ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
vol. XXXV — nr 3
1966

Ultrastruktura mezofilu u *Humulus lupulus*

Ultrastructure of the mesophyll in Humulus lupulus

W. DJACZENKO, B. MICIŃSKI

WSTĘP

W ostatnich latach obserwujemy burzliwy rozwój ultramorfologii. Udoskonalenia techniki preparacyjnej pozwalają przy użyciu odpowiedniej aparatury na prowadzenie obserwacji nie tylko o charakterze ultratopograficznym, ale jednocześnie na badanie zespołów supramolekularnych.

Odkrycie przez Robertsona (1963) podjednostek zwanych figurami heksagonalnymi oraz dyskusja prowadzona w oparciu o spostrzeżenia Sjöstranda (1964) nad globularnym charakterem budowy składników jednostek błoniastych, dotycząca zagadnienia jednorodności czy różnorodności budowy zespołu jednostki błoniastej, jest przykładem takich supramolekularnych dociekań.

Wprowadzenie do preparatyki mikroskopowo-elektronowej utrwalaczy opartych na działaniu reduktorów organicznych, pozwoliło na odkrycie nowych, nie znanych przedtem organelli komórkowych, np. mikrocewek opisanych przez Ledbettera i Portera (1963). Jest rzeczą interesującą, że odkrycie Ledbettera i Portera zostało dokonane na materiale roślinnym, a dopiero następne badania potwierdziły występowanie mikrocewek również u zwierząt (Behnke 1964; De The 1964). Tak więc, jak i w zaraniu badań cytologicznych, komórka roślinna staje się modelem badań morfologicznych, jej znaczenie jako modelu wraz z rozwojem i zaawansowaniem techniki badawczej nie maleje. Znaczenie komórki roślinnej jako modelu jest podkreślone szeregiem uogólnień współczesnej ultramorfologii, która rzuciła pewnego rodzaju pomost między komórką roślinną i zwierzęcą.

Wspomniana powyżej dyskusja nad ultrastrukturą składników jednostki błoniastej Robertson'a (1959) dotyczy tej jednostki zarówno w materiale roślinnym, jak i zwierzęcym (Ledbetter 1962). Cząstki elementarne odkryte przez Fernandeza-Morana i in. (1964) w mitochondriach komórek zwierzęcych zostały opisane również w materiale roślinnym przez Nadakavukarena (1964). Chloroplasty, znajdują swój ultramorfologiczny odpowiednik w fotoreceptorach świata zwierzęcego (Wolken 1962). O innych morfologicznych podobieństwach pisze Mikulska (1964). Osobnym zagadnieniem jest ultramorfologia stosowana. Współczesne badania fitopatologiczne muszą uwzględniać również metody ultramorfologiczne, oparte o morfologię prawidłową i ogólną.

Niniejsza praca stanowi wstęp do badań ultrafitopatologicznych. Autorzy prowadzili obserwacje nad ultramorfologią prawidłową liści *Humulus* od 1963 r. Nagro-

madzony materiał faktyczny umożliwia nie tylko rozpoczęcie badań porównawczych nad roślinami chorymi, ale jednocześnie pozwala na wyciągnięcie pewnych wniosków odnośnie do ultramorfologii ogólnej. Takie przeświadczenie autorów skłoniło ich do opublikowania niniejszej pracy.

MATERIAŁ I METODA

Jako materiał służyły liście chmielu rosnącego w warunkach naturalnych. Materiał pobrano w różnych okresach różnicowania mezofilu z 8 roślin. Z blaszki liścia wycinano fragmenty żyletką na płytce dentalowej w kropli utrwalacza. Po przeniesieniu do laboratorium fragmenty te cięto żyletką na kawałki o wymiarach 1×1 mm. Utrwalano w płynach zbuforowanych do pH 6,8, stosując 1% $KMnO_4$ w ciągu 3 godz. w temperaturze pokojowej, wg. Lufta (1956) lub w 1% OsO_4 w temperaturze 0—4° przez 22 godz. wg Daltona (1955). Odwadniano w acetonie. Ze względu na znaczne trudności występujące przy krojeniu materiału po $KMnO_4$, oprócz zatapiania do metakrylanu i żywic epoksydowych (Glauert i Glauert 1958; Luft 1961) stosowano również zatapianie do Vestopalu W (Ryter i Kellenberger 1958). Polimeryzacja była prowadzona przy 60° C. Gotowe bloczki były krojone na ultramikrotomie f-my Reichert wg Sittego 1955 (stary model), przy użyciu szklanych noży. Dla metakrylano stosowano kąty noża 35°, Araldite był krojony przy kątach 40°, Vestopol W natomiast wymagał kątów 50°. Epon wymagał znacznej rozpiętości w kątach noży. Partie mezofilu, w sąsiedztwie których było dużo naczyń, wymagały raczej bardziej rozwartych kątów noży. Grubość skrawków wybieranych do badań w mikroskopie elektronowym wynosiła ok. 600 A°.

Utrwalacz Lufta zachowywał struktury błoniaste, podczas gdy struktury ziarniste nie były widoczne po stosowaniu tego utrwalacza. Utrwalacz osmowy wg Daltona zachowywał struktury ziarniste oraz stan zróżnicowania błon cytoplazmatycznych. Występujące w obrębie błon cytoplazmatycznych mankamenty utrwalania, związane ze stosowaniem utrwalacza wg Daltona, można było poprawić stosując $CaCl_2$ wg Palay i in. (1962). Z tych względów autorzy uważają, że utrwalacz osmowy jest utrwalaczem bardziej uniwersalnym. Wszystkie opisy w tekście i mikrofotografie odnoszą się do materiału utrwalonego czterotlenkiem osmu. Dla zachowania pełni obrazu ultrastrukturalnego ważne jest uniknięcie błędów polimeryzacyjnych (Borysko 1955). Należy podkreślić trudność z jaką uzyskiwano skrawki na ultramikrotomie wg Sittego (1955). Największym mankamentem tego aparatu była niepowtarzalność toru bloczka oraz zbyt duża bezwładność cieplna przyrządu. Skrawki dobarwiano: cytrynianem ołowiu wg Reynoldsa (1963), wodorotlenkiem ołowiu wg Karnovskyego (1961) lub winianem ołowiu wg Milloniga (1961). Niektóre skrawki dobarwiano także $KMnO_4$ wg Robertsona i in. (1963). Obserwacje były dokonywane przy użyciu mikroskopu elektronowego Siemens Elmiskop I przy powiększeniach pierwotnych 2000× — 40000×. Zdjęcia wykonywano na negatywach polskiej produkcji o cechach: płyty graficzne G 5,5 niebarwoczułe bardzo twarde, 6,5×9,0 cm. Płyty wywoływano w Atomalu F, oraz w fabrycznym wywoływaczu kontrastowym polskiej produkcji.

Równolegle z ultraskrawkami były wykonywane skrawki dla celów mikroskopii zwykłej. Skrawki przedstawione na zdjęciach 1—5 były krojone z bloczków przygotowanych do mikroskopii elektronowej na ultramikrotomie Reicherta przy użyciu szklanych noży, posuw termiczny mikrotomu zastąpiono posuwem mechanicznym ręcznym. Grubość skrawków była ustalana na podstawie barw interferencyjnych. Skrawki „kolorowe" inteferencyjnie były odławiane na szkiełka podstawowe pokryte roztworem acetonu, suszone na piecyku elektrycznym i barwione na gorąco (60° C) podanym przy każdym zdjęciu barwnikiem bez rozpuszczenia plastyku. Zdjęcia zostały wykonane przy użyciu zwykłego objektywu na mikroskopie Leitza Ortholux. Błona filmowa 24×36 ORWO 10 DIN, wywoływacz kontrastowy polskiej produkcji.

WYNIKI

Komórki mezofilu, jak to najlepiej widać na zdjęciach z mikroskopu świetlnego (fot. 1—5) mają przeważnie kształt nieregularnie wieloboczny, nieraz zbliżony do owalu. W pobliżu naczyń spotyka się komórki wydłużone (fot. 6). Przestwory międzykomórkowe były zawsze widoczne.

Ściany komórkowe oglądane przy małych powiększeniach (fot. 6, 7) nie wykazują typowych szczegółów budowy. Przy zastosowaniu silniejszych powiększeń (fot. 8, 9, 10) nie tylko daje się zauważyć zróżnicowanie elementów ultrastrukturalnych ściany, ale jednocześnie staje się możliwe ustalenie stosunków topograficznych ściany względem plazmalemmy. Fot. 8 pozwala zaobserwować składniki bardziej gęste i mniej gęste optycznie zajmujące oddzielne przestrzenie ściany. W obrębie każdej z tych przestrzeni daje się zauważyć włókienkowatoziarnisty charakter ściany. W niektórych miejscach ściana ma charakter luźnostrzępiasty. Między plazmalemmą a ścianą komórkową widnieje jasna przestrzeń wgłębiająca się płytkimi zatokami w kierunku cytoplazmy (fot. 10). Przestrzeń ta wypełniona jest delikatnymi włókienkami, których charakter ultrastrukturalny widoczny jest przy zastosowaniu silniejszych powiększeń (fot. 12).

Plazmalemma na zdjęciach wykonanych przy małych powiększeniach ma wygląd jednolitej gęstej optycznie linii (fot. 8). Przy powiększeniach rzędu 45 000× — 50 000× plazmalemma ma wygląd typowej jednostki błoniastej (fot. 13). Nie dało się zaobserwować różnic zależnych od topografii dotyczących zarówno grubości ogólnej plazmalemmy, jak i grubości poszczególnych jej składników. Plazmalemma wykazywała szereg lokalnych wpukleń w kierunku cytoplazmy. Tuż pod plazmalemmą, od strony cytoplazmatycznej, widoczne były niewielkie wydłużone pęcherzyki obrzeżone błoną typu jednostki błoniastej o cechach charakterystycznych dla plazmalemmy. Oś długa tych pęcherzyków była zwrócona równolegle do plazmalemmy (fot. 9, 12). Pęcherzyki te mają łączność z przestrzenią pozakomórkową.

Cytoplazma obserwowana pod małym powiększeniem mikroskopu elektronowego ma wygląd jednostajny. Fot. 6, 7, 8 pozwalają na zaobserwowanie różnic w gęstości optycznej cytoplazmy różnych komórek. Powiększenia silniejsze dowodzą, że gęstość optyczna cytoplazmy zależy od stopnia wypełnienia cytoplazmy podstawo-

wej przez rybosomy. Komórki młodsze charakteryzowały się bardziej zbitym ułożeniem rybosomów. Rybosomy były ułożone w cytoplazmie w sposób bardziej i mniej regularny (fot. 15). Ułożenie rybosomów wzdłuż błony kanalików ergastoplazmatycznych charakteryzowało się największą regularnością. Zastosowanie silniejszych powiększeń pozwoliło na stwierdzenie, że ziarna rybosomów utworzone są przez kompleksy cząstek o mniejszych wymiarach. Rozetkowate układy rybosomów nie były spotykane w komórkach mezofilu. W mniej licznych przypadkach obserwowaliśmy również bardziej drastyczne różnice w rozkładzie rybosomów. Przykładem tego jest zdjęcie (fot. 10), na którym luźny układ rybosomów został zaznaczony literami *vcl.* Plazmalemma okolic cytoplazmatycznych z luźnym rozkładem rybosomów ma wygląd analogiczny jak w tych miejscach komórki, gdzie rozkład jest bardziej równomierny.

Siatka endoplazmatyczna w stadiach rozwojowych mezofilu reprezentowanych w naszym materiale występuje w skąpej ilości. Najczęściej widywało się ją w postaci kanalików o zmiennej średnicy i kształcie (fot. 6, 7, 8, 11). Obserwacje dowodzą, że nie mamy do czynienia z kanałami o stale jednakowym świetle, występują bowiem paciorkowate poszerzenia światła kanalika. Widywaliśmy obrazy kilku kanałów połączonych „wstawką" o mniejszej średnicy. W miarę dojrzewania komórek mezofilu siatka endoplazmatyczna ulegając lokalnemu przerostowi zamieniała się na wakuolę. Wstępne poszerzenie części kanałów siatki endoplazmatycznej nadaje komórce oglądanej pod słabszym powiększeniem koronkowy wygląd (fot. 6, 7. 9). W fazie wstępnej poszerzone kanały siatki były jeszcze oddzielone od siebie wąskimi pasmami cytoplazmatycznymi. Później w tych miejscach widoczne są jedynie zespoły jednostek błotniastych. Światła poszerzonych kanałów są najpierw optycznie puste (fot. 9). W pobliżu środka komórki kanały siatki ulegają najintensywniejszemu poszerzeniu. Przy niewielkim zaawansowaniu tworzenia się centralnej wakuoli spotykało się silniej poszerzone kanały również w okolicach plazmalemmy. Szczegóły strukturalne obrzeży poszerzonych kanałów można prześledzić na zdjęciu 11. W lewej części zdjęcia widoczna jest duża wakuola. Poszerzone w różnym stopniu kanaliki siatki endoplazmatycznej wypełniają cytoplazmę. Światło jednego z takich kanalików ma kształt półksiężycowaty (fot. 11 oznaczenie „*er*"). W późniejszym etapie zaczyna się fragmentacja i zanik błon oddzielających kanaliki od siebie. W świetle wakuoli w okresach późniejszych widać resztki elementów błoniastych w postaci pozwijanych spiralnie fragmentów (fot. 15, 16, 17). Pozostaje wreszcie jedna tylko błona cytoplazmatyczna oddzielająca światło wakuoli od cytoplazmy — tonoplast (fot. 14). Na tym samym zdjęciu można prześledzić wszystkie składniki ścian poszerzonych kanalików siatki endoplazmatycznej w miejscu ich styku: idąc od światła wakuoli napotykamy pierwszą warstwę gęstą optycznie, grubości ok. 30 Å, za nią występuje warstwa jasna grubości ok. 40 Å, sąsiadująca bezpośrednio z warstwą gęstą grubości ok. 30 Å, a później widać warstwę jasną 40 Å, za którą od strony cytoplazmatycznej występuje warstwa optycznie gęsta grubości ok. 30 Å. Grubość całej błony wynosi ok. 170 Å. Mamy tu do czynienia ze stykiem dwóch jednostek błoniastych wytwarzających błonę wspólną zewnętrzną. Grubość przegrody międzykanałowej różni się od grubości otoczek organelli komórkowych w komórkach

mezofilu. W okresach późniejszych wytwarzania wakuoli, w ich świetle spotykało się bezkształtne zagęszczenia (fot. 13).

Rozrzedzone fragmenty cytoplazmy widoczne na fot. 10 i 13, sugerowałyby inny sposób wytwarzania wakuoli. Materiał nasz nie pozwolił na wyciągnięcie wniosków odnośnie do powstawania tonoplastu w takich warunkach.

W obrębie otoczki jądrowej widoczne są zmiany będące odzwierciedleniem ogólnych uchwytnych morfologicznie przemian dotyczących siatki endoplazmatycznej w toku wytwarzania wakuoli. Warstwa pośrednia otoczki jądrowej ulega znacznemu nierównomiernemu poszerzeniu (fot. 9).

W okresach pomerystematycznych poważna część cytoplazmy zajęta była przez chloroplasty (fot. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Stosunkowo rzadko spotykaliśmy w naszym materiale proplastydy. Proplastyd demonstrowany na zdjęciu 10 (*ppl*) jest jedną z wczesnych postaci tego organellum. W delikatnie ziarnistej stromie proplastydu widoczne są trzy krótkie lamelle. Otoczka proplastydu ma grubość mniejszą od grubości otoczek starszych plastydów. Pod słabszym powiększeniem mikroskopu elektronowego chloroplasty mają najczęściej kształt owalny, soczewkowaty lub rzadziej wrzecionowaty. W komórkach bardziej dojrzałych chloroplasty wpuklają się do wnętrza wakuoli, jeżeli są położone tuż pod tonoplastem. Pod silniejszym powiększeniem spostrzega się większe nieregularności kształtu chloroplastów (fot. 10, 12, 13). Niekiedy otoczka chloroplastu wpukla się w kierunku cytoplazmy zatokowatym wybrzuszeniem (fot. 16). Morfologię otoczki plastydów widać dokładniej na fotografiach 15, 16, 17. Obydwa składniki otoczki nie biegną równolegle do siebie, co widać na zdjęciach jako względnie rytmiczne powtarzające się poszerzenia optycznie jasnej warstwy między dwoma gęstymi składnikami. Wskutek falistego przebiegu otoczki w miejscach, gdzie obydwa jej składniki są bardziej zbliżone do siebie i nacięte stycznie, powstaje wrażenie nieciągłości składnika pośredniego (fot. 17). Dokładniejsze obserwacje dowodzą, że wnętrze chloroplastu jest szczelnie odcięte od cytoplazmy. Wewnętrzna, optycznie gęsta warstwa otoczki pączkuje do wnętrza stromy (fot. 15, strzałka). Ciągłość między warstwą pośrednią otoczki a światłem wytworzonego pączka jest zachowana. W pobliżu otoczki widocznych jest zawsze kilka do kilkunastu takich pączków. W miarę zbliżania się do gran pęcherzyki wydłużają się i układają się tak, że ich długa oś jest równoległa do lamelli granowych (fot. 17, strzałka z kółkiem). Otoczki plastydów mają największą gęstość optyczną ze wszystkich błon cytoplazmatycznych mezofilu. Wewnątrz chloroplastu widoczne są lamelle granowe i międzygranowe. Lamelle granowe ułożone są równolegle do siebie, ich liczba nie przekracza sześciu. Na końcach lamelli granowych znajdują się ziarna ograniczające (fot. 10). Wczesne stadia organizowania się gran charakteryzowały się luźnym, nierównoległym ułożeniem lamelli (fot. 12). Kompartamenty młodych gran były poszerzone, a dwie stykające się ze sobą błony lamelli granowych miały przebieg falisty lub esowaty (fot. 12, 13). Różnicujące się grana miały niekiedy lamelle ułożone wachlarzowato. Większość gran komórek młodych zbudowana była z takich luźnych układów lamelli. W starszych komórkach grana miały lamelle ułożone równolegle (fot. 15). Lamelle międzygranowe w chloroplastach definitywnie wykształconych reprezentowane były skąpo (fot. 10). Lamelle

granowe oraz lamelle międzygranowe położone były w obrębie granum bardzo blisko siebie. Jeżeli skrawek zawierał grana przecięte pod kątem nieco innym niż 90°, to przestrzenie międzylamellarne w obrębie granum zacierały się zupełnie. Na przekrojach bliskich kierunkowi prostopadłemu w stosunku do powierzchni lamelli (fot. 15) widoczne były paciorkowate rytmiczne poszerzenia przestrzeni międzylamellarnych. Niekiedy do zorganizowanych lamelli granowych przylega wydłużony pęcherzyk powstający w wyniku pączkowania otoczki plastydu.

Relacje wzajemne lamelli granowych i międzygranowych można przedstawić następująco. W obrębie gran lamelle granowe przeplatają się z lamellami międzygranowymi. Liczba lamelli granowych jest znacznie większa od liczby lamelli międzygranowych. W obrębie gran układ wszystkich lamelli jest równoległy. Niekiedy lamelle międzygranowe, po wyjściu z obrębu granum, rozchodzą się do dwóch różnych gran położonych albo w najbliższym sąsiedztwie, albo znajdujących się na innej głębokości organellum (fot. 10). Struktura składników błoniastych wszystkich lamelli była identyczna.

Poza lamellami obu typów innym składnikiem strukturalnym chloroplastów były globule osmofilne. Na zdjęciach występowały one jako różnej wielkości okrągłe ziarna o jednolitej treści, zajmujące położenia przypadkowe.

Stroma chloroplastów przy małych powiększeniach ma wygląd jednolicie ziarnisty o zmiennej gęstości elektronowej (fot. 6, 7, 8, 9). Przy większych powiększeniach (fot. 15, 16, 17) dawały się wyróżnić następujące typy struktur wewnątrzstromalnych: (1) ziarna optycznie gęste o średnicy 70—160 Å, (2) ziarna o mniejszej gęstości elektronowej i wymiarach ok. 45 Å, (3) delikatna siateczka ułożona nierównomiernie, o wyglądzie euchromatyny jądrowej. Siateczka taka widoczna jest na zdjęciu (fot. 16) w miejscu oznaczonym „*x*". Układ wzajemny poszczególnych struktur w obrębie stromy był przypadkowy. Struktury „euchromatynowe" najczęściej były spotykane na obwodzie plastydów. Poza tym w stromie widziało się szereg przejaśnień położonych raczej w środku chloroplastu, w których najczęściej spotykaną strukturą były delikatne włókienka. Ziarna występujące w takich przejaśnieniach były ułożone bardzo luźno (fot. 15, 16, 17), Z tymi przejaśnieniami sąsiadowały ziarna skrobi, posiadające kształt soczewkowaty i oddzielone od reszty stromy wąskim, równoległym, optycznie jasnym marginesem. Przy małych powiększeniach były one jednolicie ciemne, przy większych widoczny był w ziarnach skrobi jaśniejszy rdzeń przechodzący nieostro w ciemniejsze obrzeżenie.

Mitochondria zajmowały w komórkach młodszych położenie przypadkowe, w komórkach starszych bardzo często przylegały one do chloroplastów (fot. 10). Styk otoczek mitochondriów i plastydów na pewnej odległości oraz występowanie wolnej cytoplazmy po stronie przeciwległej do takiego styku dowodzi, że kontakt o charakterze fizjologicznym nie jest wykluczony (fot. 9). Mitochondrium posiadało typową otoczkę złożoną z dwóch jednostek błoniastych przedzielonych jasną optycznie warstwą (fot. 10). Warstwa ta była wyraźniej widoczna oraz miała przebieg bardziej prostoliniowy niż analogiczna warstwa otoczek plastydów. Półki (*cristae*) mitochondrialne miały postać kanalików o nieregularnym świetle i obrzeżu, co dawało rysunek odbiegający znacznie od geometrycznej prawidłowości. Poza najczęściej

występującymi spłaszczonymi profilami półek widoczne również były profile okrągłe na przekrojach poprzecznych, z równolegle biegnącymi ścianami optycznie gęstymi na przekrojach podłużnych (fot. 16). Składnik optycznie jasny półki zachowywał ciągłość z warstwą optycznie jasną otoczki mitochondrium. Macierz (*matrix*) mitochondrium niezależnie od wieku komórki i lokalizacji organellum miała małą gęstość optyczną. Najczęściej była ona bezstrukturalna z wyjątkiem rzadko występujących drobnych, gęstych optycznie ziaren, delikatnych włókien oraz nieco mniej optycznie gęstego bezkształtnego materiału. Ziarna i zagęszczenia substancji zlokalizowane były najczęściej w pobliżu półek (fot. 14). Błony mitochondrialne wykazywały przy większych powiększeniach obecność globularnych podjednostek (fot. 16, 17).

Aparat Golgiego składał się z kilku równoległych lamelli zgiętych półksiężycowato o zamkniętych nieco gęstszych od otoczenia kompartamentach. W częściach obwodowych lamelle posiadały pęcherzykowate rozszerzenia (fot. 17). Część tych rozszerzeń traciła łączność z lamellami macierzystymi i leżała wolno w cytoplazmie. Błony aparatu Golgiego zbudowane były również z globularnych podjednostek (fot. 17).

Poza typowymi organellami komórkowymi, których identyfikacja i klasyfikacja nie nastręczały większych trudności, w komórkach mezofilu spotykaliśmy twory cytoplazmatycze, które ze względu na duży wachlarz odmian morfologicznych trudno było zaszeregować do jednej wspólnej grupy. Należały tam przede wszystkim ziarna cytoplazmatyczne obrzeżone pojedynczą otoczką. Ziarna te miały kontur owalny i drobnoziarnistą treść, której wygląd różnił się od ziarna do ziarna. Ziarna te utożsamialiśmy ze sferosomami (fot. 8). Prawdopodobnie do tej samej grupy należały, ze względu na pochodzenie i funkcje, wodniczkowate twory o delikatnej „pyłkowej" treści i pojedynczym obrzeżeniu (fot. 10, miejsce oznaczone „*x*").

Jądra komórkowe miały przeważnie kształty owalne (fot. 1—5), chociaż w komórkach wydłużonych występowały jądra kształtu pałeczkowatego (fot. 6). Przy małych powiększeniach nukleoplazma miała wygląd jednolicie drobnoziarnisty z wyraźniej występującymi jedynie ziarnami największymi (fot. 6,7). Inne rodzaje utkania nukleoplazmy widoczne są dopiero po zastosowaniu silniejszych powiększeń (fot. 12). Dawały się wówczas wyróżnić: euchromatyna, heterochromatyna oraz dodatkowe szczegóły budowy składnika gruboziarnistego. W komórkach młodszych nukleoplazma charakteryzowała się większą jednolitością struktury (fot. 10). W miarę dojrzewania komórek nukleoplazma różnicowała się z wyodrębnieniem wspomnianych składników (fot. 12). Najwięcej miejsca w nukleoplazmie komórek starszych zajmowały jednolicie wyglądające fragmenty złożone z delikatnej siateczki euchromatynowej. Siateczka miała wygląd delikatnych przejaśnień występujących w jednolitej masie o średniej gęstości elektronowej. Przestrzenie euchromatynowe zatopione były z kolei w oczkach grubszej sieci zbudowanej z dwóch pozostałych składników utkania nukleoplazmy, a mianowicie heterochromatyny i składnika gruboziarnistego. Składnik gruboziarnisty i heterochromatyna występowały w zmiennych proporcjach, ilościowo jednak przeważała heterochromatyna. Największą nie-

regularnością występowania charakteryzował się składnik gruboziarnisty. Niektóre zdjęcia sugerują występowanie jednolitej bezpostaciowej masy, w której zatopione są elementy strukturalne nukleoplazmy (fot. 12). Drobne grudki heterochromatyny występowały w obrębie euchromatyny. Jąderko zlokalizowane było najczęściej w ośrodku jądra komórkowego. Na zdjęciach z mikroskopu świetlnego jąderko było widoczne w postaci silnie zasadochłonnej okrągławej grudki (fot. 1—5). Na zdjęciach mikroskopowo-elektronowych przy małych powiększeniach (fot. 7), jąderko występowało jako okrągława grudka o teksturze ziarnistej. Przy silniejszych powiększeniach w obrębie jąderka widać było oddzielne gęste optycznie ziarna o wymiarach 150—250 Å. Między ziarnami znajdowały się nieregularnego kształtu drobne przejaśnienia. Gęstość tych przejaśnień była jednak większa od otaczającej jąderko nukleoplazmy. Ziarna jąderka zdradzały silne powinowactwo do soli uranylowych. Po zastosowaniu soli ołowiawych w środowisku o wysokim pH jako barwników elektronowych, następowało wyługowanie składników jąderka z odmaskowaniem elementów strukturalnych. Jednocześnie amorficzna masa, w której znajdowały się ziarna jąderka traciła gęstość optyczną.

Otoczka jądrowa zbudowana była z dwóch jednostek błoniastych oddzielonych od siebie jasną przestrzenią. Przy nacięciu stycznym niektórych miejsc otoczki jądrowej widywało się pozorny styk dwu warstw gęstych. Pory jądrowe występowały nieregularnie.

Ogólny plan budowy komórek mezofilu *Humulus* odpowiadał w zupełności opisom spotykanym w literaturze; nie spostrzegaliśmy żadnych tworów nietypowych. Dane znajdujące się w tej pracy dotyczą materiału utrwalonego w roztworach czterotlenku osmu. W najbliższym czasie dane na temat ultrastruktury mezofilu *Humulus* zostaną poszerzone również o te składniki, których uwidocznienie wymaga zastosowania techniki utrwalania redukcyjno-utleniającej.

DYSKUSJA

Technika preparacyjna stosowana w niniejszej pracy spełnia — jak się wydaje — postulaty dobrego zachowania struktur komórkowych, stawiane przez współczesną ultramorfologię.

Zastosowanie utrwalaczy osmowych umożliwiło uwidocznienie większej ilości szczegółów ultramorfologicznych w porównaniu z utrwalaczem nadmanganianowym' który w specyficzny sposób zachowuje struktury błoniaste (Weier 1961). Nasze obrazy demonstrowały również dobre zachowanie błon i ich zróżnicowanie. Utrwalacz osmowy pozwolił między innymi na uchwycenie różnic między jednostkami błoniastymi plazmalemmy i otoczki mitochondrialnej. Dzięki technice osmowej można było prześledzić charakter ultramorfologiczny ziarnistości cytoplazmatycznych. Mankamentem utrwalacza osmowego jest brak kontrastu, który jednak dało się skompensować dobarwiaczami elektronowymi (Reynolds 1963; Watson 1958; Milloning 1961). W sumie autorzy odnoszą wrażenie, że używanie utrwalaczy osmowych dla materiału roślinnego pozwala na opracowanie szerokiego wachlarza szczegółów ultramorfologicznych. W przypadku natomiast zagadnień specjalnych,

np. zachowania się aparatu Golgiego w określonych warunkach doświadczalnych (Morre i Mollenhauer 1964), kiedy to $KMnO_4$ działa bardziej wybiórczo, zastosowanie utrwalacza nadmanganianowego jest bardziej celowe. Autorzy w niniejszej pracy stosowali również $KMnO_4$ jako utrwalacza. Jednak ze względu na jednostronność obrazów spostrzeganych po stosowaniu tego utrwalacza, całość relacji ultrastrukturalnych oparto na materiale utrwalonym w czterotlenku osmu.

Zatapianie w Vestopalu W posiada szereg dogodności. Z racji swojego współczynnika lepkości nie daje on uszkodzeń polimeryzacyjnych, a jednocześnie daje się kroić o wiele łatwiej niż Epon 812 (Luft 1961). Noże szklane dają się z powodzeniem stosować również w przypadku Vestopalu W (Latta i Hartmann 1950). Nie bez znaczenia jest uwaga, że po zatopieniu naszego materiału do metakrylanu spostrzegliśmy szereg zjawisk opisanych w literaturze jako „rozszczepianie się błon" itp. Pewne niedoskonałości utrwalania powinny być brane pod uwagę w przypadku rozpatrywania takich zjawisk, jak: powstawanie przestrzeni między plazmalemmą a ścianą komórkową, luźno-strzępiaste ułożenie włókienek ściany komórkowej, znaczenie luźnych i rozrzedzonych utkań cytoplazmy.

W obrębie jądra komórkowego mezofilu *Humulus* spotyka się utkania nukleoplazmatyczne typowe dla świata zwierzęcego (Hay i Revel 1963) opisane również dla roślin (Matsui i Yamaguchi 1964). Zachowanie się otoczki jądra w toku procesów wytwarzania wakuoli potwierdza jej związek z układem siatki endoplazmatycznej (Porter i Machado 1960).

Mitochondria, które przypominają swoją budową analogiczne organelle u innych roślin (Buvat 1963), wykazują pewną różnorodność w budowie wewnątrzmitochondrialnego układu błon, jak np. występowanie półek wielościennych. Czy występowanie tworów globularnych w obrębie błon mitochondriów można w jakikolwiek sposób powiązać z obecnością w nich ciałek elementarnych Fernandeza-Morana i in. (1964) rozstrzygną dalsze badania.

Proces tworzenia się wakuoli u *Humulus* przebiega — jak się wydaje — w dwóch wariantach. W pierwszym na plan pierwszy wysuwają się zmiany w obrębie siatki endoplazmatycznej, które mogą być odbiciem ogólnych zmian w zakresie gospodarki wodnej. Kanały siatki obrzmiewają nierównomiernie, co prowadzi do łączenia się kilku kanałów ze sobą z późniejszym wytworzeniem centralnej wakuoli. Drugi wariant tworzenia się wakuoli obejmowałby procesy rozrzedzania cytoplazmy. Nie jest wykluczone, że oba te procesy współdziałają ściśle ze sobą i że upłynnienie cytoplazmy poprzedza zawsze wytwarzanie wakuoli.

Dotychczasowe piśmiennictwo (Poux 1962; Buvat 1957) przeważnie zwraca uwagę jedynie na pierwszy wariant. W obrębie tonoplastu dało się stwierdzić istnienie jednokrotnego zespołu zwanego jednostką błotniastą. W świetle wakuoli widać było fragmenty błon, co jest dowodem słuszności tezy, że wakuola tworzy się wskutek zanikania przegród między poszerzonymi kanałami siatki endoplazmatycznej.

Występowanie w bezpośrednim sąsiedztwie zewnętrznego składnika plazmalemmy gęstej bezpostaciowej substancji, z wychodzącymi z niej delikatnymi włókienkami, z których jest zbudowana ściana komórkowa, jest jeszcze jednym dowodem pozakomórkowej polimeryzacji włókienek ściany. Dotychczas opisane zostały pro-

cesy tworzenia się ściany komórkowej bezpośrednio po podziale mitotycznym (Whaley i Mollenhauer 1963). Obecność bezpostaciowej substancji w pobliżu elementu zewnętrznego plazmalemmy w okresie międzymitotycznym dowodziłaby, że i w tym okresie zachodzi odnawianie elementów ściany. Piśmiennictwo podaje, że włókienka celulozowe mogą być wytwarzane zewnątrzkomórkowo przez bakterie z bezpostaciowego prekursora o charakterze oligosacharydu, co pod względem wymiarów włókienek odpowiadałoby procesowi u roślin wyższych (Ohad i Danon 1964; Ohad, Danon, Hestrin 1962).

Powstawanie lamelli granowych i międzygranowych autorzy wiążą z przekształceniem się pęcherzyków powstających drogą pączkowania składnika otoczki plastydu do wnętrza organellum. Nasze zdjęcia demonstrują wpuklanie się tylko wewnętrznego składnika otoczki plastydu. Tworzące się zatokowate wgłębienie posiada ciągłość z przestrzenią optycznie jasną otoczki. Gdyby powyższy proces pozostawał w związku z pinocytozą, to wówczas pączkowaniu czy wgłębianiu w kierunku stromy plastydu musiałby ulegać również składnik zewnętrzny otoczki. Wytworzone pęcherzyki miały tendencje do układania się równoległego do lamelli gran. Podobne zjawisko zaobserwował Sitte (1962) w chloroplastach *Elodea callitrichoides*. On również tworzące się pęcherzyki wiązał z powstawaniem lamelii plastydu. Mikulska (1964) podaje, że tworzenie się lamelii granowych odbywa się drogą „inwaginacji membrany istniejącego dysku" oraz „przez skupianie się, łączenie i zlewanie znajdujących się na terenie matriks krótkich membran, pęcherzyków lub ziarenek". Lamelle międzygranowe mają wg Mikulskiej powstawać u *Clivia miniata* „ z ziarnistej substancji międzygranowej". Nasz materiał nie dostarczył nam ani jednego przykładu inwaginacji błony już istniejącego granum, podobnie nie obserwowaliśmy nigdy skupienia i zlewania się krótkich membran, pęcherzyków czy ziaren. Dokładna obserwacja stromy chloroplastów w różnych stadiach nie pozwoliła na zaobserwowanie jakichkolwiek zmian w obrębie ziarnistości stromalnych czy utworów siateczkowatych sugerujących powstawanie utworów błotniastych czy pęcherzykowych. Naszym zdaniem wszystkie lamelle powstają w jednakowy sposób. Nie mogliśmy również zauważyć w naszym materiale rozszczepiania się błon lamellarnych. Po osiągnięciu dojrzałości ultrastruktura chloroplastu *Humulus* przypominała budowę chloroplastu u innych wyższych roślin pod względem ogólnego planu budowy (Wolken 1959; Granick 1961; Muhlenthaler 1955). Grana były połączone lamellami międzygranowymi (wg terminologii anglosaskiej "frets"). Lamelle międzygranowe były bardziej nieregularnie ułożone niż w przypadku *Nicotiana* (Weier i Thomson 1962). Trudno więc było dopatrzeć się ilościowego stałego stosunku między lamellami granowymi i międzygranowymi, jaki opisywali Von Wettstein (1959), Steinman i Sjöstrand (1955) oraz Hodge i Mercer (1955). Podobnie jak w przypadku *Phaseolus vulgaris* (Thomson i Weier 1962) stroma miała charakter ziarnisty i zajmowała znaczną część plastydu. Mimo niestosowania utrwalaczy aldehydowych, pozwalających na dokładne zróżnicowanie morfologiczne części niebłotniastej chloroplastu (Gunning 1965), byliśmy jednak w stanie wykazać na naszym materiale, że ziarnistości stromalne, które po $KMnO_4$ wyglądają jednolicie (Thomson i Weier 1962), po czterotlenku osmu dają się obserwo-

wać w postaci zróżnicowanej. Chien, Vaugh i Rich (1963) wykazali obecność DNA w chloroplastach. Podobne wyniki uzyskali Kirk (1963) oraz Sager i Ishida (1963). Ris i Plaut (1962) opisali „nukleopodobne" okolice w chloroplaście u *Chlamydomonas*. Obszary te zawierały DNA. Okolice Feulgen — dodatnie w materiale Risa i Plauta znajdowały swój mikroskopowo-elektronowy odpowiednik w okolicach zawierających włókienka ok. 25 Å średnicy. W naszym materiale obserwowaliśmy miejsca przypominające utkanie „nukleopodobne" Gunninga (1965). Miejsca te charakteryzowały się mniejszą gęstością optyczną, nieostrym odgraniczeniem od reszty stromy oraz wyraźniejszym występowaniem drobnych włókienek, których wymiary z grubsza odpowiadają wymiarom włókienek Risa i Plauta. Miejsca te wyraźnie wybijały się z całości chloroplastu. „Zanikanie" rybosomów w tych okolicach mogło prowadzić do odmaskowania obecnych tam włókienek. Chcielibyśmy jednak zwrócić uwagę, że w innych okolicach stromy wykazywaliśmy obecność utkania podobnego bardzo do utkania chromatyny jądrowej. Właśnie te ostatnie miejsca autorzy byliby skłonni nazwać utkaniem nukleopodobnym na zasadzie wyłącznie opisowo-morfologicznej. Nie dysponujemy jednak żadnymi danymi, które sugerowałyby skład chemiczny wspomnianych okolic stromy. Partie stromy o zmniejszonej gęstości optycznej z objawami „odmaskowania" wiązalibyśmy raczej z początkiem syntezy skrobi. Nie posiadamy wszystkich ogniw strukturalnych tego łańcucha syntezy i dlatego nasze dane oparte są w znacznej mierze na prawdopodobieństwie występowania ziaren skrobi w tych miejscach.

Poważna część ziarnistości stromalnych pod względem ultramorfologicznym odpowiada określeniu „rybosomy". Porównując je z rybosomami cytoplazmatycznymi na pierwszy plan wychodzą różnice w wielkości. Rybosomy cytoplazmatyczne są większe. Podobne różnice stwierdził Gunning (1965). Różnice między rybosomami stromalnymi i cytoplazmatycznymi były stwierdzone przez Lyttletona (1962), natomiast Mikulska, Odintsova i Sisakyan (1962) stwierdzili identyczność rybosomów cytoplazmatycznych i stromalnych u Clivia i Chenopodium. Po zastosowaniu tradycyjnych sposobów utrwalania, nie byliśmy w stanie wykazać w stromie tzw. „centrum stromalnego".

Istnienie stwierdzonych przez autorów podjednostek strukturalnych szeregu błon cytoplazmatycznych nie budzi żadnych wątpliwości. Interpretacja jednak tego zjawiska jest trudna. Mamy nadzieję że badania, które są obecnie w toku, pozwolą na wyjaśnienie szeregu zagadnień strukturalnych dotyczących supramolekularnej budowy błon cytoplazmatycznych mezofilu *Humulus*.

Instytut Ochrony Roślin
w Poznaniu

(Wpłynęło 14.12.1965r.)

SUMMARY

The leaves of the hop in the different developmental stages were fixed with Daltons fixative (pH 6,8) and unbuffered potassium permanganate. The tissue was embedded in Vestopal W, Epon 812 and Araldite. The sections were observed under Siemens Elmiskop I electron microscope. The

walls of the cells of mesophyll are formed of delicate fibrillae which arise from amorphous mass lying in proximity of the plasmalemma. The cytoplasm is filled with ribosomes, which are constituted of smaller subunits varying in density and diameters. The vacuole is formed by dilatation of the channels of the ER system. The authors observed also the zones of cytoplasm where ribosomes were thinning out what could indicate an other way of vacuole formation. The lamellae of the chloroplasts are formed from vesicles budding from the internal part of the chloroplast envelope. The vesicles become elongated and their axes are situated parallely to the preexisting lamellae. The stroma of the chloroplast contains ribosomes which differ from the cytoplasmic ones. The regions corresponding ultrastructurally to the euchromatic regions of the nucleus were also found in the plastid stroma. The bright zones in the stroma of the chloroplasts seem to be connected with the synthesis of the starch. All membranes of the plastids and other organelles as well seem to contain the globular subunits. Cytoplasm contains different granules, part of which belonged to the class of spherosomes, others were difficult to classify. Subsurface cisternae seemed to arise, from the invaginations of the space contained between the cell wall and the plasmalemma. Further investigations based on use of the gluthar aldehyde as a fixative are now in progress.

OPIS ZDJĘĆ Z MIKROSKOPU ŚWIETLNEGO

Descriptions of micrographs from light microscope

Komórki mezofilu w różnych stadiach rozwoju

(Preparaty barwione pentachromem 3 min.; pow. 1000 x; fot. mgr L. Dunajska)

Oznaczenia: *sk* — komórki skórki; *v* — wakuole; *n* — jądro komórkowe; *na* — naczynie

Cells from mesophyll in different developmental stages

(Preparations stained with pentachrome for 3 minutes; magn, x 1000; phot. Mgr. L. Dunajska)

Legend: *sk* — epidermal cells; *v* — vacuoles; *n* — cell nucleus; *na* — evessel.

Fot. 1. Brzeg liścia z komórkami skórki z mezofilem. Widoczne są drobne wakuole. Soczewkowate plastydy zlokalizowane są obwodowo, a jądra — w środkowej części komórki.

Photo. 1. Leaf edge with epidermal cells and mesophyll. Minute vacuoles are visible. Lens-shaped plastids are peripherally localized, and the nuclei — in the central part of the cell.

Fot. 2. Głębsza warstwa mezofilu, skrojona nieco skośnie. Niektóre komórki mają już znacznie zaawansowane stadia tworzenia wakuoli. Plastydy wykazują większą gęstość w porównaniu z fot. 1. Po prawej stronie zdjęcia widoczna jest część naczynia.
(Skrawek Vestopalowy grubości 0,5 μ).

Photo. 2. Deeper mesophyll layer cut somewhat oblique. Some cells are in advanced stage of vacuole formation. Plastids are denser than in Photo. 1. On the right side a part of a vessel is visible. (Vestopal section 0.5 μ thick).

Fot. 3. Cienkie przegrody oddzielające poszczególne komory tworzącej się wakuoli (strzałka). W wielu miejscach widać falisty przebieg takich przegród. Komórka znajdująca się u góry zdjęcia posiada już jądro komórkowe położone obwodowo; w obrębie jądra widoczne jest duże, ciemno barwiące się jąderko. Ziarna skrobii liczne. W analogicznej serii skrawków stosowano do wykrycia skrobi odczynnik Lugola, który reagował z powodzeniem poprzez plastyk. Najwcześniejsze etapy tworzenia się ziaren skrobi, widoczne na zdjęciu, charakteryzują się położonymi centralnie w plastydach przejaśnieniami, które w stadiach bardziej zaawansowanych powiększają się przybierając kształt soczewkowaty. (Skrawek Vestopalowy grubości 0,4 μ)

Photo. 3. Thin septa separating the particular chambers of the forming vacuole (arrow). In many places the undulating course of these septa is visible. Cell at top of photograph has cell nucleus already on the periphery. Within nucleus large darkly staining nucleolus is visible. Numerous starch grains. In an analogous series of sections Lugol's reagent for starch detection was used which reacted through plastic. The earlierst stages of starch grains formation are visible, characterized by lighter spots situated centrally in the plastids, which at more advanced stages extend taking a lenticular shape. (Vestopal section 0.4 μ thick).

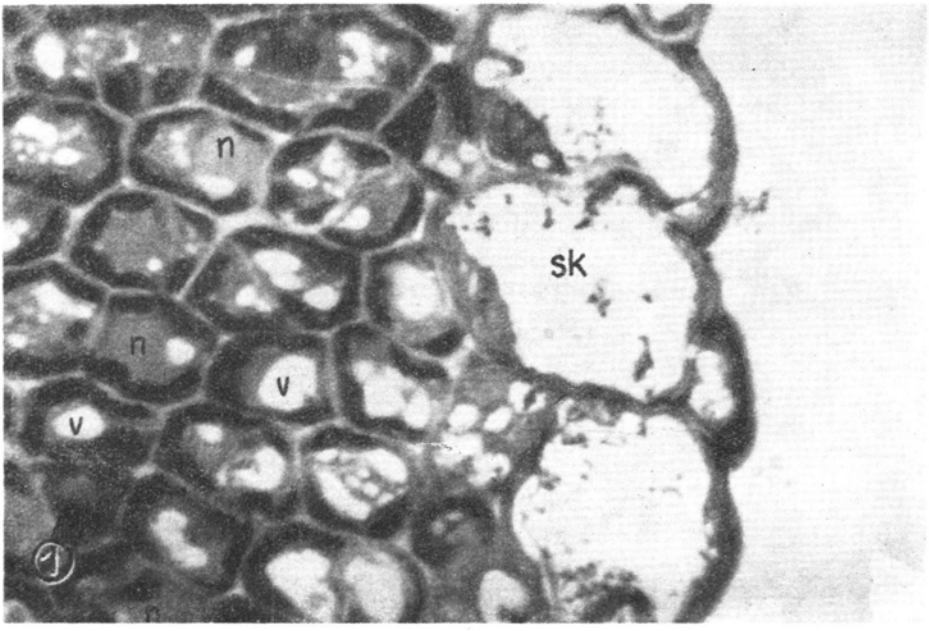
Fot. 4. Widoczne zróżnicowanie ściany komórkowej, która jest oddzielona jasną przestrzenią od proplastydu (strzałki). Ściany stały się bardziej widoczne po zastosowaniu oprócz pentachromu fuksyny zasadowej. (Skrawek Vestopalowy grubości ok. 0,3 μ).

Photo. 4. Visible differentiation of cell wall separated by lighter space from proplastid (arrows). The walls are better visualized by the application of alkaline fuchsin beside pentachrome.

Fot. 5. Komórki w stadiach odpowiadających mezofilowi dojrzałemu. (Skrawek Vestopalowy grubości ok. 0,3 μ).

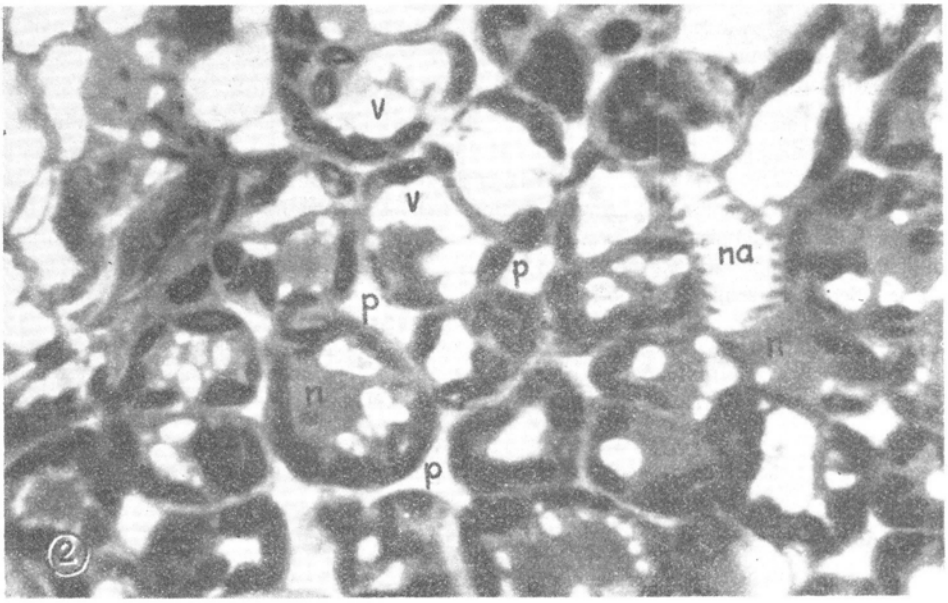
Photo. 5. Cells in stages corresponding to mature mesophyll. (Vestopal section ca. 0.3 μ thick).

Tablica I — Plate I

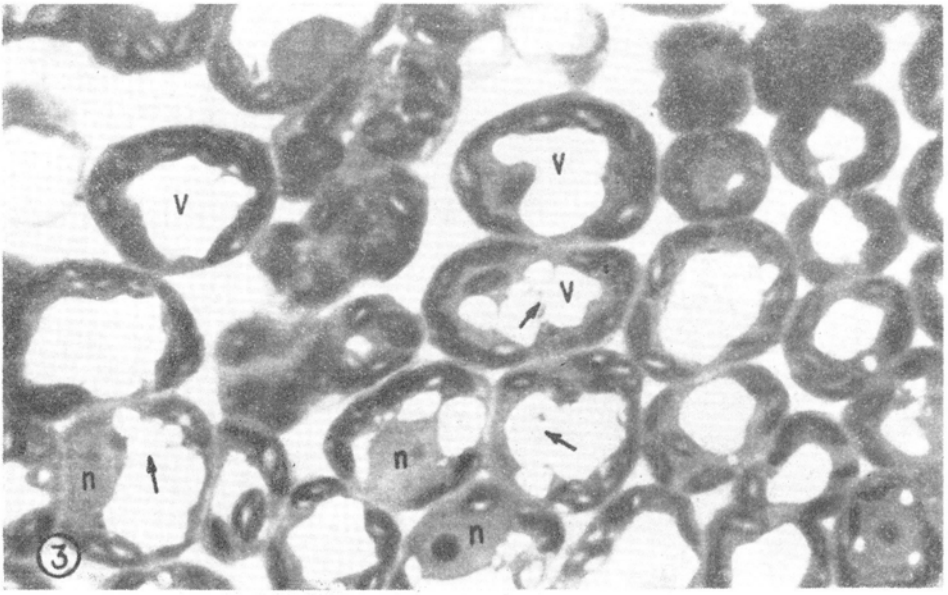


Fot. 1

Tablica II — Plate II

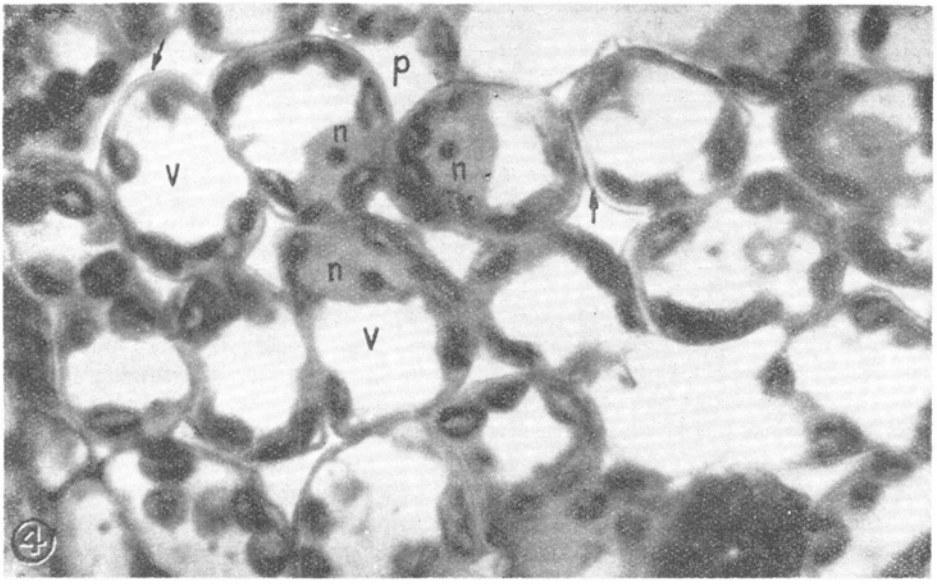


Fot. 2

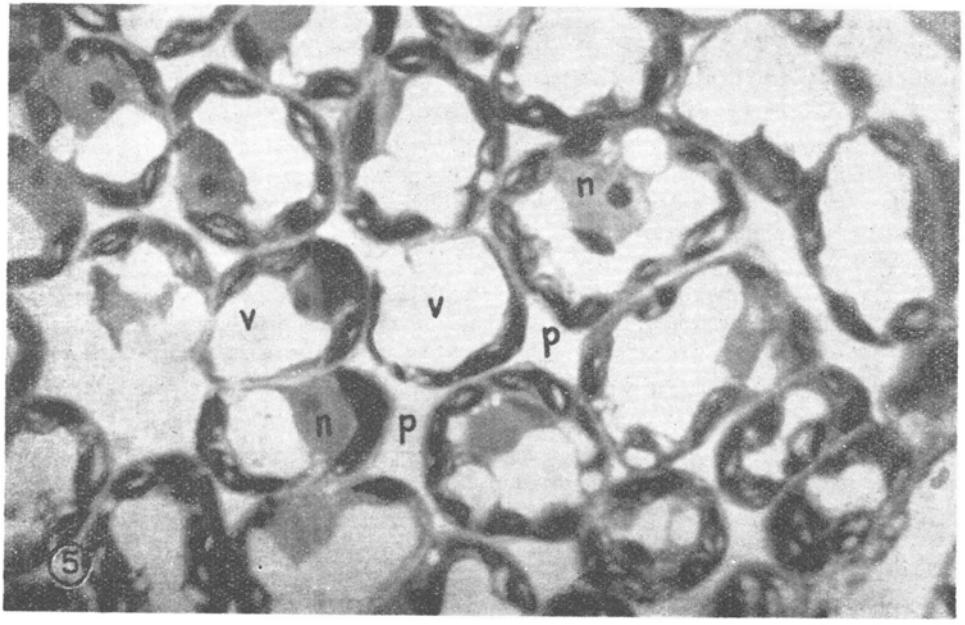


Fot. 3

Tablica III — Plate III



Fot. 4



Fot. 5

OPIS ZDJĘĆ MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWYCH

Descriptions of electronmicrographs

Oznaczenia: *n* — jądro; *gb* — strefa gruboziarnista nukleoplazmy; *e* — euchromatyna; *h* — heterochromatyna; *nn* — jąderko; *pe* — obrzmiała przestrzeń osmofobna otoczki jądrowej; *m* — mitochondria; *cr* — półki mitochondrialne; G — aparat Golgiego; *ppl* — proplastyd; *chl* — chloroplast; *gr* — grana; *vi* — pęcherzyki w chloroplastach; *st* —, stroma plastydów; *os* — globule osmofilne plastydów; *l* — lamelle chloroplastów; *lm* — lamelle międzygranowe; *am* — skrobia; *v* — wakuola; *r* — wolne rybosomy; *cy* — pasma lub cyple cytoplazmatyczne; *o* — otoczki; er — siatka endoplazmatyczna; *vcl* — cytoplazma rozrzedzona; *vs* — pęcherzyki cytoplazmatyczne podpowierzchniowe; *cm* — błona komórkowa; *t* — tonoplast; *ex* — przestrzeń zewnątrzkomórkowa leżąca między błoną komórkową a strukturalnymi elementami ściany komórkowej; *sf* — sferosom; *p* — przestrzeń międzykomórkowa

Legend: *n* — nucleus; *gb* — macrogranular zone of nucleoplasm; *e* — euchromatin; *h* — heterochromatin; *nn* — nucleolus; *pe* — enlarged osmophobic layer of nuclear membrane; *m* — mitochondria; *cr* — mitochondrial cristae; *G* — Golgi apparatus; *ppl* — protoplastide; *chl* — chloroplast; *gr* — grana; *vi* — vesicles in the chloroplasts; *st* — plastid stroma; *os* — osmophilic globules in plastid; *l* — lamellae of chloroplasts; *lm* — lamellae between grana; *am* — srtach; *v* — vacuole; *r* — free ribosomes; *cy* — cytoplasmic strands or stripes; *o* — envelopes; *er* — endoplasmic reticulum; *vcl* — rarefied cytoplasm; *vs* — subsurface cisternae *cm* — cell wall; *t* — tonoplast; *ex* — extracellular space between cell membrane and structural elements of cell wall; *sf* — spherosome; *p* — intercellular space

Fot. 6. W górnej części zdjęcia widoczne jest naczynie z charakterystycznymi zgrubieniami ściany i jamkami (strzałki). Po stronie prawej zdjęcia wodniczka w stadium zaawansowania. W obwodowej części cytoplazmy ułożone są plastydy nacięte pod różnymi kątami. W cytoplazmie tychże komórek wypełnionych obficie rybosomami znajdują się liczne mitochondria.
Pow. 4500 x.

Photo 6. The upper part of the photograph shows a vessel with characteristic wall thickenings and cavities (arrows). On the right vesicle in advanced stage. In the peripheral part of the cytoplasm the plastides cut at various angles are arranged. In the cytoplasm of these cells filled with a profusion of ribosomes numerous mitochondria are present.
Magn. 4500 x.

Fot. 7. Fragmenty trzech komórek mezofilu. Część centralna komórki zajęta jest przez jądro komórkowe. W obrębie jądra widoczne jest duże, bardzo gęste optycznie jąderko.
Pow. 4500 x.

Photo 7. Parts of three mesophyll cells. The central part of the cell is occupied by one cell nucleus. Within it a large optically very dense nucleolus is visible.
Magn 4500 x.

Fot. 8. Fragmenty czterech komórek mezofilu. Przestrzeń osmofobna otoczki jądrowej jednej z komórek jest znacznie poszerzona. Tuż powyżej wodniczki widoczne są ustawione promieniście dwa sferosomy. Część chloroplastów widocznych na zdjęciu ma poprzecznie przekrojone lamelle układające się w wyraźny rysunek lamelli międzygranowych i dobrze wykształconych gran.
Pow. 9000 x.

Photo 8. Parts of four mesophyll cells. The osmophobic space of the nuclear envelope of one of the cells is markedly extended. Immediately above the vacuole, two spherosome radially arranged may be seen. Part, of the chloroplasts visible in the photograps have cross-cut lamellae arranged in a pattern of frets and well developed grana.
Magn. 9000 x.

Fot. 9. Widoczne wgłębianie się przestrzeni między ścianą komórkową a plazmalemmą w kierunku cytoplazmy. Warstwa pośrednia otoczki jądrowej znacznie poszerzona, nieregularna. Poza tym na zdjęciu można obserwować mitochondria położone w pobliżu plastydów.
Pow. ok. 20000 x.

Photo 9. The bulging of the space between the cell wall and the plasmalemma towards the cytoplasm is visible. Intermediate layer of the nuclear envelope greatly widened, irregular. Mitochondria near the plastids are visible.
Magn. ca 20000 x.

Fot. 10. W górnej części zdjęcia widoczna jest komórka mezofilu z połacią rozrzedzonej cytoplazmy. W miejscu oznaczonym *ppl* znajduje się proplastyd. Błona tworzącej się lamelli zamyka kompartament niezwykle wąski, zaczynający się jednak już w pobliżu jednego bieguna poszerzeń. Większość gran widocznych na zdjęciu chloroplastów posiada poszerzone kompartamenty (strzałki). Ziarna ograniczające lamelli oznaczone są klamrami. Jaśniejsza przestrzeń biegnąca między ścianą komórkową a cytoplazmą została oznaczona podwójnymi strzałkami.
Pow. ok. 38000 x.

Photo 10. In the upper part, a mesophyll cell is visible with a part of the cytoplasm rarefied. The point denoted *ppl* is a proplastid. The membrane of the forming lamella closes an extremely narrow compartment beginning, however, close to one of the poles of the widening. Most grana of the chloroplasts visible in the photograph have enlarged compartments (arrows). The granules bordering the lamella are marked by brackets. The lighter space between the cell wall and the cytoplasm is marked by double arrows.
Magn. ca. 38000 x.

Fot. 11. Zdjęcie ilustruje jeden ze sposobów tworzenia się wodniczki. Opis zdjęcia znajduje się w tekście.
Pow. ok. 48000 x.

Photo. 11. The formation of a vacuole is shown. Description in text.
Magn. ca 48000 x.

Fot. 12. Późniejszy etap w rozwoju komórki mezofilu. Charakterystyczny rysunek nukleoplazmy zróżnicowanej widoczny jest w jądrze komórkowym położonym w górnej części zdjęcia. Strzałka z kółkiem oznacza wytrącony barwnik elektronowy (głównie sole ołowiu i uranu) w obrębie ziarna skrobi.
Pow. ok. 38000 x.

Photo 12. Later stage of mesophyll cell development. Characteristic pattern of differentiated nucleoplasm is seen in cell nucleus in upper part of photograph. Arrow with circle denotes precipitated electron staining (chiefly lead and uranium salts) within starch grain. Magn. ca. 38000 x.

Fot. 13. Zdjęcie przedstawia fragmenty trzech komórek mezofilu.
Pow. ok. 48000 x.

Photo. 13. Parts of three mesophyll cells. Magn. ca. 48000 x.

Fot. 14. Zdjęcie demonstruje budowę przegrody międzywodniczkowej. Podwójną strzałką zaznaczono miejsce, gdzie wszystkie składniki przegrody są widoczne.

Literą *m* oznaczono mitochondrium zawierające w macierzy sieć włókienek (strzałki).
Pow. ok. 55000 x.

Photo. 14. Structure of intervacuolar septum. Double arrow shows point where all the components of the septum are visible. By *m* is denoted a mitochondrium containing in its matrix a network of fibres (arrows).
Magn. ca. 55000 x.

Fot. 15. Główną część zdjęcia zajmuje chloroplast zawierający wykształcone układy gran i lamelle międzygranowe. Wpuklenia składnika wewnętrznego otoczki wgłąb stromy chloroplastu oznaczone są strzałką.
Pow. ok. 75000 x.

Photo 15. The greater part of the picture is occupied by a chloroplast containing well developed grana and frets. The bulgings of the inner component of the capsule into the chloroplast stroma are marked by an arrow.
Magna. ca. 75000 x.

Fot. 16. Fragment cytoplazmy widoczny na zdjęciu zawiera chloroplast z zaawansowanym rozwojem układu lamelarnego, mitochondria, wolne ribosomy i wodniczkę. W obrębie chloroplastów daje się zauważyć wpuklenie składnika wewnętrznego otoczki wgłąb stromy (strzałka). W stromie delikatna siateczka o nierównomiernym układzie przypominająca utkanie euchromatyny jądrowej została zaznaczona *x*. Podjednostki otoczki mitochondrialnej widoczne są w miejscu między klamrami.

Photo. 16. Part of cytoplasm containing chloroplast with lamellar system advanced in development, mitochondria, free ribosomes and a vacuole. Within the chloroplasts a bulging of the inner component of the capsule into the stroma (arrow) is visible. In the stroma a delicate network irregular in pattern resembling the texture of nuclear euchromatin is marked by *x*. Subunits of mitochondrial envelope are visible between the brackets.
Magn. ca. 60000 x.

Fot. 17. W górnej części zdjęcia widoczny jest aparat Golgiego. Można odnieść wrażenie, że między liniami prostymi fragment lamelli aparatu Golgiego wykazuje również obecność podjednostek. Analogiczne podjednostki w półkach mitochondrialnych zaznaczono strzałkami. Miejsce oznaczone strzałką z kółkiem uwidacznia pęcherzyk stromalny ułożony równolegle do lamelli granowych. Podwójne strzałki wskazują miejsce, gdzie lamelle międzygranowe rozchodzą się w pobliżu globuli osmofilnej zmierzając do różnych gran. *x* — zachowany fragment błony w wodniczce.
Pow. ok. 75000 x.

Photo. 17. In upper part of picture the Golgi apparatus is visible. There seem to be some subunits in the part of the Golgi apparatus between the straight lines. Analogous subunits of the mitochondrial cristae are marked with arrows. The point marked with arrow and circle shows stromal vacuole arranged parallely to the grana lamellae. Double arrows indicate the place where the intergranular lamellae diverge close to the osmophilic globule tending towards two different grana. *x* — preserved fragment of membrane in vacuole.
Magn. ca 75000 x.

LITERATURA

Behnke O., 1964, A preliminary report on „Microtubules" in undifferentiated and differentiated vertebrate cells, Journal of Ultrastructure Research 1: 139—146.

Boryszko E., 1955, Hypothesis for the mechanism of polymeryzation damage occuring during the embedding of cells in methacrylates, Journ. of Applied Physica 26, 1394.

Buvat R., 1957, Relation entre l'ergastoplasme et l'appareil vacuolaire, Comptes Rendu Ac. Sc. 245: 350—352.

Buvat R., 1963, Electron microscopy of plant protoplasm, Inter. Review of Cytology 14: 41—155.

Chien E. H. L., Vaugh M. H., Rich A., 1963. The isolation and characterisation of DNA associated with chloroplast preparations, Journ, of Molecular Biology 7: 130.

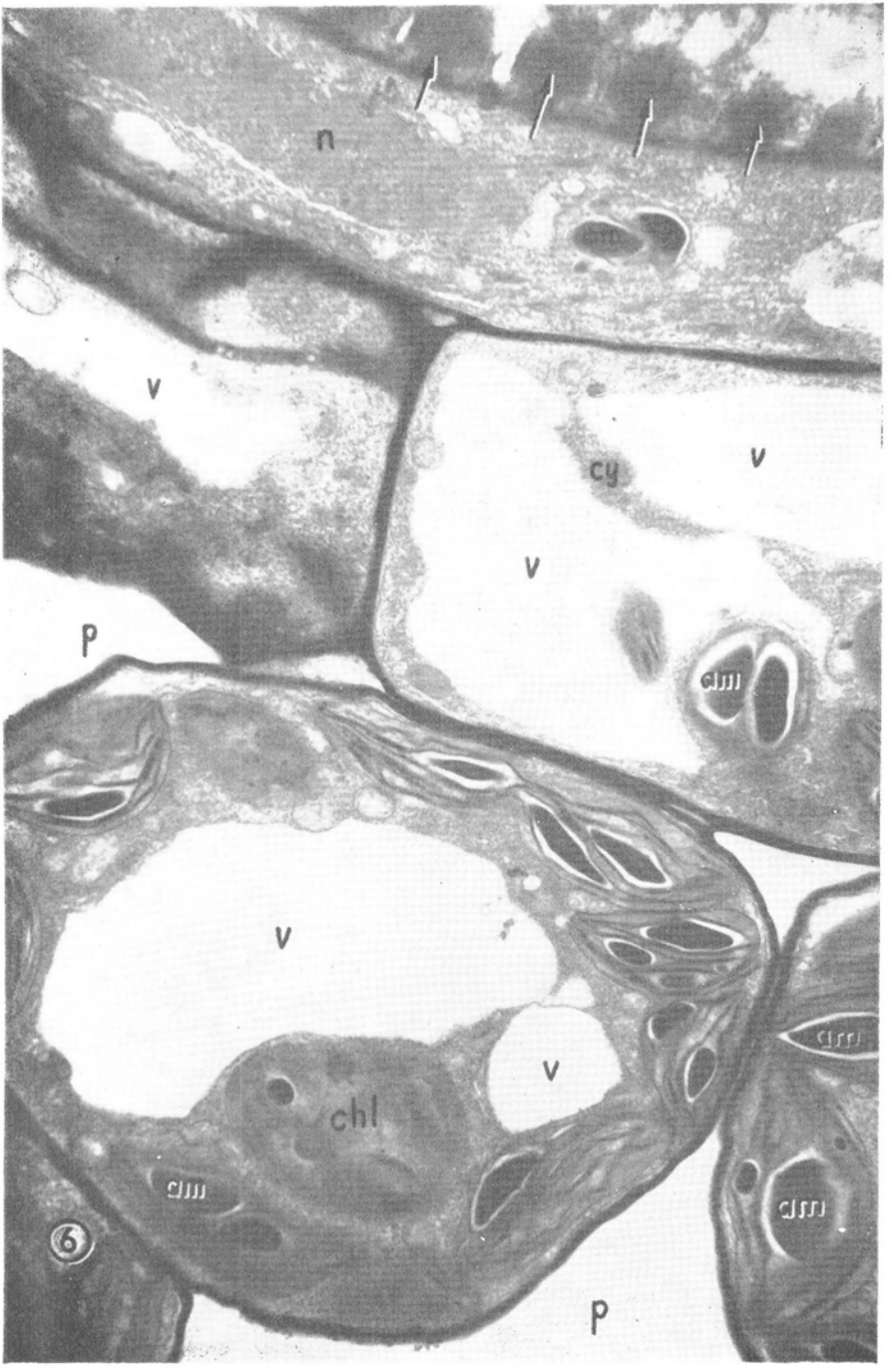
Dalton A. J., 1955, A chrome-osmium fixative for electron microscopy, Anatomical Record 121, 281.

Fernandez-Moran H., Oda T., Blair P. V., Green D. E., 1964, A macromolecular repeating unit of mitochodrial structure and function, Journ. of Cell Biology 22: 63—100.

Glauert A. M., Glauert R. H., 1958, Araldite as an embedding medium for electron microscopy, Journ. of Biophys. and Biochem. Cytology 4; 191—194.

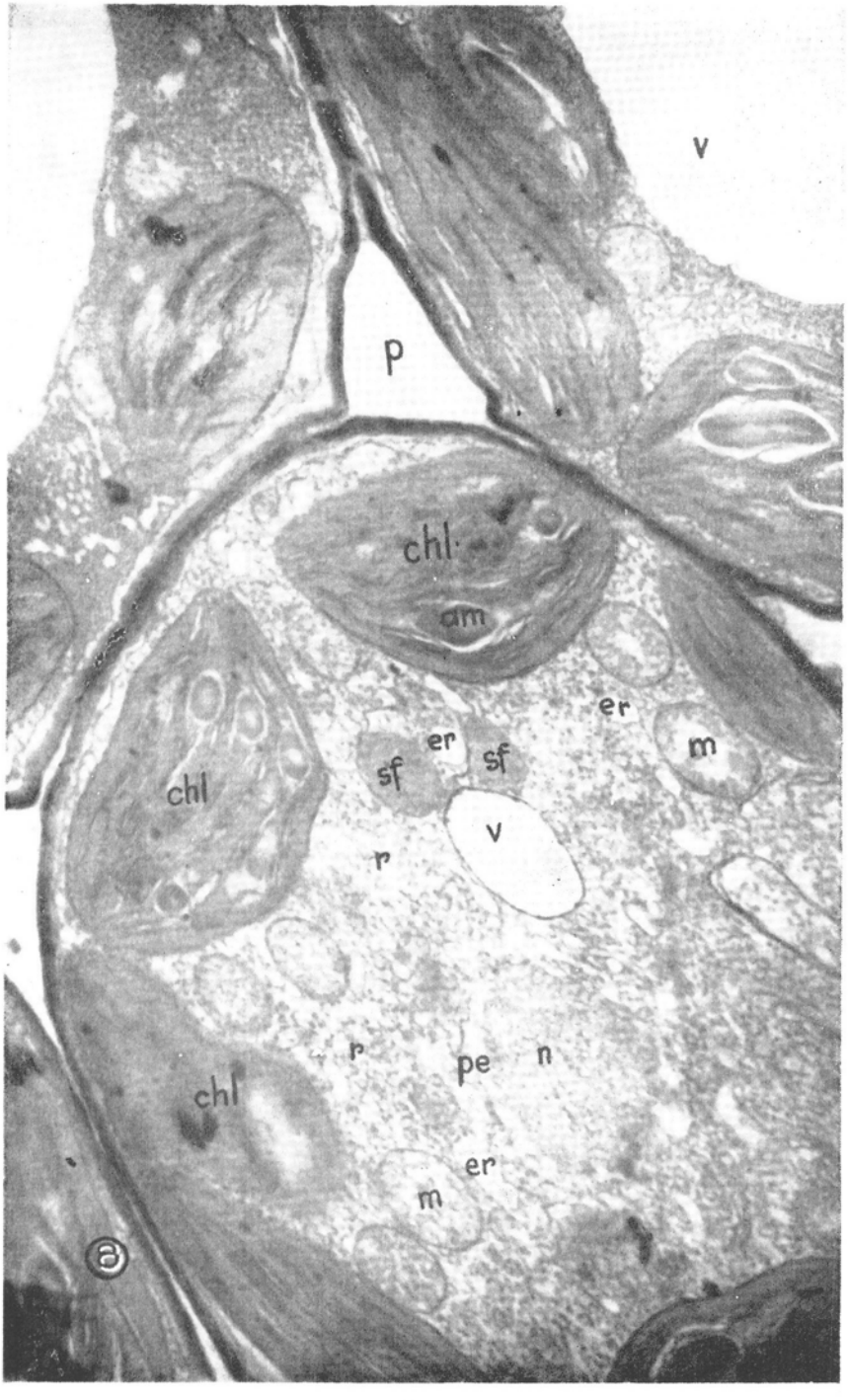
Granick S., 1961, The chloroplast: inheritance, structure and function [W:] The Cell, Vol. 2, Academic Press, Wyd. J. Brachet i A. E. Mirsky, 489—602.

Gunning B. E. S., 1965, The fine structure of chloroplast stroma following aldehyde osmiumtetroxide fixation, Journ. of Cell Biology 24, 79—93.

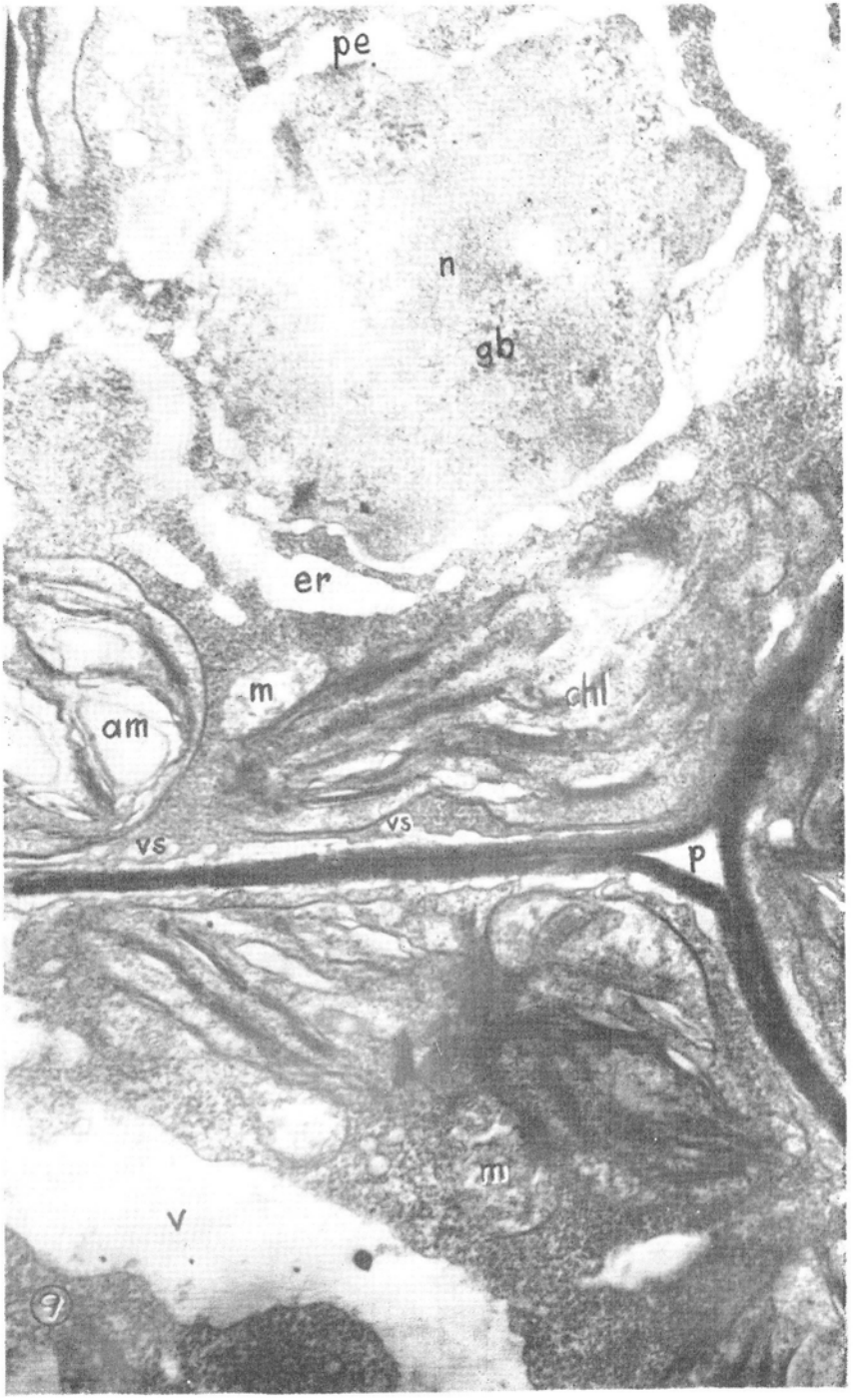


Fot. 6

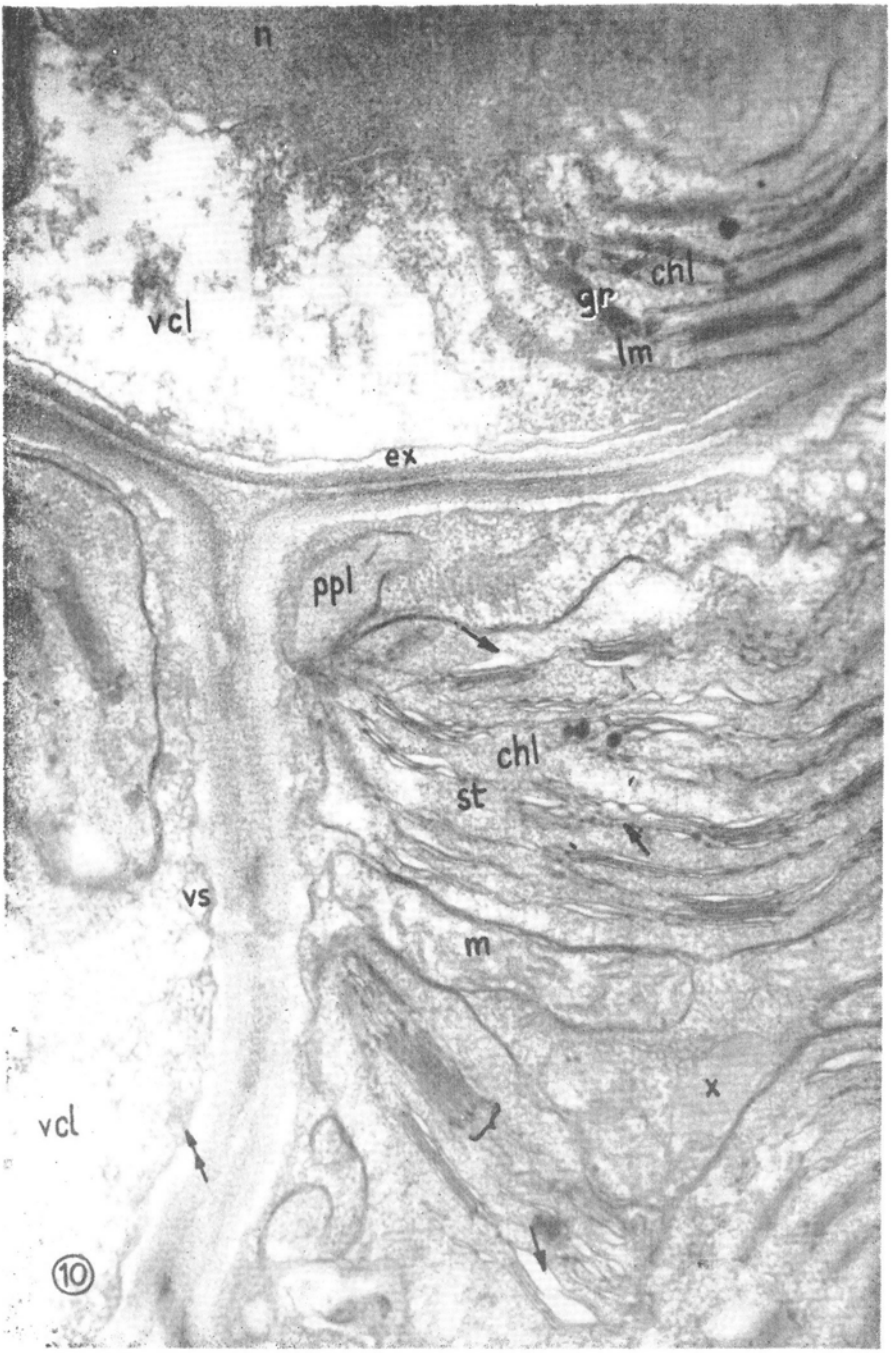
Fot. 7



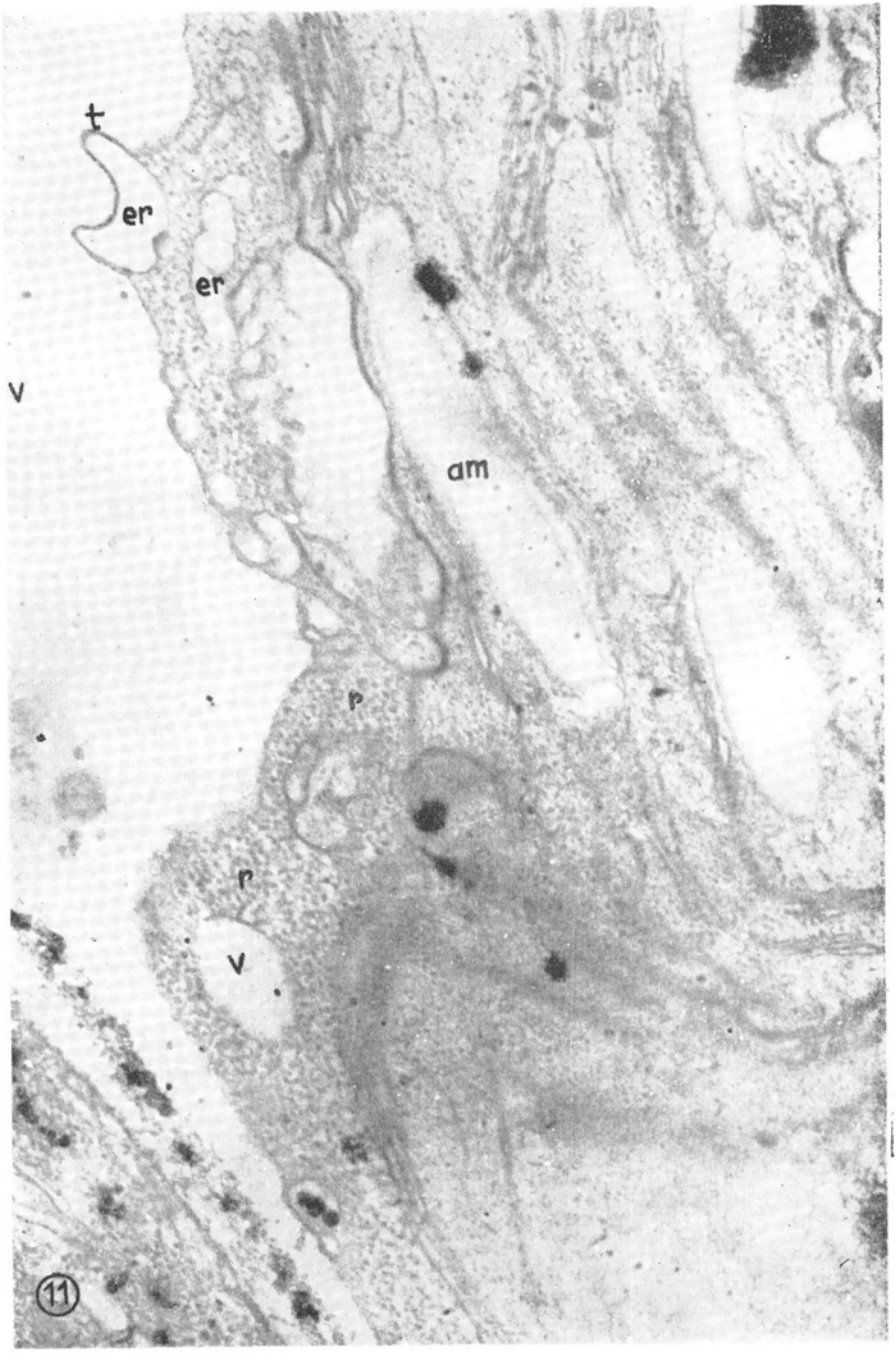
Fot. 8



Fot. 9

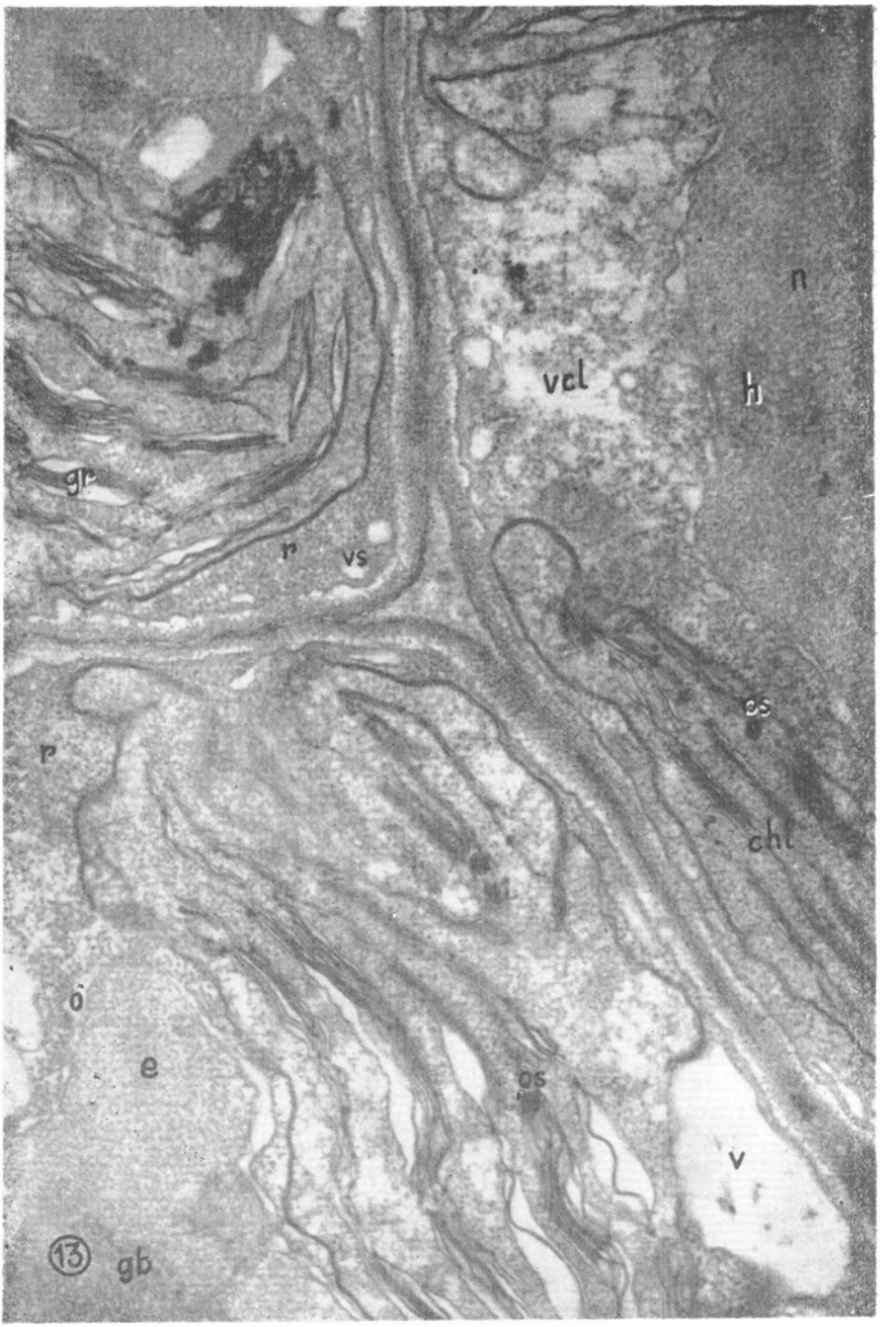


Fot. 10

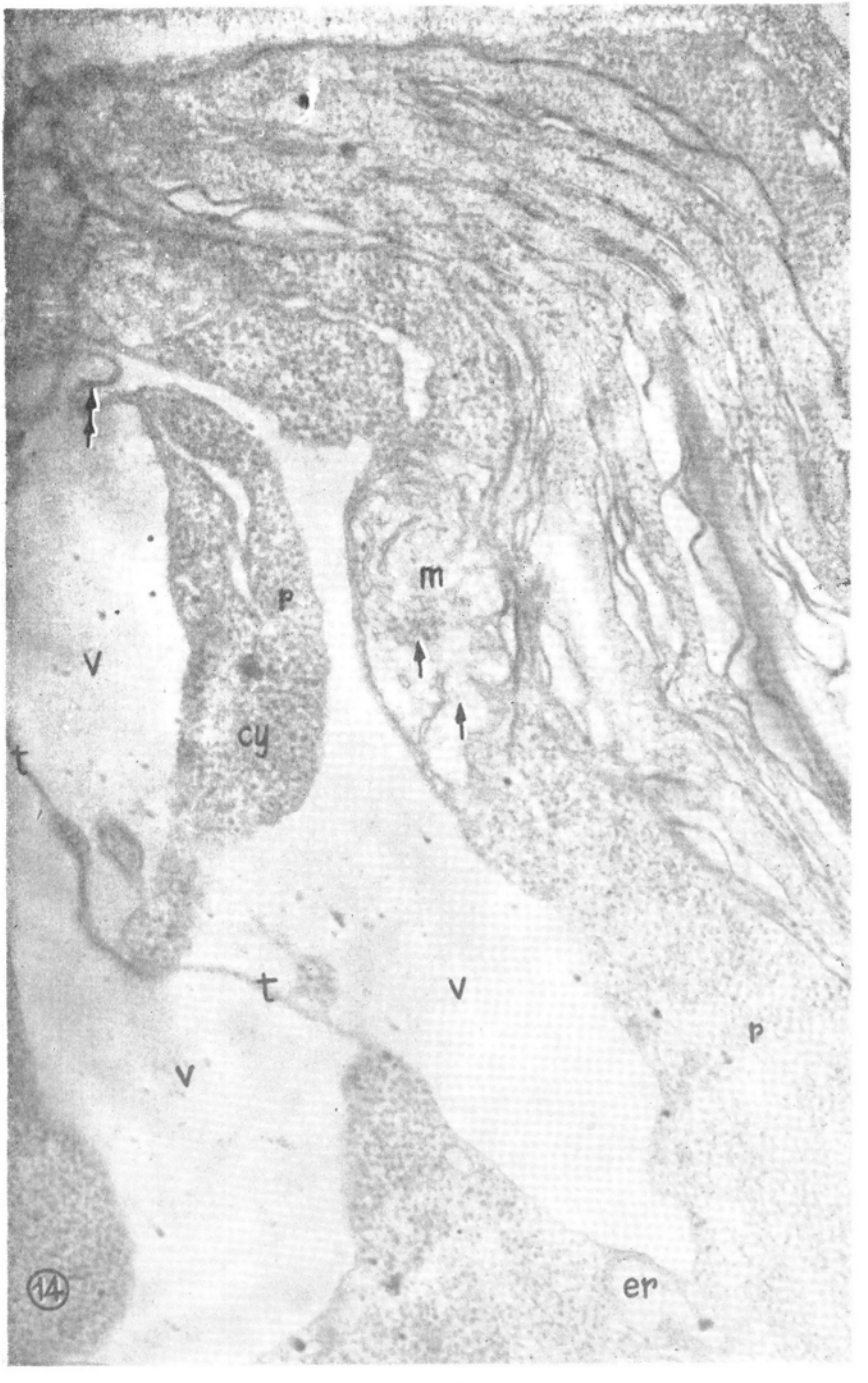


Fot. 11

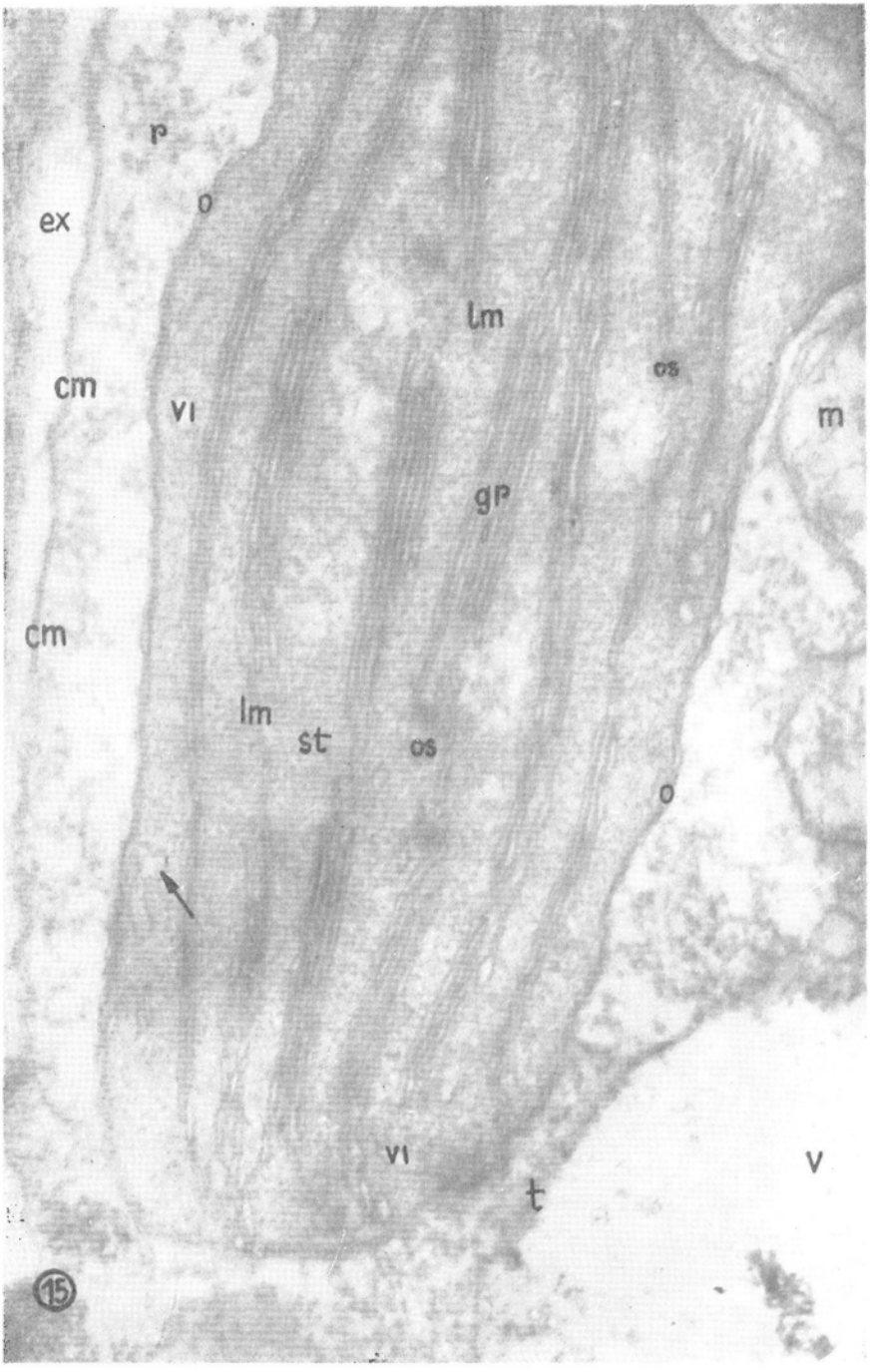
Fot. 12



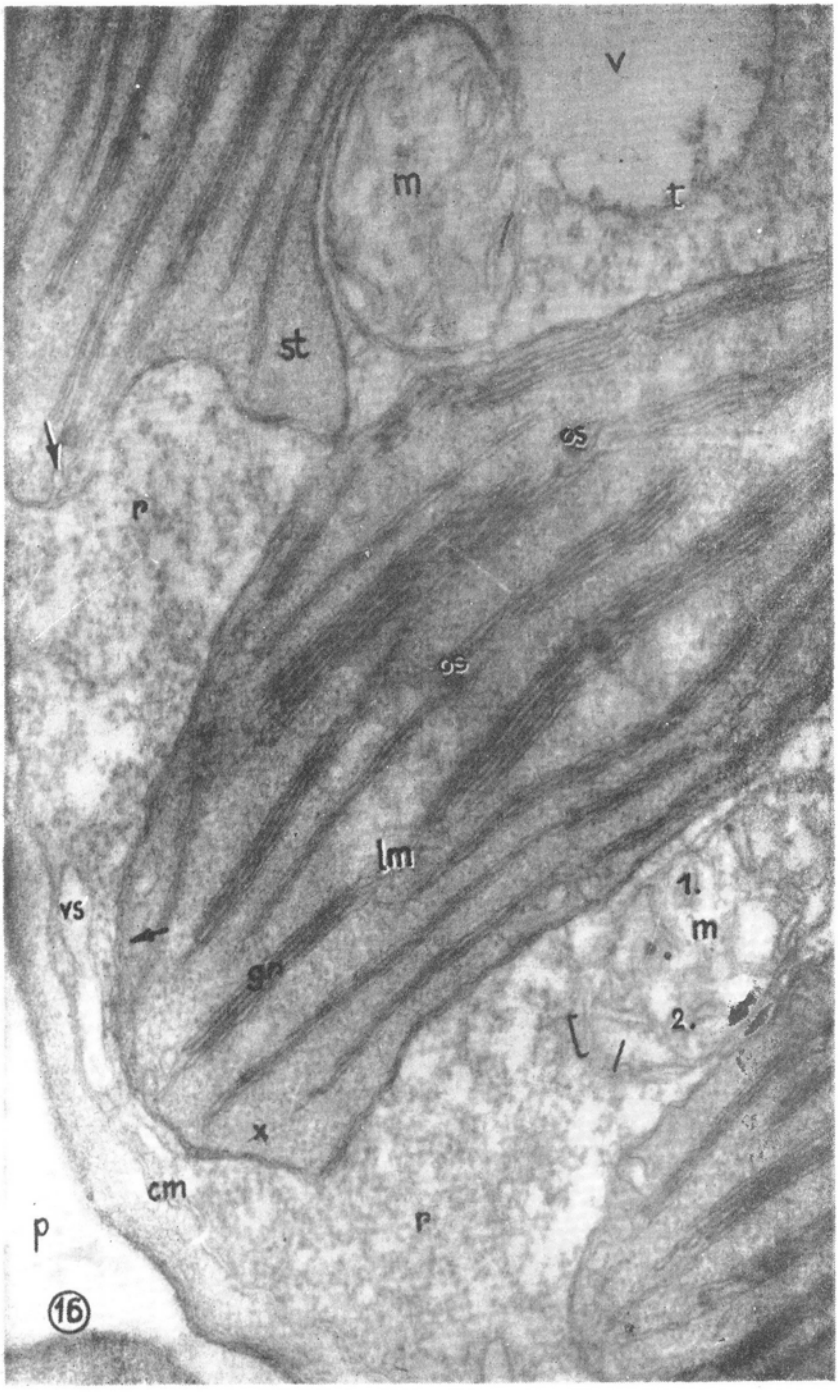
Fot. 13



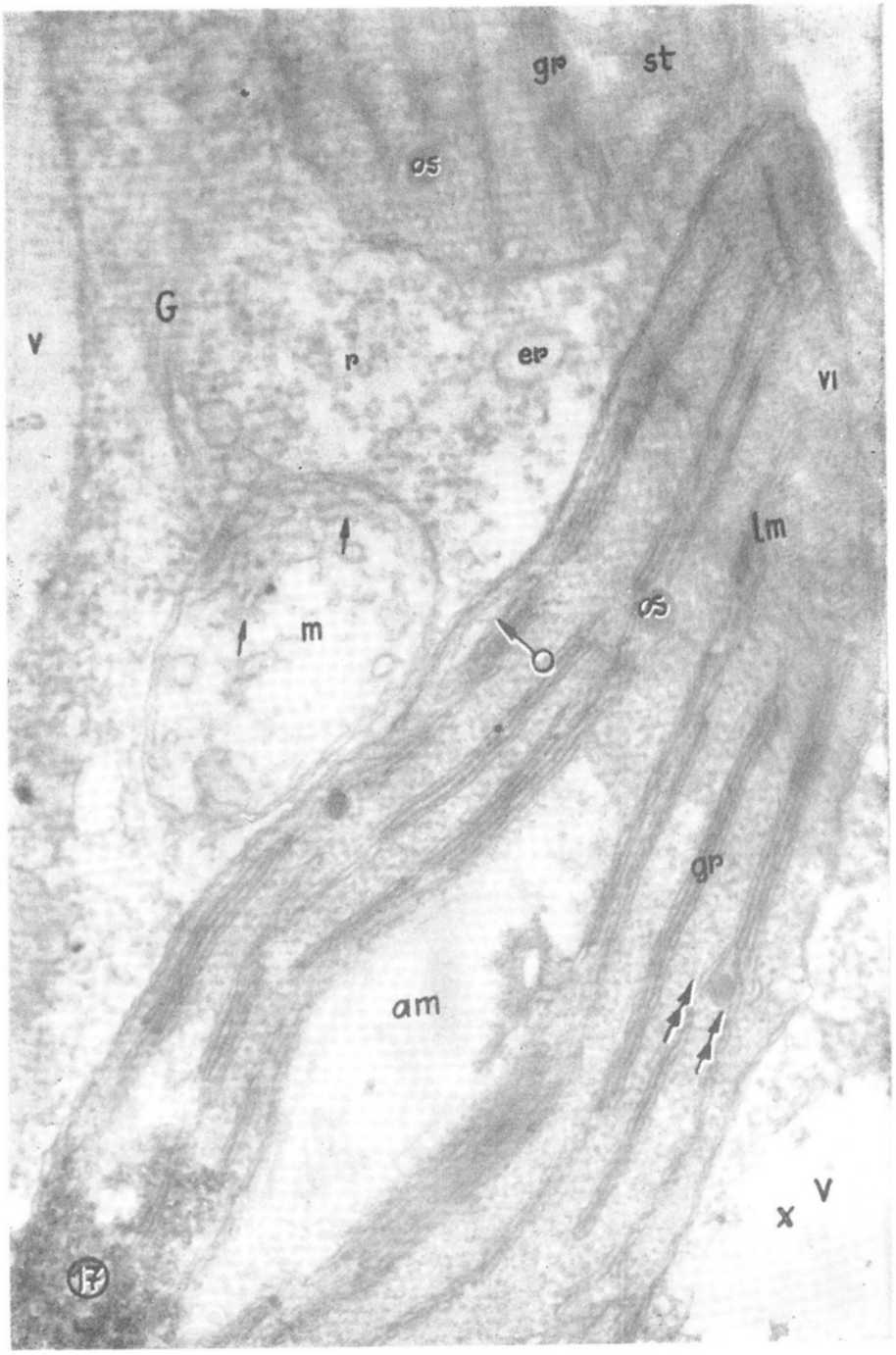
Fot. 14



Fot. 15



Fot. 16



Fot. 17

Hay E., Revel J. P., 1963, The fine structure of the DNP component of the nucleus, Journ. of Cell Biol. 16: 29—51.

Karnovsky M. J., 1961, Simple methods for "staining with lead" at high pH in electron microscopy, Journ. of Biophys. and Biochem. Cytology 11: 729—732.

Kirk J. T.O., 1963, The deoxyribonucleic acid of broad bean chloroplasts, Biochem. Journ. 1950, 88: 45.

Latta H., Hartmann J. F., 1950, Use of the glass edge in thin sectioning for electron microscopy, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 74: 436.

Ledbetter M., 1962, Observations on membranes in plant cells fixed with OsO_4. Electron Microscopy, Fifth International Congress, Philadelphia, Academic Press, Vol. 2, W-10.

Ledbetter M. C., Porter K. R., 1963, A „microtubule" in plant cell fine structure, Journ. of Cell Biology 19: 239.

Luft J. H., 1956, Permanganate-a new fixative for electron microscopy Journ. of Biophys. and Biochem. Cytology 2: 799—802.

Luft J. H., 1961, Improvements in epoxy resin embedding methods, Journ. of Cell Biol. 9: 409.

Lyttleton W. J., 1962, Isolation of ribosomes from spinach chloroplasts, Experimental Cell Research 26: 312—317.

Matsui Ch., Yamaguchi A., 1964, Electron microscopy of host cells infected with tobacco etch virus. II. Fine structures of leaf cells before and after the appearance of external symptoms, Virology 23: 346—353.

Mikulska E., 1964, Badania nad ultrastrukturą komórek liści *Clivia miniata* i *Bilbergia* sp. ze szczególnym uwzględnieniem chloroplastów, Uniwersytet Łódzki 1—61+XV.

Mikulska E., Odincova M. S., Siassakian N. M., 1962, Vydelenie i charakteristika rybosom chłoropłastow, Biochemia 27: 1061—1070.

Millong G. A., 1961, A modified procedure for lead staining of thin sections, Journ. of Biophys. and Biochem. Cytology 11: 736—739.

Morre D. J., Mollenhauer H. H., 1964, Isolation of the Golgi apparatus from plant cells, Journ. of Cell Biol. 23: 295—305.

Mühlethaler K., 1955, The structure of chloroplasts, Intern. Review of Cytology 4; 197—220.

Nadakavukaren M. J., 1964, Fine structure of negatively stained mitochondria, Journ. of Cell Biol. 23: 193—195.

Ohad I., Danon D., 1964, On the dimensions of cellulose microfibrilis, Journ. of Cell Biol. 22: 302—305.

Ohad I., Danon D., Hestrin S., 1962, Synthesis of cellulose by Acetobactor xylin. V. Ultrastruckture of polymer, Journ, of Cell Biol. 12: 31.

Paley S. L., McGee-Russell S. M., Gordon S., Grillo M. A., 1962, Fixation of neural tissues for electron microscopy by perfusion with solutions of osmium tetroxide, Journ. of Cell Biol. 12: 385—410.

Porter K. R., Machado D., 1960, Studies on the endoplasmatic reticulum IV its form and distribution during mitosis in cells of onion root tip, Journ. of Biophys. and Biochem. Cytology 7: 167—180.

Poux N., 1962, Nouvelles observations sur la nature et l'origine de la membrane vacuolaire des cellules végétales, Journ. de Microscopie 1: 55—66.

Reynolds E. S., 1963, The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy, Journ. of Cell Biology 14: 208—212.

Ris H., Plaut W., 1962 Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*, Journ. of Cell Biol. 13: 383.

Robertson J. D., 1959, The ultrastructure of cell membranes and their derivatives, Biochemical Society Symposia 16: 3—43.

Robertson J. D., 1963, The occurrence of a subunit pattern in the unit membranes of club endings in Mauthner cell synapses in goldfish brains, Journ. of Cell Biol. 19: 201—221.

Robertson J. D., Bodenheimer Th., 1963, The ultrastructure of Mauthner cell synapses and nodes in goldfish brains, Journ. of Cell Biol. 19: 159—199.

Ryter A., Kellenberger E., 1958, L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie, Journ. of Ultrastructure Research 2: 200—214.

Sager R., Ishida M. R., 1963, Chloroplast DNA in *Chlamydomonas*. Proceedings of the National Academy of Sciences 50: 725.

Sitte H., 1955, Ein einfaches Ultramikrotom für hochauflösende electron mikroskopische Untersuchungen, Mikroskopie 10: 356—396.

Sitte P., 1962, Zum Chloroplasten-feinbau bei *Elodea*, Portugaliae Acta Biol. 6: 269—278.

Sjöstrand F. S., Elfvin L. G., 1964, The granular structure of mitochondria membranes and of cytomembranes as demonstrated in frozen-dried tissue, Journ. of Ultrastructure Research 10: 263—292.

Steinmann E., Sjöstrand F. S., 1955, The ultrastructure of chloroplast, Experimental Cell Research 8: 15—23.

The-de G., 1964, Cytoplasmic microtubules in different animal cells, Journ. of Cell Biol. 23: 265—275.

Thomson W. W., Weier T. E., 1962, The fine structure of chloroplasts from mineral-deficient leaves of *Phaseolus vulgaris*, Amer. Journ. of Bot. 49: 1047—1055.

Ueda Toyama, 1962, Electron microscopie studies on the development and structure of plastids in cabbage leaves. Electron Microscopy, Vth International Congress, Philadelphia, XX—11.

Watson M. L., 1958, Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals, Journ. of Biophys. and Biochem. Cytology 4: 475.

Weier T. E., 1961, The ultramicrostructure of starchfree chloroplasts of fully expaned leaves of *Nicotiana rustica*, Amer. Journ. of Bot. 48: 615—630.

Weier T. E., Thomson W. W., 1962, The grana of starch-free chloroplasts of *Nicotiana rustica*, Journ. of Cell Biol. 13: 89—108.

Wettstein D., 1957, Developmental changes in chloroplasts and their genetic control. [W:] Developmental cytology, Wyd.: D. Rudnick, Ronald Press, 123—160.

Whaley W. G., Mollenhauer H. H., 1963, The Golgi aparatus and cell plate formation. A postulate, Journ. of Cell Biol. 17, 216.

Wolken J. J., 1959, The structure of the chloroplast, Annual Review of Plant Physiol. 10: 71—86.

Wolken J. J., 1962, The molecular organization of photoreceptors. Electron Microscopy, Vth International Congress. Philadelphia vol. 2, R-3.