Ultrastruktura warstwy wyścielającej i periplazmodium w pylnikach *Larix decidua* Mill.

*Ultrastructure of tapetum cells and periplasmodium
in the anthers of Larix decidua* Mill.

E. MIKULSKA, H. ŻOŁNIEROWICZ, A. WAŁEK-CZERNECKA

WSTĘP

Do funkcji warstwy wyścielającej pylników należy tworzenie i przekazywanie enzymów, hormonów i substancji odżywczych, które są zużywane w procesie mikrosporogenezy (Schnarf 1933; Maheshwari 1950; Carniel 1963). Warstwa wyścielająca jest nie tylko miejscem powstawania substancji pokarmowych, ale jest jednocześnie drogą poprzez którą przechodzą do tkanki sporogennej substancje odżywcze z innych tkanek.

Według wymienionych autorów wydzielnicza funkcja tapetum wyraża się w zwiększeniu ilości substancji chromatynowej i w bogactwie plazmy. Zwiększenie ilości chromatyny zachodzi drogą endomitozy lub przez pomnożenie liczby jąder. Komórki tapetum z nielicznymi wyjątkami są dwujądrowe, a niekiedy trzy, lub nawet cztero-jądrowe (Maheshwari 1950; Carniel 1963).

Z drugiej strony warstwa wyścielająca jest przykładem tkanki krótkotrwałej, ulegającej zniszczeniu jeszcze w żywym organizmie. W związku z tym na jej terenie zachodzić muszą intensywne procesy trawienia wewnątrzkomórkowego i autolizy, które, jak należy przypuszczać, powodują zmiany w ultrastrukturze organoidów komórkowych. Badania Wałek-Czerneckiej (1965) przeprowadzone w mikroskopie świetlnym wykazały dużą aktywność hydrolityczną w warstwie wyścielającej i w periplazmodium pylników *Larix decidua*. Produkt reakcji enzymatycznej zlokalizowany był w sferosomach i w dyfuzyjnie zabarwionej cytoplazmie.

Wymienione względy wskazują, że komórki warstwy wyścielającej pylników u *Larix decidua* stanowią interesujący obiekt badawczy, co nas zachęciło do przeprowadzenia obserwacji w mikroskopie elektronowym.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były komórki warstwy wyścielającej pylników i rozwijające się z nich periplazmodium (Luxenburgowa 1922) u *Larix decidua* Mill. Żeby otrzymać kolejne stadia rozwojowe obserwowanych komórek pręciki *Larix* utrwa-

lano w odstępach mniej więcej tygodniowych, począwszy od stycznia do marca. Jako utrwalcacz stosowano 2 % OsO_4 zbuforowany buforem weronałowo octanowym do pH 7,2—7,4 (wg Palade'a 1952). Materiał utrwalano w temp. 4°C 4 lub 12 godz., oraz w temp. 21°C w ciągu 24 godz. Odwadnianie przeprowadzano w seriach alkoholu lub acetonu, począwszy od 10 % zmieniając roztwory co 15 min., a od 50 % co godzinę. Materiał zatapiano w mieszaninie metakrylanów butylu i metylu 4:1.

Skrawki sporządzano ultramikrotomem Prof. Dr.h.c. M.v. Ardenne i Prof. Dr. H. Westmeyer. Preparaty kontrastowano 2 % octanem uranylu w ciągu 4 godz. Posługiwano się mikroskopem f-my Tesla BS 242.

OBSERWACJE WŁASNE

Komórki warstwy wyścielającej pylników *Larix decidua* Mill. są dwujądrowe i dzięki temu łatwo je odróżnić od jednojądrowych komórek skórki i warstw tranzytorycznych.

Jądra na przekroju są najczęściej koliste lub owalne o brzegach niekiedy pofałdowanych lub łatkowatych. Nukleoplazma ma charakter ziarnisty i przypomina podstawową cytoplazmę. Chromatyna tworzy nieregularne skupienia. Jądra są duże i zajmują znaczną część komórki (Tabl. I, fig. 1, 2).

Endoplazmatyczne reticulum wykazuje różny stopień wykształcenia zależnie od stadium rozwojowego komórek. W komórkach młodych reticulum endoplazmatyczne jest skąpo wykształcone. Reprezentują je nieliczne, pojedyncze, krótkie cysterny, słabo rozdęte na końcach (Tabl. II, fig. 1). W miarę dalszego różnicowania się komórek zauważa się znaczny rozwój systemu membranowego ER. Początkowo częste są przebiegające równolegle na dużej przestrzeni pasma membran, nieznacznie nabrzmiałe w partiach środkowych i odsznurowujące na końcach pęcherzyki różnej wielkości i formy o pustej dla elektronów zawartości. Jest to reticulum typu szorstkiego (Tabl. II, fig. 2, tabl. III, fig. 1).

W komórkach dojrzałych ER osiąga maksimum rozwoju i różnorodności formy. Znaczne powierzchnie komórek zajęte są przez rozgałęzione cysterny, połączone za sobą wyrostkami, tworzące rodzaj siatki (Tabl. III, fig. 2, tabl. IV, fig. 1).

Przed przekształcaniem się zawartości komórek tapetum w masy plazmodialne endoplazmatyczne reticulum ulega daleko idącym przemianom. Długie kanały rozpadają się na krótkie odcinki, tworząc rureczki lub pęcherzyki (Tabl. IV, fig. 2, tabl. V, fig. 1, tabl. VI, fig. 1).

W okresie wkraczania mas plazmodialnych, powstałych ze zlania się komórek warstwy wyścielającej, w głąb pylnika obserwuje się dalszą redukcję kanałowego endoplazmatycznego reticulum, które teraz reprezentowane jest przez bezładnie porozrzucane pęcherzyki i fragmenty membran (Tabl. V, fig. 2, tabl. VI, fig. 1).

Podstawowa cytoplazma warstwy wyścielającej i periplazmodium charakteryzują się znaczną ilością wolnych rybosomów. Występują one pojedynczo, czasami tworzą łańcuszki, lub większe nieregularne skupienia (Tabl. VII, tabl. VIII, tabl. IX, tabl. X, fig. 2, tabl. XI, fig. 1, 3).

Fig. 1, 2. Komórki warstwy wyścielającej pylników *Larix decidua* Mill; *N* — jądra, *P* — plastidy, *M* — mitochondria. Fig. 1: $\times 9000$, fig. 2: $\times 13\,000$

Figs 1, 2. Tapetum cells of *Larix decidua* Mill. anthers; *N* — nuclei, *P* — plastids, *M* — mitochondria, *W* — cell wall. Fig. 1. $\times 900$, fig. 2: $\times 13000$

Fig. 1, 2. Komórki warstwy wyścielającej; *N* — jądro, *P* — plastidy, *ER* — endoplazmatyczne reticulum, *M* — mitochondria, *D* — dictyosomy, *W* — ściana komórkowa, *S* ? — sferosomy, $\times 13\ 000$

Figs 1, 2. Tapetum cells; *N* — nucleus, *P* — plastids, *ER* — endoplasmic reticulum, *M* — mitochondria, *D* — dictyosomes, *W* — cell wall, *S* ? — spherosomes, $\times 13\ 000$

Fig. 1. Komórki warstwy wyścielającej, $\times 10\ 800$; Fig. 2. Fragment periplazmodium, $\times 10\ 000$. *N* — jądro, *ER* — endoplazmatyczne retikulum, *M* — mitochondria, *D* — dictyosomy, *P* — plastyd ze skrobią, *W* — degenerująca ściana komórk

Fig. 1. Tapetum cell, $\times 10\ 800$; Fig. 2. Fragment of periplasmium, $\times 10\ 000$. *N* — nucleus, *ER* — endoplasmic reticulum, *M* — mitochondria, *D* — dictyosome, *P* — plastid with starch, *W* — degenerating cell wall.

Fig. 1. Komórka warstwy wyścielającej, $\times 12\,000$. Fig. 2. Fragment periplazmodium, $\times 10\,800$;
ER — endoplazmatyczne retikulum, *W* — ściana komórkowa, *D* — dictyosom, *S* — sferosomy?. *P* — plastydy, *P*₁, *P*₂ —
 degenerujące plastydy, *A* — ziarna skrobi, *M* — mitochondria.

Fig. 1. Tapetum cell $\times 12\,000$. Fig. 2. Fragment of periplasmidium, $\times 10\,800$;
ER — endoplasmic reticulum, *W* — cell wall, *D* — dictyosome, *S* — spherosomes?, *P* — plastids, *P*₁, *P*₂ —
 degenerating plastids, *A* — starch grains, *M* — mitochondria

Fig. 1. Komórki warstwy wyścielającej, $\times 10\,800$. Fig. 2. Fragment periplazmodium, $\times 10\,000$. *M* — mitochondria, *D* — dictyosom, *P* — plastidy ze skrobią, *ER* — endoplazmatyczne reticulum, *W* — degenerująca ściana komórkowa.

Fig. 1. Tapetum cell. $\times 10\,800$. Fig. 2. Fragment of periplasmidium, $\times 10\,000$, *M* — mitochondria, *D* — dictyosome, *P* — plastids with starch, *ER* — endoplasmic reticulum, *W* — degenerating cell wall.

Fig. 1. Fragment periplazmodium i zachowanej jeszcze komórki wyścielającej; *P* – plastydy z oznakami degeneracji, *M* – mitochondria, *ER* – endoplazmatyczne reticulum. $\times 10\,000$. Fig. 2, 3. Degenerujące periplazmodium; *P* – plastydy ze skrobią, *M* – mitochondria, *S* – sferosom?. $\times 10\,000$

Fig. 1. Fragment of periplasm and still preserved tapetal cell; *P* – plastids with signs of degeneration, *M* – mitochondria, *ER* – endoplasmic reticulum. $\times 10\,000$. Fig. 2, 3. Degenerating periplasm; *P* – plastids with starch, *M* – mitochondria, *S* – spherosome?. $\times 10\,000$

Fig. 1. Fragment powstającego periplazmodium; *M* — mitochondria, *D* — dictyosomy, *L* — inkluzje osmofilne, *R* — rybosomy, *W* — zdegenerowana ściana komórkowa, zachowana błona cytoplazmatyczna. $\times 27\ 000$,

Fig. 1. Fragment of forming periplasmium; *M* — mitochondria, *D* — dictyosomes, *L* — osmiophilic inclusions, *R* — ribosomes, *W* — degenerated cell wall, and preserved cytoplasmic membrane. $\times 27\ 000$.

Fig. 1. Fragment periplazmodium; *M* — mitochondria, *P* — plastyd ze skrobią, *L* — inkluzje osmofilne, *S* — sferosom?, *W* — degenerująca ściana komórkowa, *R* — rybosomy, *D* — pęcherzyki dictyosomów. $\times 27\ 000$.

Fig. 1. Fragment of periplazmodium; *M* — mitochondria, *P* — plastid with starch, *L* — osmiophilic inclusions, *S* — spherosome?, *W* — degenerating cell wall, *R* — ribosomes, *D* — dictyosome vesicles. $\times 27\ 000$.

Fig. 1. Komórki warstwy wysięlającej; *M* — mitochondria, *D* — dictyosomy, *P* — plastydy, dookoła ziaren skrobi widoczna membrana?, *S* — sferosom?, *L* — inkluzje osmofilne, *R* — rybosomy. $\times 27\ 000$.

Fig. 1. Tapetum cells; *M* — mitochondria, *D* — dictyosomes, *P* — plastids, around the starch grains a membrane? is visible, *S* — spherosome?, *L* — osmiophilic inclusions, *R* — ribosomes. $\times 27\ 000$.

Fig. 1. Fragment periplasmium, $\times 10\ 000$; Fig. 2. Fragment periplasmium, $\times 27\ 000$.

Fig. 1. Fragment of periplasmium, $\times 10\ 000$; Fig. 2. Fragment of periplasmium, $\times 27\ 000$; *P* — plastydy (plastids),
D — dicyosom (dictyosome), *M* — mitochondria, *R* — rybosomy (ribosomes).

Fig. 1. Powstające perioplazmodium; *P* — plastydy, *M* — mitochondria, *L* — inkluzja osmofilna, *R* — rybosomy, *V* — wakuole. $\times 27\,000$. Fig. 2, 3. Fragmenty perioplazmodium; *P* — plastydy z ziarnami skrobi, dookoła ziaren skrobi widoczna osmofilna membrana, *R* — rybosomy. Fig. 2: $\times 10\,000$, fig. 3: $\times 27\,000$.

Fig. 1. Forming periplasmodium; *P* — plastids, *M* — mitochondria, *L* — osmiophilic inclusion, *R* — ribosomes, *V* — vacuoles. $\times 27\,000$. Figs 2, 3. Fragments of periplasmodium; *P* — plastids with starch grains, around which osmiophilic membrane is visible, *R* — ribosomes. Fig. 2: $\times 10\,000$, fig. 3: $\times 27\,000$.

Fig. 1. Periplazmodium, *V* — wakuole „trawiące” z degenerującymi mitochondriami, $\times 13\,000$. Fig. 2, 3. Komórki tapetum: *V* — wakuole „trawiące” z inkluzjami protoplazmatycznymi, $\times 13\,000$. Fig. 4. Komórka tapetum, *P* — plastyd z plastoglobulami, *D* — dictyosome, $\times 10\,000$.

Fig. 1. Periplazmodium, “digestive” vacuoles (*V*) with degenerating mitochondria, $\times 13\,000$. Figs 2, 3. Tapetum cells, “digestive” vacuoles (*V*) with protoplasmic inclusions, $\times 13\,000$. Fig. 4. Tapetum cell, plastid with plastoglobules (*P*) and dictyosome (*D*), $\times 10\,000$.

Mitochondria są liczne. Kontury na przekroju mają koliste, częściej są owalne, niekiedy znacznie wydłużone. Grzebień wykształcony są w postaci dość licznych, nieregularnych pęcherzyków. W matrix znajdują się gęste dla elektronów ziarenka (Tabl. II, fig. 1, 2, tabl. IV, fig. 2, tabl. V, fig. 1, 2, tabl. VII, tabl. VIII). W następujących po sobie stadiach rozwojowych komórek wyścielających, a nawet i w periplazmodium ultrastruktura mitochondriów jest podobna.

Natomiast bardzo duże różnice w trakcie rozwoju warstwy wyścielającej i w periplazmodium dają się zaobserwować w plastydach. Organoidy te są na przekroju koliste, owalne, wydłużone, czasami wygięte, wykazują też przewężenia. W młodych komórkach matrix plastydów jest bardzo gęsta, utworzona z drobnych, gęstych dla elektronów ziarenek, ułożonych w szeregi, z bardzo drobnych, pustych dla elektronów pęcherzyków i z nielicznych membran (Tabl. I, fig. 2, tabl. III, fig. 1, 2). W niektórych plastydach znajdują się charakterystyczne plastoglobule (Tabl. XII, fig. 4). W tym okresie plastydy nie zawierają jeszcze skrobi, chociaż już w niektórych wyróżnicowują się w stromie jasne dla elektronów przestrzenie — prawdopodobnie są to wodniczki skrobiowe (Tabl. II, fig. 1). Później pojawiają się nieliczne drobne ziarna skrobi. Jednocześnie następuje wzrost plastydów i rozrzedzenie substancji podstawowej (Tabl. IX, tabl. XI, fig. 1, 2). Największe zmiany w ultrastrukturze plastydów dają się zauważyć w okresie kiedy komórki tapetum przekształcają się w periplazmodium. Rzuca się to w oczy szczególnie w wypadkach kiedy proces powstawania periplazmodium jest powolny i przebiega równolegle z rozwojem diad i tetrad. Plastydy zwiększają rozmiary, matrix staje się elektronowo optycznie pusta, na terenie jej widoczne są teraz tylko nieliczne, gęste dla elektronów ziarenka, drobne pęcherzyki i fragmenty membran. Ziarna skrobi znacznie się powiększają, robią wrażenie napęczniałych (Tabl. IV, fig. 2, tabl. V, fig. 1, tabl. IX, fig. 1). Dookoła niektórych ziaren skrobi znajduje się otoczka przypominająca membranę elementarną (Tabl. X, fig. 1, tabl. XI, fig. 2, 3).

Dalsze zmiany w plastydach prowadzą do powstania dużych utworów, pustych optycznie, które przypominają wakuole (Tabl. X, fig. 1). Jeżeli periplazmodium powstaje wcześniej, np. na etapie komórek macierzystych, plastydy są mało zmienione (Tabl. XI, fig. 2). Proces degeneracji ich przebiega też inaczej. Membrana plastydów pęcznieje tworząc łańcuszek bardzo drobnych pęcherzyków, następnie przerywa się otwierając wnętrze plastydu. Obrazy z mikroskopu elektronowego sugerują, że z takiego otwartego plastydu zawartość wylewa się na teren periplazmodium i tam ostatecznie zanika w okresie tetrad (tabl. VI, fig. 2, 3). Ziarna skrobi nie zawsze były obecne w plastydach. Nie udało się jednak zaobserwować rytmiczności pojawiania się i zanikania skrobi.

Dictyosomy występują pojedynczo lub grupami po 3—5. Utworzone są z 3—5 cystern wygiętych łukowato jedno lub dwustronnie. Dictyosomom towarzyszą zwykle dość liczne mniejsze i większe pęcherzyki, optycznie puste. (Tabl. III, fig. 1, tabl. IV, fig. 1, tabl. IX). W trakcie rozwoju komórek warstwy wyścielającej dictyosomy nie wykazują dostrzegalnych zmian. Nawet w periplazmodium zachowują ten sam charakter (Tabl. VII). Tylko w kilku wypadkach udało się zaobserwować zmienione dictyosomy. Cysterny dictyosomów były wtedy znacznie powiększone,

częściowo zlewały się ze sobą lub ulegały fragmentacji, pęcherzyki były liczne (Tabl. VIII, tabl. X, fig. 2).

Obok opisanych organoidów w komórkach warstwy wyścielającej na wszystkich etapach rozwojowych oraz w masach plazmoidalnych, które znalazły się już w głębi pylników, występują liczne ciała kolistę, czasami owalne otoczone wyraźną osmofilną membraną. Wielkość tych utworów mieści się w granicach od 0,1 μ do 0,8 μ . W przeważającej liczbie tych ciał matrix jest elektronowo optycznie pusta. W innych występują nieliczne, drobne, gęste dla elektronów ziarenka (Tabl. I, fig. 1, tabl. II, fig. 1, 2, tabl. III, fig. 1). W niektórych ciałach tej kategorii można zaobserwować pewną strukturę wewnętrzną. Bywają to np. gruboziarniste skupienia, nierównomiernie rozłożone w matrix (Tabl. VI, fig. 3, tabl. VIII, tabl. IX). Niekiedy zawartość ciała wydaje się skurczona i występuje w formie gęstych, osmofilnych, łatkowatych utworów przylegających tylko częściowo do membrany (Tabl. IV, fig. 1).

Na terenie cytoplazmy komórek warstwy wyścielającej można również wyodrębnić wodniczki elementarne. Widoczne na tabl. II, fig. 2 i na tabl. III, fig. 1 obrazy każą przypuszczać, że powstały one z ER drogą pęcznienia i odsznurowywania. W komórkach starszych wakuole są większe. Kontury ich są zawsze nieregularne, często gwiaździste (Tabl. I, fig. 2, tabl. X, fig. 2, tabl. XI, fig. 1, 3),

Przed procesem zlewania się komórek tapetum w periplazmodium lub w trakcie powstawania periplazmodium pojawiają się wakuole „trawiące”. Mają one różnorodne kontury a na ich terenie znajdują się fragmenty cytoplazmy lub zredukowane mitochondria (Tabl. XII, fig. 1, 2, 3).

Należy jeszcze wspomnieć o osmofilnych inkluzjach kolistych lub gwiaździstych znajdujących się na terenie cytoplazmy podstawowej (Tabl. I, fig. 2, tabl. VII, tabl. VIII, tabl. IX).

DYSKUSJA

Warstwa wyścielająca w pylnikach *Larix decidua* Mill. przekształca się w pewnych okresach mikrosporogenezy w periplazmodium (Luxenburgowa 1922; Schnarf 1933). Zaobserwowano, że rozwój periplazmodium niezależny jest od wieku komórek macierzystych ziaren pyłkowych. Pojawiać się ono może nawet przed I profazą, czasami w stadium diad, lub najczęściej w stadium tetrad.

Powstanie periplazmodium zawsze poprzedza degeneracja ściany komórek tapetum, co jest zgodne z obserwacjami Luxenburgowej (l.c.) i Schnarfa (l.c.). Potem zanika błona cytoplazmatyczna i następuje zlanie się zawartości komórek warstwy wyścielającej.

W związku z procesami hydrolitycznymi zachodzącymi w komórkach tapetum i na terenie periplazmodium dają się prześledzić interesujące niewątpliwie zmiany w strukturze, organoidów komórkowych.

Bardzo wyraźne zmiany zaobserwowano w wyglądzie endoplazmatycznego reticulum. Wiadomo, że struktury ER są najbardziej labilnymi elementami morfologicznymi protoplazmy i ulegają przemianom podczas różnicowania się komórek.

Przekształcają się również pod wpływem czynników mechanicznych i chemicznych (Whaley i inni 1964).

Komórki warstwy wyścielającej w młodych pylnikach mają słabo rozwinięty system membran ER. Zgodne to jest z obserwacjami wielu autorów (Buvat 1961, 1962, Esau 1963, Mikulska 1964, Mikulska i Rodkiewicz 1964).

W starszych komórkach tapetum zachodzi bardzo intensywny rozwój membran ER, które początkowo układają się w równoległe gęste pasma, a później tworzą sieć rozgałęziających się cystern. Komórki roślinne charakteryzują się na ogół skąpo wykształconym ER, chociaż obfite membrany endoplazmatycznego reticulum obserwowane były np. w trakcie rozwoju woreczka zalążkowego u lilii (Rodkiewicz i Mikulska 1963, 1964) i w komórkach gruczołowych (Schnepf 1964).

Przed powstaniem periplazmodium endoplazmatyczne reticulum ulega zmianom, które prowadzą do jego redukcji. Następuje fragmentacja cystern i tworzenie się pęcherzyków. Bain i Mercer (1966) również opisują w zamierających liścieniach *Pisum sativum*, zanikanie ER wskutek rozpadu na pęcherzyki. Zaobserwowana regularność w kolejności zmian ER przebiega zgodnie z diagramem morfologicznych przekształceń ER w komórkach roślinnych podczas ich różnicowania, przedstawionym przez Hršela (1966).

Dużą ilość szorstkiego reticulum w kształcie płaskich równoległe ułożonych cystern znaleziono w komórkach produkujących białka (ref. Rodkiewicza 1965). Obfity więc rozwój ER w komórkach warstwy wyścielającej może być związany z podobną funkcją tych komórek. Jak wiadomo, warstwa wyścielająca jest uważana za warstwę odżywczą komórek macierzystych i rozwijających się ziaren pyłkowych. W komórkach tych muszą się więc gromadzić materiały, które później będą wykorzystane. Fragmentacja cystern ER i tworzenie się pęcherzyków w trakcie powstawania periplazmodium łączy się może z procesami uruchamiania substancji zapasowych (Nougarède 1963). Bain i Mercer (1966) sugerują, że kanały ER pośredniczą w rozprowadzaniu produktów hydrolizy białek zapasowych w trakcie kiełkowania nasion *Pisum sativum*.

Z drugiej strony szorstkie endoplazmatyczne reticulum jest miejscem syntezy enzymów. W kanałach ER komórek roślinnych znaleziono fosfatazę kwaśną (Poux 1966; Catesson i Czamiński 1967; Mikulska i Gabara 1968), oraz arylsulfatazę (Poux 1967). Jak wykazały badania na poziomie mikroskopu świetlnego, w komórkach warstwy wyścielającej *Larix* występuje duża aktywność esterazy indoksylowej. Produkt reakcji enzymatycznej zlokalizowany jest nie tylko w ogromnych, intensywnie zabarwionych sferosomach, dyfuzyjnie też zabarwiona jest cała cytoplazma komórek (Wałek-Czernecka 1965).

Obecność obfitego endoplazmatycznego reticulum, a co za tym idzie, duża ilość enzymów może więc być związana z intensywnymi procesami hydrolitycznymi zachodzącymi w starszych komórkach tapetum, z powstaniem periplazmodium i z tworzeniem się wodniczków trawiących. Rozpad reticulum może prowadzić również do uwolnienia enzymów hydrolitycznych.

W podstawowej cytoplazmie warstwy wyścielającej i periplazmodium *Larix* obserwuje się znaczną ilość wolnych rybosomów. Podobnie liczne wolne rybosomy

obserwowali Echlin i Godwin (1968) w warstwie wyścielającej u *Helleborus foetidus*. Cytoplazma komórek tapetum u *Paonia* jest bogata w RNA (Marquardt i inni 1968) co sugeruje, że w komórkach tych również są liczne rybosomy.

Rybosomy te nie wykazują oznak degeneracji nawet w stadium tetrad, kiedy periplazmodium zaczyna zanikać. Podobnie, niezmiennione rybosomy obserwowała Opik (1966). w starzejących się liściach *Phaseolus vulgaris*.

Szczególnie duże ilości wolnych rybosomów znajdują się w komórkach intensywnie syntetyzujących enzymy, np. w liściach podczas kiełkowania (Yung i inni 1969). Wolne rybosomy są też specjalnie obfite w niektórych komórkach wiązek naczyniowych, gdzie są prawdopodobnie niezbędne do wytwarzania enzymów hydrolitycznych. Staje się wobec tego zrozumiała ilość wolnych rybosomów w periplazmodium u *Larix decidua*, gdzie zachodzą intensywne procesy trawienne.

Interesujące zmiany zauważono w plastydach komórek warstwy wyścielającej w czasie powstawania i zanikania periplazmodium. Na podstawie zaobserwowanych obrazów można wyróżnić dwa etapy w rozwoju plastydów tych komórek. Pierwszy etap związany jest z rozwojem komórek warstwy wyścielającej i charakteryzuje się wzrostem gęstości matrix plastydów i pojawianiem się ziaren skrobi. Etap ten można uznać za etap syntezy. Drugi etap łączy się z powstawaniem periplazmodium i charakteryzuje się redukcją gęstości matrix i rozkładem skrobi. Jest to więc etap hydrolizy, w którym następuje trawienie zawartości plastydów, prowadzące do powstania utworów przypominających wakuole. Powstawanie wakuol z plastydów opisuje Bowes (1965).

W literaturze znajdują się opisy zmian w ultrastrukturze mitochondriów w różnych stanach fizjologicznych komórek. W komórkach o charakterze najbardziej merystematycznym mitochondria posiadają słabo rozwinięte wpuklenia wewnętrznej membrany. W komórkach starszych, wykazujących np. dużą aktywność fotosyntetyczną, mitochondria osiągają maksimum rozwoju wewnętrznych membran. W miarę starzenia się komórek mitochondrialne tubule ulegają redukcji (Buvat i Lance 1958; Caporali 1959; Simon i Chapman 1961; Mikulska 1964). W badanym materiale mitochondria okazały się organoidami stabilnymi. Nie zdołano zauważyć zmian w ich ultrastrukturze ani na terenie komórek tapetum, ani na terenie periplazmodium.

Dictyosomy, podobnie jak mitochondria, zachowują niezmienny charakter w różnych stadiach rozwoju pylnika. Tylko w wypadku kiedy periplazmodium powstaje we wczesnych stadiach rozwojowych i tworzy się gwałtownie, cysterny dictyosomów wykazują hipertrofię. Jednocześnie obserwuje się ich fragmentację i obecność znacznej ilości pęcherzyków. Podobne zmiany opisują Whaley i wsp. (1959) w złuszczających się komórkach czapeczki korzenia *Zea Mays*.

Struktura jąder warstwy wyścielającej nie wykazuje widocznych zmian podczas mikrosporogenezy. Nawet w okresie kiedy periplazmodium zanika, jądra mają niezmienną konfigurację chromatyny. Podkreśla to również w pracy swojej Luxenburgowa (1922).

Trudna jest identyfikacja i interpretacja licznie występujących na terenie obserwowanego materiału ciał kolistych lub owalnych na przekrojach, otoczonych po-

jedyną membraną osmoofilną, które w większości są puste dla elektronów, niekiedy jednak posiadają ziarnistą osmoofilną treść.

Narzuca się przypuszczenie, że istnieje związek między aktywnością enzymów hydrolitycznych, stwierdzoną na poziomie mikroskopu optycznego przez Wałek-Czernecką (1965) w komórkach tapetum u *Larix decidua*, a występowaniem wyżej opisanych utworów w obrazach mikroskopu elektronowego.

Należy podkreślić, że wygląd sferosomów na elektronogramach wielu autorów jest rozmaity, zależny od badanego materiału, stosowanych utrwalaaczy, substancji zamykającej, a przede wszystkim od etapu rozwojowego samych sferosomów (Hohl 1960; Peveling 1962; Falk 1962; Frey-Wyssling i wsp. 1963; Hölzl 1964; Mikulska 1964; Matile i wsp. 1965; Sorokin i Sorokin 1966; Heinrich 1966; Mikulska i Gabara 1968). O heterogenności sferosomów pisze również Olszewska i wsp. (1965). Izolowane sferosomy przedstawiają się wg Matile i wsp. (1965) rozmaicie, niektóre nawet jako puste pęcherzyki. Autorzy interpretują takie obrazy jako artefakt spowodowany ekstrakcją zawartości sferosomów podczas utrwalania. Jest to bardzo prawdopodobne, ponieważ wiadomo, że sferosomy są wrażliwe na czynniki chemiczne, łatwo ulegają denaturacji polegającej na przemieszczaniu się komponenty do strefy brzeżnej (Wałek-Czernecka 1965).

W komórkach warstwy wyścielającej *Larix decidua* ciała okrągłe lub owalne otoczone pojedynczą membraną, o zawartości przepuszczalnej dla elektronów, lub posiadające ziarnistą, osmoofilną treść mogłyby więc być sferosomami. Zmieniony charakter sferosomów mógłby się tłumaczyć przejściem ich enzymów w stan czynny. Podobne trudności nasuwały się przy identyfikacji sferosomów w mikroskopie elektronowym w bielmie *Iris pseudoacorus* (Mikulska i wsp. 1967).

Sferosomy komórek roślinnych stanowią odpowiednik lizosomów komórek zwierzęcych (Wałek-Czernecka 1962, 1963, 1965). Matile (1966) uważa sferosomy za odpowiedniki lizosomów pierwotnych. Liczne występowanie sferosomów w komórkach warstwy wyścielającej i periplazmodium (Wałek-Czernecka 1965) jest zrozumiałe ze względu na intensywne procesy lityczne, jakie na tamtym terenie zachodzą. Byłyby one analogiczne do lizosomów wtórnych, to znaczy do lizosomów, które biorą lub brały już udział w trawieniu wewnątrzkomórkowym (de Duve i Wattiaux 1966; de Duve 1967).

Przed powstaniem periplazmodium w komórkach warstwy wyścielającej wyróżnicowują się obszary cytoplazmy ograniczone membraną, na terenie których obserwuje się zredukowane mitochondria, często resztki cytoplazmy podstawowej. Obecność w tych wydzielonych obszarach, odizolowanych od podstawowej cytoplazmy membraną, zredukowanych mitochondrii, osmoofilnych ziarnistości, fragmentów utworów membranowych każe przypuszczać, że na tym terenie odbywa się trawienie cytoplazmy wraz z jej składnikami. Utwory te wyglądem i funkcją przypominają „autophagic vacuoles” komórek zwierzęcych (ref. Strausa 1967), „digestives vacuoles” komórek roślinnych (Matile i wsp. 1965, Mikulska i wsp. 1967), oraz „Lysosomen-ähnliche Kompartimente” (Sievers 1966). Deysson i Benbadis (1966) opisują podobne strefy autolizy w cytoplazmie komórek merystemu korzeniowego *Allium cepa*. Strefy te autorzy porównują z cytolizomami komórek zwierzęcych.

Wyżej opisane struktury przez analogię do komórki zwierzęcej i zgodnie z nową terminologią de Duve'a (1967) mogłyby być uważane za elementy „aparatu wakuolarnego”, który stanowi system trawienny wewnątrzkomórkowy.

STRESZCZENIE

Obiektem badań w mikroskopie elektronowym była warstwa wyścielająca i periplazmodium pylników *Larix decidua* Mill. Zaobserwowano zmiany w ultrastrukturze niektórych organoidów komórkowych podczas mikrosporogenezy.

W komórkach warstwy wyścielającej młodych pylników endoplazmatyczne reticulum jest bardzo słabo rozwinięte. Komórki starsze charakteryzują się bardzo obficie rozwiniętym systemem membran ER. Przed powstaniem periplazmodium zachodzi redukcja endoplazmatycznego reticulum. Długie cysterny ulegają fragmentacji, pojawiają się drobne pęcherzyki. Periplazmodium charakteryzuje się słabo wykształconym endoplazmatycznym reticulum.

Sugeruje się, że obecność obfitego ER, a w związku z tym duże ilości enzymów, może być związana z intensywnymi procesami hydrolitycznymi, zachodzącymi w warstwie wyścielającej. Rozpad ER może uwalniać enzymy hydrolityczne.

Podstawowa cytoplazma komórek warstwy wyścielającej i periplazmodium zawiera znaczną ilość wolnych rybosomów.

Zaobserwowano charakterystyczne zmiany w ultrastrukturze plastydów. W młodych komórkach warstwy wyścielającej plastydy posiadają gęstą matrix i nie zawierają skrobi. W starszych komórkach matrix plastydów rozrzedza się i pojawia się skrobia. Przed powstaniem periplazmodium plastydy pęcznią, powiększają objętość, skrobia zaczyna zanikać, matrix staje się optycznie pusta. Plastydy takie wyglądem przypominają wakuole.

W przeciwieństwie do plastydów nie zdołano zaobserwować zmian w ultrastrukturze mitochondriów. Podobnie stabilnymi strukturami okazały się jądra i dictyosomy.

Wyraża się przypuszczenie, że ciała okrągłe lub owalne na przekroju, puste dla elektronów, lub posiadające ziarnistą treść, otoczone pojedynczą membraną, występujące licznie w warstwie wyścielającej i w periplazmodium, mogłyby być sferosomami analogicznymi do lizosomów wtórnych komórki zwierzęcej, które biorą lub brały udział w trawieniu.

Przed powstaniem periplazmodium w komórkach warstwy wyścielającej obserwowano również utwory przypominające wodniczki trawjące.

Ciała opisane jako sferosomy i wodniczki trawienne można uznać, przez analogię do komórki zwierzęcej, za elementy systemu trawiennego wewnątrzkomórkowego roślin, odpowiadającego „aparatu wakuolarnemu” de Duve'a.

Katedra Anatomii i Cytologii
Roślin Uniw. Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 8.11.1968 r.)

SUMMARY

The tapetum and the periplasmodium of *Larix decidua* Mill. anthers were subjected to investigation in the electron microscope. Changes were noted in the ultrastructure of some of the cell organelles during microsporogenesis.

In the cells of the tapetum in young anthers the endoplasmic reticulum is but weakly developed. Older cells are characterized by a profuse system of ER membranes. Before the formation of periplasmodium reduction of the endoplasmic reticulum occurs. The long cisternae undergo fragmentation and small vesicles appear. Periplasmodium exhibits poorly developed endoplasmic reticulum.

It is suggested that the presence of abundant ER, and in this connection of large quantities of enzymes may be associated with hydrolytic processes occurring in the tapetal cells. It is possible that ER decomposition may liberate hydrolytic enzymes.

The ground cytoplasm of the tapetum cells and the periplasmodium contain a large amount of free ribosomes.

Characteristic changes were observed in the ultrastructure of plastids. In young cells of the tapetum plastids have a dense matrix and do not contain starch. In older cells the plastid matrix becomes less dense and starch appears. Before periplasmodium formation the plastids swell, starch begins to disappear and the matrix becomes optically empty. The plastids then resemble vacuoles.

In contrast to plastids, no changes were noted in the mitochondrial ultrastructure. The nuclei and dictyosomes also proved to be stable structures.

It is possible that the round or oval bodies on the cross-section, empty for electrons or with a granular content, surrounded by a single membrane, occurring in large numbers in the tapetum and periplasmodium, may be spherosomes analogous to the secondary lysosomes of animal cells which take or already took part in digestion.

Before the formation of periplasmodium in the tapetum cells bodies resembling digestive vacuoles were observed.

The bodies described as spherosomes and digestive vacuoles may be considered — by analogy to the animal cell — as elements of the plant intracellular digestive system corresponding to the de Duve "vacuolar apparatus".

Department of Plant Anatomy and Cytology,
University, Łódź

LITERATURA

- Bain J. M., Mercer F. V., 1966, Subcellular organization of the cotyledons in germinating seeds and seedlings of *Pisum sativum* L., Austr. J. Biol. Sci. 19 (1): 69—84.
- Bowes B. G., 1965, The origin and development of vacuoles in *Glechoma hederacea* L., Cellule 65: 359—364.
- Buvat R., Lance A., 1958, Evolution des infrastructures de mitochondries au cours de la différenciation cellulaire, C.R. Acad. Sci. 247: 1130—1132.
- Buvat R., 1961, Sur le réticulum endoplasmique dans les cellules végétales, Ber. dtsch. bot. Ges. 74: 261—267.
- Buvat R., 1962, Electron microscopy of plant protoplasm, Intern. Rev. Cytol. 11: 41—155.
- Caporali L., 1959, Recherches sur les infrastructures des cellules radiculaires de *Lens Culinaris* L. et particulièrement sur l'évolution de leucoplastes, Ann. Sc. Nat. Bot. 20: 216—247.
- Carniel K., 1963, Das Antherentapetum, Österr. bot. Zeit. 110: 145—176.
- Catesson A. M., Czamiński Y., 1967, Mise en évidence d'une activité phosphatasique acide dans le réticulum endoplasmique de tissus conducteurs de Robinier et de Sycomore, J. Micr. 6: 509—514.
- Deysson G., Benbadis Mc., 1966, Sur la formation de cytolysosomes dans les cellules des méristèmes radiculaires d'*Allium sativum*, J. Micr. 5: 420.
- de Duve C., Wattiaux R., 1966, Functions of Lysosomes, Ann. Rev. Physiol. 28: 435—492.
- de Duve C., 1967, Lysosomes and phagosomes. The vacuolar apparatus, Protoplasma 64: 95—98.
- Echlin P., Godwin H., 1968, The ultrastructure and ontogeny of pollen in *Helleborus foetidus* L.I. The development of the tapetum and Ubisch bodies, J. Cell Sci. 3: 161—174.
- Esau K., 1963, Ultrastructure of differentiated cells in higher plants, Amer. J. Bot. 50: 495—506.
- Falk H., 1962, Zum Nucleolus Feinbau bei *Allium cepa*, Protoplasma 54: 432—439.
- Frey-Wyssling A., Grieshaber W., Mühlethaler K., 1963, Origin of spherosomes in plant cells, J. Ultrastr. Res. 8: 506—516.

- Georg Heinrich, 1966, Die Feinstruktur der „Proteinoplasten“ von *Helleborus corsicus*, *Protoplasma* 61: 157—163.
- Hohl R., 1960, Über die submikroskopische Struktur normaler und hyperplastischer Gewebe von *Datura stramonium* L. 1. Teil: Normalgewebe, *Ber. schweiz. bot. Ges.* 70: 395—439.
- Hölzl J., 1964, Licht und elektronenmikroskopische Beobachtungen an der Innerepidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*, *Öster. bot. Z.* 111: 535—553.
- Hršel I., 1966, Morphology and function of the endoplasmic reticulum, *Biol. Plant. (Praha)* 8: 36—52.
- Luxenburgowa A., 1922, Z badań nad rozwojem warstwy wyścielającej u Iglastych, *Arch. N. Biol. Tow. Nauk. Warszawskiego* 1: 1—27.
- Matile Ph., Balz J., Semadeni E., Jost M., 1965, Isolation of spherosomes with lysosome characteristics from seedlings, *Zeit. f. Naturf.* 20: 693—698.
- Matile Ph., 1966, Enzyme der Vakuolen aus Wurzelzellen von Maiskeimlingen. Ein Beitrag zur funktionellen Bedeutung der Vakuole bei der intrazellulären Verdauung, *Zeit. f. Naturf.* 21b: 871—879.
- Maheshwari P., 1950, An introduction to the Embryology of Angiosperms, str. 32—37, McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, Toronto, London.
- Marquardt H., Barth O., v. Randen U., 1968, Zytophotometrische und elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Tapetumzellen in den Antheren von *Paeonia tenuifolia*, *Protoplasma* 65: 407—421.
- Mikulska E., 1964, Badania nad ultrastrukturą komórek liści *Clivia miniata* i *Bilbergia* sp. ze szczególnym uwzględnieniem chloroplastów, Uniwersytet Łódzki, Łódź.
- Mikulska E., Rodkiewicz B., 1964, Struktury cytoplazmatyczne megasporocytu i woreczka zalążkowego lilii obserwowane w mikroskopie elektronowym, *Acta Soc. Bot. Polon.* 33: 619—630.
- Mikulska E., Gabara B., Olszewska M., 1967, Ultrastructure de l'endosperme chez *Iris pseudoacorus* à l'étape nucléaire et au début du stade cellulaire, *Acta Soc. Bot. Polon.* 36: 699—711.
- Mikulska E., Gabara B., 1968, Mise en évidence de l'activité phosphatasique acide en microscopie électronique dans les cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*, *Acta Soc. Bot. Polon.* 37: 197—200.
- Nougarède A., 1963, Premières observations sur l'infrastructure et sur l'évolution des cellules des jeunes ébauches foliaires embryonnaires du "*Tropaeolum majus* L.", *Cytologie de l'hydratation germinative et des premières étapes de la germination*, C.R.Ac.Sci. 257: 1495—1497.
- Olszewska M.J., Wałek-Czernecka A., Kwiatkowska M., Gabara B., 1965, Hétérogénéité enzymatique des sphérosomes, *Acta Soc. Bot. Polon.* 34: 399—401.
- Öpik H., 1966, Changes in cell fine structure in the cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. during germination, *J. Exp. Bot.* 17: 427—439.
- Palade G. E., 1952, A study of fixation for the electron microscopy, *J. Exp. MED.* 95: 285—290.
- Peveling E., 1962, Der Elektronenmikroskopische Nachweis der Sphärosomen in den Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa*, *Protoplasma* 55: 429—435.
- Poux N., 1966, Localisation d'activités phosphatasiques à pH 7 dans les cellules du méristème racinaire de *Cucumis sativus* L., VI-th Int. Congr. f. Electron Microscopy, Kyoto.
- Poux N., 1967, Ultrastructural localization of aryl sulphatase activity in plant meristematic cells, *J. Hist. Cytoch.* 14.
- 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., 1966, Struktury w cytoplazmie rozwijającego się woreczka zalążkowego obserwowanego w mikroskopie elektronowym, *Acta Soc. Bot. Polon.* 35: 239—256.

- Rodkiewicz B., 1965, Budowa, funkcja i przemiany reticulum endoplazmatycznego, Kosmos A, 14: 151—160.
- Schnarf K., 1933, Embryologie der Gymnospermen, Handbuch der Pflanzenanatomie, X/2 Berlin.
- Schnepf E., 1964, Zur Cytologie und Physiologie pflanzlicher Drüsen, Protoplasma 58: 137—171, 193—219.
- Sievers A., 1966, Lysosomen-ähnliche Kompartimente in Pflanzenzellen, Naturwiss. 53: 334—335.
- Simon E. W., Chapman J. A., 1961, The development of mitochondria in Arum, J. Exptl. Bot. 12: 414—420.
- Sorokin H. P., Sorokin S., 1966, The spherosomes of *Campanula persicifolia* L., Protoplasma 62: 216—236.
- Straus W., 1967, Lysosomes, phagosomes, and related particles. In: Enzyme Cytology DB. Roodyn ed., Academic Press, New- York and London.
- Wałek-Czernecka A., 1962, Mise en évidence de la phosphatase acide (monophosphoestérase II) dans les sphérosomes des cellules épidermiques des écailles bulbaires d'*Allium cepa*, Acta Soc. Bot. Polon. 31: 539—542.
- Wałek-Czernecka A., 1963, Note sur la détection d'une estérase non spécifique dans les sphérosomes, Acta Soc. Bot. Polon. 32: 405—408.
- Wałek-Czernecka A., 1965, The histochemical demonstration of some hydrolytic enzymes in spherosomes of plant cells, Acta Soc. Bot. Polon. 34: 575—588.
- Whaley W. G., Hilton H., Mollenhauer H. H., Kephart J. E., 1959, The endoplasmic reticulum and the Golgi structures in maize root cells, J. Biophys. Biochem. Cyt. 5: 501—506.
- Whaley W. G., Kephart J. E., Mollenhauer H. H., 1964, The dynamics of cytoplasmic membranes during development in cellular membranes in development, Ed. M. Locke, Academic Press, New-York and London.
- Young J. L., Huang R. C., Vanecko S., Marks J. D., Varner J. E., 1960, Conditions affecting enzyme synthesis in cotyledons of germinating seeds, Plant Physiol. 35: 288—292.