barwiły się również pironiną (metoda Bracheta wykrywania KRN) i metodą Balda w modyfikacji Rawlinsa.

Hematoksylina żelazowa Heidenhaina dawała bardzo słabe zabarwienie.

We wszystkich przypadkach zabarwione były w x-ciałach utwory granularne tego samego typu, o średnicy 0,6—0,8 μ . Były to więc odpowiedniki tych drobnych ziarenek, których zlewanie się w x-ciała opisała Sheffield (1931). Jednocześnie, choć mniej intensywnie, barwiły się nici siateczki. Należy więc przypuszczać, że w tych właśnie składnikach strukturalnych x-ciał, tzn. we wspomnianych utworach granularnych i w niciach siateczki, skupiony jest materiał wirusowy.

Inną kategorię utworów kulistych w x-ciałach stanowią tłuszcze. U *A. rosea*, podobnie jak u innych roślin, występowały w x-ciałach tłuszcze obojętne i fosfolipidy. Fosfolipidy były liczniejsze i tworzyły drobniejsze ziarnistości. Krople tłuszczów obojętnych mogły mieć średnicę 1 mikrona i więcej. W stadium częściowego rozpuszczenia miały postać pęcherzyków z wybarwioną obwódką.

Ostatni wreszcie typ ziarnistości, dość nielicznych w x-ciałach, należy zakwalifikować jako sferozomy. Przemawiają za tym ich własności optyczne, małe rozmiary (0,3—0,4 mikr.) i trwałość tych utworów (Perner 1955). Były one widoczne po wszystkich utrwalaczach, w nie zmienionej postaci i wielkości. Nie są to lipoidy, o czym świadczy fakt, że nie znikwały po ekstrakcji tłuszczów pirydyną w preparatach utrwalonych płynem Bouina.

Elementów chondriomu, o których wspominają różni autorzy (Sheffield 1931, 1941 Bawden 1950 itp.), nie znaleziono w x-ciałach *A. rosea*.

Odminną postać inkluzji w cytoplazmie obserwowano jesienią, w październiku, w liściach z wyraźnymi objawami chorobowymi. W skrawkach, sporządzonych ze skórki górnej nad plamami, rzucały się w oczy kuliste utwory o charakterze żelu, błyszczące, szkliste, czasem lekko uwarstwione, z jedną lub kilku wodniczkami (Tab. I, fig. 8, ryc. 1 a, b, c, f).

Ciała te na pierwszy rzut oka sprawiały wrażenie kul tłuszczu o bardzo gęstej konsystencji. Średnice ich wynosiły od 6—10 μ . Występują nie we wszystkich skrawkach. W tych samych liściach, obok kulistych postaci

x-ciał, znajdowano x-ciała zwykle, siatkowate. Tylko te ostatnie tworzyły się w skórze dolnej nad nerwem. Podobne, kuliste x-ciała widoczne były z reguły w drobnych, zniekształconych liściach w obrębie kwiatostanu, jak również i w później powstałych, chorobliwie zniekształconych liściach odroślowych.

Kuliste x-ciała są mniej stabilne. Znikają po utrwaleniu w płynie Carnoy i Bouina. Po utrwaleniu w nasyconym roztworze kwasu pikrynowego czasem pozostawała z nich cienka warstewka obwodowa. W formalinie pęczniały. Na inne barwniki i odczynniki reagowanie ciał kulistych

Ryc. 1. X-ciała u *Althaea rosea* (L.) Cav. Fig.: a, b, c, f — kuliste x-ciała z wodniczkami w komórkach skórki z liści z objawami chorobowymi. Preparat w wodzie.

Fig.: d, e — rozprowadanie się x-ciał i powstawanie form krystalicznych

Fig.: a, b, c, f — Spherical x-bodies with vacuoles in the epidermal cells from the leaves showing disease symptoms (Living, unstained); fig.: d, e — Desintegration of the x-bodies and the formation of crystalline forms (Living, unstained)

było podobne jak x-ciał siatkowatych. Nie rozpuszczały się w alkoholu absolutnym, eterze, acetonie. Na ogół nie barwił ich Sudan III i IV, Sudan czarny B (w alk. 70%), kwas osmowy 2%. Jednakże często wokół nie zabarwionych kul zaznaczała się obwódka — różowa po Sudanach czerwonych, szara po kwasie osmowym i Sudanie czarnym. Ta zewnętrzna otoczka, o charakterze tłuszczowym, przypuszczalnie sprawiła, że barwniki — błękit metylenowy i trypanowy — przenikały trudniej i słabiej barwiły x-ciała. Natychmiastowe zabarwienie następuje po uprzednim umieszczeniu skrawków w alkoholu absolutnym. W tych warunkach barwiła kule i czerwień rutenowa. Zabarwienie tutaj nie jest jednolite. Strefy zabarwione silniej występują obok barwiących się słabiej (Tabl. I, fig. 7). Pod wpływem jodu w jodku potasu barwi się tylko warstwa obwodowa kul. Na niejednorodny rozkład substancji wchodzących w skład kulistych x-ciał wskazują również wyniki otrzymane po zastosowaniu metody Balda.

Zabarwienie purpurowe otrzymuje się tylko w pewnych strefach kuli. Barwione błękitem bromofenolu kule stają się bladoniebieskie, z odcieniem ciemniejszym na obwodzie.

Podobnie jak inne analogiczne inkluzje, kuliste x-ciała przechodziły w formy krystaliczne. Zjawisko to było odwracalne. Obserwacje przeprowadzono na skórcie małych liści w górnej części kwiatostanu. Prawie każda komórka górnej skórki zawierała kuliste x-ciało. W tych warunkach ułatwione było zidentyfikowanie inkluzji w cytoplazmie nawet wtedy, kiedy ich pierwotny charakter ulegał zmianie. W preparatach ze skórki, oglądanych w wodzie, obserwowano stopniową deformację kul, które rozlewały się, tworzyły uwypuklenia wydłużone palczasto, przypominające figury myelinowe. Te występy po krótkim czasie rozpadały się na drobne kryształy dwójłomne, wydłużone i izodiametryczne (Tabl. I, fig. 9—13; ryc. 1d, e). Kryształy powstawały i w środkowej części spłaszczonych teraz kul.

Rycina 1 przedstawia różne stadia rozpadania się utworów kulistych i ich przekształcania się w kryształy. Opisane transformacje zachodziły w żywych komórkach i były, jak wspomniano, odwracalne: z rozczłonkowanych już ciał powstawały z powrotem błyszczące kule.

Na materiale z tych liści, utrwalonych metodą McManusa i barwionych błękitem Nilu, widoczne były, oprócz wszystkich opisanych powyżej obrazów, także płytki heksagonalne i inkluzje w postaci słupków heksagonalnych, w które przekształciły się kule (Tabl. I, fig. 5, 6). Wszystkie te formy barwił błękit Nilu na niebiesko z odcieniem zielonym.

W żywych komórkach skórki liści, wykazujących plamistość mozaikową, można było obserwować powstawanie form krystalicznych również z x-ciał o strukturze siatkowato ziarnistej (ryc. 2). X-ciała były tutaj stosunkowo małe z wyraźnym nitkowatym zrębem. Zawierały, jak zwykle, krople i ziarenka różnej wielkości, a także drobne kryształy. W pewnych momentach tworzyły się w nich raptownie utwory igiełkowate, lub wrzecionowate różnej długości. Pojawiały się i niekiedy równie prędko znikwały. Procesy te zachodziły tak szybko, że niemożliwe było zaobserwowanie poszczególnych etapów, o których pisze A m e l u n x e n (1958).

Często powstawanie form krystalicznych poprzedzało zlanie się drobnych kuleczek w większe krople. Krople te stopniowo zwiększały rozmiary, koło nich gromadziły się mniejsze kuleczki zawieszone na nitkach. W niektórych ciałach z siatki pozostały tylko ślady. Ziarnistych utworów było mało. Jako jedyna pozostałość innych x-ciał widoczne były grupy złożone z kilkunastu drobnych kryształów (ryc. 2, fig. f, g). W pewnych komórkach z siatkowatych x-ciał tworzyły się x-ciała kuliste opisane powyżej.

Analogiczne, stopniowe powstawanie większych agregatów w obrębie x-ciała, aż do tworzenia się płytek heksagonalnych, któremu towarzyszyło równoległe zanikanie elementów strukturalnych x-ciała, zaobserwowano i na skrawkach utrwalonych (ryc. 2, fig. a, g, i.).

W komórkach skórki wszystkich badanych organów występowały sporadycznie — niezależnie od x-ciał — inkluzje wirusowe, wykazujące wielką różnorodność kształtów. Były to utwory włókninkowate, niciowate, pasemkowate, proste i zgięte, niekiedy zwinięte lub splecione ze

Ryc. 2. Powstawanie różnych form krystalicznych z x-ciał o strukturze siateczkowo-ziarnistej. Obserwacje na materiale żywym, z wyjątkiem fig. f oraz fig. i

The formation of different crystalline and paracrystalline forms from the x-bodies with granular-reticular structure. (Living, unstained) except f and i (Bouin, pyronine Nile sulfate staining)

sobą, igły, czasem długości całej komórki, kiedy indziej drobne „spike“ kryształły itp. Bardzo liczne kryształki dwójłomne wypełniały martwe komórki, które znajdowały się niekiedy w liściach. Wszystkie te inkluzje barwiły się barwnikami zasadowymi i kwaśnymi. Nie badano ich bliżej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Inkluzje znalezione w cytoplazmie komórki skórki u *Althaea rosea* zaliczono do tej kategorii utworów towarzyszących wirozom, które Goldstein nazwała x-ciałami (Goldstein 1927). Zrobiono to ze względu na charakter morfologiczny i cytochemiczny, a także z uwagi na cykl przemian, jakim podlegają.

Swoją postacią przypominają one najbardziej analogiczne ciała opisane przez Kassanisa i Sheffield jako bezkształtne masy o budowie luźnej ziarnistej u szeregu tytoniów porażonych „severe etch virus” (por. fig. 1, Tabl. XXXIX w pracy Kassanisa z 1939 r. i fig. 6. T. 1 oraz fig. 3 i 4 T. III w pracy Sheffield z 1941 r.). Wykazują również pewne podobieństwo do inkluzji cytoplazmatycznych towarzyszących innej wirozie tytoniów, a mianowicie plamistości pierścieniowej (Woods 1933, fig. 2 F i K).

Jednakże Sheffield uważa wspomniane utwory bądź za młode formy, które potem staną się zwarte, kuliste lub owalne, bądź za późne stadia rozwoju poprzedzające rozpadowanie się ciał. Natomiast x-ciała siateczkowate u *A. rosea* stanowią najbardziej trwałą postać inkluzji w cytoplazmie przedstawicieli tego gatunku porażonych wiroz.

Badania w mikroskopie elektronowym (Sheffield 1946, Wilkins i współpr. 1950, Steere i Williams 1953, Rubio 1954, Wehrmeyer 1957, Amelunxen 1957 i 1958) i polaryzacyjnym (Wilkins i współpr. 1. c.); badania cytochemiczne (Rawlins i inni 1956), wreszcie sztuczne zarażanie zdrowych roślin wyizolowanymi kryształami Iwanowskiego przez Goldina w r. 1938 (Goldin 1958) dowiodły, że wszystkie formy inkluzji parakrystalicznych i krystalicznych zbadanych dotąd, są utworzone całkowicie lub w dużej mierze z cząstek wirusowych. Mniej jednoznaczne są wyniki badań dotyczących inkluzji amorficznych. Dla przykładu podam, że w x-ciałach liści tytoniu porażonych zwykłym szczepem TMW nie stwierdzono wirusów metodą Sakaguchi na argininę (Rawlins i współpr. 1. c., Rubio 1956). Nie wykazały ich również, lub wykazały w małej ilości, obserwacje w mikroskopie elektronowym (Rubio 1. c. i cytowani przez tegoż autora Scotland, Hagedorn i Stahmann 1955). Natomiast te same metody pozwoliły na wykrycie wirusów w x-ciałach towarzyszących szczepowi mozaiki aucuba (Sheffield 1939, 1941, 1946, Rawlins i współpr. 1. c., Rubio 1956).

Należy przypuszczać, że x-ciała znalezione u *Althaea rosea* zawierają wirusy, przy czym agregacja cząstek wirusowych nastąpiła nie tylko w kulistych ciałkach opisanych wyżej, ale i w niciach siateczki. Potwierdzają to następujące fakty: 1. reakcje barwne, 2. testy cytochemiczne, 3. tworzenie się kryształów w x-ciałach, 4. stopniowe zanikanie kuleczek i siateczki podczas przekształcania się x-ciał w formy krystaliczne.

W cytoplazmie *Althaea rosea* znaleziono różne postacie inkluzji wirusowych krystalicznych (parakrystalicznych) i amorficznych. Powstawanie tak licznych form inkluzji w obrębie jednej rośliny stanowi potwierdzenie charakterystycznej dla wirusów właściwości skupiania się w bardzo różnorodny sposób, którą podkreślali Wilkins i współpr. w 1950 r.

STRESZCZENIE

Opisano x-ciała znalezione po raz pierwszy u przedstawicieli *Althaea rosea* dotkniętych wirozą. Badano je w skórce. Występowały pod dwiema postaciami: 1. jako nieforemne masy o strukturze siateczkowato-ziarnistej, zawierające niekiedy drobne kryształki dwójłomne, 2. jako błyszczące kule o wygładzie szklistym z jedną lub kilku wodniczkami. Pierwszy typ był bardziej stabilny; zjawiał się z reguły we wszystkich oglądanych kwiatach w kielichu, kieliszku i płatkach, w przylistkach, w liściach wykazujących objawy chorobowe. Drugi typ — tylko w tych ostatnich, już późną jesienią. Kuliste homogeniczne x-ciała powstawały z x-ciał o strukturze siateczkowato-ziarnistej.

Podobnie jak analogiczne utwory znalezione przy innych wirozach, x-ciała u *Althaea rosea* przekształcały się w formy krystaliczne lub zbliżone wyglądem do kryształów. Były to kryształki izodiametryczne i podługowate, formy igielkowate i wrzecionowate w żywych komórkach, formy pryzmatyczne i płytki heksagonalne, bryłowate masy podobne w różnym stopniu do kryształów — w materiale utrwalonym.

W x-ciałach siateczkowato ziarnistych wyróżniono kilka kategorii utworów granularnych: najliczniejsze kuliste ciała o średnicy 0,6—0,8 μ barwiące się barwnikami zasadowymi i kwaśnymi i dające reakcję na białko i na RNA, kuleczki tłuszczu utworzone przez fosfolipidy i tłuszcze obojętne oraz ziarniste utwory o średnicy 0,3—0,4 μ . Te ostatnie uznano za sferozomy ze względu na ich własności optyczne, małe wymiary i trwałość. Zachowywały się po wszystkich utrwalaczach, także w preparatach utrwalonych w płynie Bouina, po ekstrakcji tłuszczów pirydyną. Chondriozomów w x-ciałach nie znaleziono.

Wyrażono przypuszczenie, że x-ciała u *Althaea rosea* zawierają materiał wirusowy skupiający się nie tylko w wyżej opisanych kuleczkach, ale również w mniejszych ilościach w niciach zrębu. Przypuszczenie to oparto na następujących obserwacjach: 1. wyniki reakcji barwnych i testów cytochemicznych, 2. raptowne zanikanie nie tylko utworów granularnych, ale i nici siateczki, podczas przekształcania się x-ciał w formy krystaliczne.

Skonstatowano w komórkach skórki różnych organów sporadyczne występowanie innych inkluzji wirusowych amorficznych i krystalicznych nie związanych z x-ciałami. Były wśród nich niemal wszystkie postacie inkluzji wirusowych opisywanych w literaturze: kryształki izodiametryczne, „spike“, kryształki, igły — czasem długości komórek — i inne drobne utwory włókienkowate, pasemkowate, wrzecionowate, proste, wygięte, splecione ze sobą itp.

Barwiły się one barwnikami kwaśnymi i zasadowymi w materiale świeżym i utrwalonym. Nie badano ich bliżej.

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 4.4.1960 r.)

SUMMARY

X-bodies were found for the first time in virus infected specimens of *Althaea rosea* (L.) Cav. They were studied in the epidermal cells. Two kinds of amorphous intracellular inclusions occurred: 1. irregular shaped bodies with reticular-granular structure, sometimes containing small birefringent crystals and 2. spherical, more compact, homogeneous bodies with one or more vacuoles. The bodies of the first form were more stable. They appeared regularly in all examined flowers, in the involucre, calyx, petals also in the stipules and leaves showing external disease symptoms. The second type of inclusions was found only in leaves in late autumn. The spherical x-bodies arised from the reticular-granular type.

Like similar bodies in other virus infected plants the both types of x-bodies of *A. rosea* could be transformed in crystalline or crystal-like inclusions. In the living cells elongated or isodiametric crystals, needle and spindle shaped forms were observed; in the fixed material hexagons, flat hexagonal plates, more or less crystal-like blocks were found. In the reticular-granular x-bodies following types of granules were discerned: 1. the most numerous, spherical particles from 0,6 to 0,8 μ in diameter, stainable with basic and acid dyes and giving positive tests for protein and ribonucleic acid, 2. lipid globules consisting of phospholipids and neutral fats, 3. granules from 0.3 to 0.4 μ in diameter. The last ones were recognized as the spherosomes by their optical properties, small dimensions and stability. They persisted after various cytological fixatives also after Baker's pyridine extraction test. The mitochondria were not found in the x-bodies of *A. rosea*.

It is supposed, that in *A. rosea* the x-bodies contain virus material not only agglomerated in above described granules, but also, in smaller amount, in the filament reticulum. This supposition is based on following observations: 1. the results of the staining and cytochemical tests, 2. rapid disappearance not only of granular structures but also of the reticulum during the formation of the crystalline inclusions in living cells.

In the epidermal cells of different organs appeared occasionally other kinds of virus inclusions both amorphous and crystalline, non connected with x-bodies. Among them nearly all kinds of the virus inclusions described in the literature were found: isodiametric crystals, spike-like crystals, spindle-shaped bodies, needles, often as long as the cell, flexible fibres and bands straight, curved, coiled, twisted etc. They were stained both with acid and basic dyes in living cells and in fixed tissues. They were not thoroughly studied.

LITERATURA

- Amelunxen F., 1957, Die Virus-Eiweisspindeln der Kakteen, *Die Naturwiss.* 44:239.
- Amelunxen F., 1958, Die Viruspindeln der Kakteen, *Protoplasma* 49: 140—178.
- Bawden F. C., 1950, *Plant virus diseases*, Waltham, Mass.
- Goldin M. I., 1954, Wirusnyje wkluczenia w rastitielnoj kletkie, Moskwa.
- Goldstein B., 1927, The x-bodies in the cells of dahlia plants affected with mosaic disease and dwarf, *Bull. Torrey Bot. Club.* 54: 285—293.
- Kassanis B., 1939, Intranuclear inclusions in virus infected plants, *Ann. Appl. Biol.* 26: 707—709.
- Klebahn H. 1928, Experimentelle u. cytologische Untersuchungen im Anschluss an Alloiophyllie u. Viruskrankheiten, *Planta* 6: 40—95.
- Klinkowski M., 1958, *Pflanzliche Virologie* Bd II, Berlin.
- Kochman J. i Stachyra T., 1958, Materiały do poznania chorób wirusowych roślin w Polsce, *Roczn. N. Roln.* 77. S. A., Warszawa.
- Mazia D., P. A. Brewer, M. Alfert, 1953, The cytochemical staining a measurement of protein with mercuris bromophenol blue, *Biol. Bull.* 104: 57—67.
- Miličić D. i V. Bralić, 1958, Virus-körper in *Rumex obtusifolius*, *Protopl.* 49: 226—230.
- Pearse A. G. E., 1957, *Histochemia*, Warszawa.
- Perner E. S., 1955, Die Sphärosomen (Mikrosomen) pflanzlicher Zellen *Protopl.* 46: 471—481.
- Rawlins T. E., 1957, A modification of Balducci stain for viruses and for inclusions associated with virus infections, *Phytopath.* 47: 307.
- Rawlins T. E., A. J. Weierich a. D. E. Schlegel, 1956, A histochemical study of certain plant viruses by mean of the Sakaguchi reaction for arginin, *Virol.* 2: 308—311.
- Rubio M., 1954, Rapid extraction of intact crystalline inclusions from the cells of plants infected with tobacco mosaic virus, *Nature* 174: 313.
- Rubio H., 1956, Origin a composition of cell inclusions associated with certain Tobacco a Crucifer viruses, *Phytopath.* 46: 553—556.
- Sheffield F. M. L., 1931, The formation of intracellular inclusions in solanaceous hosts infected with aucuba mosaic of tomato, *Ann. Appl. Biol.* 18: 471—493.
- Sheffield F. M. L., 1939, Microgical studies on virus infected plants, *Proc. Roy. Soc. B.* 126: 529—538.
- Sheffield F. M. L., 1941, The cytoplasmic and nuclear inclusions associated with severe etch virus, *J. Roy. Micr. Soc.* 61: 30—45.
- Sheffield F. M. L., 1946, Preliminary studies in the electron microscope of some plant virus inclusion bodies, *J. Roy. Micr. Soc.* 66: 69—76.
- Smith K. M., 1957, *A Textbook of Plant Virus Diseases*, II wyd., London.
- Steere R. L. i R. C. Williams, 1953, Identification of crystalline inclusion-bodies extracted intact from plant cells infected with tobacco mosaic virus, *Amer. J. Bot.* 40: 81—84.
- Wehrmeyer W., 1957, Darstellungen u. Strukturordnung eines Tabakmosaicvirus-Einschlusskörpers in der Zelle, *Naturwiss.* 44: 519—520.
- Wilkins M. H., A. R. Stokes, W. E. Seeds, A. G. Oster, 1950, Tobacco mosaic virus crystals a three-dimensional microscopic visions, *Nature* 166: 127—129.
- Woods M. W., 1953, Intracellular bodies associated with ring-spot, *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 5: 419—434.