

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XVII, 22

SECTIO D

1962

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Jadwiga MIŁKOWSKA

**Badania nad rozmieszczeniem grup SS w merystematycznych
komórkach roślinnych**

**Исследование над размещением SS — групп в меристематических
растительных клетках**

**An Investigation into the Distribution of SS Groups in Meristematic
Plant Cells**

Metabolizm komórkowy jest ściśle związany z czynnością enzymów zawierających w swych cząsteczkach grupy SH. Utlenienie grup sulfhydrylowych SH do grup SS znosi czynność katalityczną wielu fermentów. Znana jest również zależność między zawartością związków zawierających grupy SH a przebiegiem podziału komórkowego. Podział komórkowy poprzedzony jest wzrostem poziomu glutationu, który po skończonej mitozie zmniejsza się (Baranowski 1959). Brachet (1959) wykazał rolę grup SH w procesie organogenezy. Działając przez okres 24 godzin merkaptoetanolem na zapłodnione jaja żaby płowej (*Rana temporaria* L.), powodował zahamowanie rozwoju płytki nerwowej bez zmian w jej strukturze. Wyniki swych badań Brachet przypisuje grupom SH zawartym w merkaptoetanolu.

Rozmieszczeniem grup SH w merystematycznych komórkach roślinnych zajęliśmy się w poprzedniej pracy (Miłkowska 1961). Badania przeprowadzone na korzeniach kukurydzy i bobu wykazały, że swoisty dla grup SH odczyn barwny ograniczał się głównie do dermatogenu, komórek czapeczki i inicjalnych, a przede wszystkim do warstwy perykambialnej. Obecna praca natomiast ma na celu zbadanie rozmieszczenia grup SS w młodych komórkach roślinnych korzeni kukurydzy i cebuli. Chcieliśmy bowiem przeprowadzić dokładną analizę rozmieszczenia

grup sulfhydrylowych w histogenach, a tym samym przekonać się w których warstwach korzenia odbywają się intensywne przemiany białkowe.

MATERIAŁ I METODY

Badania histochemiczne przeprowadzono na 3-dniowych stożkach wzrostu korzenia kukurydzy (*Zea mays* L.) i cebuli (*Allium cepa* L.). Do utlenienia grup SS użyto odczynnika Schiffa (Pearse 1951). Na skrawki po odparafinowaniu podziało przez 10 minut kwasem nadmanganowym, a następnie przez 1 godzinę odczynnikiem Schiffa. Po odwodnieniu w alkoholach i prześwietleniu w ksylenie, zamykano w balsamie kanadyjskim. Zastosowanie jednak tej metody dało wyniki niepewne. Odczyn wyrażał się słabym zabarwieniem dyfuzyjnym plazmy na kolor jasnoróżowy i nie można było stwierdzić wyraźnego rozmieszczenia grup SS w poszczególnych histogenach. Do badań użyto więc próby Seligmana i Barnetta. Materiał utrwalano przez 24 godziny w 1% roztworze kwasu trójchlorooctowego w 80% alkoholu i po odwodnieniu zamykano w parafinie. Skrawki mikrotomowe grubości 5 mikronów, po odparafinowaniu dla zablokowania grupy SH przetrzymywano przez 24 godziny w roztworze kwasu monoiodooctowego z 1 N NaOH i wodzie destylowanej. Następnie skrawki inkubowano przez 2 godziny w temperaturze 50°C w 0,1 M buforze Michaelisa z dodanym alkoholem bezwodnym, zawierającym odczynnik DDD (dwuhydroksy 6-dwu-naftyłodwusiarczek) i barwiono czernią K rozpuszczoną w 0,1 M buforze fosforanowym Sörensena. Po zabarwieniu skrawki zamykano w glicerożelu.

BADANIA WŁASNE

Obserwacjom histochemicznym poddano merystatyczne komórki tworzące strefy inicjalną i wzrostu trzydniowych korzeni kukurydzy (*Zea mays* L.) i cebuli (*Allium cepa* L.) po zastosowaniu metody Barnetta i Seligmana. Okazało się bowiem, że może ona być zastosowana również i dla tkanek roślinnych. Utrwalanie w kwasie trójchlorooctowym nie powodowało zmian w obrazie komórek histogenów. Jądra komórkowe, jąderka i błony oddzielające komórki nie ulegały skurczeniom i pozostawały, po zabarwieniu czernią K, bezbarwne (ryc. 1, 2 i 3). Odczyn barwny natomiast dotyczył tylko samej cytoplazmy i można było obserwować czerwone lub czerwonoróżowe drobnitkie ziarenka grupujące się przeważnie w cytoplazmie obwodowej, tzn. w strefie pod błoną komórkową (ryc. 2 i 3). Najmniej ziarenek znajdowało się w strefie przyjądrowej, co stwarzało obraz szerszej lub węższej słabo zabarwionej obwódki dokołajądrowej. W niektórych komórkach i to szczególnie dermatogenu ilość ziarenek była bardzo duża, a wówczas cała cytoplazma wykazywała intensywny odczyn barwny. Oprócz dermatogenu podobnie intensywny odczyn barwny dla grup SS można było zauważyć w komórkach inicjalnych i czapeczki oraz w niektórych tylko komórkach warstwy perykambialnej



Ryc. 1. Komórki merystematyczne korzenia kukurydzy (*Zea mays* L.). Odczyn Barnetta i Seligmana dla grup SS. Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena) Practina FX, Agfa Isopan FF

Meristematic cells of the root of *Zea mays* L. Barnett and Seligman's reaction to SS groups. Lumipan microscope C. Zeiss (Jena). Practina FX, Agfa Isopan FF.

(ryc. 1, 2 i 3). Komórki innych warstw korzenia miały lekkie, różowe, dyfuzyjne zabarwienie, które mogło również wskazywać na niewielką obecność grup SS (ryc. 1, 2 i 3).

OMOWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Wyniki naszych badań nad rozmieszczeniem grup SS wykazały dodatni odczyn barwny Barnetta i Seligmana głównie w komórkach dermatogenu, inicjalnych, komórkach czapeczki i niektórych perykambialnych. Podobne wyniki uzyskano w badaniach nad rozmieszczeniem grup SH. Grupy SH jak wykazały nasze poprzednie badania (M i ł k o w s k a 1961) wybarwiały się również w tych komórkach. Można więc na tej podstawie przypuszczać, że w obrębie wymienionych warstw komórkowych zachodzą najbardziej intensywne przemiany białkowe.



Ryc. 2. Komórki merystematyczne korzenia kukurydzy (*Zea mays* L.). Dodatni odczyn Barnetta i Seligmana dla grup SS w komórkach dermatogenu i niektórych komórkach perykambialnych. Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena). Practina FX, Agfa Isopan FF

Meristematic cells of the root of *Zea mays* L. Barnett and Seligman's positive reaction to SS groups in the dermatogene cells and in some pericambium cells.

Lumipan C. Zeiss (Jena) microscope. Practina FX, Agfa Isopan FF.

Proces zwiększonej syntezy białek komórkowych, a więc różnego stopnia stężenia grup sulfhydrylowych jest powiązany z procesem wzrostu komórki. Świadczą o tym liczne prace wykonywane na komórkach zwierzęcych (Sawich i Jakowlew (1957), Favard i Carrasso (1961), Łatałski (1961, 1962) i inni). Wydaje się, że spostrzeżenia te można by także odnieść do wzrastających komórek roślinnych.

Komórki dermatogenu, które następnie wytwarzają tkankę okrywającą, komórki czapeczki, jak i komórki inicjalne w początkowych okresach rozwoju korzenia odgrywają zasadniczą rolę. Prawdopodobnie z tym należy wiązać ich bogatą przemianę białkową. Dotyczy to szczególnie warstwy perykambialnej, z której na drodze dalszych zróżnicowań powstaje okólnica, a następnie tkanki przewodzące. W naszych badaniach w warstwie perykambialnej występowały głównie grupy SH,



Ryc. 3. Komórki merystematyczne korzenia kukurydzy (*Zea mays* L.). Dodatni odczyn Barnetta i Seligmana w komórkach dermatogenu i słabo dodatni w innych komórkach przeważnie pod błoną komórkową. Niezabarwione jądra komórkowe.

Mikroskop Lumipan C. Zeiss (Jena). Practina FX, Agfa Isopan FF

Meristematic cells of the root of *Zea mays* L. Barnett and Seligman's positive reaction in the dermatogene cells and slightly positive in the other cells, mainly under the cellular membrane. Unstained cell nuclei. Microscope Lumipan C. Zeiss (Jena). Practina FX, Agfa Isopan FF

dla których swoisty odczyn był bardzo intensywny. Odczyn barwny na grupy SS był natomiast słaby i widoczny tylko w niektórych komórkach. Wydaje się, że można to tłumaczyć redukcją grup SS i ich przejściem w formy SH.

PISMIENNICTWO

1. Baranowski T.: Zwięzły podręcznik chemii fizjologicznej. PZWL, Warszawa 1959, ss. 405—406.
2. Brachet J., Delange-Cornil M.: Recherches sur le role des groupes sulfhydriques dans la morphogenèse. *Developmental Biology*, 1, 79—100, 1959.
3. Favard P., Carasso R.: Origine et ultrastructure des plaquettes vitellines de la Planorbe. *Arch. Anat. Microc. Morph. Exp.* 47, 211—234, 1961.

4. Latałski M.: Badania nad kwasem rybonukleinowym i grupami sulfhydrylowymi w komórce jajowej. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sec. D, 16, 27—42, 1961.
5. Latałski M.: Histochemiczne obserwacje grup sulhydrylowych (SH) w komórkach pęcherzyka tarczycy. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sec. D, 17, 319—323, 1962.
6. Miłkowska J.: Histochemiczne badania grup sulfhydrylowych w merystematycznych komórkach roślinnych. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Sec. D, 16, 441—445, 1961.
7. Pearse A. G. E.: Histochemia teoretyczna i stosowana. PZWL, Warszawa 1957, 434—435.
8. Sawicz K. W., Jakowlew W. A.: O sodierżaniu i lokalizacji sulfhidrylnych grup w różnych formacjach głównego mózgu koszki. Wopr. Med. Chim., 3, 121—128, 1957.

РЕЗЮМЕ

Применение метода Барнетта и Зелигмана для гистохимических исследований SS-групп в меристематических клетках корней *Zea mays* L. и *Allium cepa* L. дало возможность проследить размещение этих групп в отдельных гистогенах. Отчетливая положительная реакция наблюдается в плазме клеток дерматогена, инициальных клеток, чехлика и некоторых клеток перикамбия. Полученный результат видимо говорит о том, что в этих клетках осуществляется интенсивный белковый обмен, связанный с процессом образования постоянных тканей корня.

Рис. 1. Меристематические клетки корня кукурузы (*Zea mays* L.). Реакция по Барнетту и Зелигману на SS-группы. Микроскоп Lumipan Ц. Цейсс (Иена). Practina FX, Agfa Isoran FF.

Рис. 2. Меристематические клетки корня кукурузы (*Zea mays* L.). Положительная реакция по Барнетту и Зелигману на SS-группы в клетках дерматогена, а также в некоторых клетках перикамбия. Микроскоп Lumipan Ц. Цейсс (Иена). Practina FX, Agfa Isoran FF.

Рис. 3. Меристематические клетки корня кукурузы (*Zea mays* L.). Положительная реакция по Барнетту и Зелигману в клетках дерматогена и слабopоложительная реакция в других клетках, особенно под клеточной оболочкой. Неокрашенные клеточные ядра. Микроскоп Lumipan Ц. Цейсс (Иена). Practina FX, Agfa Isoran FF.

Summary

The application of Barnett and Seligman's method in histochemical examinations of meristematic root cells of *Zea mays* L. and *Allium cepa* L. made it possible to examine the distribution of SS groups in separate histogenes. The examinations show that a positive reaction

occurs in the plasma of the root cap, dermatogene and apical cells of the pericambium. The results obtained show that in these cells a considerable protein metabolism takes place which is related to the formation of the permanent root tissues.