

Peklova hipoteza o mikogenom podrijetlu aleurona.

[Peklo's Hypothese über den mykogenen Ursprung des Aleurons.]

Ing. agr. Z. Arnold.

Peklo je u svojoj radnji »Über die Zusammensetzung der sogenannten Aleuronschicht«¹ pokušao na osnovu posebne preparacije i bojadisanja dokazati, da u stanicama aleuronskog sloja vrsti *Secale*, *Hordeum* i *Triticum* živi simbiotska gljiva. Njezine su hife gole (bez ikakove membrane), a na njihovoj površini izrastu kao neki ekskret aleuronska zrnca. On je kod osnivanja te svoje hipoteze pošao sa stanovišta već poznate intercelularne simbioze kod vrsti *Lolium temulentum*.

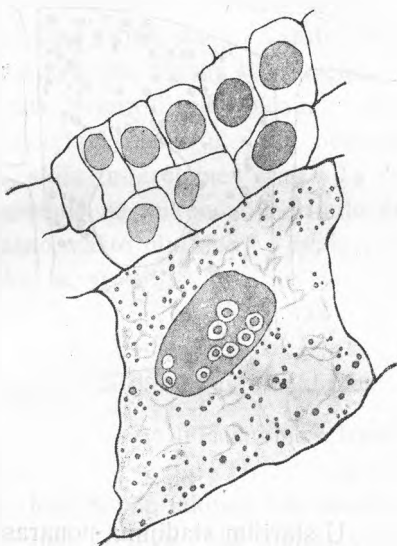
I ako je ta hipoteza o mikogenom podrijetlu aleurona već sama po sebi zanimiva, te se po svojim rezultatima protivi svim dosadašnjim mišljenjima o postanku aleurona iz vakuola odn. djelovanjem posebnih organa plazme, ipak se u literaturi do danas na nju pobliže osvrnuo jedini F. Netolitzky.² Istraživanjem kod vrsti *Lolium temulentum* dokazao je taj autor, da se hife simbiotske gljive normalno prostiru samo intercelularno t. j. između nucelarnog ostatka (t. zv. hialinog sloja) i aleuronskoga sloja, dok u same stanice potonjega dospijevaju tek sekundarno, naime na umjetan način prigodom rezanja. On ističe, da je plazma aleuronskih stanica veoma osjetljiva prema vodi, koja u većini slučajeva stvara u njima umjetne strukture, kakove je Peklo opažao i proglasio hifama. Naprotiv po autorovom iskustvu alkoholna KOH (posve bez vode) ne razara ni kod višesatnog kuhanja stanične membrane, pa ipak nije on ni na tako prepariranim presjecima našao nikakovih hifa, premda bi se bar normalne gljivne hife bile morale sačuvati.

¹ Ber. d. deutsch. botan. Ges. 1913., Bd. XXXI., p. 370.—384.

² F. Netolitzky, Anatomische Beobachtungen an Zerealienfrüchten. Oesterr. bot. Zeitschr. 1914. LXIV. p. 268.

Kako se iz Netolitzkyjeve kritike razabire, čini se, da Peklova hipoteza ne će biti ispravna, a to je mišljenje izrazio i A. Meyer, koji u svojem djelu »Analyse der Zelle«³, polazeći sa sasvim teoretskoga stanovišta primjećuje: »Bei Nachuntersuchung wird es sich herausstellen, dass Peklo genau so falsch gesehen hat, wie Hartig, der die Aleuronkörner durch Umbildung von Stärkekörnern entstehen liess.«

To je među inim dalo povoda, da temeljito preispitam Peklovu hipotezu prigodom mojih istraživanja o aleuronskom sloju kod gramineja, koja sam poduzeo na poticaj g. prof. Vouka. U tu sam svrhu ljeti god. 1924. fiksirao plodove vrste *Triticum vulgare* i *Triticum durum* u postepenim razvojnim stadijima počevši neposredno nakon cvatnje te dalje svakih 10 dana do potpune zriobe. Materijal je fiksiran u srednje-jakoj Flemming-ovoj otopini, zatim kontrole radi i u Benda-otopini, te 40% formolu, 50% alkoholu, alkoholu apsolutnom, pikrinskoj kiselini, Carnoy-ovoj, Kaiser-ovoj, Mann-ovoj i Rath-ovoj tekućini. Zatim su plodovi uklopljeni u parafin, rezani na 5 mikrona te bojadisani s Heidenhain-ovim željeznim hematoksilinom, a od istih je još jedan dio naknadno obojen s eozinom. Osim toga upotrebljena je za bojadisanje i alkoholna smjesa metilnog zelenila i fuksina, djelomice pak i trostruko bojadisanje u Bonney-ovoj modifikaciji,⁴ no obe su metode zadovoljile tek kod starijih stadija.



Sl. 1.

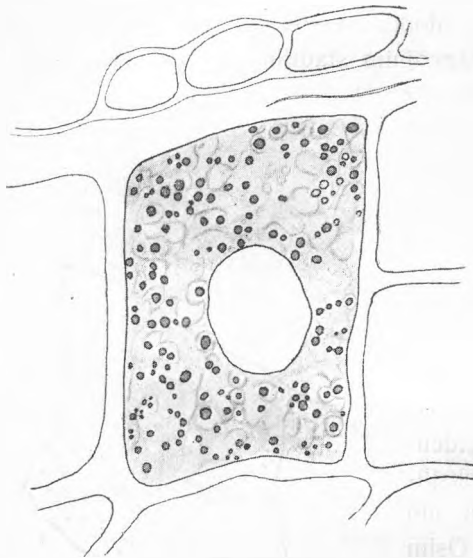
Mladi je materijal vrlo nježan, a naročito je osjetljiv sadržaj aleuronskih stanica, koji se pri rezanju vrlo često ošteti i onda, ako su same stanične membrane odn. čitave stanice ostale posve intaktne. Plazma je mladih aleuronskih stanica gusta, normalne pjenušave strukture (Wabenstruktur) bez velikih vakuola, a po njoj su razasuta sitna okrugla zrnca (sl. 1.), koja su bar kod najmladih stadija, što

³ A. Meyer, Analyse der Zelle, I. Teil, 1920., p. 176.

⁴ A b d e r h a l d e n, Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden, VIII. 47. — G. H e r x h e i m e r, Histologische Technik, p. 150.

sam ih još mogao s uspjehom rezati, odasvud opkoljena plazmom. Kod nešto starijih se stadija može opaziti, da se ta zrnca redovito nalaze u sredini malih okruglastih vakuola (sl. 2.), uvijek su naime opkoljena nešto svjetlijom masom, koja ovdje još nema oštih kontura. Spomenuta se zrnca jasno bojadišu hematoksilinom, a naročito primaju eozin kod naknadnog bojadisanja, dok same vakuole ne primaju nijedne od spomenutih boja.

U stanicama, kojih je sadržaj ostao pri rezanju intaktan, nije sam ni u kojem slučaju mogao naći hifa. Spomenuta su zrnca često



Sl. 2.

poredana u kraćim nizovima, no to po mome sudu ne upućuje na mikogeni, već prije na mitohondrijalni karakter tih staničnih tvorba; to više, što se one osobito jasno zapažaju na preparatima fiksiranim s Benda - otopinom. Stanice pak, koje su pri rezanju postradale ili barem sam njihov sadržaj, pokazuju doista plazmu razvučenu u deblje ili tanje nepravilne niti, koje sjećaju na neke Peklove crteže, ali bi ih međutim samo površan posmatrač mogao držati hifama.

U starijim stadijima ponarastu spomenuta zrnca, a još više njihove vakuole, koje tada zadobiju oštre konture i uslijed međusobnog pritiska više nepravilno poligonalni oblik, dok su temeljnu plazmu stanice tako potisnule, te ona ostaje između njih tekar kao tanka mrežotina (stroma).

Iz spomenutih opažanja mogu samo da zaključim, da kakovim hifama u aleuronskim stanicama nema ni traga.

Slike, što ih je Peklo priložio svojoj radnji, pobudaju sumnju, da su preparati, koji su mu služili za istraživanje, bili loše pripremljeni, uopće nedostatni. Metoda pak, kojom je on izolirao hife iz aleuronskih stanica, odviše je gruba. Treba samo da podsjetim na to, kako je plazma tih stanica — naročito u mladim stadijima — vrlo nježna i osjetljiva već kod običnih mikrotehničkih manipulacija. P e-

k l o je naime ispreparirao iz mladog, još mliječnog ječmenog zrnja, konzerviranog u smjesi alkohola i formalina, tanki aleuronski sloj i stavio ga na kratko vrijeme u jaku kalijevu lužinu. Nakon temeljitog ispiranja (vodom?) istro je finim kistom sadržaj aleuronskih stanica napolje i bojadisao ga s Löffler-ovim metilenskim modrilom. Držim, da se ovakovom metodom mogu postići samo umjetne strukture, pogotovo kraj vanredne osjetljivosti plazme tih stanica naprama vodi (v. Netolitzky, l. c.), iz kojih se nipošto ne smije zaključivati na naravnu (primarnu) njihovu strukturu. On među ostalim spominje, da mu zrelo zrno, fiksirano s Flemming-ovom otopinom i bojadisano s Heidenhain-ovim željeznim hematoksilinom, nije moglo poslužiti za dokaz njegove hipoteze. Ja sam našao na velikom broju prereza, fiksiranih i bojadisanih na netom spomenuti način, da je u tom stadiju sadržaj aleuronskih stanica čvrsto zbijen, te se kod rezanja rijetko kada rastepe, pa makar se i membrane razderale. Prema tome preparati pripremljeni običnim mikro-tehničkim metodama moraju pokazivati strukturu, koja odgovara naravnoj strukturi aleuronskoga sloja u zrelome zrnu. Ta pak struktura po Peklovoj izjavi ne upućuje na mikogeno porijetlo aleuronskoga zrnja. Nije međutim jasno, zašto nije autor i zrelo zrnje pokušao preparirati s KOH jednako kao mlado. Međutim je uopće pogrešno, što se on poslužio samo jednim sredstvom za fiksiranje, pošto tako nije imao mogućnosti da zapazi eventualno specifično djelovanje fiksativa, koje može dovesti i do umjetnih struktura.

Uzalud sam na brojnim presjecima tražio hife spojnice između susjednih stanica aleuronskoga sloja, kakove je P e k l o vidio na radialnim i tangencijalnim presjecima. Kad bi bilo takovih hifa spojnica, onda bi se vjerojatno još na presjecima zreloga zrnja morali vidjeti barem tragovi nekadanjih kanalića, kroz koje su hife prodirale iz jedne stanice u drugu. P e k l o spominje već kod vrste *Lolium temulentum*, da je vidio, kako hife (koje se ovdje prostiru tek intercelularno između hijalinog i aleuronskog sloja) mjestimice prodiru u aleuronske stanice. Kako je već spomenuto, dokazao je N e t o l i t z k y, da se iz toga ne smije zaključivati na faktično prodiranje tih hifa u aleuronski sloj. Držim, da se Peklovo opažanje hifa spojnica u aleuronskome sloju žitarica ima uzeti sa sličnom skepsom, tim više, što to uopće nijesu nikakove hife, već umjetne plazmatske niti, koje su mogle na slični način sekundarno dospjeti pri rezanju iz jedne stanice u drugu, a da pri tome nijesu trebale prodrijeti kroz granične membrane susjednih stanica.

Prema svemu, što je gore navedeno, Peklove hife mogu biti samo umjetni produkt jedne posve neobične preparacije, dok pravim gljivnim hifama u aleuronskom sloju žitarica nema ni traga. Pa i u najnovijoj citološkoj radnji o postanku aleurona od D. M. Mottier-a,⁵ doduše kod vrsti *Zea mays*, ne vidi se ni traga strukturama, iz kojih bi se moglo zaključivati na gljivne hife. Prema svemu tome držim, da je hipoteza o mikogenom podrijetlu aleuronskoga zrnja kod žitarica posve neosnovana.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wird die P e k l o's Hypothese einer kritischen Untersuchung unterworfen.

Der Verfasser fixierte Früchte von *Triticum vulgare* und *Triticum durum* in verschiedenen Stadien der Reifung in elf verschiedenen Fixiermitteln. Die in Paraffin eingebetteten Präparate wurden durch dreierlei verschiedene Färbungsmethoden gefärbt. Die Untersuchung der Schnitte ergab folgendes:

Junge Zellen der Aleuronschichte enthalten ein dichtes wabiges Plasma, in welchem kleine rundliche Körnchen eingebettet sind, die sich mit Eisenhämatoxylin und Eosin stark färben.

In etwas älteren Stadien umgibt jedes der erwähnten Körnchen je ein hellerer Hof, zunächst noch ohne scharfe Umgrenzung, der keinen Farbstoff aufnimmt. Später erhält derselbe scharfe Konturen und wird dadurch einer Vakuole ähnlich. Im reifenden Korn erhalten diese »Vakuolen« infolge ihres Wachstums und gegenseitigen Druckes eine unregelmässig polyedrische Form, so dass sie nur von einem dünnen Netzwerk des Plasmas umgeben sind.

Auf Grund dieser Befunde kommt der Verfasser zum Schlusse, dass die Aleuronschichte keine Hyphen enthält, weder in den Zellen noch dazwischen.

⁵ D. M. Mottier: On certain plastids with special reference to the protein bodies of *Zea* and *Ricinus* and *Conopholis*. Ann. of Bot. 1921. T. 35. p. 349.—364.