Struktury cytoplazmatyczne megasporocyту i woreczka zalążkowego lilii obserwowane w mikroskopie elektronowym

*The cytoplasmatic structure of the megasporocyte
and embryo of a lily as seen under an electron microscope*

E. MIKULSKA i B. RODKIEWICZ

Pod skórka na szczycie młodego zalążka lilii różnicuje się komórka archesporialna (megasporocyt) będąca jednocześnie macierzystą komórką woreczka zalążkowego. Rośnie ona o wiele szybciej niż sąsiadujące komórki somatyczne, a jej jądro i cytoplazma ulegają charakterystycznym procesom, prowadzącym do ukształtowania żeńskiego gametofitu. Wzrost megasporocyту wiąże się z pomnażaniem cytoplazmy i powiększaniem się jądra, w którym jednocześnie rozpoczyna się długa profaza mejotyczna. W czasie, gdy w jądrze odbywają się przemiany profazowe, cytoplazma nie tylko się syntetyzuje, ale i ulega głębokim przemianom strukturalnym. Z tym też okresem zbiega się najintensywniejsze pomnażanie cytoplazmy, której ilość, jak się zdaje, w późniejszych fazach rozwoju gametofitu nie jest już wyraźnie zwiększana. Megasporocyt umieszczony początkowo pod skórka, stopniowo zagłębia się w zalążku dzięki podziałom i rozrastaniu się otaczających komórek.

Rozwój woreczka zalążkowego lilii odbywa się według typu *Fritillaria* (Bambacioni 1928). W typie tym powstałe po podziałach mejotycznych cztery jądra pozostają w jednej komórce i wszystkie biorą udział w budowie woreczka zalążkowego. Przy tym jedno z nich skierowuje się do bieguna mikropylarnego, a trzy do chalazalnego. Po trzecim podziale (pierwszym somatycznym) w części mikropylarnej powstają dwa jądra, a w chalazalnej podział odbywa się tak, że z trzech jąder haploidalnych powstają dwa triploidalne. W rezultacie wytwarza się wtórne stadium czterojądrowe. Po dalszym podziale tworzą się 4 haploidalne i 4 triploidalne jądra, które ostatecznie biorą udział w organizacji dojrzałego woreczka zalążkowego, gdzie prócz komórki jajowej i 2 synergid znajduje się tetraploidalne jądro centralne (ze zlania się haploidalnego z triploidalnym) i trzy triploidalne antypody.

Zatrzymamy się na dwu rodzajach przemian w megasporogenezie opisywanych w literaturze. Pierwsze dotyczą nitkowatych, fibrylarnych utworów pojawiających się w cytoplazmie, drugie mitochondriów. Przy

referowaniu prac dawniejszych autorów pominiemy zdezaktualizowaną część ich interpretacji obserwowanych faktów.

Najobszerniejsze badania nad fibrylarnymi strukturami woreczków zalążkowych wykonali bracia Bouin (1898), Orman (1913), Flint i Johansen (1958), Eymé (1961), liczne obserwacje są również rozproszone w obszernej literaturze embriologicznej. M. i P. Bouin (1898) obserwowali w cytoplazmie megasporocytów różnych *Liliaceae* obecność nitkowatych struktur. W młodych nitkowate struktury połączone są anastomozami, które następnie znikają, a swobodne nici układają się prawidłowo wokół jądra lub rozchodzą się promieniście. Stopniowo nici się skracają i grubieją, zamieniając się w pałeczkowate twory. Część ich znika, a reszta w dalszym procesie przekształca się w większe ciała, słabo zasadochłonne, o strukturze warstwicowej. Ciała te znikają w okresie mejotycznej profazy. Opisane utwory nazwali oni ergastoplazmą i, podobnie jak ergastoplazmie komórek zwierzęcych, przypisywali im funkcję w syntezie deutoplazmy. Orman (1913) w zasadzie potwierdza obserwacje Bouinów, dodając szereg dalszych spostrzeżeń. Kuliste twory powstałe z fibryl (traktowanych przez Ormana jako lamelle) zawierające osmofilne tłuszcze przed zniknięciem przekształcają się w spiralne zwoje. Autor widział obok nich bardzo drobne, kuliste mitochondria. Powstawanie ergastoplazmy nie było kojarzone z mitochondriami. Kuliste ciała miały się tworzyć bądź z samych fibryli, bądź jako produkt ich działania. Powstawanie pasm (fibryli) w cytoplazmie *Fritillaria* zbiega się wg Flinta i Johansena (1958) z aktywnością jąderka. Tworzące się nici dzięki ruchowi obrotowemu jądra owijają się wokół niego, nie wykluczony jest jednak wpływ cyklozy na rozmieszczenie nici. Przynajmniej ich część bierze udział w budowie wrzeciona achromatycznego. W megasporocytach *Helleborus* (Eymé 1961) widoczne są obok mitochondriów duże kule o charakterze lipoproteinowym. Są one po utrwaleniu płynem Regaud zupełnie homogenne, a po lepszych osmowych utrwalaczach posiadają wyraźną koncentryczną lub spiralną budowę. Nie można ustalić ich pochodzenia, ale nie ma wątpliwości, że reprezentują one ergastoplazmę. Szczególnie obfita ergastoplazma znajduje się w antypodach rozmaitych *Ranunculaceae* (Eymé 1962).

Według Guillermonda (1924) megasporocyty lili nie posiadają żadnej ergastoplazmy. Wyniki Bouinów i Ormana są skutkiem niewłaściwego utrwalania, m.in. utrwalaczami osmowymi. Przy zastosowaniu płynu Regaud w młodych megasporocytach uwidaczniają się tylko różne formy mitochondriów. W starszych zaś tylko bardzo drobne mitochondria i duże kuliste twory (uznane za plastydy) zawierające czasem osmofilne tłuszcze. Plastydy te degenerują i znikają w cytoplazmie. Po utrwaleniu osmowym mają one strukturę koncentryczną lub spiralnie uwarstwioną — są więc inaczej widzianymi ziar-

nistościami ergastoplazmy. W dalszych fazach rozwoju woreczka zalążkowego znów pojawiają się obok bardzo małych inne rodzaje mitochondriów, tworząc płaszcze mitochondrialne wokół jąder. Podobną w istocie kolejność przemian w cytoplazmie megasporocytów *Orchis latifolius* przedstawia Siwicka-Tarwidowa (1934). Zmianę wielkości i kształtu mitochondriów obserwował również Eymé (1962), który nawet nie mógł znaleźć tych organoidów w pewnych stadiach rozwoju gametofitu. Rezultaty obserwacji w mikroskopie świetlnym dowodzą, że w początkach megasporogenezy występują liczne mitochondria stosunkowo mało zróżnicowane. Następnie obraz cytoplazmy się zmienia, pojawiają się bardzo drobne mitochondria i utwory dużo większe, często zawierają tłuszcze. Te duże utwory zanikają stopniowo w cytoplazmie. W zależności od sposobu utrwalania prócz mitochondriów obserwuje się nitkowate struktury, a duże utwory wykazują warstwową budowę.

W mikroskopie elektronowym wykazano (Rodkiewicz i Mikulska 1964), że w młodych megasporocytach *Lilium candidum* znajdują się liczne mniej lub bardziej kuliste mitochondria i silnie rozwinięte pasma endoplazmatycznego *reticulum*. Pasma *reticulum* ułożone są bądź równolegle wokół jądra, bądź biegną równoległymi wiązkami w różnych kierunkach, lub wreszcie są nieregularnie rozrzucone w cytoplazmie. Z końcem mejotycznej profazy obraz cytoplazmy zmienia się wyraźnie. Mitochondria są bardzo małe, nieliczne i strukturalnie odmienne od obserwowanych we wcześniejszych stadiach. Obok nich w cytoplazmie z równoległych układów membran endoplazmatycznego *reticulum* rozwijają się układy koncentryczne zawierające czasami niezbyt duże skupienia osmofilnych tłuszczów. W ten sposób wyjaśnia się geneza kulistych ergastoplazmatycznych tworów widocznych w mikroskopie świetlnym. Natomiast sposób zmiany formy chondriomu nie został prześledzony. W dalszych stadiach rozwoju woreczka zalążkowego stwierdzono zgodnie z Guillemondem obecność płaszczy mitochondrialnych dookoła jąder, przy tym występowały mitochondria dwu rodzajów, jedne drobne i bardzo gęste elektronowoopłucznie, drugie duże i prawie pozbawione wewnętrznej struktury.

MATERIAŁ I METODY

Zalążki *Lilium candidum* można łatwo całymi szeregami wypreparować z zaląźni. Jeśli wziąć środkową część zaląźni, to stadia rozwojowe komórek generatywnych w sąsiadujących ze sobą zaląźkach będą identyczne albo bardzo zbliżone (Rodkiewicz 1961). Wykorzystano ten fakt biorąc sąsiadujące zalążki jednocześnie do obserwacji w mikroskopie elektronowym i świetlnym. Chodziło o to, że w preparatach pod mikroskopem elektronowym niełatwo od razu ustalić stadium rozwoju

komórki macierzystej, a tym bardziej woreczka zalążkowego. Obejrzenie siostrzanych zalążków w mikroskopie świetlnym dawało informacje o stadium zalążka oglądanego w mikroskopie elektronowym. Materiał był utrwalany w 2% OsO_4 w buforze weronalowym przy pH 7,4 (wg P a l a d e 1952). Tylko raz użyto materiału utrwalanego w zobojętnianej formalinie, która gorzej zachowuje struktury protoplazmy. Następnie materiał przeprowadzano przez serię alkoholi i zamykano w mieszaninie metakrylanów butylu i metylu. Skrawki wykonywano na ultramikrotomie Freiburger Präcisionsmechanik, barwiono (kontrastowano) 2% octanem uranylu i obserwowano w mikroskopie Tesla BS242.

WYNIKI

W cytoplazmie młodych megasporocytów (ryc. 1a) znajdujących się w pierwszych okresach profazy wyróżnia się dookoła jądra mniej więcej równoległe pasma endoplazmatycznego *reticulum* (tablica I, ryc. 3) oraz gęste twory, które trudno zidentyfikować jako znane organoidy komórki. Należy sądzić, że są to mitochondria, bowiem w dalszych partiach cytoplazmy (tablica I, ryc. 4), gdzie membrany *reticulum* są rzadko rozmieszczone, znajdują się mitochondria o typowym dla roślin wyższych wyglądzie, to jest ze słabo zróżnicowaną strukturą wewnętrzną. Cytoplazma podstawowa jest gęsta, i drobnoziarnista, znajdują się w niej osmofilne tłuszcze, z rzadka niewielkie ugrupowania cystern dictyosomów (aparatu Golgiego) oraz małe wakuole. W starszych nieco megasporocytach liczne pasma *reticulum* układają się równoległe do siebie (tablica II, ryc. 5). Zespoły tych pasm przebiegają w różnych kierunkach po przez cytoplazmę, tworząc w niektórych miejscach pętle.

Przy końcu mejotycznej profazy w cytoplazmie pod mikroskopem świetlnym ukazują się kuliste ciała zabarwione na ciemno osmem

Ryc. 1. Schematy niektórych stadiów rozwoju woreczka zalążkowego lillii:
a — młody megasporocyt, b — megasporocyt przy końcu mejotycznej profazy, c — wtórne stadium czterojądrowe, d — dojrzewający woreczek zalążkowy.

Diagrams of some of the stages of embryo sac development in the lily:
a — a young megasporocyte; b — megasporocyte towards the end of the meiotic prophase;
c — the second, four-nuclei stage; d — maturing embryo sac.

(ryc. 1b). W mikroskopie elektronowym obraz cytoplazmy (tablica III, ryc. 7) jest zupełnie zmieniony w porównaniu z cytoplazmą młodszych komórek. Pozostaje tylko taka sama cytoplazma podstawowa, gęsta i drobnoziarnista, na jej tle zarysowują się pojedyncze i koncentryczne ułożone koła lub elipsy membran endoplazmatycznego *reticulum*. Obszary zamknięte pojedynczymi pierścieniami endoplazmatycznego *reticulum* można by uznać za plastydy, gdyby nie częsta obecność w nich drobnych mitochondriów. W obrębie zwojów i pętli *reticulum* dosyć pospolicie występują silnie osmofilne tłuszcze. Takie same zresztą zgrupowania tłuszczu są na terenie cytoplazmy podstawowej. Niekiedy można znaleźć przy wolnych końcach nici endoplazmatycznego *reticulum* drobne pęcherzyki. Nie jest wykluczone, że ich powstanie wiąże się z membranami *reticulum*. W dalszych tu obserwowanych fazach rozwoju woreczka zalążkowego *reticulum* już tak obficie nie występuje. Struktura mitochondriów w omawianym stadium jest również poważnie zmieniona. Są one drobne, o średnicy mniejszej niż $0,5\mu$, czyli znacznie drobniejsze niż poprzednio obserwowane. Wnętrze ich jest prawie jednolicie zaczernione i nie wykazuje żadnej wyraźnej struktury, jedynie niekiedy w środku widać drobną jaśniejszą przestrzeń. Ciałka te mogłyby być łatwo przyjęte za „dense bodies“ czy „osmophilic bodies“, ale w starszych stadiach podobne, również drobne i ciemno zabarwione utwory, mają czasami wewnętrzną strukturę przypominającą mitochondria. Istnienie pośrednich form pomiędzy typowymi mitochondriami a opisywanymi tutaj gęstymi mitochondriami skłania nas do uznania tych ostatnich za prawdziwe mitochondria. Charakter związku pomiędzy gęstymi mitochondriami a mitochondriami z wcześniejszych stadiów rozwojowych megasporocytu nie został przez nas wyjaśniony. Przypuszczamy tylko, że przynajmniej część wcześniejszych mitochondriów ulega degeneracji (Rodkiewicz i Mikulska l.c.).

We wtórnym czterojądrowym stadium rozwoju woreczka zalążkowego (ryc. 1c) w cytoplazmie okołojądrowej znajdują się bardzo liczne drobne silnie osmofilne mitochondria o nieco zróżnicowanej strukturze wewnętrznej. Obok nich leżą duże mitochondria prawie puste oraz podobne do nich owalne twory, które mogą być uznane za plastydy (tablica III, ryc. 8, tablica V, ryc. 12). Te dwie wyraźnie odróżniające się kategorie, osmofilne mitochondria i pęcherzykowate organoidy są rozmieszczone w cytoplazmie jako prawie jednorodne duże zespoły, dość ostro rozgraniczone. Niektóre obszary cytoplazmy są całkowicie pozbawione organoidów, a inne — również bez organoidów — stanowią mniejsze lub większe enklawy o pęcherzykowatej strukturze (tablica V, ryc. 12). W cytoplazmie są również dosyć duże zespoły osmofilnych tłuszczów (tablica III, ryc. 8). Podstawowa cytoplazma jest rzadsza niż w stadiach poprzednich.

Dojrzewający woreczek zalążkowy (ryc. 1d) posiada biegunowo zróżnicowaną cytoplazmę. W części mikropylarnej znajdują się 3 lub 4 jądra zawieszone na cytoplazmatycznych niciach. Nasze opisy dotyczą przyjądrowych stref cytoplazmy, których jednak nie mogliśmy zlokalizować przy określonych jądrach. Znajdowaliśmy dwa rodzaje strukturalnego ukształtowanie cytoplazmy mikropylarnej. Granicząca z jądrem cytoplazma zawiera duże mniej więcej owalne lub nieregularne pęcherzykowate ciała przylegające do siebie (tablica IV, ryc. 9). Każde z nich otoczone jest własną membraną. Obok są pojedyncze drobne mitochondria i pęcherzyki (puchary) z wpukloną w nie gęstą nie zdefiniowaną cytoplazmą. Pęcherzyki te interpretujemy jako stadium niszczenia organoidów cytoplazmatycznych lub grudek podstawowej cytoplazmy. Sama cytoplazma podstawowa zajmuje tylko niewielkie przestrzenie. Obraz przyjądrowej cytoplazmy może być inny (tablica IV, ryc. 10). Wybitną cechą jest tutaj obecność licznych owalnych kropli tłuszczowych, obok których zaznaczają się delikatne membrany. Tłuszcze te nie są zbyt silnie zabarwione osmem i w rezultacie dużo jaśniejsze od nieregularnych osmofilnych skupień, występujących we wcześniejszych stadiach. W cytoplazmie brak wyraźnych organoidów, a istniejące mogą być uznane za plastydy lub ich formy degeneracyjne. Uderza mała w porównaniu z cytoplazmą gęstość jądra.

W odleglejszych od jądra częściach pasm cytoplazmy są wyraźne mitochondria, substancja podstawowa i drobne nieokreślone pęcherzyki. Pasma te mogą graniczyć z cytoplazmą komórki centralnej. Każda z tych cytoplazm posiada własną błonę cytoplazmatyczną. Brzeźna cytoplazma komórki centralnej jest rzadka, a jej organoidy zdeformowane i trudne do sklasyfikowania.

W części chalazalnej odbywają się zmiany degeneracyjne. Tu podział jąder w typie rozwojowym *Fritillaria* może przebiegać nienormalnie (Cooper 1935; Romanov 1963). Romanov przypuszcza, że zaburzenia w mitozie są spowodowane degeneracją cytoplazmy na biegunie chalazalnym. Nie mogliśmy ustalić, czy zmiany degeneracyjne poprzedzają mitozy antypodalnych jąder, ale w każdym razie podczas tych mitoz dają się one wyraźnie zauważyć. Ziarnistości podstawowej cytoplazmy są połączone w krótkie łańcuszki, a mitochondria mocno skonstrastowane. W cytoplazmie obok chromosomów znajdują się pasma materiału jądrowego (tablica VI, ryc. 14). Zmiany te, jak się zdaje, wyraźniej się zaznaczają na ryc. 13 tablica VI, gdzie cytoplazma jest jeszcze bardziej ziarnista, a część mitochondriów pozostała tylko w postaci zewnętrznych otoczek. Jeszcze dalej posunięte procesy degeneracyjne polegają na rozpadzie łańcuszków ziaren podstawowej cytoplazmy i zwiększeniu osmofilności tych ziaren. Cytoplazma jest przenizana licznymi wijącymi się i rozgałęziającymi się nićmi, które wydostają się z degenerującego jądra (tablica V, ryc. 11).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Cytoplazma rozwijającej się megaspory, a następnie woreczka zalążkowego, ulega daleko idącym przemianom. Jednoznaczna interpretacja tych procesów nie jest łatwa, a czasami niemożliwa w oparciu o rozporządzany materiał. Pierwsza sekwencja przemian dotyczy endoplazmatycznego *reticulum*, druga mitochondriów, a trzecia wiąże się z procesami, które według naszego zdania są niszczeniem (autolizą) enklaw cytoplazmatycznych i organoidów cytoplazmatycznych.

W młodym megasporocycie występuje obfite endoplazmatyczne *reticulum*, często układające się równoległymi pasmami w strefie przyjądrowej (ryc. 2a). Starsze megasporocyty charakteryzują się równoległymi pasmami *reticulum* biegnącymi w różnych kierunkach (ryc. 2b). W końcowych stadiach profazy mejotycznej pasma *reticulum* przekształcają się w koncentryczne ugrupowania (ryc. 2c), odpowiadające niewątpliwie ergastoplazmie opisywanej w mikroskopie świetlnym. Są one identycznie zbudowane, jak ergastoplazmatyczne „nebenkerne“ uzyskane w merystemie korzeni hiacynta trzymanyh w warunkach beztlenowych (Gavoudan i wsp., 1960). Zbieżność strukturalna jest tak duża, że nawet drobne pęcherzyki przy wolnych końcach nici są typowe dla obu formacji. Autorzy (Gavoudan i wsp.) nie mają jednak żadnych danych o pochodzeniu i losie obserwowanych koncentrycznych układów nici. W cytoplazmie merystemów *Elodea* i *Sinapis* trzymanyh w atmo-

Ryc. 2. Schematy struktury cytoplazmy w niektórych stadiach rozwoju woreczka zalążkowego lilii:

a — młody megasporocyt, pasma *reticulum* endoplazmatycznego równoległe do błony jądrowej, mitochondria, degenerujące mitochondria, dictyosom; b — starszy megasporocyt, równoległe pasma *reticulum* endoplazmatycznego; c — koniec profazy mejotycznej, koncentryczne pasma endoplazmatycznego *reticulum*, mitochondria; d — wtórne stadium czterojądrowe, drobne i duże mitochondria, tłuszcze.

Diagrams of cytoplasmic structure at some stages of embryo sac development in lily:

a — a young megasporocyte, strands of the endoplasmic reticulum parallel to the nuclear membrane, mitochondria, degenerating mitochondria, Golgi body; b — an older megasporocyte, parallel strands of the endoplasmic reticulum; c — end of meiotic prophase, concentric strands of the endoplasmic reticulum, mitochondria; d — second, four-nuclei stage, small and large mitochondria, lipids.

Objaśnienia do tablic I—VI

Ryc. 3—14. Preparaty z zalążków lilii (*Lilium candidum*) utrwalonych w OsO_4 i kontrastowanych octanem uranylu, tylko ryc. 5 z materiału utrwalonego w formalinie.

Oznaczenia: *ER* — endoplazmatyczne reticulum, *M* — mitochondria, *N* — jądro, *V* — wakuole, *D* — dictyosom (aparatus Golgiego), *L* — tłuszcze, *Ch* — chromosomy

Microscopic preparations of lily (*Lilium candidum*) embryos fixed in OsO_4 and differentiated in uranyl acetate. Only fig. 5 is from material fixed in formaline.

Explanations: *ER* — endoplasmic reticulum, *M* — mitochondria, *N* — nucleus, *V* — vacuole, *D* — dictyosome (Golgi apparatus), *L* — lipids, *Ch* — chromosomes

Ryc. 3. Młody megasporocyt ($\times 17000$).

Young megasporocyte ($\times 17000$).

Ryc. 4. Część komórki somatycznej i brzeżna część młodego megasporocytu ($\times 9600$).

Part of a somatic cell and a lateral portion of the young megasporocyte ($\times 9600$).

Ryc. 5. Megasporocyt, utrwalenie w formalinie, *M* — mitochondrium (?) ($\times 18800$).

Megasporocyte, fixed in formaline, *M* mitochondrion (?) ($\times 18800$)

Ryc. 6. Komórka somatyczna, prawdopodobnie o charakterze wydzielniczym ($\times 12000$).

A somatic cell, having presumably an excretory function ($\times 12000$).

Ryc. 7. Megasporocyt w końcu mejotycznej profazy, *Vs* — drobne pęcherzyki przy końcu wewnętrznego pasma reticulum ($\times 12000$).

Megasporocyte towards the end of meiotic prophase, *Vs* — minute vesicles near the inner end of a reticulum strand ($\times 12000$).

Ryc. 8. Wtórne czterojądrowe stadium woreczka zalążkowego ($\times 17000$).

Second, four-nuclei, stage of the embryo sac development ($\times 17000$).

Ryc. 9. Mikropylarny biegun dojrzewającego woreczka zalążkowego, *C* — ciało pucharowate ($\times 12000$).

Micropylar end a maturing embryo sac; *C* — cup body ($\times 12000$).

Ryc. 10. Mikropylarny biegun dojrzewającego woreczka zalążkowego ($\times 12000$).

Micropylar end of a maturing embryo sac ($\times 12000$).

Ryc. 11. Chalazalny biegun dojrzewającego woreczka zalążkowego, *F* — nici substancji jądrowej w cytoplazmie ($\times 12000$).

Chalazal end of a maturing embryo sac; *F* — strands of nuclear substance in the cytoplasm ($\times 12000$).

Ryc. 12. Wtórne czterojądrowe stadium woreczka zalążkowego, *VC* — obszar pęcherzykowej cytoplazmy ($\times 12000$).

The second, four-nuclei, stage of embryo sac development. *VC* — region of vesicular cytoplasm ($\times 12000$).

Ryc. 13. Chalazalny biegun dojrzewającego woreczka zalążkowego, *M* — degenerujące mitochondria (?) ($\times 12000$).

Chalazal end of a maturing embryo sac, *M* — degenerating mitochondria (?) ($\times 12000$).

Ryc. 14. Chalazalny biegun dojrzewającego woreczka zalążkowego, *M*₁ — mitochondrium (?), *F* — nici substancji jądrowej ($\times 12000$).

Chalazal end of a maturing embryo sac; *M*₁ — mitochondrion (?), *F* — strands of nuclear substance ($\times 12000$).

Ryc. 3

Ryc. 4

Ryc. 5

Ryc. 6

Ryc. 7

Ryc. 8

Ryc. 9

Ryc. 10

Ryc. 11

Ryc. 12

Ryc. 13

Ryc. 14

sferze CO_2 , N_2 lub w gotowanej wodzie, czyli w warunkach beztlenowych, tworzą się także koncentryczne struktury zanikające po przeniesieniu roślin do warunków normalnych (Wrischer 1960). Podobne koncentryczne figury znaleziono również w merystemie kiełkującej, a następnie podsuszanej nasturcji (Nouagarède 1963), w starzejących się strzępkach grzybni *Podospora* (Deley 1963), w komórce centralnej załączka sosny (Camelfort 1962). Podczas oogenezy u paproci rodzaju *Pteridium* istnieje również skłonność do tworzenia się układów koncentrycznych (Bell i Mühlethaler 1962). W komórkach liści *Elodea* występują z rzadka ugrupowania podobne do „nebenkerne“, powstałe z endoplazmatycznego *reticulum* (Falk i Sitte 1963). Morfologicznie są one odmienne od struktur opisywanych przez nas, a Wrischer (1960b) oraz Whaley i Mollenhauer (1959) wiążą je bezpośrednio z aparatem Golgiego.

Wydaje się więc, że powstawanie takich struktur jest zjawiskiem dosyć pospolitym. Nie ma jednak pewności, czy wszystkie koncentryczne figury cytoplazmatyczne, opisywane na różnym materiale, mają to samo pochodzenie i charakter. Można od razu wykluczyć z naszych rozważań myelinowe figury znajdujące się czasem w komórkach merystemu *Elodea*, a powstałe prawdopodobnie z rozszczepienia lipoproteidów (Menke 1959), mają one zupełnie inny wygląd, a przede wszystkim inną strukturę warstw. Camelfort przypuszcza, że obserwowane przez niego koncentryczne ugrupowania tworzą się z plastydów i składają się z kolejnych warstw substancji, rzadszej plastydowej i gęstszej cytoplazmatycznej. W naszym materiale nie widzieliśmy podobnej różnicy gęstości. Istnieje tu być może tylko powierzchowne podobieństwo pomiędzy koncentrycznymi układami cytoplazmy. W komórkach grzybni tworzy te są małe, a ilość warstw ogranicza się do dwu — trzech. Kolisty zespół endoplazmatycznego *reticulum* u nasturcji biorą udział w tworzeniu się wakuoli. W załączkach lilii znaleźliśmy komórki, prawdopodobnie wydzielnicze, w których przekształcanie się koncentrycznych ugrupowań *reticulum* odbywa się poprzez stopniowe przejście od wyraźnych membran do coraz szerszych pasm ziarnistych zagęszczeń cytoplazmy (ryc. 6).

Zespół mitochondriów, jak to już opisał Guilliermond (1924), zmienia się w czasie megasporogenezy i gametofitogenezy. Dosyć duże pęcherzykowate mitochondria zostają zastąpione drobnymi, silnie osmoofilnymi. W dalszych stadiach znów obok drobnych osmoofilnych — pojawiają się duże pęcherzykowate mitochondria (ryc. 2d). Przez cały czas bardzo trudno zidentyfikować plastydy; podobny kłopot mieli Bell i Mühlethaler obserwując niektóre stadia oogenezy paproci.

Obserwowaliśmy wielokrotnie, najczęściej w młodych megasporocytach i komórkach somatycznych załączka, obrazy interpretowane przez nas jako niszczenie mitochondriów i enklaw cytoplazmatycznych, można

je jednak interpretować inaczej. Obrazy bardzo zbliżone do naszych (Rożkiewicz i Mikulska, l.c.) opublikowali Camelfort (1962) i Sarfatti (1962). Wg pierwszego w rozwijającej się komórce centralnej zalążka sosny deformacji ulegają plastydy, przybierając kształty pucharów wypełnionych cytoplazmatyczną zawartością. Krańcowa deformacja polegałaby na stworzeniu się sferycznych plastydów zamkniętych jedno w drugim. Sarfatti podobne pucharowate struktury traktuje jako stadia dojrzewania plastydów w endospermie *Prunus amygdalus*. Nie jest oczywiście wykluczone, że pewne stadia tworzenia się plastydów mogą być podobne do stadiów autolizy protoplazmy. W naszym materiale, jak sądzimy, odbywa się niszczenie mitochondriów i innych elementów. Najbardziej przekonujące są pod tym względem obrazy wydzielniczych komórek z zalążka, gdzie odbywa się degeneracja cytoplazmy i ukazują się liczne pucharowate utwory.

Chociaż żaden z wymienionych typów przemian nie jest ograniczony do megasporocytu, to w jego cytoplazmie odbywają się one samorzutnie w określonej kolejności. Rzeczą kuszącą jest snuć przypuszczenia o możliwości związku tych przemian z podziałem redukcyjnym. Należy wspomnieć twierdzenie Navaszina (1924) o tym, że mejoza nie jest procesem jądrowym, a jest procesem komórkowym. Według naszych danych nie tylko jądro, ale i cytoplazma podczas mejozy w megasporocycie jest miejscem poważnych przemian morfologicznych.

Chcielibyśmy uprzejmie podziękować p. prof. dr Bernardowi Zabłockiemu kierownikowi Katedry Mikrobiologii Szczegółowej UŁ za udostępnienie nam mikroskopu elektronowego i p. Wacławowi Udutowi za pomoc techniczną.

Streszczenie

W mikroskopie elektronowym przeprowadzono obserwacje cytoplazmy w rozwijającym się woreczku zalążkowym *Lilium candidum*. Podczas profazy podziału redukcyjnego pasma endoplazmatycznego *reticulum* przekształcają się w koncentryczne zespoły. Morfologia mitochondriów ulega zmianie w kolejnych fazach rozwoju woreczka zalążkowego. W dojrzewającym woreczku cytoplazma bieguna mikropylarnego różni się od cytoplazmy bieguna chalazalnego.

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin UŁ
Łódź

(Wpłynęło: 31.I.1964 r.)

SUMMARY

In the developing embryo sac of *Lilium candidum*, which has a *Fritillaria* type of development, several cytoplasmic changes were observed. The young megasporocyte (Fig. 1a), has an abundant endoplasmic reticulum which is arranged around the nucleus (Fig. 3) and further away runs in parallel strands in various directions

(Fig. 5). Towards the end of meiotic prophase (Fig. 1b) strands of the endoplasmic reticulum become arranged in concentric groups (Fig. 7), which later disappear. The concentric arrangement of the reticulum during megasporogenesis shows a morphological similarity to the structures described in other cells. One gets the impression that not all these structures have an identical origin and character. The arrangement of the endoplasmic reticulum in the megasporocyte can best be compared with the ergastoplasm seen there under a light microscope. Some of the somatic cells of the lily embryo, having presumably an excretory function, also contain a concentric arrangement of the endoplasmic reticulum. In them one can distinguish a transition from distinct membranes to wide zones of denser cytoplasm (Fig. 6).

The mitochondrial complement changes in the successive phases of the embryo sac development. Often the mitochondrial structure is considerably modified. At first many typical mitochondria are to be found in the cytoplasm. Towards the end of the meiotic prophase the concentration of mitochondria in the cytoplasm declines. These latter mitochondria have small dimensions and are strongly osmophilic (Fig. 7). In the second, 4-nuclei, stage there are large associations of small osmophilic mitochondria, groups of larger mitochondria and possible plastids (Fig. 8).

In the final stages of development (Fig. 1d) the mitochondria on the chalazal end degenerate and those on the micropylar end are scarce and small, and there are also bladder-like structures difficult to identify (Fig. 9). In the chalazal cytoplasm there are many strands of a substance exuding from the degenerating nuclei (Fig. 11).

It is possible that the sequence of cytoplasmatic changes during megasporogenesis is associated with meiosis.

LITERATURA

- Bambacioni V., 1928, Ricerche sulla ecologia e sulla embriologia di *Fritillaria persica* L., Ann. di Bot. 18:7—35.
- Bell P. R., K. Mühlethaler, 1962, The fine structure of the cells taking part in oogenesis in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, J. Ultrastruc. Res. 7:452—466.
- Bouin M., P. Bouin, 1898, Sur le développement de la cellule-mère du sac embryonnaire des Liliacées et en particulier sur l'évolution des formations ergastoplasmiques, Arch. d'anat. microsc. 2:419—454.
- Camefort H., 1962, L'organisation du cytoplasme dans l'oosphère et la cellule centrale du *Pinus laricio* Por., Ann. Sc. Nat. Bot. sér. 12, 13:265—292.
- Cooper D. C., 1935, Macrosporogenesis and development of the embryo sac of *Lilium Henryi*, Bot. Gazet. 97:347—355.
- Deley C., 1963, Observations inframicroscopiques sur le mycélium „sénescant“ du *Podospora anserina* (Ascomycètes), Compt. rend. Ac. Sc. Paris, 256:4721—4724.
- Eymé J., 1961, Recherches cytologiques sur le gamétophyte femelle de *Helleborus foetidus* L. et *Helleborus niger* L., Botaniste 44:255—289.
- Eymé J., 1962, Recherches sur les constituants cytoplasmiques dans l'ovule des Renonculacées: l'ergastoplasme chez *Caltha palustris* L., *Ficaria ranunculoides* Roth. et *Nigella damascena* L., Botaniste 45:163—189.
- Falk H., P. Sitte, 1963, Zellfeinbau bei Plasmolyse, Protopl. 57:290—303.
- Flint F. F., D. A. Johansen, 1958, Nucleocytoplasmic relationship in the *Fritillaria* type of megagametogenesis, Amer. J. Bot. 45:464—472.

- Gavaudan P., H. Poussel, M. Guyot, 1960, Production expérimentale dans la cellule végétale anoxique de „nebenkerns“ ergastoplasmiques, *Compt. rend. Ac. Sc. Paris* 250:4029—4031.
- Guilliermond A., 1924, Recherches sur l'évolution du chondriome pendant le développement du sac embryonnaire et des cellules mères des grains de pollen dans les Liliacées et sur la signification des formations ergastoplasmiques, *Ann. Sc. Nat. Bot. sér. 10*, 6:5—52.
- Menke W., 1959, Myelinfiguren im Cytoplasma meristematischer Zellen, *Protopl.* 51:127—130.
- Navaszin S. G., 1924, Redukcionnoe delenie pered obrazovaniem spor u Plasmodiophora Brassicae Woron., *Dokl. Ross. Akad. Nauk*, 173—175.
- Nouagarède A., 1963, Premières observations sur infrastructure et sur l'évolution des cellules des jeunes ébouches foliaires embryonnaires du *Tropeolum majus* L. Cytologie de l'hydratation germinative et des premières étapes de la germination, *Compt. rend. Ac. Sc. Paris*, 257:1495—1497.
- Orman E., 1913, Recherches sur les différenciations cytoplasmiques (ergastoplasme et chondriosomes) dans les végétaux I. Le sac embryonnaire des Liliacées, *La Cellule* 28:365—441.
- Palade G. E., 1952, A study of fixation for electron microscopy, *J. Exper. Med.* 95:285—298.
- Rodkiewicz B., 1961, Fazy rozwoju woreczka zalążkowego w zestawieniu z rozwojem pyłku u *Lilium candidum*, *Acta Soc. Bot. Pol.* 30:749—754.
- Rodkiewicz B., E. Mikulska, 1964, Electron microscope observations of cytoplasmic changes in developing megasporocyte of *Lilium candidum*, *Flora* 154:383—387.
- Romanov J. D., 1963, Anomalnye mitozy i citoplazmaticzeskij gradient v zarodyszevykh meszkach nekotorych cvetkovykh rastienii, *Citolog.* 5:623—629.
- Sarfatti G., 1962, Prime ricerche al microscopio elettronico sull'endosperma del mandorlo (*Prunus amygdalus* Stokes), *Caryol.* 15:1—20.
- Siwicka-Tarwidowa H., 1934, Sur l'évolution du chondriom pendant le développement du sac embryonnaire de *l'Orchis latifolius* L., *Acta Soc. Bot. Pol.* 11:511—539.
- Whaley W. H., H. H. Mollenhauer, J. E. Kephart, 1959, The endoplasmic reticulum and the Golgi structures in maize root cells. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 5:501—506.
- Wrischer M., 1960a, Veränderungen des endoplasmatischen Reticulums pflanzlicher Zellen, verursacht durch Sauerstoffmangel. *Naturwiss.* 47:521—522.
- Wrischer M., 1960b, Über die Ursachen der Formveränderungen der Golgi Körper in pflanzlichen Zellen. *Naturwiss.* 47:522—523.