

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXVIII, 7

SECTIO D

1973

Zakład Botaniki Farmaceutycznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej,
Wydział Farmaceutyczny, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Tadeusz Szynal

Jadwiga MIŁKOWSKA

Histochemiczne badania białkowych grup SH w stożku wzrostu łodygi

Гистохимические исследования белковых групп SH в конусе нарастания стебля

Histochemical Research of the SH Albuminous Groups in the Growth Cone
of a Stem

Z prac na temat grup sulfhydrylowych w komórce roślinnej, większość dotyczy występowania i rozmieszczenia ich w tkankach merystematycznych korzenia (Anson i Stanley 1941, Roberts 1951, 1956, Torey 1953, Stern 1956, Brachet 1950, Miłkowska 1961, 1962, 1963, 1964 i inni). W toku tych prac zaobserwowano, że większe nagromadzenie białkowych grup SH występuje w dermatogenie, perykambium i w czapeczce osłaniającej stożek wzrostu korzenia.

W obecnej pracy postanowiono przebadać rozmieszczenie grup SH związanych z białkiem w stożku wzrostu łodygi.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

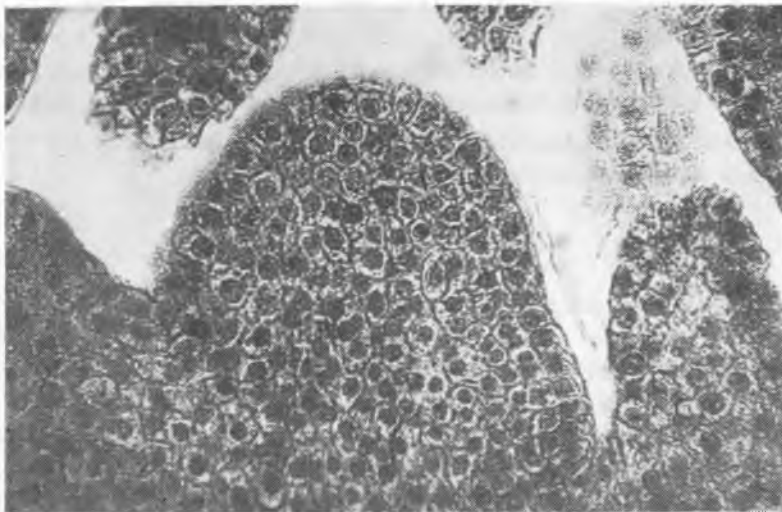
Badaniom histochemicznym poddano 1-dniowe stożki wzrostu łodygi bobu (*Vicia faba* L.), wykiełkowane na szalkach Petriego w temperaturze pokojowej. Stożki wzrostu utrwalano w 80% alkoholu etylowym z kwasem trójchlorooctowym wg metody Barnetta i Seligmana. Po 24 godzinach badany materiał odwadniano w alkoholach, prześwietlano w benzenie i zamykano w parafinie. Następnie skrawki mikrotomowe grubości 10 μ nanoszono na szkiełka podstawowe. Po odparafinowaniu i uwodnieniu redukowano grupy SS powstałe w trakcie skrawania do grup SH przez umieszczenie preparatów w roztworze tioglikolanu sodowego. Do reakcji barwnej przy wykrywaniu białkowych grup SH używano DDD i czerni K (Fast black K) oraz błękitu dwuazowego (Diazo blue B) (Broda, 1971). Przy próbach

kontrolnych blokowano grupy SH roztworem jodooctanu sodowego. Do odblokowania stosowano 10% roztwór cyjanku potasowego. Po zabarwieniu skrawki zamykano w glicerożelu.

BADANIA WŁASNE

Obserwacjom histochemicznym poddano merystematyczne komórki tworzące stożek wzrostu łodygi bobu. Komórki embrionalne w szczytowej partii stożka wzrostu wyodrębniają się jako jedna warstwa peryferyczna tworząc tunikę, oraz otoczony przez nią trzon centralny, zwany korpusem. Wierzchołek wzrostu jest najczęściej uwypuklony, a na jego powierzchni, egzogenicznie tworzą się bocznie, poniżej szczytu, liczne, gęsto obok siebie ułożone uwypuklenia, które stanowią zawiązki liści, pomiędzy którymi różnicują się zawiązki pędów bocznych. Zawiązki liści stulają się ponad wierzchołkiem wzrostu pędu i w ten sposób bardzo skutecznie chronią delikatny stożek i najmłodsze zawiązki liści, tworząc wraz z wierzchołkiem wzrostu pączek. Komórki tuniki i korpusu obserwowane na przekroju podłużnym można było łatwo zaobserwować, gdyż warstwy histogenów były wyraźnie dostrzegalne.

Przeprowadzony odczyn Barnetta i Seligmana, specyficzny dla grup SH, pozwolił przeanalizować umiejscowienie ich w histogenach oraz w obrębie poszczególnych komórek. Dodatni odczyn wyrażał się dyfuzyj-

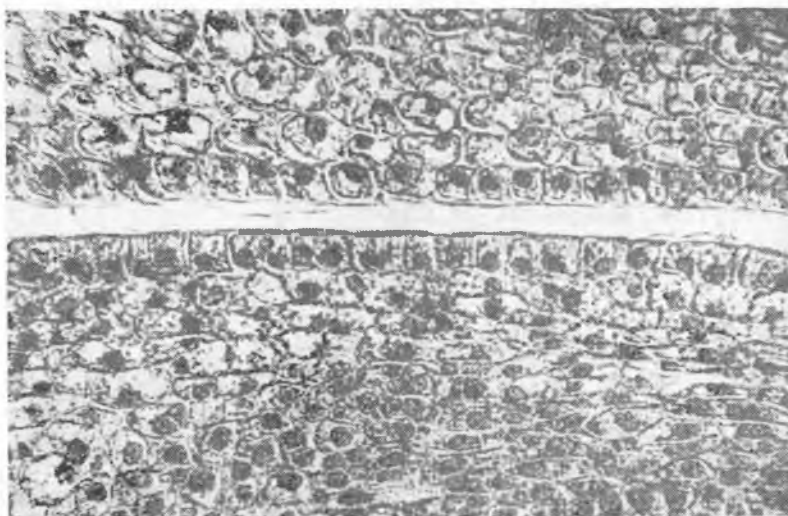


Ryc. 1. Stożek wzrostu łodygi bobu (*Vicia faba* L.). Odczyn Barnetta i Seligmana
Growth cone of a broad bean stem (*Vicia faba* L.). Barnett's and Seligman's reaction

nym zabarwieniem protoplazmy na kolor szarofioletowy lub brudnofioletowy (przy zastosowaniu czerni K) lub niebieski (przy użyciu błękitu dwuazowego). W cytoplazmie najsilniejszy odczyn obserwowano przy błonie jądrowej i ścianie komórkowej. W jądrach komórkowych odczyn na SH był równomierny, ale słabszy niż w cytoplazmie. Dodatni odczyn Barnetta i Seligmana dla grup SH był wyraźny zarówno w komórkach tuniki, jak i korpusu (ryc. 1), natomiast intensywniejszy występował w zewnętrznej tkance liści okrywających stożek (ryc. 2). Próby kontrolne po zablokowaniu grup SH dały wynik ujemny. Po odblokowaniu 10% roztworem cyjanku potasowego reakcja wypadła normalnie.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Poprzednie i obecne badania histochemiczne pozwalają na stwierdzenie, że w tkankach merystematycznych znajduje się dużo białkowych grup sulfhydrylowych. Histogeny w początkowym okresie rozwoju łodygi odgrywają zasadniczą rolę, z nich bowiem powstają tkanki stałe. Z tym też należy wiązać ich bogatą przemianę białkową.



Ryc. 2. Fragment liścia okrywającego stożek wzrostu łodygi bobu (*Vicia faba* L.). Dodatni odczyn Barnetta i Seligmana w zewnętrznych komórkach młodych liści i słabo dodatni w innych komórkach

A fragment of a leaf covering the growth cone of a broad bean stem (*Vicia faba* L.). Barnett's and Seligman's positive reaction in the internal cells of young leaves and weakly positive in other cells

W pracy Miłkowskiej i Frelka (1971) zaobserwowano, że łądźki wykiełkowane na świetle posiadają mniejszą zawartość aminokwasów zawierających grupy dwusulfidowe (a więc cysteina, cystyna i metionina) niż łądźki wykiełkowane w ciemni. Związane jest to prawdopodobnie z początkiem powstawania chlorofilu, którego obecność stwarza dogodne warunki do syntezy składników ustrojowych, w tym również i nowego białka (Masłowski, 1967). Tym też można wyjaśnić mniejszą reakcję barwną, świadczącą o większej zawartości białkowych grup SH w zewnętrznych liściach osłaniających stożek wzrostu.

PIŚMIENICTWO

1. Anson M. L., Stanley J.: Jour. Gen. Physiol. **24**, 679, 1941. wg. Lisowski.
2. Barnett R. J., Seligman A. M.: Science **116**, 323—327, 1952.
3. Brachet J.: Chemical Embryology (Interescience) New York 1950.
4. Broda B.: Metody histochemii roślinnej. PZWL, Warszawa 1971.
5. Lisowski J.: Postępy Hig. i Met. Dośw. **10**, 401—429, 1956.
6. Masłowski P., Masłowska H., Wierzbička M.: Acta Soc. Bot. Pol. **36**, 459—466, 1967.
7. Miłkowska J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin. Sec. D. **16**, 441—445, 1961.
8. Miłkowska J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin. Sec. D. **17**, 325—331, 1962.
9. Miłkowska J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin. Sec. D. **18**, 479—486, 1963.
10. Miłkowska J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Lublin. Sec. D. **19**, 441—454, 1964.
11. Miłkowska J., Frelek Z.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin. Sec. D. **26**, 33—37, 1971.
12. Roberts L. W.: Science. **113**, 692—693, 1951.
13. Roberts L. W.: Science. **124**, 628, 1956.
14. Stern H.: Science. **124**, 1292—1293, 1956.
15. Torey R. M.: Amer. Journal of Botany. **40**, 525—533, 1953.

Otrzymano 10 IV 1973.

РЕЗЮМЕ

Белковые группы SH в конусе нарастания стебля *Vicia faba* L. были обнаружены при помощи метода Барнетта и Селигмана. Окрашивано Fast Black Salt и Diazo blue B. Цветная реакция была равномерной в корпусе и тунике, а во внешних листьях, окружающих конус нарастания — более слабой. Возможно, что это явление связано с началом образования хлорофилла, присутствие которого создает благоприятные условия для синтеза органических компонентов, в том числе и нового белка.

S U M M A R Y

The SH albuminous groups in the growth cone of a *Vicia faba* L. stem, were detected by the Barnett and Seligman method. The staining used was Fast Black K Salt and Diazo blue B. The staining reaction was even in the trunk and tunic, whereas it was stronger in the internal leaves covering the growth cone. This is most probably connected with the beginning of the creation of chlorophyll, whose presence is created by suitable conditions for the synthesis of the structural element and in this also new protein.

