ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXXV — nr 2
1966

Struktury w cytoplazmie rozwijającego się woreczka zalążkowego obserwowanego w mikroskopie elektronowym

Cytoplasmic structures in a developing embryo sac studied by electron microscopy

B. RODKIEWICZ i E. MIKULSKA

W niniejszej pracy prześledzono przemiany, jakim ulegają elementy endoplazmatycznego reticulum w czasie rozwoju woreczka zalążkowego lilii (*Lilium candidum*) od dość wczesnego okresu pierwszej profazy mejotycznej do dojrzewającego, ośmiojądrowego podzielonego na komórki woreczka zalążkowego, oraz dodatkowo w megasporocycie tulipana ogrodowego. Rozwój woreczka zalążkowego w rodzaju lilii i u tulipana ogrodowego odbywa się według typu *Fritillaria* (Maheshwari 1950).

Komórka archesporialna u roślin z rozwojem typu *Fritillaria* rozrasta się nadzwyczaj silnie przed profazą, a szczególnie w czasie pierwszej profazy mejotycznej, osiągając u *Lilium candidum* wymiary do 160—200 μ długości i 50—60 μ szerokości (Rodkiewicz 1961; Eymé 1965). Wzrost ten jest głównie wynikiem wyjątkowo intensywnego pomnażania się materiału cytoplazmatycznego w magasporocycie. Przez cały czas cytoplazma megasporocytu pozostaje gęsta, bez wyraźnych wakuoli i wykazuje dużą zawartość białek, kwasu rybonukleinowego oraz liczne krople i strefy dające reakcje na tłuszcze. Bardzo obfite struktury włókienkowate czy blaszkowate rozmieszczone w rozmaity sposób stanowią system opisywany jako ergastoplazma jeszcze przez Bouina i Bouin (1898), jak również Ormana (1912) i Eymégo (1965). Struktury te i ich przemiany widzieli także Mottier (1897), Guilliermond (1924), Flint i Johansen (1958), jednak ich interpretacja była odmienna.

Ergastoplazma jest na ogół utożsamiana z szorstkim reticulum endoplazmatycznym. Ergastoplazmatyczne struktury membranowe ułożone często jedna obok drugiej w duże zespoły są najbardziej rzucającym się w oczy elementem cytoplazmatycznym megasporocytu. Struktury te są doskonale widoczne w mikroskopie świetlnym po utrwalaczach osmowych, szczególnie (według Eymégo, 1965) po płynie Champy; inne utrwalacze deformują w mniejszym lub większym stopniu układy membran, ale pozostają one nawet po utrwalaczach octowo-alkoholowych.

Układ membran zmienia się prawidłowo w miarę rozwoju megasporocytu. Początkowo mniej więcej równolegle ułożone membrany otaczają jądro komórkowe, później układ ten ulega zmianie i membrany rozchodzą się promieniście od jądra. Z końcem pierwszej profazy mejotycznej tworzą się duże kuliste ciała zbudowane z kilku koncentrycznych membran, wielowarstwowe układy zanikają,

a na ich miejsce pojawiają się ciałka cytoplazmatyczne o średnicy 2—5 μ. Powstawanie tych ciał „nodules cytoplasmiques" wiąże Eymé (1965) z endoplazmatycznym reticulum.

W poprzednich pracach, wykonanych przy użyciu mikroskopu elektronowego, przedstawiono niektóre procesy morfologiczne odbywające się w cytoplazmie megasporocytu i woreczka zalążkowego lilii (Rodkiewicz i Mikulska 1963, 1965; Mikulska i Rodkiewicz 1964, 1965). Różnorodność i skomplikowanie przemian strukturalnych w cytoplazmie okazała się tak duża, że nie udało się nam wyjaśnić wielu szczegółów dostępnych dla nas przy zastosowanej technice. Interpretacja obserwowanych przemian w odniesieniu do procesów fizjologicznych jest zupełnie spekulatywna. Został jednak zarysowany ogólny plan przemian odbywających się w cytoplazmie gametofitu.

Możliwości dokładniejszego ocenienia i opisu widzianych struktur były ograniczone przez słabą rozdzielczość posiadanego mikroskopu elektronowego i konieczność, wynikłą z braku chemikaliów, stosowania wyłącznie utrwalacza osmowego i zatapiania materiału w metakrylanach. Metody te jakkolwiek dobre i wiarygodne, ustępują nowszym, szczególnie tym, w których używa się do zatapiania araldytu lub eponu.

METODY

Zalążki lilii (*Lilium candidum*) i tulipana ogrodowego utrwalano w 2% roztworze OsO_4 w buforze weronalowym o pH 7,4, przeprowadzano przez serię alkoholi do mieszaniny metakrylanów butylu i metylu. Preparaty do mikroskopu elektronowego wykonywano na mikrotomie Freiberger Präzisionsmechanik. Preparaty były następnie kontrastowane w roztworze octanu uranylu i oglądane w mikroskopie elektronowym Tesla BS242.

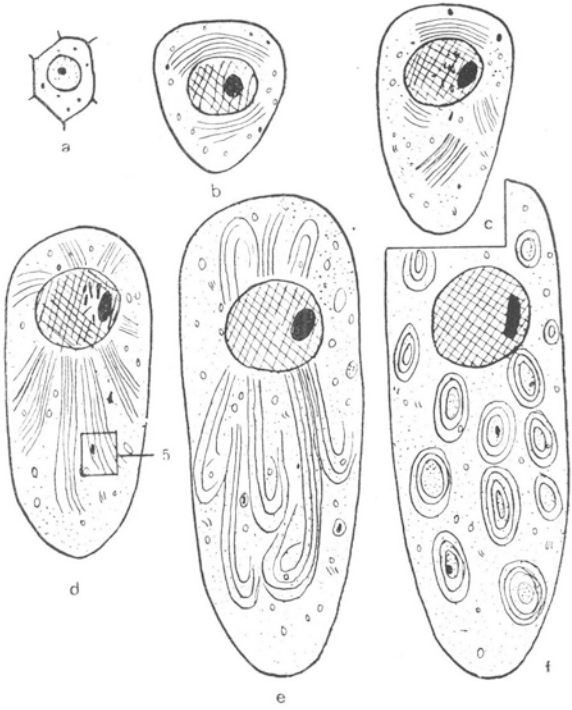
OBSERWACJE

Endoplazmatyczne reticulum megasporocytu

Występujące w megasporocycie lilii i tulipana membrany cytoplazmatyczne, opisywane jako ergastoplazma, są ściankami dużych płaskich zbiorników (cystern) endoplazmatycznego reticulum. Cysterna składa się z dwu membran i przestrzeni międzymembranowej. Na przedstawionych fotografiach megasporocytu widać najczęściej pojedyńcze czarne linie obrazujące przekroje (profile) cystern, których membrany leżą bardzo blisko siebie, a światło jest silnie zredukowane (ryc. 5), dopiero w starszych fazach rozwoju woreczka zalążkowego pojawia się endoplazmatyczne reticulum, w którym odległość pomiędzy membranami jest duża, i staje się widoczne optycznie puste, szerokie światło cysterny (ryc. 19). Wydaje się, chociaż ze względu na ograniczenia techniczne nie otrzymano odpowiednio jasnych obra-

zów, że większość obserwowanych membran endoplazmatycznego reticulum ma charakter szorstki, t. zn. przylegają do nich drobne ciemne ziarenka — rybosomy.

We wczesnym stadium rozwoju megasporocytu, mniej więcej z początkiem pierwszej profazy mejotycznej, pewna ilość cystern endoplazmatycznego reticulum układa się równolegle do siebie tworząc zespoły wokół jądra komórkowego, inne pojedyncze cysterny przecinają w różnych kierunkach cytoplazmę. W miarę wzrostu megasporocytu pojawiają się równoległe układy cystern ER zarówno wokół jądra, jak i w odległych od jądra częściach komórki. Cysterny zmieniają swe położenie i układają się prostopadle do jądra komórkowego. W rezultacie jądro staje się ośrodkiem, od którego rozchodzą się promieniście wąskie pofalowane cysterny ER (ryc. 1 *a—d*, 5). Ani razu nie udało się tutaj zaobserwować związku pomiędzy cys-

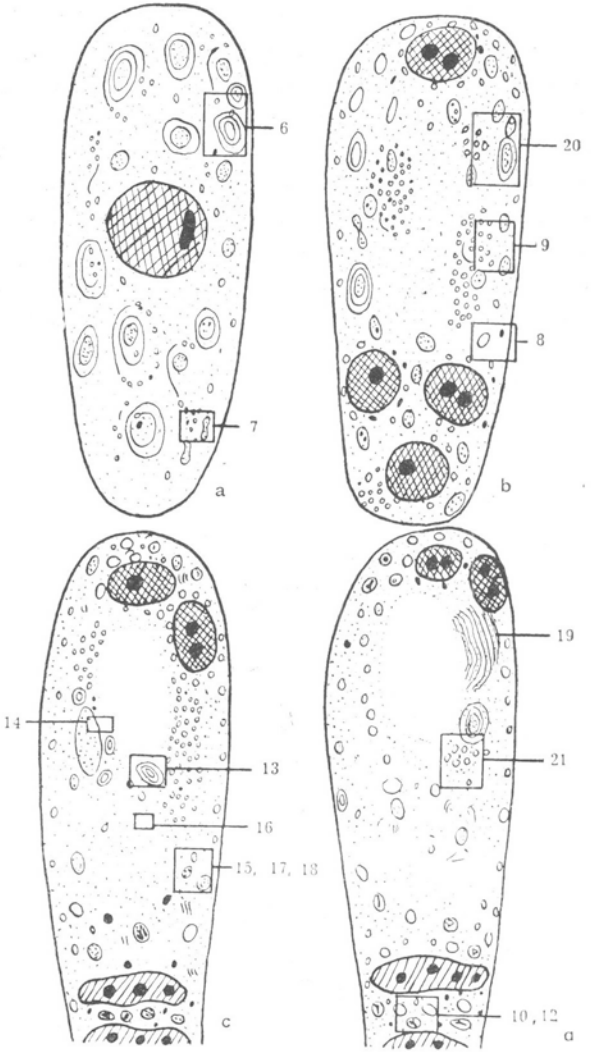


Ryc. 1. Schemat rozwoju struktur membranowych endoplazmatycznego reticulum (ER) w megasporocycie lilii

Na schemacie 1*d* oznaczono miejsce przedstawione na elektronografie nr 5; *a* — archespora, *b* — *c* — rozwijający się megasporocyt z równoległymi cysternami ER; *d* — promienisty układ cystern ER — ich związek z błoną jądrową nie został wyjaśniony; — cysterny ER o promienistym układzie w początkowym okresie zwijania się i tworzenia wielowarstwowych zespołów, *f* — cysterny ER uformowane w sferyczne wielowarstwowe ciała

Diagram of development of membrane structures of endoplasmic reticulum (ER) in the *Lilium candidum* megasporocyte

In diagram 1*d*, the area presented on electronograph No. 5 is marked. *a* — archespore; *b* — *c* — developing megasporocyte with parallel ER cisterns; *d* — radial system of ER cisterns — their connection with the nuclear membrane remains obscure; *e* — radial system of ER cisterns at initial period of coiling and formation of multilayer systems; *f* — ER cisterns forming spherical multilayer bodies



Ryc. 2. Schemat rozwoju woreczka zalążkowego lilii. Cyframi oznaczono miejsca przedstawione na odpowiednich elektronografach

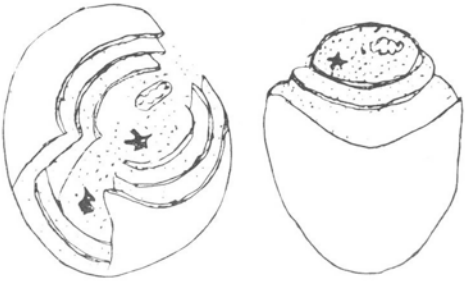
a — początek fragmentacji cystern ER i tworzenia się pęcherzyków w megasporocycie; *b* — pierwsze stadium czterojądrowe; pojedyncze ciała cytoplazmatyczne i warstwowe ciała cytoplazmatyczne oraz pola pęcherzyków; *c* — wczesne drugie stadium czterojądrowe; duże wakuole, pojedyncze ciała cytoplazmatyczne, pola pęcherzyków; *d* — późna faza drugiego stadium czterojądrowego, ciała cytoplazmatyczne, optyczne puste ciała, wakuola, układy membran ER

Diagram of development of lily embryo sac. Figures denote areas presented on respective electronographs

a — beginning of fragmentation of ER cisterns and formation of vesicles in the megasporocyte; *b* — first 4-nucleate stage; single cytoplasmic bodies stratified cytoplasmic bodies and areas of vesicles; *c* — early second 4-nucelate stage; large vacuoles, single cytoplasmic bodies, areas of vesicles; *d* — late phase of second 4-nucleate stage; cytoplasmic bodies, optically empty bodies, vacuoles, system of ER membranes

ternami a błoną jądrową, natomiast dobrze widoczne były zakończenia cystern znajdujące się w cytoplazmie. Niekiedy końce cystern były rozdęte w postaci pęcherzyka lub miały widełkowato rozchylone membrany.

W wyrośniętym megasporocycie odbywa się dalsza zmiana układu cystern endoplazmatycznego reticulum. Mianowicie grupy płaskich, dużych cystern, tworzących mniej więcej równoległe zespoły, zostają zwinięte i przekształcone w zamknięte, wielowarstwowe układy, wykazujące na przekroju budowę koncentryczną (ryc. 1*e*, *f*). Trójwymiarową budowę odtworzono przy porównywaniu serii preparatów z kolejnych płaszczyzn przecięcia jednego z układów (Rodkiewicz i Mikulska 1965). Układ taki stanowi wyodrębnione z cytoplazmy kuliste lub elipsoidalne ciało,



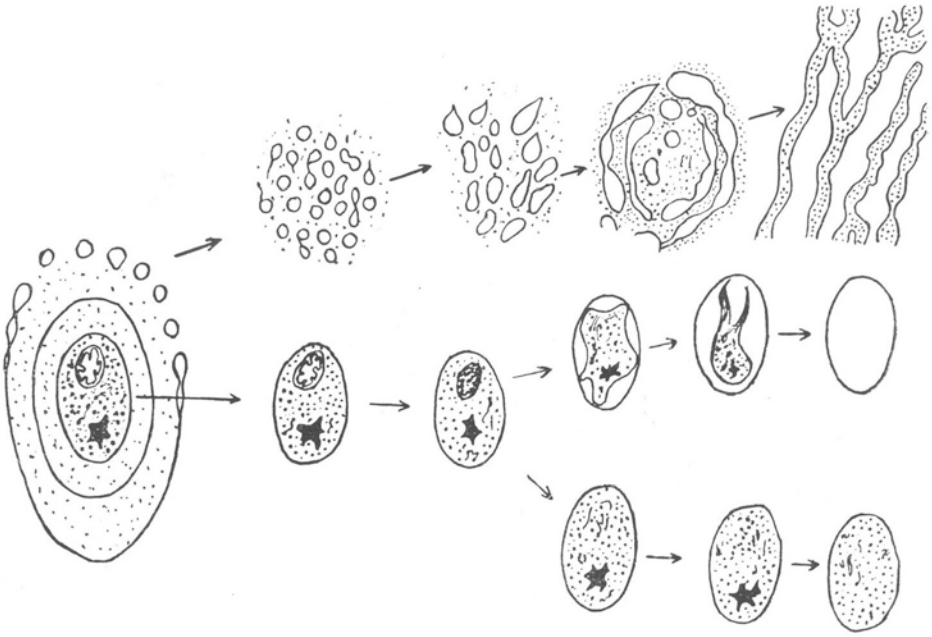
Ryc. 3. Trójwymiarowa rekonstrukcja wielowarstwowego ciała cytoplazmatycznego. Sferyczne cysterny endoplazmatycznego reticulum poprzedzielane warstwami cytoplazmy
Tridimensional reconstruction of multilayer cytoplasmic body. Spherical cisterns of endoplasmic reticulum separated by cytoplasmic layers

składające się z kilku sferycznych współśrodkowych cystern ER oraz warstw cytoplazmy pomiędzy cysternami (ryc. 3). Podczas tworzenia się sferycznych układów zawijające się cysterny ograniczają i zamykają porcje cytoplazmy wraz ze znajdującymi się w niej składnikami morfotycznymi, najczęściej mitochondriami i ciałkami osmofilnymi, rzadko z dictyosomami, których w ogóle niezbyt wiele jest w podstawowej cytoplazmie. Wynika stąd, że w efekcie partie podstawowej cytoplazmy są odgraniczane i wyodrębniane jako oddzielne jednostki w cytoplazmie komórkowej.

Początkowo profile powstałych w ten sposób ciał cytoplazmatycznych są owalne lub nieco bardziej wydłużone, rzadko koliste. Ciała składają się z kilku współśrodkowych cystern poprzedzielanych warstwami cytoplazmy. Obserwowano często 7—8 warstwowe ciała o około 8—10 μ długości i 4—6 μ szerokości. Cytoplazma zamknięta w ciałach cytoplazmatycznych bywa optycznie gęstsza, szczególnie w ośrodku ciała, lub w warstwach centralnych, w porównaniu z cytoplazmą podstawową. W dużym megasporocycie ostatecznie wszystkie membrany ER zostają wykorzystane do budowy ciał cytoplazmatycznych.

Już w stadium późnej profazy mejotycznej rozpoczyna się rozpad sferycznych

cystern ER, w rezultacie tego ilość warstw w ciałach cytoplazmatycznych zmniejsza się. Później, w miarę rozwoju, w woreczku zalążkowym prawie wszystkie ciała wielowarstwowe przekształcają się w pojedyncze. Sferyczne cysterny ER stanowiące ścianki ciał cytoplazmatycznych zostają rozczłonkowane na drobne pęcherzyki (ryc. 2*a*). Rozpadają się przede wszystkim zewnętrzne cysterny układu, ale wielokrotnie obserwowano również rozpad cystern wewnętrznych. Udało się znaleźć przekonywujące obrazy pęcherzykowacenia zewnętrznych cystern cytoplazmatycznych ciał. Na przekroju koncentryczne zamknięte cysterny były otoczone cysterną półkolistą zakończoną po obu stronach pęcherzykami oraz uzupełnioną półkolem swobodnych pęcherzyków leżących w tym miejscu, gdzie poprzednio powinna była być nienaruszona cysterna (ryc. 4). W efekcie kolejnego rozpadu zewnętrznych cystern pozostaje tylko nienaruszony ośrodek, dużo mniejszy od wielowarstwowego ciała i na ogół optycznie gęstszy niż cytoplazma podstawowa. Kiedy cysterny ulegają pęcherzykowaceniu, odizolowane poprzednio warstwy cytoplazmy łączą się znowu z cytoplazmą podstawową. Czasami widoczne są układy membran, w których zewnętrzne cysterny pozostawały nienaruszone, a wewnętrzne rozpadały się na



Ryc. 4. Schemat przekształceń wielowarstwowego ciała cytoplazmatycznego podczas rozwoju woreczka zalążkowego lilii

Zewnętrzne cysterny ER rozpadają się kolejno na pęcherzyki, z których następnie formuje się system rurkowatego ER. Pozostały ośrodek wielowarstwowego ciała — pojedyncze ciało cytoplazmatyczne, którego zawartość może ulegać stopniowej deformacji i zanikowi lub pozostaje nienaruszona aż do stadium dojrzewającego woreczka zalążkowego

Diagram of transformations of multilayer cytoplasmic body in the development course of the lily embryo sac

External ER cisterns successively disintegrate to vesicles from which later the tubular ER system is formed. The remaining centre of the multilayer body — the single cytoplasmic body, the contents of which may undergo successive deformation and disintegration or remains intact till the stage of ripening of the embryo sac

pęcherzyki. Luźno leżące pęcherzyki były wtedy w ośrodku albo w którejś z warstw cytoplazmy pomiędzy cysternami. Powstałe w ten sposób pojedyncze ciała mogły mieć znaczne rozmiary.

Ciała cytoplazmatyczne i ER w woreczku zalążkowym

W woreczku zalążkowym znajdującym się prawdopodobnie w pierwszym stadium czterojądrowym, cytoplazma zawiera liczne pojedyncze i mniej liczne wielowarstwowe ciała cytoplazmatyczne oraz duże przestrzenie z drobnymi pęcherzykami o średnicy około 0,2 μ (ryc. 2*b*). Ciała cytoplazmatyczne bezwątpienia mogą zmieniać swój kształt, ciała pojedyncze i niewielowarstwowe są często silnie wydłużone, a w okresie rozpadu cystern mogą się stawać nieregularne (ryc. 6, 7). Na ogół wygląd ciał cytoplazmatycznych jest różny w różnych stadiach rozwoju gametofitu, jednak ani zmiany kształtu, ani rozpad membran nie są ściśle zsynchronizowane. We wczesnych stadiach rozwoju obok masy ciał wielowarstwowych spotyka się ciała pojedyncze, a w późniejszych, np. we wtórnym stadium czterojądrowym, obok pojedynczych zdarzają się wielowarstwowe (ryc. 12). Te jednak nie są tak samo zbudowane jak odpowiednie ciała w megasporocycie: wymiary ich są drobne, a koncentryczne cysterny leżą blisko siebie.

Chociaż wydaje się, że wszystkie membrany ER zostają w megasporocycie wykorzystane do budowy ciał cytoplazmatycznych, to jednak znajdują się bardzo rzadko cysterny endoplazmatycznego reticulum w czterojądrowym woreczku zalążkowym. W wąskim pasmie cytoplazmy pomiędzy wakuolami znaleziono duży zespół elementów szorstkiego endoplazmatycznego reticulum (ryc. 13). Koncentryczną strukturą zespół ten przypomina wielowarstwowe ciało cytoplazmatyczne, ale na jego odrębny charakter wskazują: brak gęstej wewnętrznej zawartości, wielka liczba i ukształtowanie cystern.

W pierwszym i drugim stadium czterojądrowym, oraz w megasporocycie spotyka się ciała cytoplazmatyczne z przewężeniem; mogą to być ciała pojedyncze lub niewielowarstwowe, zwykle wydłużone. Można sądzić, że następuje tu rozdzielenie się jednego ciała cytoplazmatycznego na dwie części. Szczególnie sugestywny jest obraz (ryc. 20), na którym w przewężeniu widoczne jest drobne osmofilne ziarenko i pęcherzyk, sygnalizujący rozpad w tym miejscu błony.

Pod koniec drugiej fazy czterojądrowej woreczka zalążkowego widać szczególnie dużo pojedynczych ciał cytoplazmatycznych ze zdeformowaną zawartością, oraz pozbawionych zawartości (ryc. 10, 12). Należy sądzić, że występujące w pierwszym stadium czterojądrowym liczne ciała cytoplazmatyczne (ryc. 8) ulegają szeregowi przemian morfologicznych, dających się objaśnić trawieniem ich zawartości Początek przemian zaznacza się rozszczepianiem się na dwie części błony otaczającej ciało cytoplazmatyczne. Można przypuszczać, że błona ta jest podwójna, ponieważ powstała z cysterny endoplazmatycznego reticulum. Zewnętrzna błona zachowuje owalny kształt ciała, wewnętrzna wpukla się w kilku miejscach przylegając do kurczącej się treści cytoplazmatycznej. Pomiędzy błonami tworzy się optycznie pusta lub słabo ziarnista przestrzeń. Ponieważ błona wewnętrzna odrywa się nie-

jednocześnie we wszystkich miejscach, to optycznie pusta przestrzeń wygląda jak kilka spłaszczonych pęcherzy ułożonych koliście i stykających się ze sobą końcami (ryc. 10). W ten sposób ziarnista zawartość ciała cytoplazmatycznego przybiera nieregularny, powyginany kształt. Kurczenie się zawartości postępuje dalej, przy czym ulega ona dalszej deformacji stając się gwiazdzista lub postrzępiona, a jednocześnie ziarnista substancja nabiera większej osmofilności, często wybarwiając się osmem zupełnie jednolicie. Ostatecznie widoczna treść ciała cytoplazmatycznego całkowicie zanika, pozostawiając tylko optycznie pusty pęcherzyk otoczony błoną. Ponieważ proces odbywa się stopniowo w wielu ciałach, na jednym preparacie obok siebie leżą pojedyncze ciała cytoplazmatyczne, puste pęcherzyki i rozmaite stadia przejściowe (ryc. 12) z mniej lub więcej zdeformowaną zawartością. Liczba optycznie pustych pęcherzy i zdeformowanych ciał cytoplazmatycznych wzrasta w stosunku do ilości nienaruszonych ciał w miarę dojrzewania gametofitu i stąd można sądzić o kierunku procesu. W najpóźniejszych obserwowanych stadiach, prawdopodobnie w dojrzałym woreczku zalążkowym, znajdowały się już tylko nieliczne pojedyncze ciała cytoplazmatyczne.

Niektóre rzadziej spotykane obrazy wskazują na istnienie odmiennego sposobu zanikania wielowarstwowych układów endoplazmatycznego reticulum. W tym wypadku cysterny nie rozpadają się na drobne pęcherzyki, ale tworzą się na ich miejsce większe optycznie puste przestrzenie. Zawartość cytoplazmatyczna układu ulega fragmentacji na szereg grudek rozmaitych wymiarów (ryc. 15, 17, 18).

Wspomniano, że przy tworzeniu się ciał cytoplazmatycznych cysterny endoplazmatycznego reticulum zamykają część podstawowej cytoplazmy razem z mitochondriami i innymi elementami strukturalnymi. Zamknięte w wielowarstwowych ciałach mitochondria przez długi czas wyglądają tak samo, jak i mitochondria w zewnętrznej cytoplazmie. Należy więc sądzić, że po zdemontowaniu zewnętrznych błon wielowarstwowego ciała nie uszkodzone mitochondria trafiają z powrotem do podstawowej cytoplazmy. Jednak zamknięte mitochondria we wtórnym, a częściowo i pierwszym stadium czterojądrowego woreczka zalążkowego są mniejsze i bardziej osmofilne od mitochondriów zewnętrznych (ryc. 20). W końcu w ciałach cytoplazmatycznych nie ma już mitochondriów, a tylko ciemne osmofilne ciała owalnego kształtu. Przynajmniej część z nich powinna być przekształconymi, degenerującymi się mitochondriami.

Pęcherzykowate endoplazmatyczne reticulum woreczka zalążkowego

Liczne pęcherzyki o średnicy około 0,2 μ, powstałe z rozpadu błon cytoplazmatycznych, skupiają się w wielkie grupy o średnicy kilkunastu mikronów i są widoczne na preparatach z woreczków zalążkowych w pierwszym i wtórnym stadium czterojądrowym. Początkowo wśród masy pęcherzyków znajdują się krótkie odcinki cystern ER (ryc. 9). Profil każdego takiego fragmentu zakończony jest po obu stronach pęcherzykowatym nabrzmieniem. Przypomina to w pewnym stopniu pojedynczą cysternę aparatu Golgiego, ale zarówno geneza tych odcinków, jak i brak charakterystycznego dla dictyosomu układu kilku równoległych cystern

Tablica I — Plate I

5. Megasporocyt tulipana. Blisko leżące pary szorstkich membran ednoplazmatycznego reticulum (cysterny ER) — na zdjęciu widoczne jako pojedyncze linie; *L* — ciało osmofilne, *M* — mitochondria, *C* — pęcherzyk (wakuola ?) ze zdeformowaną cytoplazmą. ×9000.

Megasporocyte of the tulip. Neighbouring pairs of rough membranes of the endoplasmic reticulum (ER cisterns) are visible as single lines on the photo: *L* — osmiophilic body, *M* — mitochondria, *C* — vesicle (vacuole ?) with deformed cytoplasm. 9000×.

Tablica II — Plate II

6—7. Dojrzały megasporocyt (albo nieco późniejsze stadium) lilii. Wielowarstwowe ciała cytoplazmatyczne w trakcie dezintegracji membran: *v* — pęcherzyki powstałe z rozpadających się cystern ER; *c* — pojedyncze ciało cytoplazmatyczne. ×9000.

Mature megasporocyte (or somewhat later stage) of the lily. Multilayer cytoplasmic bodies in the course of membrane disintegration; *v* — vesicles formed from disintegrating ER cisterns; *c* — single cytoplasmic body. 9000×.

Tablice III—VI — Plates III—VI

8—21. Cytoplazma z rozwijającego się woreczka zalążkowego lilii.
Cytoplasm of the developing embro sac of the lily.

Tablica III — Plate III

8 — Pierwsze stadium czterojądrowe; *c* — ciała cytoplazmatyczne, *vm* — grupa pęcherzyków i zarys rozpadającej się błony pojedynczego ciała cytoplazmatycznego, *w* — błona komórkowa woreczka zalążkowego.

9 — *v* — pole pęcherzyków, *vm* — rozpadające się odcinki cystern ER, *c* — pojedyncze ciało cytoplazmatyczne. ×10000.

8 — First 4-nucleate stage, *c* — cytoplasmic body, *vm* — group of vesicles and outline of disintegrating membranes of a single cytoplasmic body, *w* — cell wall of embryo sac.

9 — *v* — vesicle area, *vm* — disintegrating segments of ER cisterns, *c* — single cytoplasmic body. 10000×.

Tablica IV — Plate IV

10 — Wtórne stadium czterojądrowe, c_1, c_2, c_3 — przypuszczalne trzy kolejne fazy zaniku zawartości ciała cytoplazmatycznego. ×9000.

11 — Zdegenerowana strefa cytoplazmy. ×14000.

12 — Wtórne stadium czterojądrowe, *N* — jądra antypodalne, *c* — trójwarstwowe ciało cytoplazmatyczne ze zdeformowaną zawartością. ×9000.

10 — Secondary 4-nucleate stage. c_1, c_2, c_3 — three hypothetic successive phases of the disappearance of the cytoplasmic body contents 9000×.

11 — Degenerated cytoplasmic zone. 14000×.

12 — Secondary 4-nucleate stage, *N* — antipodal nucleus, *c* — 3-layer cytoplasmic body alongside optically empty spaces and cytoplasmic bodies with deformed contents 9000×.

Tablica V — Plate V

13 — Profil wielowarstwowego układu szorstkich membran ER w wąskim pasmie cytoplazmy pomiędzy dwiema wakuolami (*v*), w jednej z wakuoli resztki cytoplazmy. ×8000.

14 — Pasmo cytoplazmy pomiędzy wakuolami (*v*), jedna wakuola optycznie pusta, druga z gęstą zawartością. ×9000.

15, 17, 18 — Obrazy rozpadu wielowarstwowych ciał cytoplazmatycznych. ×10000.

16 — Błona oddzielająca dwie strefy w woreczku zalążkowym. Z całości obrazu wynikało, że strefa (*v*) jest wakuolą, a strefa (*ct*) cytoplazmą. ×9000.

13 — Profile of multilayer system of rough ER membranes in the narrow cytoplasmic strand between two vacuoles (*v*), one vacuole contains remains of cytoplasm. 8000×.

14 — Cytoplasmic strand between two vacuoles (*v*), one vacuole optically empty, the other with dense contents. 9000×.

15, 17, 18 — Pictures od disintegration of multilayer cytoplasmic bodies, 10000×.

16 — Membrane separating two zones of the embryo sac. The entire picture indicates that zone *v* is a vacuole and zone *ct* — cytoplasm. 9000×.

Tablica VI — Plate VI

19 — Dojrzewający woreczek zalążkowy. Uorganizowana część cytoplazmy komórki centralnej. ×16000.

20 — Pierwsze stadium czterojądrowe, przewężone ciała cytoplazmatyczne, *L* — osmofilne ziarenko, *M* — mitochondria. ×9000.

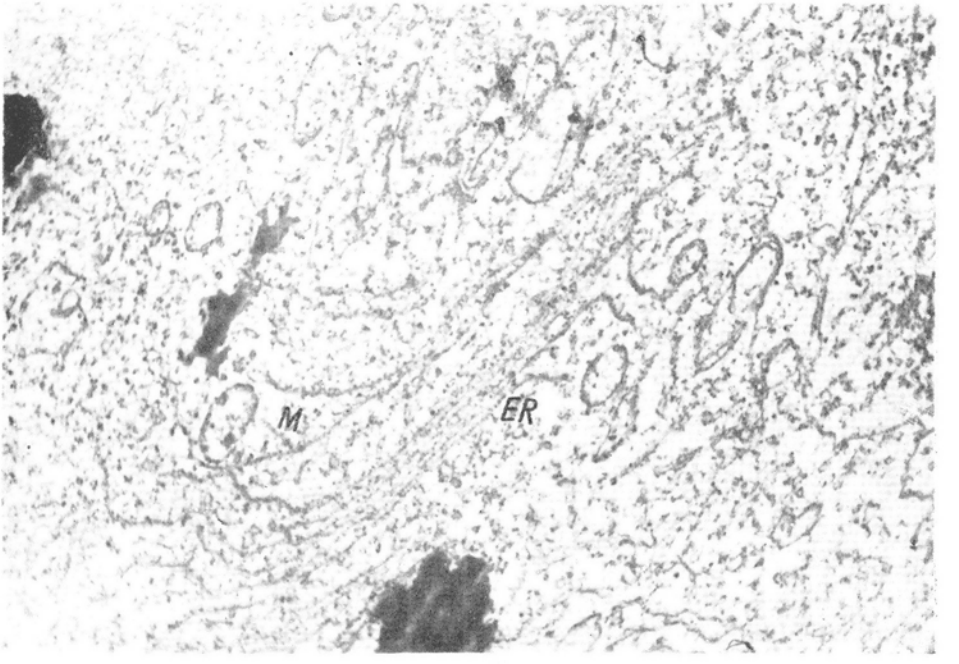
21 — Późne wtórne stadium czterojądrowe, układ pęcherzyków w cytoplazmie sugeruje początek tworzenia się struktury widocznej na ryc. 19.

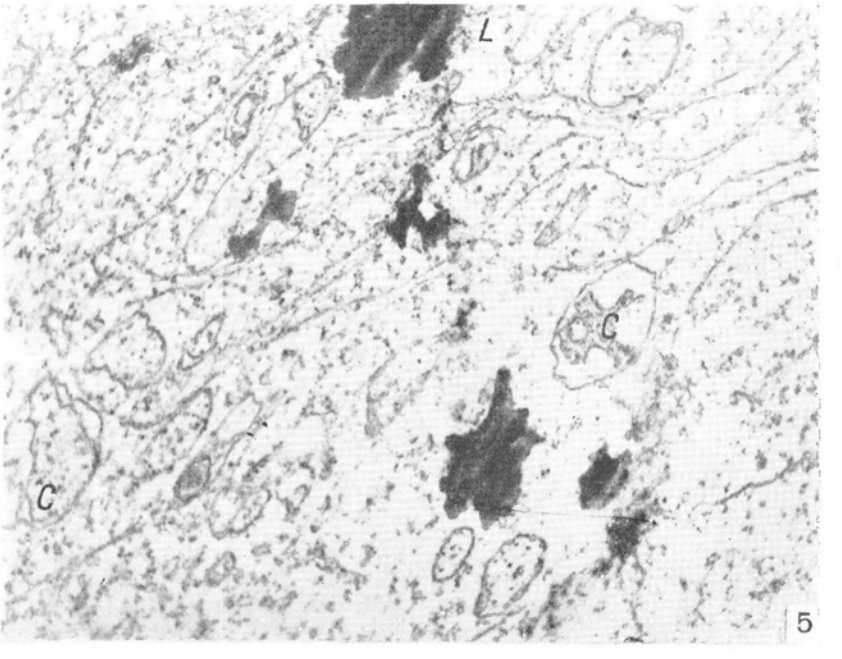
19 — Ripening embryo sac. Organized part of cytoplasm of the central cell. 16000×.

20 — First 4-nucleate stage, constricted cytoplasmic body. *L* — osmiophilic grain, *M* — mitochondria. 9000×.

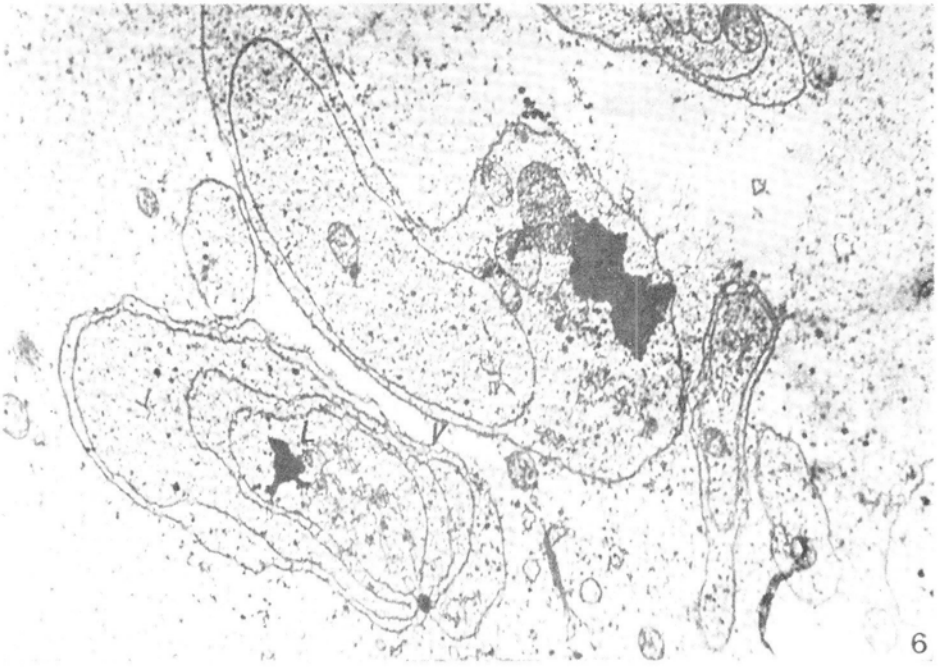
21 — Late secondary 4-nucleate stage, the arrangement of vesicles in the cytoplasm suggests the beginning of formation of the structure visible in Fig. 19.

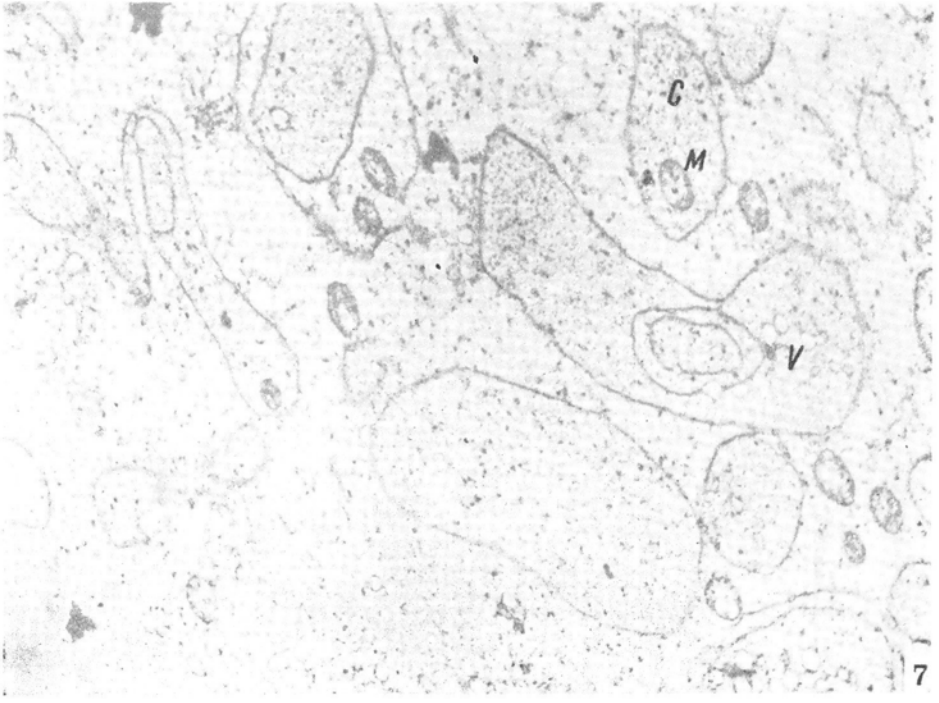
Tablica I — Plate I



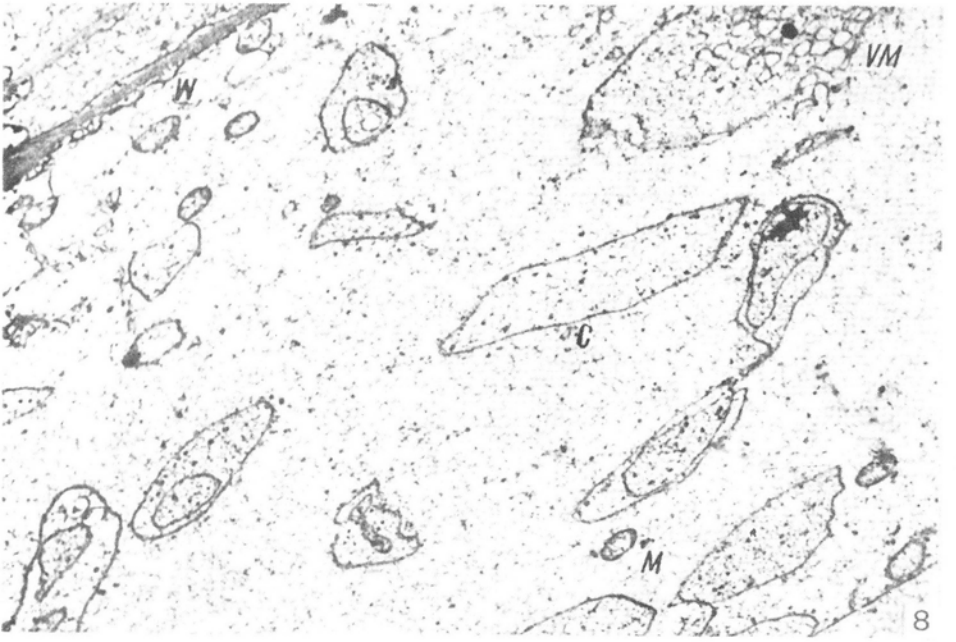


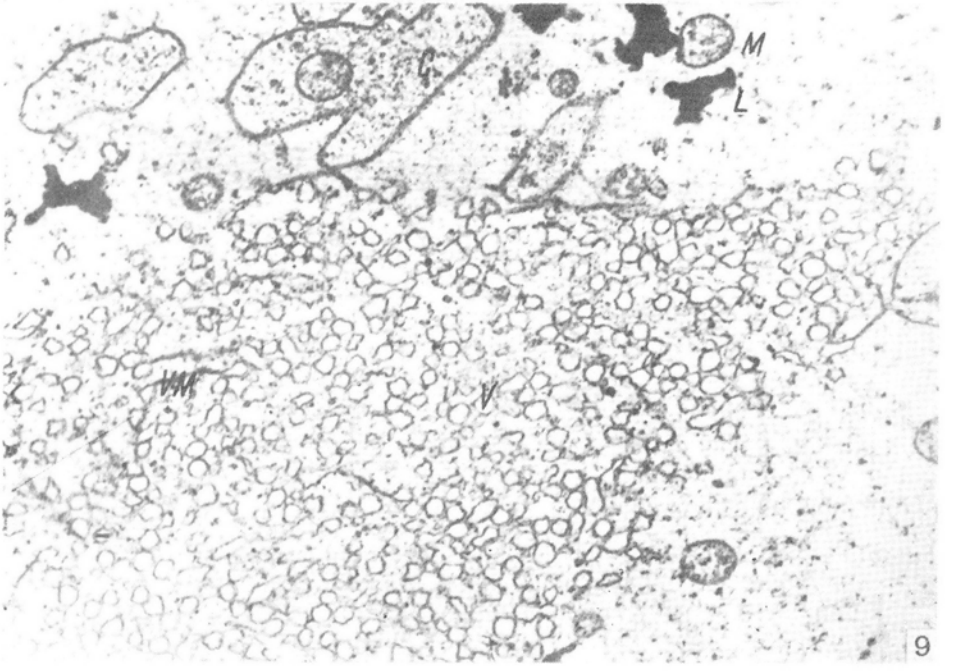
Tablica II — Plate II





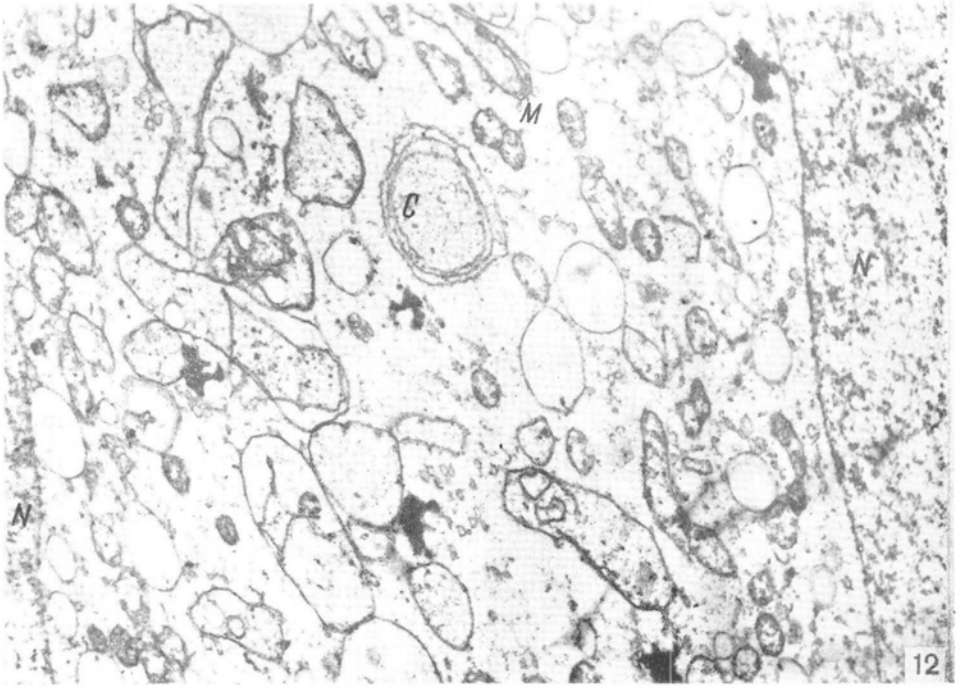
Tablica III — Plate III



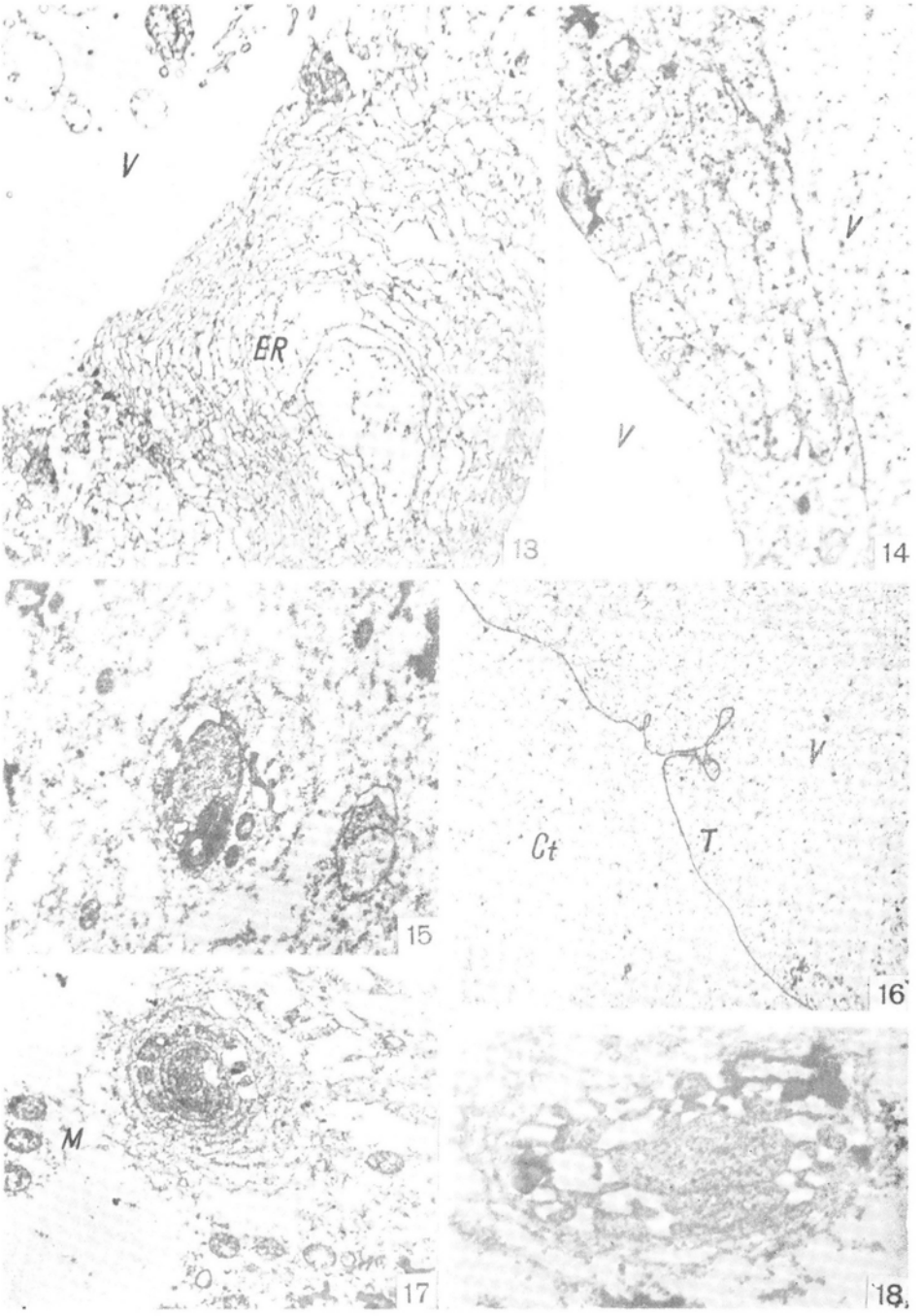


C_3
C_2
C_1
M
10

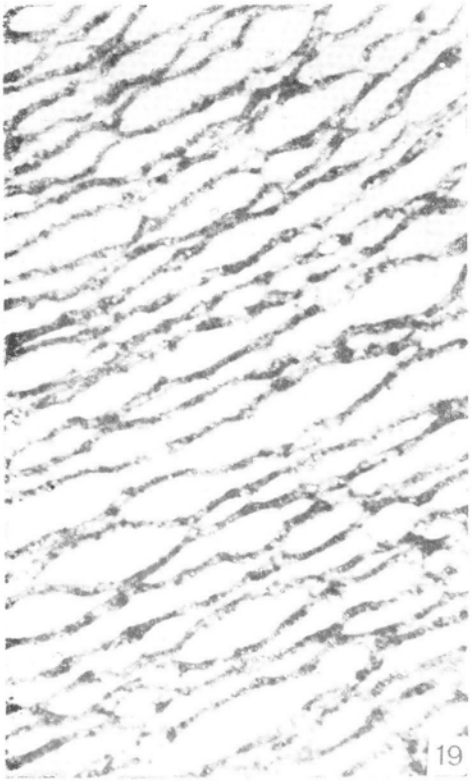
11

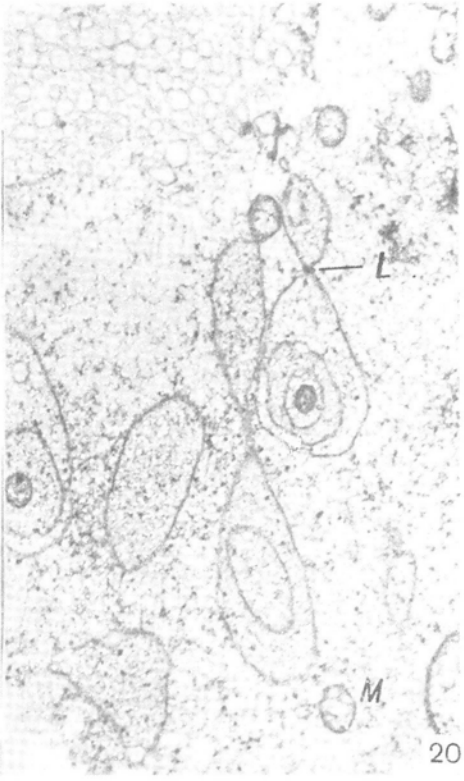

M
C
N
N
12

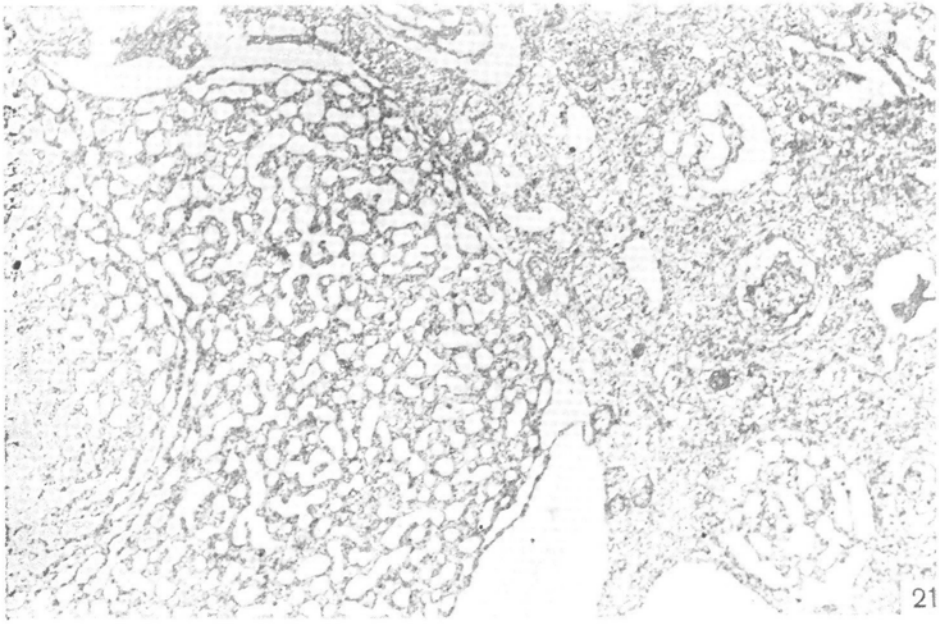
Tablica V — Plate V



Tablica VI — Plate VI







wydaje się wykluczać przypuszczenie, że są to elementy aparatu Golgiego. Obserwowane w cytoplazmie podstawowej dictyosomy są na ogół drobne i nieliczne oraz nie są związane topograficznie z polami pęcherzyków. Trudno więc sobie wyobrazić, aby te nieliczne dictyosomy mogły wytworzyć takie masy pęcherzyków, jakie występują w cytoplazmie woreczka zalążkowego w pierwszym i drugim stadium czterojądrowym. Powstanie pęcherzyków (pęcherzykowatego ER) przez rozpad cystern ER wydaje się niewątpliwe. Pojawienie się dużych pól pęcherzyków było obserwowane właśnie w tych stadiach rozwoju, kiedy masowo zanikały cysterny ER stanowiące ścianki wielowarstwowych ciał cytoplazmatycznych.

W polach pęcherzyków, które są prawdopodobnie specyficznym rodzajem reticulum endoplazmatycznego, odbywają się w późnym okresie wtórnego stadium czterojądrowego trudne do zinterpretowania zmiany. Pęcherzyki, początkowo o profilach kolistych lub owalnych, stają się wydłużone i często rozgałęzione. Szereg obrazów sugeruje zlewanie się pęcherzyków, tak że w rezultacie tworzą się duże optycznie puste cysterny o słabo zaznaczających się błonach. Cytoplazma pomiędzy cysternami jest gęsta i ziarnista (ryc. 21). Widoczne ciemne ziarenka odpowiadają prawdopodobnie rybosomom. Początkowo nieregularne cysterny mają następnie tendencję do układania się w koncentryczne zwoje, często o bardzo dużym promieniu, oraz w systemy równoległe (ryc 19). Trójwymiarowa rekonstrukcja tych struktur nie jest łatwa. Z przekrojów w różnych płaszczyznach zdaje się wynikać, że ER jest w postaci szerokich kanałów układających się w równoległe zespoły albo zwijających się czasami w układy o kulistym kształcie. Zarówno układy równoległe, jak i koncentryczne spotykano we wcześniejszych stadiach rozwoju, jednak charakter cystern był zasadniczo odmienny. Cysterny mianowicie były tam spłaszczone i wąskie, przypominające dwie przylegające do siebie kartki, przedstawiające się z profilu jak jedna linia, a warstwy cytoplazmy pomiędzy cysternami były na ogół dużo szersze. Pęcherzykowate ER, szczególnie kanały ER znajdowano głównie w środkowej części woreczka zalążkowego nie rozdzielonego na komórki, w komórkowym woreczku kanały ER zauważono w komórce centralnej.

Obok tych stopniowych i stale spotykanych przekształceń struktur cytoplazmatycznych, trafiają się obrazy daleko idącej degeneracji cytoplazmy. Objawiały się one w niektórych — jak się zdaje biegunowych częściach wydłużonej komórki — gdzie następowała destrukcja koncentrycznych cystern i cytoplazmy pomiędzy cysternami z wytworzeniem dużych optycznie pustych przestrzeni (Rodkiewicz i Mikulska 1965). W starszym gametoficie obserwowano inne struktury znamionujące proces rozpadu cytoplazmy z wytworzeniem silnie osmofilnych warstwowych układów (ryc. 11).

Wakuole

Wakuole w megasporocycie są drobne i nieliczne, część z nich, jak się zdaje, zawiera fragmenty cytoplazmatyczne, które ulegają trawieniu (Rodkiewicz i Mikulska 1963). Duże wakuole widoczne są czasami już w pierwszym stadium czterojądrowym i zawsze w drugim stadium czterojądrowym. Wtedy w woreczku zalążkowym jest jedna bardzo duża centralna wakuola pomiędzy protoplazmą mikro-

pylarną a antypodalną, oraz mniejsze wakuole w strefach biegunowych. Starsze wakuole są optycznie puste, rozwijają się one ze struktur, o dość gęstej ziarnistej zawartości, otoczonych błoną. Struktury takie, o średnicy kilku czy kilkunastu mikronów, odróżniają się od cytoplazmy podstawowej brakiem normalnych elementów cytoplazmatycznych w rodzaju mitochondriów (ryc. 14). Szereg obrazów, na których widać błonę cytoplazmatyczną wpukloną do wnętrza wakuoli, zdaje się świadczyć o fakcie pochłaniania porcji cytoplazmy (ryc. 14). Ziarnista zawartość wakuoli znika stopniowo i można trafić na wakuole z nielicznymi pęcherzykowatymi lub ziarnistymi resztkami cytoplazmy (ryc. 13). Przechodzenie cząstek cytoplazmatycznych do wakuoli w woreczku zalążkowym lilii obserwowali także Hršel i Jurakova (1964). Nie udało się tutaj zobaczyć, w jaki sposób powstają duże, gęste wakuole.

Za wakuole można chyba uważać duże pęcherzyki pozostające po zaniku treści ciał cytoplazmatycznych. Porównywano preparaty z cytoplazmy mikropylarnej woreczka zalążkowego we wtórnym stadium czterojądrowym i woreczka, w którym jądra mikropylarne ulegają podziałowi. W pierwszych wielkość pęcherzyków (wakuoli) odpowiadała mniej więcej wielkości pojedynczych ciał cytoplazmatycznych, w późniejszym stadium wakuole były znacznie większe. Niektóre z nich miały kształt i rozmiary sugerujące łączenie się ze sobą.

DYSKUSJA

Formy i układy struktur endoplazmatycznego reticulum są charakterystyczne dla kolejnych faz rozwoju żeńskiego gametofitu lilii. Prawidłowość procesów morfologicznych zmusza do zastanowienia się nad ich znaczeniem, oraz związkiem z innymi procesami komórkowymi. Gametofit jest odrębną całością, która w ciągu krótkiego czasu z jednej komórki przekształca się w zróżnicowany, dojrzały płciowo organizm. Powinny temu towarzyszyć zmiany strukturalne i chemiczne związane z okresami syntezy, różnicowania się cytoplazmy, podziałów jąder i kształtowania się komórek dojrzewającego woreczka zalążkowego. Najlepiej znaną stroną gametofitogenezy są procesy kariologiczne, których tutaj się nie porusza; inne dane są bardzo skąpe.

W rozwoju woreczka zalążkowego *Stellaria media* występują, jak się zdaje, trzy okresy z wysoką zawartością RNA (kwas rybonukleinowy) i białek: silną bazofilnością odznaczają się w zalążku komórki archesporialne, z których jedna staje się komórką macierzystą archespor; w niej odbywa się mejoza i w tym czasie ilość białek i RNA nie zwiększa się, a raczej koncentracja ich spada, ponieważ komórka się rozrasta. Drugi okres syntezy substancji białkowej i RNA zaznacza się w rozwijającej się megasporze i bazofilia osiąga szczyt w dwu- i cztero- jądrowym woreczku zalążkowym; następnie znów wysoką zawartość białek i RNA wykazują niektóre części dojrzałego woreczka, szczególnie okolice jąder komórki centralnej (Pritchard 1964). Gametofitogeneza u *Stellaria* odbywa się według typu *Polygonum*, natomiast u lilii według typu *Fritillaria* i dlatego przedstawione dane cyto-

chemiczne nie mogą dokładnie odpowiadać przebiegowi zdarzeń w opisywanym tutaj materiale. U lilii komórka archesporialna staje się jednocześnie komórką macierzystą megaspor i woreczka zalążkowego, ponieważ po mejozie nie tworzą się cztery megaspory, ale wszystkie jądra i cała cytoplazma komórki służy do formowania woreczka zalążkowego. W ten sposób odbywa się tu nieprzerwany rozwój cytoplazmy od archesporialnej komórki do woreczka zalążkowego, podczas gdy u *Stellaria* większa część cytoplazmy megasporocytu jest odrzucona wraz z degenerującymi megasporami.

Podstawowymi funkcjami endoplazmatycznego reticulum są: udział w syntezie białek związany z rybosomami osadzonymi na błonach cystern i transport wewnątrzkomórkowy przy którym substancje przepływają przez światło cysterny (ref. Rodkiewicz 1965). Nagromadzenie dużej ilości cystern ER w uporządkowane równoległe zespoły jest charakterystyczne dla kilku typów zwierzęcych komórek wydzielniczych. Być może, że i w megasporocycie — komórce rosnącej szybko i mającej przez cały czas gęstą bazofilną cytoplazmę — równoległe układy membran ER są związane z syntezą białek. Cytoplazma megasporocytu daje intensywne reakcje na RNA, białka i tłuszcze. Wydaje się, że tutaj gromadzą się materiały, które będą wykorzystane później, kiedy rozpoczną się podziały jąder i różnicowanie się gametofitu. W tym drugim okresie cytoplazma początkowo jest jeszcze gęsta, ale wzrost komórki ustaje albo przynajmniej jest o wiele słabszy, następnie zaś sama cytoplazma ulega rozrzedzeniu i wakuolizacji.

Z okresem zwolnienia wzrostu komórki i początkiem metafazy mejotycznej zbiega się likwidacja rozbudowanego systemu płaskich równoległych elementów ER. Ulegają one zwinięciu i przekształceniu w wielowarstwowe sferyczne układy, przedstawiające się na przekrojach (z profilu) jak układy koncentryczne. Endoplazmatyczne reticulum w formie koncentrycznych układów było obserwowane wielokrotnie na różnym materiale zwierzęcym i roślinnym zarówno w warunkach normalnych, jak i pod wpływem bodźców zewnętrznych (Falk 1962; Rougier-Paganel i in. 1964; André 1958; Trier 1958; Fawcett i Ito 1958; Ito 1962; Waddington 1962). Menke i Fricke (1964) widzieli takie układy w komórce jajowej paproci. (Dalsza literatura Rodkiewicz i Mikulska 1965). Autorzy na ogół nie przedstawiają ani znaczenia, ani losów tych struktur. Jedynie niektórzy przypisują elementom ER tworzącym równoległe i koncentryczne zespoły jakąś rolę specyficzną w metabolizmie żeńskich komórek rozrodczych (Adams i Herting 1964; Carasso i Favard 1958). W nasionach nasturcji, 50 godzin po namoczeniu cysterny ER układają się koncentrycznie jedna wokół drugiej zamykając warstwy cytoplazmy grubości około 1 μ, czasami ośrodkiem układu jest trawione ziarno aleuronowe. Zwoje ER szybko przekształcają się w system wakuoli, dzięki rozszczepieniu się cystern i rozczłonkowaniu warstw cytoplazmy pomiędzy cysternami na drobne części. Cały proces wiąże się z uruchamianiem substancji zapasowych (Naugarède 1963).

Większość badań nad dzielącymi się komórkami zwierzęcymi wskazuje na poważną depresję syntezy RNA i przynajmniej części białek rozpoczynającą się z początkiem profazy i pogłębiającą się w meta- i ana- fazie (Konrad 1963 i in.). W ko-

mórkach merystemu cebuli okres przed podziałem jądra zaznacza się zmianą struktury ER, która wtedy rozpada się na drobne elementy (Porter i Machado 1960). Trudno ocenić, czy istnieje związek pomiędzy rozpadem ER i osłabieniem syntezy w dzielącej się komórce.

Z początkiem pierwszej metafazy mejotycznej w megasporocycie kończy się zasadniczy okres wzrostu komórki. Cytoplazma woreczka zalążkowego w mikroskopie elektronowym jest mniej ziarnista i optycznie rzadsza niż w megasporocycie Nie jest więc wykluczone, że zwinięcie w późnej profazie płaskich cystern ER o dużej aktywnej powierzchni obniża tempo i zakres syntezy w cytoplazmie. Dalszą konsekwencją zwinięcia cystern jest odizolowanie od całości dużej części cytoplazmy, zamkniętej teraz w ciałach otoczonych selektywnie przepuszczalnymi błonami (ryc. 1*f*); wreszcie łatwo sobie wyobrazić, jak bez usunięcia lub ściślejszego pakowania rozbudowanego systemu membran byłaby utrudniona wędrówka chromosomów i budowa wrzeciona.

Wielowarstwowe układy sferyczne cystern endoplazmatycznego reticulum, które wraz z warstwami zamkniętej pomiędzy cysternami cytoplazmy stanowią ciała cytoplazmatyczne charakterystyczne dla dojrzałego megasporocytu, przechodzą w dalszym rozwoju szereg zmian morfologicznych (ryc. 4). Przede wszystkim zewnętrzne cysterny są stopniowo rozczłonkowane na drobne pęcherzyki, dzięki czemu odizolowane warstwy cytoplazmy łączą się z powrotem z cytoplazmą podstawową. Ostatecznie z części ciał wielowarstwowych pozostają tylko pojedyncze ciała cytoplazmatyczne otoczone błoną. Ich ziarnista zawartość kurczy się i zanika z pozostawieniem optycznie pustej przestrzeni ograniczonej błoną. Można przypuszczać, że jest to proces trawienia zawartości ciał cytoplazmatycznych, bardzo intensywny w drugim stadium czterojądrowym. Niektóre układy wielowarstwowe rozpadają się z wytworzeniem dużych optycznie pustych przestrzeni zamykających gęste grudki cytoplazmy — zjawisko podobne do opisanego przez Nougarède (1963) i uznanego przez nią za trawienie. Ciała, cytoplazmatyczne ze zdeformowaną zawartością pojawiają się nielicznie już w megasporocycie, a masowo w drugim stadium czterojądrowym i później. Nienaruszone pojedyncze ciała cytoplazmatyczne były widoczne w najstarszych obserwowanych stadiach woreczka zalążkowego i nie jest wykluczone, że część z nich trafia do bielma.

Rozpad błon endoplazmatycznego reticulum i wykorzystanie substancji zawartej w ciałach cytoplazmatycznych być może wiąże się z obfitym występowaniem enzymów typu kwaśnej fosfatazy obserwowanych w megasporocycie lilii (Miki-Hirosige 1964). W megasporocycie i woreczku zalążkowym (Rodkiewicz i Kwiatkowska 1965) porównywano rozmieszczenie i ukształtowanie stref cytoplazmy dających reakcję na kwaśne fosfatazy z elektronografami odpowiednich stadiów rozwojowych. Wyrażono przypuszczenie, że kwaśne fosfatazy występują w strefach, gdzie znajduje się dużo błon endoplazmatycznego reticulum.

W rozwoju woreczka zalążkowego przy tworzeniu się wakuoli ulegają prawdopodobnie hydrolizie mniejsze i większe obszary cytoplazmy. Proces wakuolizacji nie związany z wielowarstwowymi układami membran, ani z pojedynczymi ciałami

cytoplazmatycznymi obserwowano w megasporocycie (Rodkiewicz i Mikulska 1963) i w czterojądrowych stadiach woreczka zalążkowego.

Z masowo rozpadających się cystern ER powstają drobne pęcherzyki (pęcherzykowate ER) gromadzące się w grupy o kilku mikronach średnicy. Przy końcu drugiego stadium czterojądrowego bezładna masa pęcherzyków zaczyna się organizować w uporządkowany system kanałów ER. Trudno powiedzieć, czy duża szerokość cystern w układzie jest wynikiem utrwalania, jak to sugeruje Deane (1962) analizujący ergastoplazmę epitelium płciowego, czy wynika ze specyficzności warunków w komórce z dużą wakuolą.

Tworzenie się obszernego systemu ER w środkowej części woreczka zalążkowego być może jest przygotowaniem do ewentualnej syntezy w dalszym rozwoju.

Można by podzielić ciąg przekształceń endoplazmatycznego reticulum w gametofitogenezie u lilii na cztery fazy odpowiadające pewnym charakterystycznym procesom komórkowym:

1) tworzenie się uporządkowanego systemu równoległych membran endoplazmatycznego reticulum w fazie syntezy cytoplazmy megasporocytu,

2) tworzenie się zamkniętych wielowarstwowych ciał cytoplazmatycznych ze wszystkich cystern ER — przed pierwszą metafazą mejotyczną,

3) rozbicie na pęcherzyki cystern ER i trawienie części zawartości ciał cytoplazmatycznych w okresie podziałów jąder i różnicowania się woreczka zalążkowego,

4) organizowanie się pęcherzykowatego ER w system kanałów ER — przygotowanie komórki centralnej do aktywności syntetycznej.

Streszczenie

W rozwoju żeńskiego gametofitu lilii (*Lilium candidum*) odbywa się złożony proces przemian ukształtowania błon cytoplazmatycznych tworzących system endoplazmatycznego reticulum. System ten w megasporocycie składa się z zespołów równoległych płaskich cystern ułożonych wokół jądra, a później rozchodzących się promieniście od jądra komórki. Układy membran ER zwijają się przekształcając się w wielowarstwowe ciała zbudowane z szeregu współśrodkowych membran i warstw cytoplazmy pomiędzy membranami. Ciała te, nazwane ciałami cytoplazmatycznymi, z końcem profazy mejotycznej zaczynają się stopniowo rozpadać. W procesie rozpadu membrany zostają rozbite na pęcherzyki, a między membranowa cytoplazma łączy się z cytoplazmą podstawową. Z ciał wielowarstwowych powstają pojedyncze ciała cytoplazmatyczne o średnicy 2—5 μ zbudowane z cytoplazmy otoczonej podwójną membraną. W pierwszym, a szczególnie w drugim stadium czterojądrowym woreczka zalążkowego zawartość większości ciał cytoplazmatycznych ulega deformacji i zanikowi z pozostawieniem optycznie pustych przestrzeni. Rozpad niektórych ciał wielowarstwowych może się wiązać z utworzeniem dużych nieregularnych przestrzeni optycznie pustych i z fragmentacją cytoplazmy międzymembranowej.

Przypuszcza się, że przy zaniku zawartości ciał cytoplazmatycznych odbywa się hydroliza i wykorzystanie przez rozwijający się woreczek zalążkowy materiału zsyntetyzowanego i odizolowanego w megasporocycie.

Masy pęcherzyków utworzonych w czasie rozpadu membran cytoplazmatycznych skupiają się na dużych przestrzeniach, szczególnie w środkowej części woreczka zalążkowego. W późnym okresie wtórnego stadium czterojądrowego pęcherzyki zaczynają się łączyć i przekształcają się w system przypominający równoległe kanały ER.

Autorzy pragną podziękować p. prof. dr Bernardowi Zabłockiemu za udostępnienie mikroskopu elektronowego Katedry Mikrobiologii UŁ, p. Wacławowi Udutowi za pomoc techniczną, p. mgr. Irenie Juncewicz za wykonanie schematów.

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło: 5.10.1965 r.)

SUMMARY

The complex process of transformations of cytoplasmic membranes diagramatically presented in Figs. 1 and 2 occurs in the development of the female gametophyte in lily (*Lilium candidum*). Lilium embryo sac develops according to *Fritullaria* type. In the megasporocyte the cytoplasmic membranes occur in the form of parallel systems around the nucleus, later diverge radially from the nucleus (Fig. 5). The membrane systems coil and transform into multilayer bodies consisting of a number of concentric (probably double) membranes and cytoplasmic layers between them (Fig. 3). Thus, during the first meiotic prophase a large part of the cytoplasm is cut off and separated within closed membrane systems. The spherical structures formed were called multilayer cytoplasmic bodies. Towards the end of the meiotic prophase these bodies gradually begin to disintegrate (Figs. 6 and 7) and some of them transform into single cytoplasmic bodies. In the course of the disintegration process the membranes split into vesicles (Fig. 8), whereas the inter-membrane cytoplasm merges with the ground cytoplasm. Not all the membranes undergo disintegration, most frequently the multilayer bodies transform into single ones, about 1—5 μ in diameter, consisting of cytoplasm bounded with a membrane. Mitochondria and other morphotic components degenerating gradually are frequently visible within these bodies. In the course of the first and particularly the second four-nucleate stage of the embryo sac, the contents of most cytoplasmic bodies undergo deformation and gradually disappear (Fig. 10). An electron transparent space surrounded by a membrane is all that remains of the cytoplasmic body (Fig. 12). Occasionally the multilayer cytoplasmic bodies disintegrate forming large irregular, optically empty spaces, and fragments of inter-membrane cytoplasm (Figs. 15, 17 and 18). Probably the hydrolysis and utilization of substance which had been synthesized, accumulated and isolated within the megasporocyte, occur in the developing gametophyte during the breakdown of the material contained within the cytoplasmic bodies.

The optically empty spaces formed after hydrolysis may be regarded as vacuoles. The forms of cytoplasmic bodies with constrictions observed (Fig. 20) may be interpreted as stages of division or splitting.

Large vacuoles occurring in the central part of the cell are visible in the first and particularly the second 4-nucleate stage. Some vacuoles contain cytoplasmic material at various disintegration stages (Figs. 13, 14). In the micrographs parts of the cytoplasm protruding into the vacuolar space are sometimes visible (Fig. 16).

Masses of vesicles formed in the course of disintegration of the cytoplasmic membranes (Fig. 9) accumulate on large areas, mainly in the central zone of the embryo sac at the secondary 4-nucleate stage. At a late period of this stage the vesicles exhibit irregular profiles and a number of pictures suggest that a process of junction of the vesicles and organization of large units of the endoplasmic reticulum occurs (Figs. 19, 21).

Few stratified cytoplasmic membrane systems occurred at the secondary 4-nucleate stage (Fig. 13).

The following phases more or less corresponding to the definite cell development stage may be distinguished in the course of transformations of the cytoplasmic membranes (Fig. 4) in the gametophytogenesis of the lily: 1) occurrence of a system of parallel membranes in the phase of synthesis of the megasporocyte cytoplasm, 2) formation of systems of spherical membranes and ground

cytoplasm at the period preceeding the first meiotic metaphase, 3) transformation of multilayer bodies into single ones owing to disintegration of membranes into vesicles at the period up to the first 4-nucleate stage and digestion of the contents of cytoplasmic bodies at the period of division of nuclei and differentiation of the embryo sac, 4) organization of the system of ergastoplasm from systems of minute vesicles at a late period of the secondary 4-nucleate stage.

LITERATURA

Adams E. C., Herting A. T., 1964, Studies on guinea pig oocytes, J. Cell Biol. 21: 397—427.

André J., 1958, Étude morphologique au microscope électronique de l'ovocyte de la tégénaire (Araneide), Bull. Microscop. Appl. 8: 93—98.

Bouin M., Bouin P., 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.

Carasso N., Favard P., 1958, L'origine des plaquettes vitellines de l'oeuf de Planorbe, Compt. rend. Acad. Sc. Paris, 246: 1594—7.

Deane H. W., 1962, Properties of the ergastoplasm of seminal vesicle epitelium, V Intern. Congress Electron Microsc. TT8. Acad. Press, New York.

Eymé J., 1965, Recherches sur la constitution cytoplasmique de l'archéspore et du sac embryonnaire de *Lilium candidum* L. Botaniste 48: 99—155.

Falk H., 1962, Beiträge zur Ultrahistologie der Wurzelspitze bei *Allium cepa*, Protoplasma 40: 237—254.

Fawcett D. W., Ito S., 1958, Observations of the cytoplasmic membranes of testicular cells examined by phase contrast and electron microscopy, J. Biophys. Biochem. Cytol. 4: 135—141.

Flint F. F., Johansen D. A., 1958, Nucleocytoplasmic relationship in the *Fritillaria* type of megagametogenesis, Amer. Jour. Bot. 45: 464—472.

Guilliermond A., 1924, Recherches sur l'évolution du chondriome pendant de développement du sac embryonnaire et des cellules mères dans grains de pollen dans les Liliacées et sur la signification des formations ergastoplasmiques, Ann. Sc. Nat. Bot. sér. 10, 6: 5—52.

Hršel I., Jurakova J., 1964, Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Eindringen plasmatischer Partikel in die Vakuole der pflanzlichen Zelle, Biol. Plantarum (Praha) 6: 17—25.

Itō S., 1962, Light and electron microscopic study of membranous cytoplasmic organelles. W "The interpretation of ultrastructure" ed. R. J. C. Harris, Acad. Press NY and London, 139—147.

Konrad C. C., 1963, Protein synthesis and RNA synthesis during mitosis in animal cells, J. Cell Biol. 19: 267—277.

Maheshwari P., 1950, An introduction to the embryology of Angiosperms, Mc Graw-Hill Book Comp. N. Y., Toronto, London.

Menke W., Fricke B., 1964, Beobachtungen über die Entwicklung der Archegonien von *Dryopteris filix mas*. Zeits. f. Naturforschung 19b: 520—524.

Miki-Hirosige H., 1964, Metabolism in the ovary tissue of *Lilium longiflorum*. W "Pollen physiology and fertilization". ed. H. F. Linskens North-Holland Publ. Comp. Amsterdam 26—33.

Mikulska E., Rodkiewicz B., 1964, Cytoplazmatyczne struktury w megasporocycie i woreczku zalążkowym lilii obserwowane w mikroskopie elektronowym, Acta Soc. Bot. Pol. 33: 619—630.

Mikulska E., Rodkiewicz B., 1965, Fine structure of a developing embryo sac of *Lilium candidum*, Flora, 155: 586—595.

Mottier D. M., 1897, Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosacks und die Vorgänge bei Befruchtung, Jahrbüch. wiss. Bot. 31: 125—158.

Nougarède A., 1963, Premières observations sur l'infrastructure et sur l'évolution des cellules des jeunes ébauches foliaires embryonaires du *Tropeolum majus* L., Cytologie de l'hydration

germinative et des premières étapes de la germination, Compt. rend. Acad. Sci Paris. 257: 1495—7.

Orman E., 1912, Recherches sur les différentiations cytoplasmiques (ergastoplasme et chondriosomes) dans les végétaux. 1. Le sac embryonnaire des Liliacées, La Cellule 28: 365—441.

Porter K. R., Machado R. D., 1960, Studies on the endoplasmic reticulum IV. Its form and distribution during mitosis in cells of onion root tip, J. Biophys. Biochem. Cytol. 7: 167.

Pritchard H. N., 1964, A cytochemical study of embryo sac development in *Stellaria media*, Amer. Jour. Bot. 51: 371—378.

Rodkiewicz B., 1961, Phases of embryo sac development and pollen grains development in *Lilium candidum*, Acta Soc. Bot. Pol. 30: 749—754.

Rodkiewicz B., 1965, Budowa, funkcja i przemiany reticulum endoplazmatycznego, Kosmos, 14: 151—160.

Rodkiewicz B., Mikulska E., 1963, Electron microscope observations of cytoplasmic changes in developing megasporocyte of *Lilium candidum*. Flora 154: 383—387.

Rodkiewicz B., Mikulska E., 1965, Electron microscope observations of endoplasmic reticulum in *Lilium* megasporocyte, Flora 155: 341—346.

Rodkiewicz B., Mikulska E., 1965, The development of cytoplasmic structures in the embryo sac of lily, observed with the electron microscope, Planta 67 (3) : 297—304.

Rodkiewicz B., Kwiatkowska M., 1965, Kwaśne fosfatazy w rozwijającym się megasporocycie i woreczku zalążkowym lilii, Acta Soc. Bot. Pol. 34 (2) : 235—242.

Rougier-Paganel M., Arnaudon M., Poussel U., 1964, Inhibition de la respiration des racines de *Triticum vulgare* par diéthyldithiocarbamate (DDC) de sodium et modifications cytoplasmiques induites dans les cellules méristématiques, Compt. rend. Soc. biol. 158: 1719—21.

Trier J. S., 1958, The fine structure of parathyroid gland, J. Biophys. Biochem. Cytol. 4: 13—22.

Waddington C. H., 1962, New patterns in genetics and development, Columbia Univ. Press, New York and London.