

Zakład Botaniki Farmaceutycznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Tadeusz Szywał

Jadwiga MIŁKOWSKA

**Histochemiczne badania białkowych grup SH w strefie korzeni bocznych
Vicia faba L.**

Гистохимические исследования протеиновых групп *Vicia faba* L. в зоне боковых
ее корней

Histochemical Research on Protein SH Groups in the Region of the Side Roots
of *Vicia faba* L.

Poprzednie moje badania dotyczące występowania i rozmieszczenia białkowych grup SH ograniczały się głównie do merystemów korzeniowych (Miłkowska 1961, 1963, 1964 a, 1964 b). Zgodnie z wynikami Roberta (1960) zaobserwowano, że grupy SH najliczniej występują w stożku wzrostu korzenia i zawartość ich maleje w miarę oddalania się od wierzchołka. W dostępnej mi literaturze nie napotkałam natomiast prac dotyczących występowania grup sulfhydrylowych w stałych tkankach korzenia. Jedynie Roberts i Lucchese (1955) przy zastosowaniu metody Joyet i Lavergne z nitroprusydkiem sodu, w modyfikacji własnej, wykryli obecność związków zawierających grupy SH w protoksylemie *Zea mays* L. Badaniem tym przeczą jednak obserwacje Tiefela (1957), któremu nie udało się wykazać umiejscowienia tych grup w różnicujących się elementach ksylemu. W naszej więc pracy postanowiono przebadać zawartość białkowych grup SH w stałych tkankach korzenia, w strefie korzeni bocznych.

MATERIAŁ I METODA BADAŃ

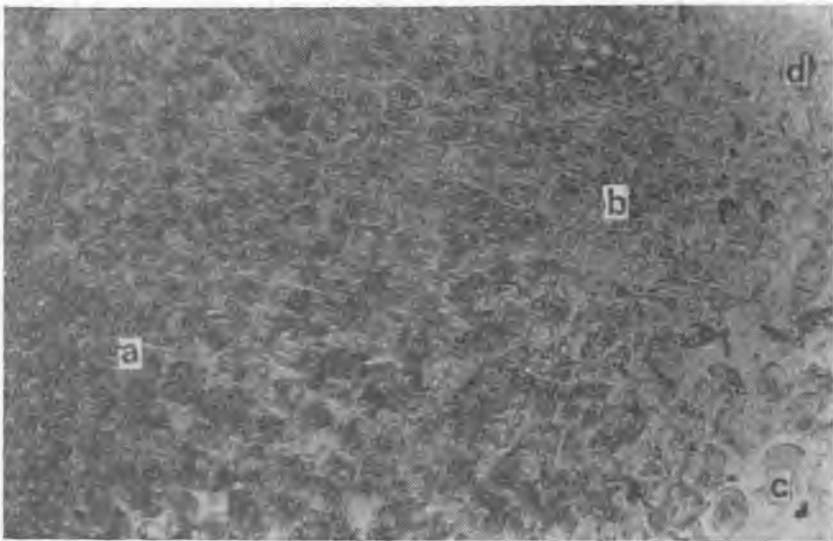
Badaniom histochemicznym poddano 5-dniowe korzenie bobu (*Vicia faba* L.) wykiełkowane na szalkach Petriego w temperaturze pokojowej. Pięciomilimetrowe odcinki ze strefy korzeni bocznych utrwalano w 80% alkoholu etylowym z kwasem trójchlorooctowym wg metody Barnetta i Seligmana w modyfikacji Brody (1971). Po 24 godzinach badany materiał odwadniano w alkoholach, prześwietlano w benzynie i zamykano w parafinie. Następnie skrawki mikrotomowe grubości 10 μ nanoszono na szkiełka podstawowe. Po odparafinowaniu i uwodnieniu zredukowano grupy SS powstałe w trakcie skrawania do grup SH przez umieszczenie prepara-

tów w roztworze tioglikolanu sodowego. Do reakcji barwnej przy wykrywaniu białkowych grup SH używano DDD i błękitu dwuazowego (Diazo blue B). Przy próbach kontrolnych blokowano grupy SH roztworem jodooctanu sodowego. Do odblokowania stosowano 10% roztwór cyjanku potasowego. Po zabarwieniu skrawki zamykano w glicerożelu.

BADANIA WŁASNE

Występowanie i rozmieszczenie białkowych grup SH przeanalizowano na przekrojach poprzecznych i podłużnych korzeni bobu, w strefie korzeni bocznych. Zawiązki korzeni bocznych tworzą się endogenicznie we wnętrzu korzeni głównych w pewnej odległości od wierzchołka wzrostu. Powstają one u bobu, podobnie jak u innych roślin nasiennych z najbardziej zewnętrznej warstwy walca osiowego, to znaczy z perykambium korzenia macierzystego, naprzeciw przebiegających pasm ksylemu pierwotnego. Proces tworzenia się zawiązków postępuje stopniowo, powodując najpierw uwypuklenie kory pierwotnej, a następnie jej przebicie i wydostanie się korzeni nazewnątrz.

Dodatni odczyn Barnetta i Seligmana, specyficzny dla grup SH wyrażał się zabarwieniem cytoplazmy przy zastosowaniu błękitu dwuazowego na kolor niebieski. Największą zawartość grup SH związanych z białkiem zaobserwowano w wierzchołku wzrostu powstających korzeni bocznych (ryc. 1). Odczyn barwny był jednakowy we wszystkich komór-



Ryc. 1. Przekrój poprzeczny przez korzeń *Vicia faba* L.; a — merystem korzenia bocznego, b — floem korzenia głównego, c — parenchyma kory pierwotnej, d — parenchyma walca osiowego. Odczyn Barnetta i Seligmana na grupy SH. Exacta Varex. Pow. 140 ×

kach histogenów stożka. W tkankach stałych korzenia głównego odczyn barwny był słabszy i wystąpił w rurkach sitowych, komórkach towarzyszących, okolicy i w komórkach skórki. Słabo dodatni odczyn wystąpił w miękiszu kory pierwotnej, a także w centralnych komórkach walca osiowego. Nie zaobserwowano natomiast występowania tych grup w protoksylmie.

OMÓWIENIE

Obecne badania histochemiczne pozwoliły na przeanalizowanie występowania białkowych grup SH zarówno w tkankach merystematycznych, jak i w tkankach stałych korzenia bobu. W tkankach twórczych powstającego korzenia bocznego, podobnie jak i w stożku korzenia głównego wystąpił wyraźny odczyn świadczący o dużej zawartości grup SH związanych z białkiem. Tkanki te bowiem odznaczają się aktywniejszą przemianą materii i są ściśle związane z procesem powstawania tkanek stałych. W tkankach stałych korzenia głównego odczyn barwny był słabszy i ograniczał się głównie do tkanek, w których zachodzą wzmożone procesy fizjologiczne. Są to żywe komórki łyka pełniące funkcje przewodzenia asymilatów, okólnica, która odgrywa wielką rolę w dalszym procesie różnicowania się korzeni, szczególnie w powstawaniu korzeni bocznych oraz wtórnej tkanki okrywającej, i skórka, jako ochronna warstwa pośrednicząca w wymianie substancji ze światem zewnętrznym.

Moje obserwacje zgodne są z poglądem Lisowskiego (1956), że grupy sulfhydrylowe związane ze strukturą białek umożliwiają wzrost i rozmnażanie komórek merystematycznych i utrzymują aktywność komórek stałych. Liczne są też doniesienia na podstawie prac przeprowadzonych na tkankach zwierzęcych, że grupy sulfhydrylowe wykazują znaczny wpływ na aktywność enzymów uczestniczących w wielu etapach białkowego, tłuszczowego i węglowodanowego toku przemiany materii (Kołątaj 1963). Wydaje się, że spostrzeżenia te można by także odnieść do tkanek roślinnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Broda B.: Metody histochemii roślinnej. Państw. Zakł. Wyd. Lek. Warszawa 158—159, 1971.
2. Kołątaj A.: Kosmos, Seria A, XII, z. 6, 433—448, 1963.
3. Lisowski J.: Postępy Hig. i Med. Dośw. 10, 401—429, 1956.
4. Miłkowska J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin, Sec. D 16, 441—445, 1961.
5. Miłkowska J.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Lublin, Sec. D 18, 479—486, 1963.
6. Miłkowska J.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Lublin, Sec. D 19, 441—454, 1964a.

7. Miłkowska J.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Lublin, Sec. D 19, 479—487, 1964b.
8. Roberts L. W.: Amer. Journal of Botany. 47, 111—114, 1960.
9. Roberts L. W., Lucchese G.: Stain Tech. 30, 291—298, 1955.
10. Tiefel R. M.: Histochemical Differentiation of Meristems. Ph. D. Dissertation. Univ. Missouri. Columbia 1957, wg Robert L. W. (8).

Otrzymano 30 I 1974.

РЕЗЮМЕ

При помощи метода Барнетта и Зелигмана в модификации Броди изучалось присутствие протеиновых групп SH как в меристематических тканях, так и в тканях постоянных корней *Vicia faba* L. в зоне образования боковых корней. Самое большое содержание этих групп наблюдалось в меристематических тканях. Меньшее содержание протеиновых групп наблюдалось в постоянных тканях, которые отличаются значительной активностью, т. е. в живых клетках луба, эпидермиса и перицикла.

SUMMARY

By applying Brody's modification of Barnett's and Seligman's method the occurrence of protein SH groups was analysed in the meristematic tissues as well as in the permanent tissues of *Vicia faba* L., in the region of the formation of side roots. The highest content of these groups was observed in the meristematic tissues. A lower content was found in the permanent tissues, which are characterized by a significant activity, that is live phloem cells, penicycle and epidermis.

EXPLANATION OF FIGURE

Fig. 1. Transverse section of the root of *Vicia faba* L.; a — cambium of lateral roots, b — phloem of main root, c — parenchyma of cortex, d — parenchyma of concentric cylinders. Barnett and Seligman's reaction to SH groups. Exacta Varex. 140 X.