

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej. Wydział Farmaceutyczny.
Akademia Medyczna, Lublin
Kierownik: dr Tadeusz Szynal

Ultrastruktura mitochondriów i proplastydów w merystematycznych komórkach korzenia *Phaseolus vulgaris* L.

**Ультраструктура митохондрий и пропластидов меристематических
клеток корня *Phaseolus vulgaris* L.**

The Ultrastructure of the Mitochondria and Proplastids in the Meristematic Cells of the Root of *Phaseolus vulgaris* L.

Powstawanie mitochondriów i proplastydów w merystematycznych komórkach roślinnych badali w mikroskopie elektronowym Strugger (1957), Heitz (1957 a, b), Hoffman i Grigg (1958), Buvat (1960), Whaley i wsp. (1960) oraz Sun (1962). Heitz oraz Whaley i wsp. obserwowali mitochondria i proplastydy w merystematycznych komórkach korzenia *Zea mays* i *Vicia faba*, Strugger, Hoffman i Grigg w komórkach merystematycznych *Allium cepa*, Buvat zwrócił uwagę na różnice morfologiczne między mitochondriami a proplastydami u *Elodea canadensis*, a Sun badał ultrastrukturę merystematycznych komórek korzenia *Phaseolus vulgaris*.

Ogólnie przyjęty jest pogląd, że pierwotnymi plastydami są proplastydy, określane przez niektórych badaczy jako promitochondria, albo niedojrzałe mitochondria (Whaley i wsp. 1960). Proplastydy różnią się od mitochondriów brakiem przegródek wewnętrznych charakterystycznych dla mitochondriów, zawierają natomiast małe, elektronowo gęste ziarenka (Sun 1962), które mogą stanowić pierwsze stadium różnicowania się plastydów (Heitz 1957a).

Zagadnienie różnicowania się młodych elementów komórkowych u roślin nie znalazło dotychczas dokładnego wyjaśnienia. W związku z tym przeprowadzono obserwacje ultracienkich skrawków komórki roślinnej w mikroskopie elektronowym, zwracając szczególną uwagę na elementy komórkowe najmniej zróżnicowane, które mogłyby stanowić formy wyjściowe dla mitochondriów i proplastydów.

MATERIAŁ I METODYKA

Nasiona fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) poddano kiełkowaniu i po 3 dniach obcinano stożki wzrostu korzenia. Materiał utrwalano w 1% OsO₄ buforowanym buforem weronalowo-octanowym o pH 7,4 z dodatkiem 7,2% cukrozy jako osłony w czasie 1—2 godzin w lodówce w temperaturze +4°C. Odwadniano w alkoholu etylowym o stężeniu 30%, 70%, 80%, 95%, i alkoholu absolutnym, a następnie zatapiano w metakrylanie n-butylu z dodatkiem 1% nadtlenku benzoilu jako katalizatora. Polimeryzację przeprowadzano w temperaturze 48°C w czasie 18—24 godzin. Ultracienkie skrawki sporządzano na ultramikrotomie OmU Reicherta, obserwacje przeprowadzano w mikroskopie elektronowym Elmi D2, C. Zeiss (Jena).

BADANIA WŁASNE I OMÓWIENIE WYNIKÓW

W badanych przez nas merystematycznych komórkach korzenia fasoli mitochondria rozmieszczone były przeważnie w strefie dookołajądrowej. W zależności od przekroju były one okrągłe lub owalne (ryc. 1), nigdy nie spotykało się natomiast nitkowatych, względnie pałeczkowatych form mitochondriów. Mitochondria komórek merystematycznych korzenia fasoli, podobnie zresztą jak i innych komórek roślinnych, które obserwowali m. in. Heitz (1957), Whaley i wsp. (1960) i Sun (1962), przypominały strukturą swoją mitochondria komórek zwierzęcych opisanych przez Sjöstranda. Otoczone one były gęstą elektronowo, podwójną błoną, której warstwy zewnętrzna i wewnętrzna oddzielone były od siebie jasną bezstrukturalną przestrzenią. Sfałdowania warstwy wewnętrznej mitochondriów tworzyły krótsze lub dłuższe przegrody mitochondrialne. Przegrody te ułożone naprzeciwlegle nie łączyły się ze sobą, wytwarzała się więc dzięki temu charakterystyczna budowa wewnętrzna. Warstwa wewnętrzna, wytwarzająca przegrody, gęstością elektronową odpowiadała całkowicie warstwie zewnętrznej mitochondriów. Układ przegródek w mitochondriach był bardzo rozmaity. W jednych bowiem tworzyły one krótkie palczaste wypustki i wówczas strefa wewnętrzna mitochondrium była elektronowo pusta, w innych wypadkach przegrody były długie i ilość ich duża, a wówczas wewnątrz mitochondrium wydawało się być wypełnione strukturami elektronowo gęstymi. Nie spotkano natomiast w żadnej komórce mitochondriów przewężonych, znajdujących się jak gdyby w okresie podziału, jak również nie można było potwierdzić zapatrywań Hoffmana i Grigga (1958) według których mitochondria powstają z jądra komórkowego.

Typ mitochondriów obserwowanych i opisywanych przez nas uważamy za formy dojrzałe, które ani swoją wielkością, ani strukturą nie przypominały proplastydów. Proplastydy są elementami młodych komórek roślinnych w okresie niepełnego ich zróżnicowania. Były one rozmieszczone w różnych częściach plazmy komórkowej i ilość ich ule-

gała niejednokrotnie daleko idącym wahaniom. Proplastydy obserwowane przez nas były elementami otoczonymi pojedynczą, elektronowo gęstą błoną, wyraźnie odgraniczającą je od ziarnistej plazmy podstawowej. Struktura wewnętrzna proplastydów była bardzo różnorodna, zależała bowiem od obecności, ilości i układu błon wewnętrznych. Oprócz tych elektronowo gęstych błon wewnętrznych, obserwowano ziarenka większe — elektronowo gęste i ziarenka mniejsze — elektronowo rzadkie. Układ jednych i drugich był bardzo różnorodny, zwykle jednak tworzyły one zgrupowania. Wydawało się nam, że ziarenka duże posiadają zdolność szeregowego układania się (ryc. 2) i tworzenia krótszych lub dłuższych połączeń linearnych, przypominających pojedynczą błonę ergastoplazmatyczną. Te elementy, które otoczone były tylko błoną zewnętrzną i posiadały wewnątrz różne formy ugrupowań ziarenek zaliczyliśmy do najmłodszej, różnicującej się formy proplastydów.

Na podstawie naszych obserwacji nie można było jednak potwierdzić badań Whaley i wsp. (1960) oraz Suna (1962), że określone przez nas najmłodsze formy proplastydów mogły być równocześnie elementami, których zdolność różnicowania się podąża w kierunku wytworzenia mitochondriów i proplastydów. Te natomiast elementy, w których wnętrzu oprócz ziarnistości występowały w różnej ilości i różnym ułożeniu błony wewnętrzne określiliśmy mianem proplastydów dojrzałych. W proplastydach dojrzałych (ryc. 3) błony wewnętrzne mogą także wytwarzać układy lamellarne zamknięte, a ilość tych błon wewnętrznych, jak wydawało się nam, pozostawała w zależności od wzrostu samego proplastydu. Wytworzenie się kilku lub kilkunastu współśrodkowo ułożonych błon wewnętrznych przebiegało równoległe ze wzrostem całego elementu i wytworzeniem lamellarnej struktury wewnętrznej proplastydu (ryc. 4).

Przy oglądaniu ultracienkich skrawków uwagę naszą zwróciły przekroje komórek, których plazma podstawowa, a przede wszystkim błony ergastoplazmatyczne i struktury Golgiego wskazywały, że są one komórkami w okresie początkowego różnicowania się elementów komórkowych (ryc. 5). W komórkach tych znaleziono niewielką ilość elementów wielkości proplastydów, które otoczone pojedynczą błoną wypełnione były prawie całkowicie ziarnami przypominającymi swoją gęstością elektronową ziarna Palada protoplazmy podstawowej. Równocześnie na błonie otaczającej te elementy obserwowano od strony wewnętrznej ziarna Palada, co mogło nasuwać przypuszczenie, że powstała ona przez zamknięcie błony ergastoplazmatycznej, tym bardziej że w błonie tej widoczne były przerwy umożliwiające połączenie plazmy podstawowej komórki z substancją wewnętrzną omawianego elementu. W niektórych

elementach (ryc. 5) zaznaczał się jak gdyby wzrost ziarenek substancji podstawowej, zwiększenie ich gęstości elektronowej i różnicowanie się na ziarenka małe i duże. Wydaje się nam, że elementy te mogły być najmłodszą formą różnicowania się proplastydów, powstawanie jednak tej formy i jej różnicowanie wymaga dalszych badań komórek zarodkowych.

Należy podkreślić, że opisywana przez nas najmłodsza forma proplastydów jest elementem dużym, wyraźnie widocznym i nie wskazuje na to, by mogła być ona równocześnie najmłodszym elementem mitochondrialnym. Mitochondria bowiem w tego typu komórkach posiadały już podwójną błonę otaczającą i różnie wykształcone palczaste wypustki wewnętrzne.

PIŚMIENNICTWO

1. Buvat R.: L'infra-structure du cytoplasme végétal d'après les cellules des ébauches foliaires d'*Elodea canadensis*. Vierter Internationaler Kongress für Elektronenmikroskopie. Berlin 10—17 Sept. 1958. Bd. 2. H. Ergebnisse der Elektronenmikroskopie in der Botanik, ss. 494—499, Verl. Springer, Berlin (1960).
2. Heitz E.: Die Struktur der Chondriosomen und Plastiden im Wurzelmeristem von *Zea mays* und *Vicia faba*. Z. Naturforsch. 12 b, 283—286, 1957.
3. Heitz E.: Die strukturellen Beziehungen zwischen Chondriosomen. Z. Naturforsch. 12 b, 576—578, 1957.
4. Hoffman H., Grigg G. W.: An Electron Microscopic Study of Mitochondria Formation. Exp. Cell. Res. 15, 118—131, 1958.
5. Strugger S.: Elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Teilung der Proplastiden im Urmeristem der Wurzelspitze von *Allium cepa*. Z. Naturforsch. 12 b, 280—283, 1957.
6. Sun C. P.: Fine Structure of the Root Cells of *Phaseolus vulgaris*, I. Structure of the Meristematic Cells. Cytologia (Tokyo). 27, 204—211, 1962.
7. Whaley W. G., Mollenhauer H. H., Leech J. H.: The Ultrastructure of the Meristematic Cell. Amer. Jour. Bot. 47, 401—449, 1960.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Mikrofotografia części komórki merystematycznej korzenia *Phaseolus vulgaris*. Mitochondria (M) posiadają podwójną błonę otaczającą i przegródki wewnętrzne. Obok widoczne lamellarne struktury Golgiego (Ga). Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie ca 25 000 ×.

Ryc. 2. Mikrofotografia części komórki merystematycznej korzenia *Phaseolus vulgaris*. Obok jądra (Nu) otoczonego podwójną błoną jądrową widoczne mitochondria (M), wakuole (V), błona komórkowa (B) oraz proplastidy (PP). Zwraca uwagę różna struktura wewnętrzna proplastydów. Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie ca 18 000 ×.

Ryc. 3. Mikrofotografia części komórki merystematycznej korzenia *Phaseolus vulgaris*. Mitochondria (M) i proplastydy (PP), w których tworzą się lamellarne struktury wewnętrzne. Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie ca 18 000 X.

Ryc. 4. Mikrofotografia części komórki merystematycznej korzenia *Phaseolus vulgaris*. Mitochondria (M) otoczone podwójną błoną zewnętrzną i plastyda (P) posiadająca blaszkowatą strukturę wewnętrzną. Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie ca 25 000 X.

Ryc. 5. Mikrofotografia części komórki merystematycznej korzenia *Phaseolus vulgaris*. Podwójne błony ergastoplazmatyczne (RE) z ziarenkami Palada, struktury Golgiego (Ga), mitochondria (M) oraz niezróżnicowana najmłodsza forma proplastydów (NP). Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie ca 18 000 X.

РЕЗЮМЕ

С помощью электронного микроскопа проведены исследования ультраструктуры митохондрий и пропластидов меристематических клеток корня *Phaseolus vulgaris* L. Митохондрии были окружены двойной оболочкой и имели характерные внутренние мембраны. Было найдено два типа пропластидов: 1) самые молодые в период дифференциации, окруженные однослойной оболочкой, характеризующиеся густыми в электронном отношении зернистостями, 2) зрелые, в которых, кроме гранул, имелись различно расположенные внутренние мембраны. Эти последние, путем возникновения нескольких концентрически расположенных внутренних мембран образовывали пластиды. Кроме того были обнаружены образования, по величине соответствующие пластидам, заполненные гранулами напоминающими зернистости Палада. Возможно, что они являются самой молодой формой в процессе дифференциации пропластидов. Сомнительным кажется то, что они являются первичным митохондриальным элементом.

Рис. 1. Микрофотография части меристематической клетки корня *Phaseolus vulgaris* L. Видно двухслойное строение оболочки митохондрий (M) и внутренние мембраны. Рядом находятся ламеллярные структуры Гольджи (Ga). Электронный микроскоп Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Увеличение 25.000 х.

Рис. 2. Микрофотография части меристематической клетки *Phaseolus vulgaris* L. Рядом с ядром (Nu), окруженным двойной оболочкой, видны митохондрии (M), вакуолы (V), клеточная оболочка (B), а также пропластиды (PP). Обращает на себя внимание внутренняя структура пропластидов. Электронный микроскоп Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Увеличение 18.000 х.

Рис. 3. Микрофотография части меристематической клетки корня *Phaseolus vulgaris*. Митохондрии (M) и пропластиды (PP), в которых образуются ламеллярные

внутренние структуры. Электронный микроскоп Elmi D2 (C. Zeiss, Jena) Увеличение 18.000 х.

Рис. 4. Микрофотография части меристематической клетки корня *Phaseolus vulgaris*. Митохондрии (М), окруженные двойной внешней оболочкой и пластид (Р) с пластинчатой внешней структурой. Электронный микроскоп Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Увеличение 25.000 х.

Рис. 5. Микрофотография части меристематической клетки корня *Phaseolus vulgaris*. Двухслойные эргастоплазматические оболочки (RE) с зернистостью Палада, структуры Гольджи (Ga) митохондрии (М) и недифференцированная самая молодая форма пропластидов (NP). Электронный микроскоп Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Увеличение 18.000 х.

S U M M A R Y

Observations were carried out on the mitochondria and proplastids in meristematic cells of the root of *Phaseolus vulgaris* L. by electron microscopy. The mitochondria were surrounded with double outer membranes with internally projecting cristae or microvilli. Two types of proplastids have been distinguished: 1. very young ones, on the point of differentiation, which were surrounded with a membrane and contained large, dense granules, and 2. mature proplastids which, apart from being granulated, had internal lamellae variable in size and placement. The mature proplastids changed into plastids as a result of formation of some or many inner lamellae. There were also observed some elements as large as proplastids which filled up with granules resembling Palade's grains. These elements were supposed to be the youngest form of proplastids at the point of differentiation. The author doubted their being simultaneously the youngest mitochondrial element.

EXPLANATION OF FIGURES

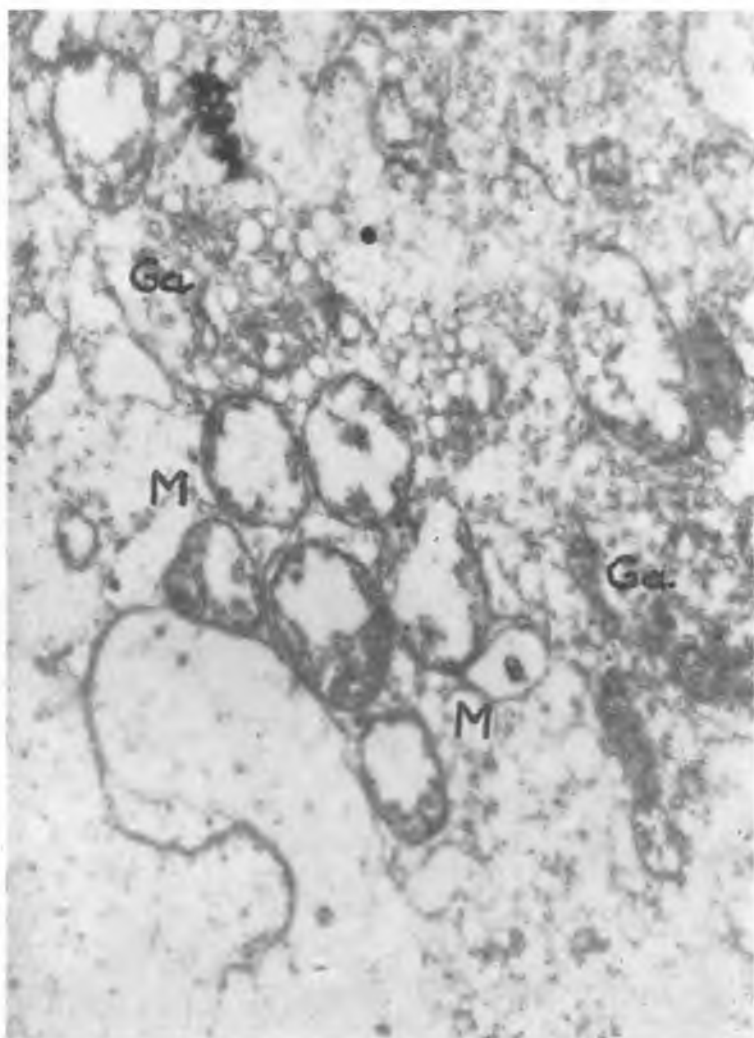
Fig. 1. A part of the meristematic cell of the root of *Phaseolus vulgaris* L. Mitochondria (M) are surrounded with double outer membranes and have internally projecting cristae. Lamellar Golgi structures are visible near by (Ga). Electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. ca. 25 000 X.

Fig. 2. A part of a meristematic cell of the root of *Phaseolus vulgaris* L. Close to the nucleus (Nu) surrounded with a double membrane there are visible mitochondria (M), vacuoles (V), cellular membrane (B) and proplastids (PP). Attention is called to a different inner structure of proplastids. An electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. ca. 18 000 X.

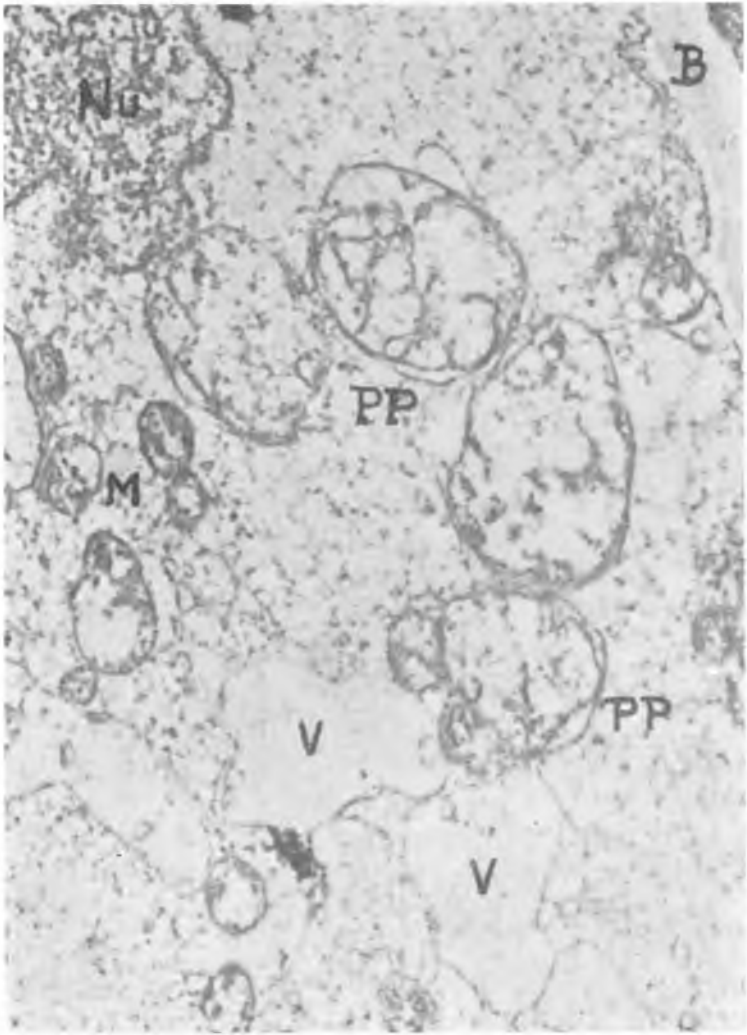
Fig. 3. A part of the meristematic cell of the root of *Phaseolus vulgaris* L. Mitochondria (M) and proplastids (PP) from which inner lamellar systems are to form. An electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. ca. 18 000 X.

Fig. 4. A part of a meristematic cell of the root of *Phaseolus vulgaris* L. Mitochondria (M) surrounded with double outer membranes and a plastid (P) showing inner lamellar systems. An electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. ca. 25 000 $\times$.

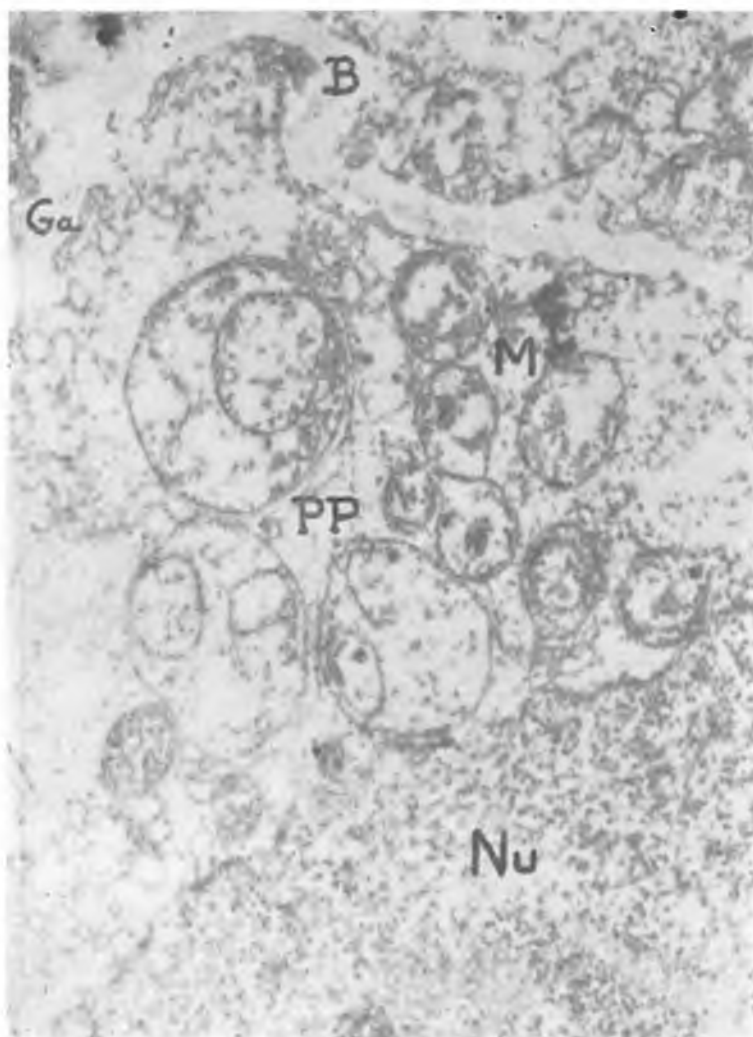
Fig. 5. A part of a meristematic cell of the root of *Phaseolus vulgaris* L. Double ergastoplasmic membranes (RE) with Palade's grains, Golgi structure (Ga), mitochondria (M), and an indifferent form of proplastids (NP). An electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. ca. 18 000 $\times$.



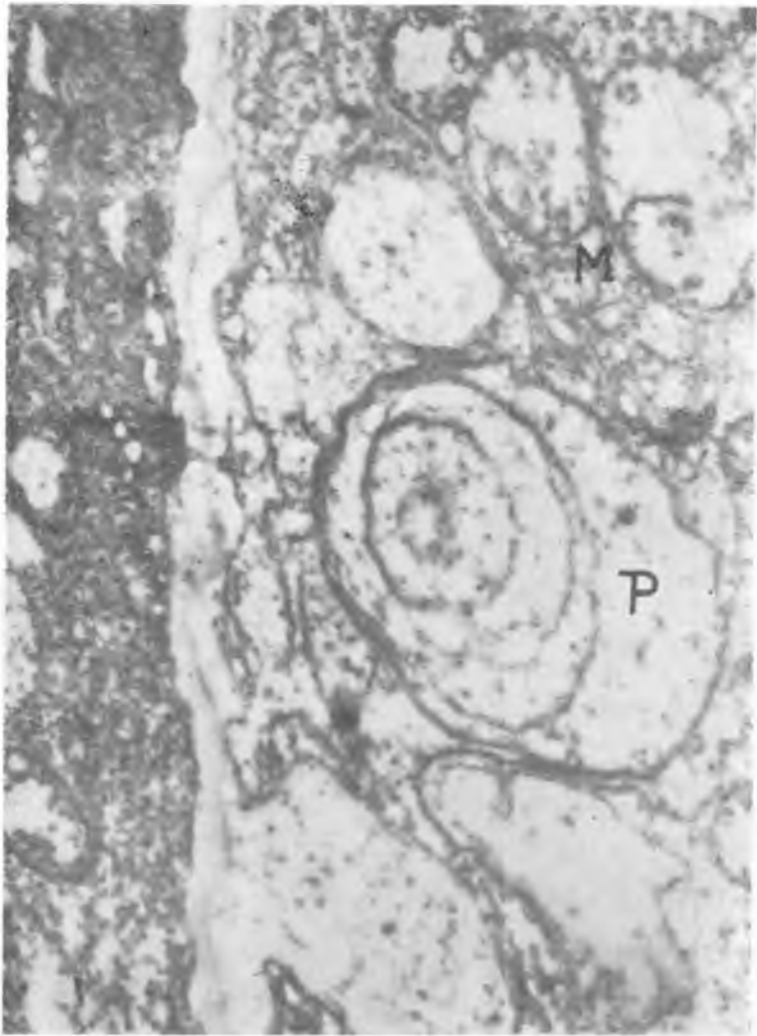
Ryc. 1



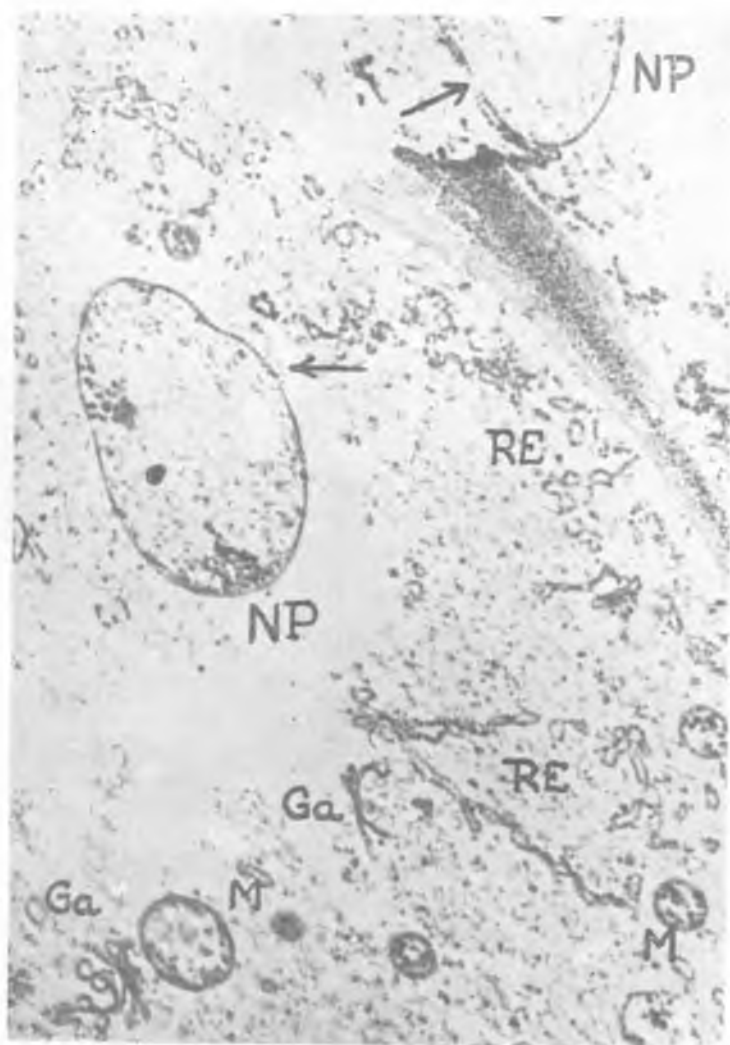
Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5

