Tol

Wpływ par jodu na przebieg mitozy w korzonkach *Secale cereale*

Action of iodine vapour on mitoses in root tips of Secale cereale

L. WAJDA

Badania kilkunastu lat ostatnich doprowadziły do stwierdzenia, że liczne substancje chemiczne mają zdolność wywoływania zakłóceń w przebiegu mitozy. Substancje takie, najogólniej określane jako „trucizny mitotyczne”, mają w istocie rozmaite działanie na różne stadia w toku ontogenezy komórek.

W dotychczasowych doświadczeniach używane były głównie różne związki chemiczne w postaci roztworów, o rozmaitym stężeniu.

Natomiast mało prac dotyczyło wpływu pierwiastków na przebieg mitozy. Bodaj jedyne dotąd są badania nad wpływem par bromu na przebieg mitozy, przeprowadzone przez Chury i Slouka (1949) na stożkach wzrostu korzonków *Allium cepa*. Obecne badania podjęte zostały celem stwierdzenia wpływu na przebieg mitozy par jodu, pierwiastka należącego również do grupy chlorowców. Jako materiał doświadczalny wybrane były stożki wzrostu *Secale cereale*.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzano na korzonkach młodych siewek *Secale cereale*. Rośliny były wykiełkowane z nasion na wilgotnej gazie naciągniętej na ramki. Kiedy korzonki tych roślin osiągały długość ok. 2 cm, zawieszano je wraz z ramką w górnej części eksykatora, na którego dnie umieszczano naczynko z 1 gramem jodu resublimowanego, następnie eksykator szczelnie zamykano. Wysokość eksykatora wynosiła 19 cm, a średnica 20 cm (objętość 5966 cm³). Czas traktowania parami jodu wynosił: 5, 10, 15 minut przy temperaturze doświadczenia 20°C. Po traktowaniu, korzonki opłukiwano wodą bieżącą i ramki wraz z roślinami przenoszono na naczynia z czystą wodą wodociągową, w której odbywał się dalszy rozwój korzonków. Za kontrolę służyły w taki sam sposób wykiełkowane rośliny, trzymane przez cały czas na naczyniach z czystą wodą wodociągową. Pierwsze doświadczenia wykonano w czerwcu 1956 r. w następujących porach dnia: o godzinie 8, 12 i 17. Ponieważ najdogodniejsza dla traktowania okazała się godzina 8, następne doświadczenia (czerwiec 1957 i 1958)

przeprowadzano już tylko o tej godzinie. Przez cały czas trwania doświadczenia korzonki zachowywały normalny turgor, były jednak znacznie krótsze niż u roślin kontrolnych; dało się też zauważyć znaczne zmniejszenie ilości nowo rozwijających się korzonków. Utrwalanie następowało po 2, 4, 28, 52, 76, 100, 124 i 148 godzinach od przeniesienia roślin do wody. Używano utrwalacza Navashina rozcieńczonego wodą destylowaną do 50%. Równolegle utrwalane były korzonki roślin kontrolnych. Mitozy badano na preparatach wykonywanych metodą parafinową. Skrawki grubości 15 μ barwione były fioletem gencjanowym według Newtona. Aby zapewnić możliwie jednolite warunki w toku doświadczenia i umożliwić dostęp par jodu do wszystkich traktowanych korzonków, starałam się przestrzegać następujących zasad:

1. korzonki powinny być zwieszać się pionowo i nie stykać się ze sobą;

2. na końcach korzonków nie powinna być zbierać się woda mogąca utrudniać dostęp par jodu do tkanek.

Ze względu na fakt, że traktowane korzonki pozostają stosunkowo krótko w bezpośrednim kontakcie z parami jodu, dokładne przestrzeganie wymienionych zasad było warunkiem uzyskania porównywalnych wyników z przeprowadzonych doświadczeń.

WYNIKI

Częstotliwość mitoz

Dla stwierdzenia ilości mitoz w korzonkach żyta z trzech serii poddanych działaniu par jodu w zestawieniu z kontrolą liczyłam na kolejnych skrawkach mikrotomowych wszystkie komórki ze stadiami mitozy. Wyniki liczbowe, zestawione w tabeli 1, 2 i 3 wraz z danymi z korzonków kontrolnych, świadczą o wyraźnym spadku częstości mitoz we wszystkich seriach doświadczeń. Tabela 1 przedstawia wyniki liczbowe dla pierwszej serii korzonków, traktowanych 5 min. Spadek liczby mitoz zaznacza się wyraźnie już w dwie godziny po przeniesieniu korzonków do wody wodociągowej. Takie mitodepresyjne działanie par jodu utrzymuje się w tej serii od 2—52 godzin, to jest do końca obserwacji.

W serii II, traktowanej 10 min. (tab. 2) ujawnia się również wyraźny spadek aktywności mitotycznej, przy czym jest on silniejszy niż w serii I i utrzymuje się dłużej. Świadczy o tym fakt, że w pewnych korzonkach utrwalonych po 52 i 76 godzinach nie ma w ogóle podziałów, a w innych występują jeszcze, lecz są stosunkowo nieliczne. Po 100 godzinach mitozy wygasają całkowicie we wszystkich korzonkach („próżnia mitotyczna”, D'A m a t o 1954). Powrót do działalności mitotycznej w tej serii zaznacza się w niektórych korzeniach po 124 godzinach.

Tabela 3 zawiera dane liczbowe serii traktowanej 15 min. W serii tej

Tabela 1 — Table 1

Częstotliwość mitoz w korzonkach *Secale cereale* traktowanych parami jodu przez 5 min. (ser. I)

Frequency of mitoses in the root tips of *Secale cereale* treated with iodine vapour during 5 min. and in control. (Ser. I).

Czas po traktowaniu Time after treatment (hours)	Liczba korzeni Number of roots	2 h'		4 h'		28 h'		52 h'	
		Trakto- wane Treated	Kon- trola Control	Trakto- wane Treated	Kon- trola Control	Trakto- wane Treated	Kon- trola Control	Trakto- wane Treated	Kon- trola Control
Profazy Prophases	1	268	542	153	355	140	265	134	213
	2	277	586	82	302	228	342	188	301
	3			82		176		180	
	4					207			
Metafazy Metaphases	1	252	251	157	241	202	187	157	169
	2	215	228	119	191	190	178	188	158
	3			114		232		192	
	4					162			
Anafazy Anaphases	1	35	101	86	133	61	112	86	98
	2	42	78	50	71	94	90	104	95
	3			88		93		92	
	4					106			
Telofazy Telophases	1	30	83	51	118	96	77	39	63
	2	29	115	32	88	73	90	47	67
	3			59		121		46	
	4					68			
Razem mitoz Total	1	585	977	447	847	499	661	416	543
	2	563	1007	283	652	585	700	527	621
	3			343		622		510	
	4					543			
M/A+T	1	3,87	1,36	1,14	0,96	1,28	0,93	1,25	1,05
	2	3,07	1,18	1,4	1,20	1,13	0,98	1,24	0,91
	3			0,73	1,08			1,39	
	4				0,93				

działanie hamujące na mitozy jest jeszcze wyraźniejsze. Całkowite zahamowanie działalności mitotycznej zachodzi we wszystkich korzeniach już po 28 godzinach.

Wykres I (fig. 1) przedstawia graficzne ujęcie tego zjawiska w trzech seriach doświadczeń oraz w kontroli; w korzonkach traktowanych liczba mitoz jest zawsze mniejsza niż w materiale kontrolnym. Takie obniżenie częstotliwości mitoz zdaje się wynikać z działania par jodu na jądra metaboliczne (działanie preprofazowe, D'A m a t o 1954). Prawdopodobnie

Tabela 3 — Table 3

Częstotliwość mitoz w korzonkach *Secale cereale* traktowanych parami jodu przez 15 min. (Ser. III)
Frequency of mitoses in the root tips of *Secale cereale* treated with iodine vapour during 15 min. (Ser. III).

Czas po trakto- waniu Time after treatment (hours)	Liczba korzeni Number of roots	2 h'		4 h'		28 h'		52 h'		76 h'		100 h'		124 h'		148 h'	
		Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola	Traktowane	Kontrola
Profazy Prophases	1	273	670	70	328	0	385	0	329	0	283	0	193	117	149	116	216
	2	206	666	103	346	0	240	0	361	0	185	0	134	0	116	0	
	3	349	566	80	234		401		215					0	156		
	4	388	380											0	124		
Metafazy Metaphases	1	333	238	17	216	0	208	0	173	0	179	0	99	64	127	133	150
	2	247	275	33	199	0	125	0	184	0	125	0	56	0	103	0	
	3	251	245	15	155		202		119					0	152		
	4	235	249											0	96		
Anafazy Anaphases	1	51	119	0	94	0	101	0	104	0	90	0	52	28	56	45	79
	2	45	113	8	64	0	47	0	107	0	73	0	32	0	47	0	
	3	65	76	4	56		124		74					0	67		
	4	69	98											0	37		
Telofazy Telophases	1	24	115	1	135	0	124	0	76	0	74	0	29	26	48	32	78
	2	20	115	0	66	0	51	0	74	0	65	0	45	0	36	0	
	3	52	104	4	63		96		53					0	67		
	4	65	128											0	22		
Razem mitoz Total	1	681	1142	88	773	0	818	0	682	0	626	0	373	235	380	326	523
	2	518	1169	144	675	0	463	0	726	0	448	0	267	0	302	0	
	3	717	991	103	512		823		461					0	442		
	4	757	855											0	279		
M/A+T	1	4.44	1.01	17	0.94	0	0.92	0	0.96	0	1.09	0	1.22	1.18	1.22	1.72	0.95
	2	3.80	1.2	4.12	1.53	0	1.26	0	1.01	0	0.91	0	0.72	0	1.24	0	
	3	2.12	1.36	1.87	1.3		0.91		0.93					0	1.1		

opóźnia ono znacznie lub nawet hamuje całkowicie wejście tych jąder w profazę. Wnosić o tym można ze spadku liczby profaz w materiale traktowanym w porównaniu z kontrolą (fig. 2). Zwłaszcza charakterystycznie występuje to zjawisko w serii II (fig. 2B): po 2 i 4 godzinach liczba jąder

Fig. 1. Wykres częstotliwości mitoz w korzonkach *Secale cereale* traktowanych parami jodu i w kontroli

1 — w kontroli; 2 — w korzonkach traktowanych parami jodu przez 5 min.; 3 — traktowanych 10 min.; 4 — traktowanych 15 min.

Graphs representing the frequency of mitoses in treated root tips of *Secale cereale* and in the control.

1 — control; 2 — root tips treated for 5 min.; 3 — root tips treated for 10 min.; 4 — root tips treated for 15 min.

w profazie stanowi tu w przybliżeniu zaledwie połowę liczby występującej w materiale kontrolnym. Po 28 godzinach zaś ta liczba wykazuje dalszy spadek; po 52 godzinach w niektórych korzonkach nie ma zupełnie profaz. Po 76 i 100 godzinach nie tylko nie występują profazy, lecz daje się zaobserwować również brak późniejszych stadiów mitozy: metafaz, anafaz i telofaz. W serii III (fig. 2C) spadek liczby profaz przebiega bardzo gwałtownie i już po 4 godzinach dochodzi do znacznego obniżenia ich liczby, a po 28 godzinach nie ma ani profaz, ani metafaz we wszystkich utrwalonych korzeniach.

Z kolei należy rozpatrzyć częstotliwość występowania metafaz oraz stosunek ilości profaz do metafaz (fig. 3). W kontroli liczba metafaz jest

zawsze niższa od liczby profaz; stosunek ilości profaz do metafaz wynosi w przybliżeniu 2:1. Natomiast w materiale traktowanym (seria II) odchyła się od normy; w 2 godziny po przeniesieniu korzonków do wody liczba metafaz pozostaje mniej więcej na tym samym poziomie co w materiale kontrolnym, a liczba profaz wykazuje spadek. W konsekwencji stosunek

Fig. 2. Liczba jąder w profazie w korzonkach *Secale cereale* traktowanych parami jodu w porównaniu z kontrolą

A — w korzonkach traktowanych przez 5 min.; B — traktowanych przez 10 min.; C — traktowanych przez 15 min. Liczby u podstawy oznaczają godziny po traktowaniu; 1 — kontrola, 2 — korzenie traktowane

Number of nuclei at prophase in root tips of *Secale cereale* treated with iodine vapour

A — 5 min.; B — 10 min.; C — 15 min. in comparison with control. Numbers at the basis indicate hours after treatment; 1 — control; 2 — treated roots

profaz do metafaz ulega zmianie; po 2 godzinach wynosi on 1:1, a następnie w wyniku dalszego spadku profaz osiąga 1:2 (fig. 3B).

Dalszą konsekwencją powyższych zakłóceń jest zmieniony stosunek liczbowy metafaz do anafaz i telofaz. W kontroli wynosi on 1:1, a w korzonkach traktowanych osiąga po 2 i 4 godzinach w przybliżeniu 4:1. Powyż-

sze dane pozwalają przypuszczać, że, oprócz zjawiska nie wchodzenia w profazę nowych jąder metabolicznych, zachodzi tu ponadto przedłużenie czasu trwania metafazy. Współczynnik $M/A + T$ (D'A m a t o 1948, 1954)

Fig. 3. Porównanie liczby profaz i metafaz występujących w stożkach wzrostu korzonków *Secale cereale* traktowanych parami jodu

A — 5 min.; B — 10 min.; C — 15 min.; D — kontrola. Liczby u podstawy oznaczają godziny po traktowaniu; 1 — profazy, 2 — metafazy

Numbers of prophases and metaphases in root tips of *Secale cereale* treated with iodine vapour and in the control

A — 5 min.; B — 10 min.; C — 15 min.; D — control. Numbers at the basis indicate hours after treatment; 1 — prophase, 2 — metaphase

daje stosunek liczby metafaz do sumy anafaz i telofaz. Jak wzmiankowałam, w kontroli ma on wartość bliską jedności, a w materiale traktowanym parami jodu jego wartość jest prawie czterokrotnie wyższa. Taki wysoki współczynnik pozwala wnosić, że ulega znacznemu opóźnieniu przejście metafazy w anafazę. Zdaje się on świadczyć również o stopniu zahamowania mitoz w tym stadium. Im wyższy współczynnik $M/A + T$, tym silniejszy jest stopień obniżenia aktywności mitotycznej.

W serii III działanie par jodu jest jeszcze silniejsze; prowadzi ono do znacznego obniżenia nie tylko liczby profaz, ale również i metafaz już w pierwszych okresach utrwalania. Po 28 godzinach podziały ulegają całkowitemu zahamowaniu we wszystkich utrwalonych korzeniach i daje się stwierdzić silne działanie toksyczne par jodu.

Zmiany histologiczne

Pierwszym ujawniającym się morfologicznym efektem działania par jodu było zahamowanie wzrostu na długość wszystkich traktowanych korzeni. Wiąże się to prawdopodobnie z zakłóceniami w przebiegu mitoz i stwierdzonym już spadkiem ich liczby. Do dokładniejszej analizy wtórnych zmian w tkankach najodpowiedniejsza była II seria doświadczeń, w której korzonki przeważnie zachowują swą żywotność.

W serii I zmiany były na ogół słabsze, natomiast w serii III następowało tak silne porażenie procesów życiowych komórek, że uniemożliwiało ono dalsze obserwacje. W serii II po 28 godzinach dały się stwierdzić zakłócenia w kierunkowości podziałów. Na ogół w korzonkach nie traktowanych prawie wszystkie wrzeciona mitotyczne leżą równolegle do długiej osi korzenia. Natomiast w korzeniach traktowanych parami jodu wrzeciona zorientowane są pod różnymi kątami w stosunku do jego długiej osi, często promienisto lub tangencjalnie. Przy normalnej aktywności mitotycznej w konsekwencji zmienionego kierunku podziałów następuje grubienie korzonków i zahamowanie wzrostu na długość; w badanym materiale natomiast nie stwierdzono powstawania tumorów ani nabrzmień zarówno w obrębie strefy merystematycznej korzenia, jak i poza nią. Średnica korzeni traktowanych po 28 godzinach różniła się nieznacznie od średnicy korzeni kontrolnych, a po 52 godzinach i później zdawała się być nawet niekiedy nieco mniejsza; stoi to w związku z zahamowaniem aktywności mitotycznej. Jednocześnie daje się zaobserwować znaczne skrócenie części merystematycznej korzeni w porównaniu z kontrolą. W takich stożkach wzrostu następuje silna wakuolizacja komórek; jądra ich ulegają przesunięciu ku ścianie komórkowej; są one małe, wykazują spotęgowaną barwliwość i często mają pozapadane błony jądrowe. Powyższe zmiany wpływają na przedwczesną utratę wyglądu charakterystycznego dla tkanek merystematycznych i nadają im wygląd podobny do parenchymy starszej części korzenia. Stożki wzrostu korzeni traktowanych wyglądają zatem jakby uległy przedwczesnemu starzeniu się (fig. 11, 12, 13).

Należy też zaznaczyć, że pod działaniem par jodu dają się zaobserwować inne jeszcze specyficzne zmiany histologiczne w korzonkach. Zwłaszcza widoczne są one w korzeniach serii II. Na przekrojach poprzecznych korzeni już w 4 godziny po przeniesieniu do wody daje się zaobserwować ciemno zabarwiona warstwa, utworzona z komórek zdege-

nerowanych i mocno zgniecionych. Warstwa taka na przekroju poprzecznym korzenia może być widoczna w postaci pierścienia albo łuku. Miejsce tworzenia się tej warstwy i jej kształt zdaje się wiązać z kierunkiem przenikania par jodu. Na ogół w korzeniach wiszących pionowo w czasie traktowania tworzyła się ona w okolicy czapeczki korzeniowej i dermatogenu; niekiedy też dała się zaobserwować głębiej, mianowicie w peryblemie; w starszej części korzenia może ona występować na granicy kory pierwotnej i walca osiowego. Natomiast w tych korzonkach, które w czasie traktowania leżały poziomo na gazie, warstwa taka wykształcała się asymetrycznie po stronie wystawionej na działanie par jodu i miała kształt łuku widocznego zwykle w peryblemie lub sięgającego do pleromu. Wysokość warstwy zgniecionych komórek jest różna i waha się od 100μ — 300μ . Często grubość jej wynosi tylko jeden lub dwa pokłady komórek, może jednak być większa, przy czym nie zawsze jest jednokowa w poszczególnych partiach. Prawdopodobnie warstwa taka powstaje na skutek nacisku na bardziej zewnętrzne silnie uszkodzone pokłady komórek nie uszkodzonej części centralnej korzenia, która rozrasta się w dalszym ciągu i zachowuje zdolność do podziałów. Przypuszczalnie warstwa obumierających komórek przekształca się w rodzaj „bariery”, która otacza głębiej położone merystemy (fig. 14—19).

W korzeniach serii III już po 28 godzinach dochodzi do całkowitego wygaśnięcia mitoz; przypuszczalnie jest to przyczyna niewystępowania wyżej opisanych zmian histologicznych.

Obserwacje cytologiczne

Porównanie wszystkich trzech serii pozwoliło stwierdzić, że traktowanie 5-minutowe daje efekty cytologiczne najsłabsze; są one podobne do tych, które występują w najgłębszych warstwach korzonków traktowanych przez 10 minut. Natomiast traktowanie 15-minutowe daje przeważnie efekt odpowiadający temu, który dał się zaobserwować w warstwach najbardziej zewnętrznych serii II. Pozwala to wnosić, że stopień uszkodzenia różnych pokładów tkanek merystematycznych w korzonkach traktowanych wykazuje bardzo charakterystyczne zróżnicowanie w zależności od ich zlokalizowania. Najsłabszy efekt daje się stwierdzić w najgłębszych partiach korzeni, gdzie jod prawdopodobnie dociera w niewielkich ilościach i ze znacznym opóźnieniem; silniejszy efekt występuje w warstwach komórek leżących nieco bliżej powierzchni, przeważnie w peryblemie, a najsilniejszy w najbardziej zewnętrznych warstwach wystawionych na bezpośrednie działanie par jodu. Ponieważ w korzonkach traktowanych przez 10 minut rozpiętość obserwowanych zakłóceń była największa, przeto głównie na ich podstawie opisuję zaobserwowane zakłócenia cytologiczne.

W korzonkach tych można było wyróżnić 3 strefy odpowiadające róż-

nym stopniom uszkodzeń uzależnionych od położenia odnośnych pokładów komórek:

1. Strefa subnormalna, składająca się z warstw komórek leżących najgłębiej w korzeniu. Są to przeważnie najgłębsze warstwy peryblemu oraz plerom. W przypadku istnienia „bariery” są to warstwy komórek, które ona otacza.

2. Strefa subletalna, złożona z pokładów komórek leżących nieco bardziej na zewnątrz. Zwykle są to 2 lub 3 warstwy komórek peryblemu wykazującego bardzo wyraźny efekt działania par jodu.

3. Strefa letalna, dająca się stwierdzić w tkankach leżących najbliższej powierzchni korzenia. Zwykle składa się ona z 1—2 warstw komórek. W tej strefie efekt działania par jodu jest jeszcze silniejszy.

Należy podkreślić, że w korzonkach serii I (traktowanie 5-min.) wystąpiły w różnych pokładach tkanek zmiany odpowiadające strefie subnormalnej; w serii III zaś (traktowanie 15-min.) dały się obserwować niemal wyłącznie zmiany o charakterze letalnym. Natomiast w serii II (traktowanie 10-min.) znaleźć można było wszystkie 3 stopnie uszkodzeń, rozmieszczone w ścisłej zależności od lokalizacji odnośnych komórek.

Profazy

W warstwach najgłębszych, tj. w strefie subnormalnej, profazy występują przez cały czas trwania doświadczenia, lecz w mniejszej liczbie niż w kontroli. Ujawnia się tu zatem wpływ mito-depresyjny par jodu. Chromosomy późniejszej profazy mają na ogół prawidłowy wygląd, są one normalnie zespiralizowane i zabarwione.

W warstwach strefy subletalnej, składającej się z komórek peryblemu, już w 4 godziny po przeniesieniu traktowanych roślin do wody prawie zupełnie brak wczesnych profaz. Natomiast późne profazy ulegają zahamowaniu w tym czasie. Jądra w tym stadium wykazują wyraźne zaburzenia w równomiernym rozmieszczeniu chromosomów pod błoną jądrową; chromosomy te tworzą kilka grup. Często wydaje się, że to stadium uległo wyraźnemu przedłużeniu, przejście do metafazy zatem jest opóźnione. Świadczy o tym fakt, że niektóre chromatydy wykazują tendencję do rozłączania się, podczas gdy reszta zachowuje ułożenie odpowiadające późnej profazie (fig. 8 i 22).

Strefa letalna. W najbardziej zewnętrznych pokładach komórek efekt jest bardzo wyraźny i silny. Zwykle już po 2 godzinach liczba profaz jest wyraźnie obniżona, po 4 godzinach profazy występują tylko sporadycznie, a po 28 i 52 godzinach nie występują w tych warstwach w ogóle. W strefie tej jądra profazowe często nie posiadają typowej budowy, lecz wykazują rozfragmentowanie zawartych w nich struktur na mniejsze elementy. Wakuolizację plazmy daje się tu zaobserwować w licznych komórkach już po 2 i 4 godzinach (fig. 20, 21, 22).

Metafazy

W warstwach najgłębszych korzenia, wykazujących najsłabsze uszkodzenia (strefa subnormalna) po 4 i 28 godzinach metafazy są normalne, lub też ujawniają pewien niewielki stopień lepkości matrix. Liczba metafaz w porównaniu z kontrolą jest nieco obniżona. Chromosomy ich barwią się zwykle intensywniej niż w kontroli.

W strefie subletalnej można spotkać metafazy wykazujące różny stopień uszkodzenia. W 4 i 28 godzin po przeniesieniu roślin do wody w pewnych komórkach chromosomy metafazowe wykazują wyraźnie defektywną spiralizację; są dłuższe i cieńsze niż chromosomy metafazowe w kontroli i barwią się słabo. W skrajnych przypadkach zakłóconej spiralizacji chromosomy mają postać podobną do chromosomów profazowych, są bardzo długie i nie mają prawidłowo wykształconej matrix; pomimo to wykazują normalną kongresję i układają się w regularną płytkę równikową (fig. 25).

W innych komórkach występuje zwiększona lepkość matrix. Uwidacznia się to w wyglądzie takich metafaz. Większość ma chromosomy mocno zlepione, a matrix, która ulega upłynnieniu, ciągnie się ku ścianom komórki wzdłuż nici plazmatycznych w silnie zwakuolizowanych komórkach (fig. 4, 23).

Fig. 4. Strefa subletalna. Metafaza typu „clumped” w 2 godziny po przeniesieniu korzonków do wody. 2500 ×

Sublethal zone. Clumped metaphase after 2 hours recovery in tap water. The same as Fig. 23. 2500 ×

Fig. 5. Strefa subletalna. Anafaza — zakłócenia wrzeciona. Na dolnym biegunie chromosomy potomne w dwóch grupach. 2500 ×

Sublethal zone. Anaphase. Disturbances of spindle. Daughter chromosomes in two groups at one pole. 2500 ×

Fig. 6. Strefa letalna. Chromosomy metafazowe pozbawione matrix. Widać obnażone całkowicie chromonema. W 52 godz. po przeniesieniu korzonków do wody. 2500 ×

Lethal zone. Matrix of metaphasic chromosomes dissolved, and their chromonemata uncovered after 52 hours' recovery in tap water. 2500 ×

Fig. 7. Strefa subletalna. W anafazie mosty typu sticky bridges w 2 godz. po przeniesieniu korzonków do wody. 2500 ×

Sublethal zone. Sticky bridges in anaphase after 2 hours' recovery in tap water. 2500 ×

Fig. 8. Strefa subletalna. Chromosomy silnie pyknotyczne zachowują ułożenie późno-profazowe mimo, że niektóre chromatydy już się rozdzielają. W 4 godz. po przeniesieniu korzonków do wody. 2500 ×

Sublethal zone. After 4 hours' recovery strongly pyknotic chromosomes maintain their late prophasic position, although some chromatids are already separated. 2500 ×

Fig. 9. Strefa subletalna. Mosty w późnej anafazie, plazma silnie zwakuolizowana. W 4 godz. po przeniesieniu korzonków do wody. 2500 ×

Sublethal zone. Bridges in late anaphase in a strongly vacuolate cell after 4 hours' recovery. 2500 ×

4

5

6

7

8

9

Fig. 4—9

Po 52 i 76 godzinach dają się obserwować metafazy, w których chromosomy są całkowicie pozbawione matrix (fig. 6). W tym przypadku substancja matrix uległa całkowitemu rozpuszczeniu, co doprowadza do częściowego lub nawet całkowitego obnażania chromonem. Chromosomy takie mają bardzo słabą barwliwość (fig. 26, 27, 28).

W warstwach strefy letalnej metafazy wykazują bardzo silne zmiany o charakterze pyknotycznym. Często płytki metafazowe, położone w centralnej części komórki, tworzą charakterystycznie zlepioną bryłę. Niekiedy już po 4 godzinach występuje tak silna aglutynacja, że nie można wyróżnić poszczególnych chromosomów lub choćby tylko pewnych odcinków ich ramion. Na skutek znacznej wakuolizacji, te zlepione twory ulegają często przesunięciu tuż pod błonę komórkową (fig. 21). Jądra takie zdają się nie być zdolne do przechodzenia w dalsze stadia mitozy i prawdopodobnie ulegają degeneracji.

Anafazy i telofazy

Strefa subnormalna, obejmująca najgłębsze warstwy korzenia, charakteryzuje się małą liczbą anafaz; są one raczej prawidłowe. Liczba ich do chwili osiągnięcia próżni mitotycznej pozostaje mniej więcej na tym samym poziomie. Telofaz w porównaniu z kontrolą także jest niewiele. Przebieg dalszych stadiów nie ulega zakłóceniom.

W strefie zmian subletalnych dały się często obserwować komórki, w których chromosomy miały centromery wyraźnie już rozłączone, natomiast ramiona chromatyd zespolone jeszcze na całej długości. Pozwala to przypuszczać, że przejście od metafazy do anafazy jest opóźnione zapewne wskutek lepkości matrix (fig. 29). Niekiedy można też było zaobserwować anafazy, w których zaznaczał się rozdział na trzy grupy chromosomów, zamiast na dwie (fig. 5). Obrazy tego typu zdają się świadczyć o pewnym uszkodzeniu aparatu wrzeciona. W tych stadiach często obserwowałam chromosomy, których końce ramion, nie centromery, były zwrócone ku biegunom (fig. 30). Również często obserwować można było w tej strefie anafazy, w których pomiędzy dwiema rozchodzącymi się grupami chromosomów występowały mosty (fig. 7, 9). W większości były one przypuszczalnie wynikiem zwiększonej lepkości matrix. W telofazie natomiast mosty dały się obserwować rzadko; tylko niekiedy w takich komórkach dało się zauważyć fragment acentryczny, jak po działaniu substancji wywołujących efekt radiomimetyczny. Często po rozejściu się obu grup chromosomów telofazowych na bieguny nie można było zaobserwować zakładającej się blaszki środkowej. Pozwala to przypuszczać, że w wyniku porażenia wrzeciona wewnętrznego nastąpiło zahamowanie cytokinezy. Być może, że obserwowane w późniejszych okresach utrwalania (po 52 i 76 godzinach) komórki dwujądrowe są konsekwencją tego zjawiska.

W warstwach najbardziej zewnętrznych, w których ujawnia się działanie letalne, anafazy znajdowane były rzadko. W jądrach, które były w stadium anafazy na początku traktowania, dalsze stadia uległy zahamowaniu z powodu pyknozy. Wydaje się, że takie komórki degenerują w tym stadium (fig. 20). Często na skutek silnej wakuolizacji plazmy wrzeczona anafazowe leżą pod ścianą komórkową, a niekiedy pomiędzy rozchodzącymi się chromosomami wytwarza się wakuola. Telofazy w tej strefie spotkać można tylko wyjątkowo.

Wszystkie te zjawiska jak: lepkość martix, związane z nią występowanie mostów typu „sticky bridges”, silna wakuolizacja plazmy oraz degeneracja jąder świadczą o wyraźnym działaniu letalnym w warstwach powierzchniowych.

Jądra metaboliczne

Wobec występowania próżni mitotycznej po 100 godzinach we wszystkich utrwalonych korzeniach serii II, a po 28 godzinach w serii III, po-

Fig. 10. Fragment korzonka ze strefy letalnej po 52 godz. Granice jąder niewidoczne, silnie zabarwione są tylko jąderka. Plazma silnie zwakuolizowana. 1850 $\times$
 Fragment of a root-tip section from the lethal zone after 52 hours'recovery. The outlines of the resting nuclei are not visible, whereas the nucleoli are deeply stained. 1850 $\times$

wyższe obserwacje cytologiczne odnoszą się do okresów, które poprzedzają powstanie tej próżni. Należy stwierdzić, że daje się uchwycić pewna kolejność zmian doprowadzających do wygasania mitoz. Podziały najpierw

ulegają zahamowaniu w strefie subletalnej, a w końcu w strefie subnormalnej i wtedy dochodzi do kompletnej próżni mitotycznej w całym korzeniu. W warstwach zewnętrznych proces ten odbywa się gwałtownie w ciągu 4—28 godzin po traktowaniu, w głębszych zaś warstwach powolniej po 52 godzinach i później.

Uderzającym zjawiskiem w korzonkach traktowanych jodem jest intensywne zabarwienie jąder metabolicznych. Zjawisko to prawdopodobnie uwarunkowane jest obecnością jodu, który w komórkach korzonków traktowanych w pierwszej fazie swego działania, spełnia być może podobną rolę, jak roztwór jodu używany w barwieniu fioletem gencjanowym według Newtona. Należy przy tym podkreślić bardzo nierównomierne przenikanie par jodu do traktowanych korzonków. Fakt ten zdaje się wyjaśniać zjawisko występowania różnego stopnia uszkodzeń w korzonkach utrwalanych w tym samym czasie, jak też i występowanie obok siebie komórek bardzo silnie uszkodzonych i prawie nie uszkodzonych. Zjawisko to daje się głównie zauważyć w głębszych warstwach komórek korzeni traktowanych.

Pierwsze zmiany występujące w jądrach metabolicznych pod działaniem par jodu zaznaczają się w ich zwiększonej barwliwości. W strefie subnormalnej po 76 godzinach dają się dostrzec pod powierzchnią jądra intensywnie zabarwione grudki lub ziarenka różnej wielkości. W strefie subletalnej i letalnej zmiany strukturalne występują wcześniej. W strefie subletalnej w większości jąder substancja chromatynowa widoczna jest początkowo w postaci krótkich pasemek lub nieregularnych grudek. Inne jądra, widocznie silniej porażone, mają ściany pozapadane i barwią się tak intensywnie, że nie można w nich wyróżnić jakichś wyraźnych struktur (fig. 20, 21). W dalszych etapach doświadczenia, po 76 i 100 godzinach, powyższy proces degeneracji obejmuje stopniowo wszystkie jądra tej strefy.

Procesy degeneracyjne w jądrach metabolicznych strefy letalnej mogą natomiast przebiegać inaczej. Widocznie w wyniku gwałtownego porażenia najbardziej powierzchniowych warstw komórek, występuje po 52 godzinach wyraźne obniżenie barwliwości jąder; są one bardzo jasne, a substancja chromatynowa dostrzegalna jest w nich początkowo w postaci drobniotkich, delikatnych włókienek; następnie nawet i te struktury nie dają się rozpoznać. Jedynie jąderka zachowują nadal wyraźną barwliwość. Stopniowo, wskutek ciągle słabnącej barwliwości jąder, niedostrzegalna staje się granica pomiędzy jądrem a plazmą (fig. 10). Po 100 godzinach, w miarę postępującej nekrozy w komórkach tej strefy, jądra tracą swe zarysy, podczas gdy jąderka nadal zachowują barwliwość i są wciąż wyraźnie widoczne, nawet w tkankach dotkniętych rozpadem.

DYSKUSJA

Z obserwacji nad wpływem par jodu na korzonki *Secale cereale* wynika, że wywołują one pewne zmiany zarówno w jądrach metabolicznych, jak i w toku mitozy. Przeprowadzone doświadczenia pozwalają wnosić, że pary jodu są silnie toksyczne i wywołują efekty podobne do działania pewnych silnie trujących substancji. We wszystkich trzech seriach doświadczeń dało się stwierdzić wyraźne zahamowanie wzrostu na długość korzonków oraz wybijania nowych korzonków.

Porównanie częstotliwości mitoz w korzonkach kontrolnych i traktowanych parami jodu wykazało, że zjawiska te mają swą przyczynę w znacznym obniżeniu aktywności mitotycznej. Podobny efekt stwierdzony był poprzednio między innymi w korzonkach *Allium cepa* traktowanych penicyliną (Levan i Tjio 1951) oraz poddanych działaniu par bromu, pierwiastka należącego podobnie jak jod do grupy chlorowców (Chury i Slouka 1949). Spadek aktywności mitotycznej określany jest przez D'A m a t o (1954) jako działanie mitodepresyjne lub wynik preprofazowy częściowy, podczas gdy działanie preprofazowe całkowite doprowadza do powstania próżni mitotycznej. Występowanie jej często połączone jest z działaniem letalnym użytych substancji.

Wpływ par jodu ujawnia się przede wszystkim jako działanie preprofazowe (D'A m a t o 1948, 1949, 1954) polegające na zahamowaniu wejścia w profazę jąder metabolicznych. Dzięki temu stopniowo coraz mniejsza liczba jąder rozpoczyna cykl mitotyczny. O działaniu preprofazowym świadczy również zmiana stosunku profaz do metafaz. Wynosi on w kontroli 2:1, zaś w doświadczeniu 1:1, a nawet 1:2. Podobne działanie mogą też wykazywać różne inne substancje chemiczne; np. według Galinsk'y'e g o (1949) zarówno roztwory K_2HPO_4 , jak i Na_2HPO_4 zdają się uniemożliwiać wchodzenie jąder w profazę. Zmiana stosunku profaz do metafaz może mieć jednak inną przyczynę. Allen, Wilson i Powell (1950) stwierdzili, że występująca pod działaniem nukleinianu sodu lub kolchicyny zmiana stosunku profaz do metafaz nie wynika z obniżenia liczby jąder wchodzących w profazę, lecz raczej z przedłużenia czasu trwania metafaz. Trudno jest definitywnie ocenić, w jakim stopniu w niniejszych doświadczeniach ten drugi czynnik odgrywa rolę w zmianie stosunku profaz do metafaz. Ze względu jednak na zaobserwowaną zmianę stosunku metafaz do sumy anafaz i telofaz (współczynnik $M/A+T$) należy przypuszczać, że zachodzi tu również przedłużenie czasu trwania metafaz. Zjawisko to może wiązać się częściowo z toksycznym działaniem par jodu, wykazanym w toku obserwacji cytologicznych. Wygląd obserwowanych przeze mnie jąder metabolicznych zdaje się również świadczyć o toksycznym działaniu par jodu. Podobne obrazy jąder metabolicznych obserwowane były po traktowaniu korzonków *Allium cepa* kwasem trójmetylo-

-kolchicynowym i pochodnymi fenantrenu (Steinegger i Levan 1948), jak też i etylenu glikolowego (D'A m a t o 1948). Występowanie takich jąder wiąże się zawsze z toksycznym działaniem użytych do doświadczzeń substancji.

Analiza cytologiczna traktowanego materiału wykazała, że pary jodu wywołują silne uszkodzenie chromosomów. Znaczna lepkość, a nawet aglutynacja chromosomów podobna do tej, jaką daje się obserwować pod wpływem par jodu, może być wywoływana zarówno czynnikami fizycznymi, jak też i chemicznymi (Östergren 1944b, Levan 1945, V a r a m a 1947, Nybom i Knutsson 1947, Steinegger i Levan 1948, Levan 1949, Huskins i Cheng 1950). Takie zjawiska pyknozy przypuszczalnie są spowodowane depolimeryzacją kwasów nukleinowych (Levan i Tjio 1948). W materiale traktowanym parami jodu można obserwować silną pyknozę w późnej profazie oraz w metafazie i w anafazie. W licznych komórkach we wczesnej anafazie lepkość matrix utrudnia rozłączanie ramion chromatyd siostrzanych, które pozostają zespolone na całej długości, w czasie gdy centromery już uległy rozdzieleniu. Szczególnie wyraźnie dała się też stwierdzić pyknoza w późniejszej anafazie; przejawia się ona występowaniem mostów typu „sticky bridges” pomiędzy obu grupami chromosomów potomnych. Należy zaznaczyć, że pary bromu (Chury i Slouka 1949) zmian tego typu nie indukowały. Występujące w anafazie mosty powstawały po fragmentacji, w wyniku łączenia się rozerwanych chromatyd. Występuje tu zatem inny typ uszkodzeń chromosomów.

Dalszą anomalią występującą pod działaniem par jodu jest defektywna spiralizacja chromosomów. W metafazie są one długie, cienkie i barwią się słabo; nie mają też one prawidłowo wykształconej matrix. Podobne zjawiska wystąpiły również według Chury i Slouka (1949) pod działaniem par bromu. Świadczą one, zgodnie z opinią tych autorów, o deficycie kwasu nukleinowego w traktowanych korzonkach.

Podobne metafazy o defektywnym wykształceniu matrix i długich, jakby profazowych chromosomach obserwowali Levan i Wangenheim (1952) pod działaniem roztworów cyjanku potasu oraz D'A m a t o (1948) pod działaniem 1 mol roztworu etylenu glikolowego. Darlington i La Cour (1945) nazwali metafazy tego typu „prophasic metaphases”, a występowanie ich obserwowali w warunkach wygłodzenia lub niskich temperatur.

Opisane powyżej uszkodzenia chromosomów zdają się mieć charakter letalny. Pary jodu przenikają nierównomiernie do poszczególnych pokładów komórek w korzonku; w związku z tym działanie ich jest najsłabsze w najgłębszych partiach, a w warstwach położonych bardziej zewnętrznie wywołuje zmiany o charakterze subletalnym albo letalnym.

Jest godne uwagi, że działanie par bromu, jak stwierdzili Chury

i S l o u k a (1949), wywołało liczne zakłócenia funkcji wrzeciona, prowadzące do częstego wytwarzania komórek poliploidalnych. Takich zjawisk nie udało się nigdy zaobserwować w toku moich doświadczeń. Anomalie wrzeciona w korzonkach traktowanych parami jodu występowały jedynie sporadycznie; wyrażały się one głównie w zmienionej orientacji osi wrzeciona, prowadzącej do zakłócenia kierunku podziałów komórkowych (Ö s t e r g r e n 1950).

Na specjalną uwagę zasługują pewne szczegóły dotyczące zmian histologicznych w korzonkach, traktowanych parami jodu. W związku z zahamowaniem aktywności mitotycznej w ich stożkach wzrostu następuje silna wakuolizacja komórek, oraz inne zmiany prowadzące do utraty przez te tkanki merystematyczne charakterystycznego dla nich wyglądu: upodobią się one raczej do tkanki parenchymatycznej, występującej w starszych częściach korzonków. Podobne zjawisko opisał D' A m a t o (1960); stwierdził on, że w konsekwencji eksperymentalnego, nieodwracalnego zahamowania mitoz w stożkach wzrostu pędów i korzeni u roślin nasiennych, zachodzi parenchymatyzacja merystemów, a w ślad za nią następują i inne procesy histologiczne związane z różnicowaniem się tkanek.

STRESZCZENIE

W toku niniejszych badań zostały przeprowadzone doświadczenia nad wpływem par jodu na przebieg mitozy w korzonkach *Secale cereale*. Korzonki poddane były działaniu par jodu przez 5, 10 i 15 min. Pod działaniem par jodu wystąpił wyraźny efekt mitodepresyjny we wszystkich trzech seriach doświadczeń wyrażający się spadkiem częstotliwości mitoz, ograniczeniem liczby jąder rozpoczynających profazy oraz przedłużeniem stadiów do metafazy włącznie. Prowadzi to do zahamowania wzrostu korzonków na długość oraz do ograniczenia ilości nowo wyrastających.

Dało się również stwierdzić działanie toksyczne jodu: w traktowanym materiale wystąpiło silne uszkodzenie warstwy komórek, która następnie rozgradza zewnętrzne i wewnętrzne partie tkanek, tworząc pomiędzy nimi „barierę”.

Występują tu ponadto zmiany histologiczne polegające na parenchymatyzacji tkanek merystematycznych w szczytowych partiach stożka wzrostu.

Analiza cytologiczna pozwoliła stwierdzić, że w wyniku toksycznego działania w serii II i III występują zmiany letalne w chromosomach profazowych, metafazowych i anafazowych. W stadiach wcześniejszych po traktowaniu następuje pyknoza chromosomów, zakłócone zostaje regularne ich ułożenie w płytkę metafazową i ich rozdział na bieguny. W stadiach późniejszych matrix ulega rozpuszczeniu i zostają obnażone chromonemy.

W strefie letalnej jądra metaboliczne całkowicie tracą barwliwość, jedynie jąderka barwią się bardzo intensywnie.

W strefie subletalnej stwierdzić się daje działanie preprofazowe, objawiające się zahamowaniem rozwoju profaz.

Inne zmiany polegają na defektywnej spiralizacji chromosomów metafazowych oraz na tworzeniu się mostów w anafazie. W strefie tej daje się zaobserwować najsłabszy stopień zakłóceń działalności wrzeciona; wyraża się on zmienioną orientacją wrzeciona mitotycznego.

Niniejsza praca została wykonana w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin UJ w Krakowie. Kierownikowi Zakładu, Pani prof. dr M. Skalińskiej składam serdeczne podziękowanie za powierzenie mi do opracowania interesującego tematu oraz za cenne rady i wskazówki w toku mojej pracy.

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin UJ
w Krakowie

(Wpłynęło dn. 18.12.1962)

SUMMARY

The present experiments deal with the action of iodine vapour on mitosis in root tips of *Secale cereale*. Roots of young seedlings were exposed to iodine vapour for 5, 10 and 15 min. and kept in water for recovery from 2 to 148 hours. A distinct mitodepressive effect occurred in all the three series of experiments; it manifested itself in a decrease of mitotic frequency, as well as of the number of nuclei entering the prophase stage; a prolongation of the particular mitotic stages including metaphase could be stated. As a result, an inhibition of the longitudinal growth of the roots as well as the reduction in number of newly developed ones, was observed.

Simultaneously a toxic effect of iodine was stated. A serious damage and the necrose of deeper layers of cells led to the formation of a „barrier” separating the inner and outer tissues in the root.

Some histological changes could be also observed in the treated root tips. They consisted in the parenchymatisation of the meristematic tissues in the apical parts of the roots.

Cytological analyses have revealed lethal changes occurring in various intensity at prophase, metaphase and anaphase in series II and III as a result of toxic action. Short time after transfer to water, they manifested themselves as a pycnosis of chromosomes which affected their regular arrangement in the metaphase plate and their subsequent separation to the poles. In later stages of recovery in water the matrix dissolves, uncovering the chromonemata. In the lethal zone the metabolic nuclei lose completely their stainability, only the nucleoli stain very intensely. In the sublethal zone, owing to a preprophasic effect, the nuclei do not enter the prophase stage. Other changes consist in a defective spiralisation of the metaphasic chromosomes, as well as in the formation of sticky bridges during anaphase. In this zone the weakest degree of disturbances is expressed in a change of orientation of the mitotic spindle.

In the present experiments dealing with the action of iodine vapour on mitosis, neither spindle abnormalities leading to chromosome doubling, nor chromosome fragmentation could be stated, in contrast with the results of Chury and Slouka (1949) concerning the effect of bromine.

The present study has been carried out in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the Jagellonian University in Kraków. I am glad to have the opportunity to express my deeply felt gratitude to Prof. Dr Skalińska, Head of the Institute, for valuable guidance and never failing interest throughout the course of my work.

LITERATURA

- Allen N. S., G. B. Wilson and S. Powell, 1950, Comparative effects of colchicine and sodium nucleate on somatic chromosomes of *Allium* and *Tradescantia*. Journ. Hered. 41:159—163.
- Chury J., and Vl. Slouka, 1959, Effects of bromine on mitosis in root — tips of *Allium cepa*, Nature No 4131, 27.
- D'Amato F., 1948, The effect of colchicine and ethylene glycol on sticky chromosomes in *Allium cepa*, Hereditas 34:83—103.
- D'Amato F., 1949, Preprophase inhibition of mitoses in root meristems, Caryologia 1:109—121.
- D'Amato F., 1954, Action des facteurs physiques et chimiques sur la mitose, Huitième Congrès Intern. de Botanique, Paris 1954. Rapports et Communications parvenus avant le Congrès aux sections 9 et 10, 1—9.
- D'Amato F., 1960, Cyto-histological investigations of antimitotic substances and their effects on patterns of differentiation. Caryologia 13:339—351.
- Darlington C. D., and L. La Cour, 1945, Chromosome breakage and the nucleic acid cycle, Journ. of Genetics 46:180—267.
- Galinsky I., 1949, The effect of certain phosphates on mitoses in *Allium* roots, Journ. Hered. 40:289—295.
- Huskings L., and K. C. Cheng, 1950, Segregation and reduction in somatic tissues IV, Journ. Hered. 41:13—18.
- Kodani M., 1948, Sodium ribose nucleate and mitoses, Journ. Hered. 39:327—335.
- Levan A., 1945, A haploid sugar beet after colchicine treatment. Hereditas 31:399—410.
- Levan A., 1945, Cytological reaction induced by inorganic salt solutions, Nature 156, 751.
- Levan A., and J. H. Tjio, 1948, Induction of chromosome fragmentation by phenols, Hereditas 34:453—484.
- Levan A., 1949, Naphthalene acetic acid in the *Allium* test, Hereditas 35:337—373.
- Levan A., 1949, The influence on chromosomes and mitosis of chemicals as studied by the *Allium* test, Proc. Eighth Intern. Congr. Genetics, Stockholm, Hereditas, Suppl. Vol. 325—337.
- Levan A., and J. H. Tjio, 1951, Penicilline in the *Allium* test, Hereditas 37:306—324.
- Levan A., and K. H. Wangenheim, 1952, Potassium cyanide in the *Allium* test, Hereditas, 38:297—313.
- Nybom N., and B. Knutsson, 1947, Investigation on c-mitosis in *Allium cepa*, Hereditas 33:220—234.
- Östergren G., 1944, An efficient chemical for the induction of sticky chromosomes, Hereditas 30:213—216.
- Östergren G., 1950, Cytological standarts for the quantitative estimation of spindle disturbances, Hereditas 36:371—382.
- Steinegger E., and A. Levan, 1948, The c-mitotic qualities of colchicine, trimethyl colchicine acid and two phenanthrene derivatives, Hereditas 34:193—203.
- Vaarama A., 1947, Experimental studies on the influence of DDT insecticide upon plant mitosis, Hereditas 33:191—219.

Fig. 11—13. Mikrofotografie skrawków podłużnych stożków wzrostu *Secale cereale*.

11 — kontrola; 12 — po 76 godz.; 13 — po 100 godz. 120 ×

Longitudinal sections of root tips of *Secale cereale*. 11 — control; 12 — after 76 hours' recovery; 13 — after 100 hours' recovery. 120 ×

Fig. 14—19. Uszkodzenie tkanek merystematycznych występujące w postaci „bariery” w korzonkach po 76 godz. Mikrofotografie 14—17 przedstawiają kolejne skrawki w odległości od 45—90 μ od wierzchołka. Mikrofotografie 18—19 przedstawiają typowy wygląd wytworzonej „bariery” w dalszej części korzenia. 2140 ×

Damage of meristematic tissues leading to the formation of a „barrier”. Photos 18 and 19 represent the typical appearance of a „barrier” in older parts of the root. 2140 ×

Fig. 20. Strefa letalna. Anafaza z silnymi zmianami pyknotycznymi. Obok degenerujące jądro w komórce z wyraźnie zwakuolizowaną plazmą. 2500 ×

Lethal zone. Strongly pycnotic changes in anaphase. Nearby a degenerating nucleus. 2500 ×

Fig. 21. Strefa letalna. Silna aglutynacja chromosomów metafazowych w 28 godz. po przeniesieniu korzonków do wody. Plazma wyraźnie zwakuolizowana. W komórkę na lewo widać degenerujące jądro. 2500 ×

Lethal zone. The strongly agglutinated metaphasic chromosomes are pushed towards the cell wall by a large vacuole. Note the degenerating nucleus in the neighbouring cell. After 28 hours' recovery. 2500 ×

Fig. 22. Strefa subletalna. Chromosomy silnie pyknotyczne zachowują ułożenie późno-profazowe mimo, że niektóre chromatydy już się rozdzielają. Po 4 godz. 2500 ×

Sublethal zone. Strongly pycnotic chromosomes maintain the position of the pro-metaphase stage. Note the separated chromatids. After 4 hours recovery. 2500 ×

Fig. 23. Metafaza typu „clumped” ze strefy subletalnej w 2 godz. po przeniesieniu korzonków do wody. Silnie upłynniona substancja matrix ciągnie się wzdłuż nici plazmatycznych w komórce. 2500 ×

Clumped metaphase after 2 hours' recovery. The liquefied matrix is drawn along the plasmatic strands in the cell. 2500 ×

Fig. 24. Metafaza w komórce ze strefy subletalnej w 28 godz. 2500 ×

Metaphase in a strongly vacuolate cell from the sublethal zone after 28 hours' recovery. 2500 ×

Fig. 25. Metafazy typu profazowego po 28 godz. 2500 ×

Prophasic metaphases after 28 hours' recovery. 2500 ×

Fig. 26—28. Metafaza, w której chromosomy są całkowicie pozbawione matrix.

Ta sama komórka fotografowana w różnych płaszczyznach. 2500 ×

Metaphasic chromosomes deprived of matrix. The same cell photographed at three different levels. 2500 ×

Fig. 29. Strefa subletalna po 100 godz. Zmiany pyknotyczne matrix utrudniające rozłączanie się chromosomów. Centromery są już wyraźnie rozłączone, a ramiona chromatyd jeszcze ściśle zespolone. 2500 ×

Disturbances in the separation of daughter chromosomes after 100 hours' recovery. The chromatids are separated in the centromere region but their arms stick together. 2500 ×

Fig. 30. Strefa subletalna po 28 godz. Końce ramion chromosomów anafazowych nietypowo zwrócone są ku biegunom. 2500 ×

Sublethal zone after 28 hours' recovery. The ends of arms of anaphasic chromosomes are directed towards the poles. 2500 ×

Fig. 31. Zahamowana prometafaza w 76 godz. po przeniesieniu korzonka do wody. 2500 ×

Arrested prometaphase after 76 hours' recovery. 2500 ×

Wszystkie mikrofotografie pochodzą z drugiej serii doświadczeń, w której korzonki *Secale cereale* traktowane były parami jodu przez 10 min. Podane godziny oznaczają czas upływający od przeniesienia korzonków do wody po traktowaniu do chwili ich utrwalenia

All microphotos refer to the second series of experiments in which roots of *Secale cereale* were treated with iodine vapour for 10 min. Hours denote the period elapsing between the transfer of roots into water after treatment, and the moment of fixation

Plate I

Plate II

14

15

16

17

18

19

Plate III

Plate IV