

Miroslav Toman a Miroslav Rozsival:

Příspěvky k poznání buněčné blány řas.

Studia instituti physiologiae plantarum. Universitas Carolina.

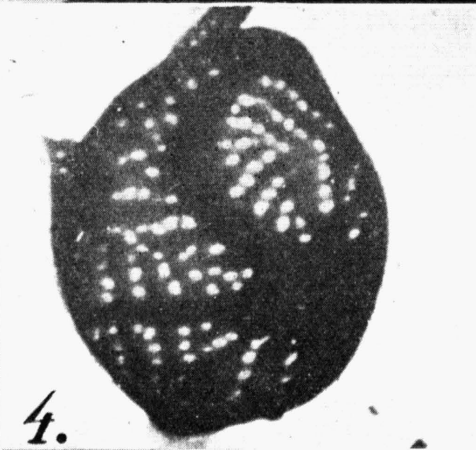
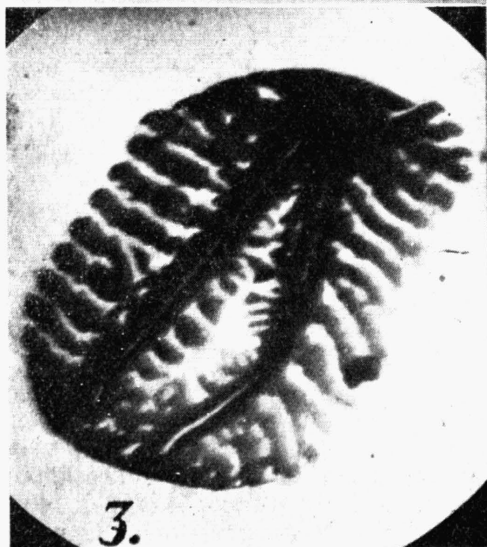
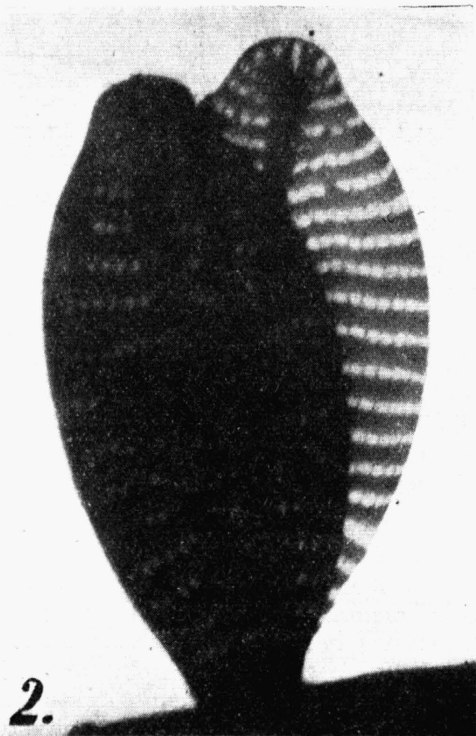
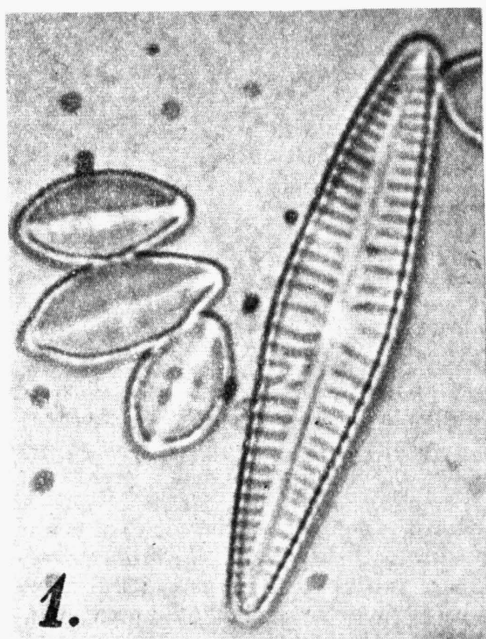
Autoři studovali v letech 1946—47 buněčné blány rozsivek i jiných řas pod elektronovým mikroskopem. Práce byla započata na dosti široké bási, takže bylo zatím možno publikovati jen některé úplnější úseky práce. V tomto sdělení oznamují autoři jednak svá pozorování změn struktury rozsivkových skořápek o „subminimální“ velikosti a některých nových podrobností stavby rozsivkové skořápky, jednak pozorování struktury buněčné blány řasy *Spirogysa maxima*.

I. Teratologické skořápky rozsivek.

Čisté kultury rozsivek poskytují možnost, zachytiti určitý druh v celém možném rozsahu velikostí. V materiálech, sbíraných v přírodě, se zřídka nacházejí individua o maximální možné velikosti, vzniklá z auxospor, i individua velmi malá. Řídký výskyt velkých individuí je nutným důsledkem zmenšování se rozsivek během vegetativního rozmnožování, jak je popisováno Mac Donald-Pfitzerovým pravidlem (srov. též 5). Pravděpodobnost nálezu velmi malých individuí je snižována těmito faktory: a) Jak známo, po dosažení určité velikosti (2) se rozsivky množí pohlavně, tvoří auxospor; rozsivky o velikosti menší než je spodní hranice tvorby auxospor jsou tedy již z tohoto důvodu vzácné. — b) Rozsivky, jejichž velikost je pod minimem, uváděným v diagnose, jsou méně životné, což u pohyblivých rozsivek (majících raphe) velmi úzce souvisí se sníženou pohyblivostí. Takové rozsivky špatně rostou i v kulturách, kde jejich rozmnožování není ovlivňováno konkurencí jiných organismů. — c) Konečně je někdy vůbec těžko provést určení rozsivek o velikosti menší, než je spodní hranice diagnosy.

Při prohlížení chemicky vyčištěných vzorků skořápek z čistých kultur jsme zjistili, že skořápky ztrácejí někdy druhové, rodové a dokonce i řádové znaky. Uvedeme zde několik příkladů:

Gomphonema parvulum v. *micropus* (KG.) Cleve. Kultury této rozsivky měl již Geitler (2), který již také pozoroval odchýlnou stavbu skořápek malých individuí tohoto druhu. Ovšem při použití elektronového mikroskopu je možno zachytiti daleko více podrobností. Za řady snímků skořápek této rozsivky uvádíme elektronovou mikrofotografii skořápek normálních (diagnose odpovídajících) o různé velikosti (obr. 2 a 6) a pro srovnání optickou mikrofotografii různě velikých individuí téhož druhu (obr. 1). Na snímku č. 2 zachycené dvě misky jsou různě „průsvitné“ pro elektrony; skořápka „průsvitnější“ je „mladší“ (ve smyslu Mac Donald-Pfitzerova pravidla) než méně „průsvitná“ skořápka druhá, s největší pravděpodobností příslušející téže buňce. Teratologické skořápky jsou zachyceny na obr. 3, 4, 7. Kdyby nebylo s naprostou určitostí známo, že se jedná o skořápky druhu *G. p.*, nebylo by možné vůbec je určit; neexistuje ani rod, do kterého by se daly zařadit. Skořápka na snímku č. 4 již připomíná spíše rozsivky z řádu Centrales, než z řádu *Pennales*. Pozoro-



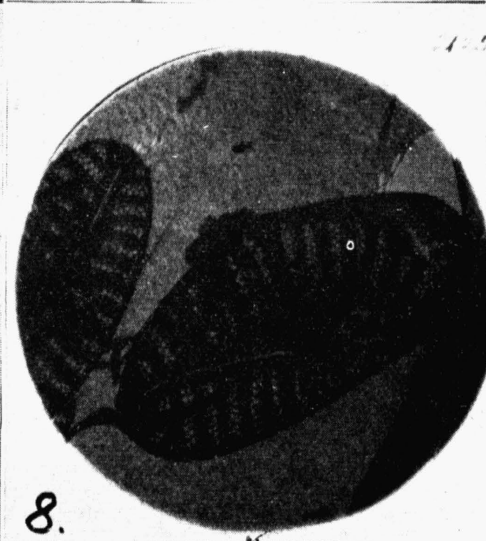
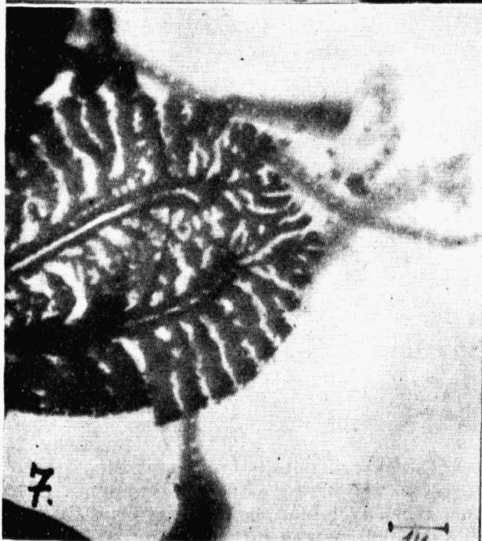
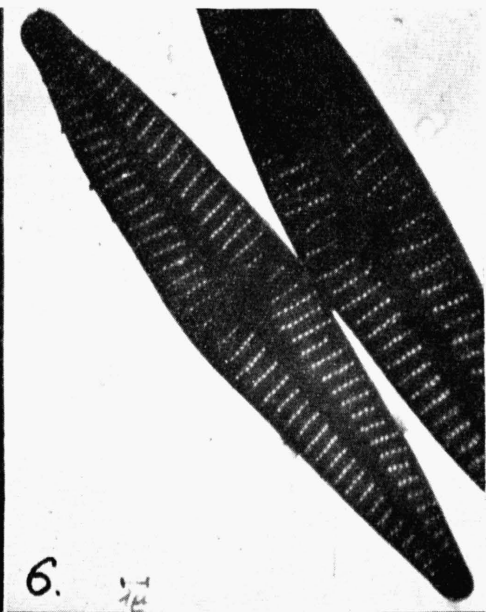
Obr. 1—4. Mikrofotografie [optická (1) a elektronové (2—4)] skořápek rozsivky *Gomphonema parvulum* v. *micropus*. Bližší v textu.

vané změny struktury skořápek vysvětlují nepatrnou až žádnou pohyblivost těchto rozsivek v kulturách. Pohyblivost rozsivek je dána přítomností raphe a stupněm jejího vyvinutí.

Navicula seminuloides H u s t. Skořápka, která ztratila axiální symetrii,

je zachycena na obr. č. 8. V kulturách tohoto druhu byla nalezena také individua s vyvinutou jen jednou polovinou raphe.

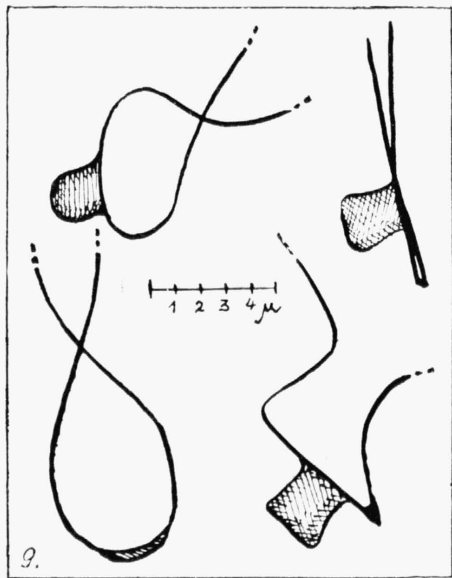
Podobně deformované skořápky byly nalezeny i u rozsivky *Nitzschia amphibia* Grunov.



Obr. 5—8. Elektronové mikrofotografie skořápek rozsivky *Gomphonema parvulum* v. *micropus* (obr. 5—7) a rozsivky *Navicula seminoluides* Hust. (Obr. 8). Bližší v textu.

II. Stavba bočné stěny rozsivkové skořápky.

V jednom z našich sdělení (7) jsme popisovali strukturu bočné stěny rozsivky *Melosira varians* AG. a zmínili jsme se, že i bočná stěna rozsivek z řádu *Pennales* má podobnou strukturu, totiž je složena z několika pásů podkovitého tvaru. Na snímku č. 5 je zachycena bočná stěna rozsivkových skořápek z téže kultury, ze které byl vzat materiál pro snímek na obr. č. 6. Bočná stěna je tedy složena z několika pásů. Podle řady jiných pozorování pomocí optického i elektronového mikroskopu mají tyto pásy tvar podkov, nikoliv uzavřených elips. Toto pozorování učinil již Palmer a Keeley (4), ovšem podle nich mezi konci podkovitých pásů by musila být buněčná blána neúplná. Existence takových otvorů v buněčné bláně rozsivek je velmi nepravděpodobná. Proto a dále analogicky podle našich zjištění o struktuře buněčné blány *Melosira varians* AG. (7) jsme předpokládali existenci ještě dalších součástí bočné stěny



Obr. 9. Části bočných pásů rozsivky *Pinnularia mesolepta*. Bližší v textu.

rozsivkové skořápky, totiž úzkých pásů uprostřed rozšířených tak, aby rozšířenou částí právě byla kryta prázdná prostory mezi konci podkovitých bočných pásů. Na snímku rozsivky *Navicula seminuloides* H u s t. publikovaném v jiném našem sdělení (5) je zachycen trojúhelníkovitý zlomek, který právě považujeme za součást předpokládaného pásu. Dodatečně byly takovéto pásy nalezeny i pomocí optického mikroskopu u velkých Pinnularií *P. dactylus*, *P. mesolepta*). Na obr. č. 9 jsou tyto pásy (*Pinnularia mesolepta*) zachyceny, jak se jeví v optickém mikroskopu. Poněvadž mimo střední, rozšířenou část jsou tyto pásy velmi tenké, bývají v preparátech většinou značně poškozeny a zdeformovány. Přesné zjištění vzájemné polohy jednotlivých součástí bočné stěny rozsivkové skořápky bude ještě vyžadovati dalšího studia.

III. Struktura buněčné blány *Spirogyra maxima*.

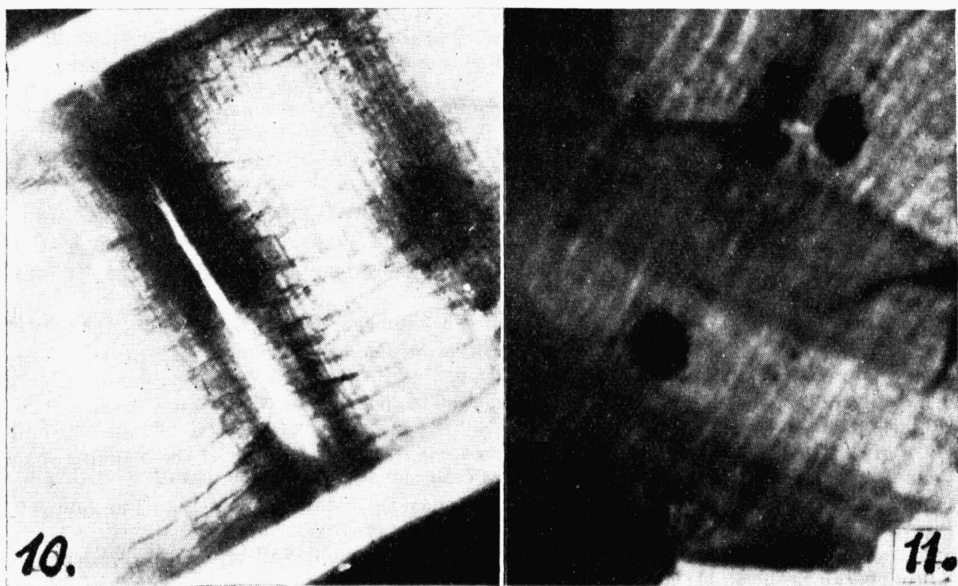
Podle údajů v literatuře (1) je buněčná blána druhů rodu *Spirogyra* hladká a bez struktury. Tak se ovšem jeví buněčné blány *Spirogyr* v optickém mikroskopu za použití běžné metodiky v obyčejném světle.

Pomocí optického mikroskopu je možno rozřešiti strukturní detaily buněčných blan, jejichž velikost nepřesahuje mez jeho rozlišovací schopnosti (asi 2000 Å při použití viditelného světla a šikmém osvětlení). Jemnější detaily, ultrastrukturu buněčných blan, není možno pomocí optického mikroskopu přímo zviditelniti. Použijeme-li však polarisovaného světla, můžeme aspoň rozhodnouti, zda strukturní elementy buněčné blány jsou uspořádány pravidelně či nepravidelně. Stejně výsledky, t. j. rozhodnutí o stupni pravidelnosti uspořádání strukturních elementů buněčné blány, je možno získat pomocí ohybu X-paprsků. Použití polarisovaného světla při studiu buněčných blan může mít proti použití X-paprsků určité výhody, které vyplnou z dalšího.

Jsou-li v buněčné bláně uspořádány celulosové micely do izolovaných pásů nebo jsou-li v buněčné bláně střídavě pásy o hustším a řidším uspořádáním micel, a jsou-li tyto pásy dosti široké, aby mohly být zobrazeny optickým mikroskopem, mohou být spolehlivě prokázány pomocí polarisačního mikroskopu mezi zkříženými nikoly, a to ovšem i v případech, kdy nejsou zmíněné pásy v optickém mikroskopu pro jemnost a malé rozdíly indexů lomu viditelné v obyčejném světle. Pro nalezení takových běžnou metodikou nedokazatelných struktur je důležitou podmínkou dostatečně intenzivní zdroj světla.

Polarisovaného světla bylo námi použito ke zjištění uspořádání celulosových micel v buněčné bláně *Spirogyra maxima*. *Spirogyra* pro tyto pokusy byla vypěstována ze zygospor prvním z nás v ústavě pro fyziologii rostlin Karlovy university z materiálu, sbíraného prof. Dr. S. P r á t e m. Pro optický mikroskop byly preparovány buněčné blány této řasy prostě rozrušením buněčného obsahu roztokem chlornanu sodného (obchodní roztok 1 : 1) a následujícím převedením do destilované vody.

V polarisačním mikroskopu mezi zkříženými nikoly (vlákno pod úhlem 45° k rovinám polarisace) poměrně velmi intenzivně zářily okraje vlákn a přehrádky mezi buňkami, kdežto v místech, kde procházelo světlo ve směru normály na buněčnou blánu, zářila buněčná blána sotva znatelně. Na mikrofotografii se podařilo za použití kontrastně pracujícího negativního materiálu (diapositivní deska AKO) při značně prodloužené expozici zachytiti zřetelné jednotlivé zářící pásy v buněčné bláně (obr. č. 10).



Obr. 10. Buněčná blána *Spirogyra maxima*. Optická mikrofotografie, polarisované světlo, zkřížené nikoly, 550×.

Obr. 11. Útržek buněčné blány *Spirogyra maxima*. Elektronová mikrofotografie, 10 000 × (zvětš. na negativu 5000×), mikrofoto Dr. M. Rozsival, 19. 12. 1947.

Podle visuálního pozorování a z mikrofotografií jsme usoudili, že v buněčné bláně jsou celulosové micely uspořádány ve dvou navzájem kolmých systémech pásů: jednak pásů málo zřetelných, probíhajících ve směru osy vláken, jednak úzkých a zřetelných pásů probíhajících kolmo na ně.

Existence této struktury byla potvrzena pomocí elektronového mikroskopu. Pro elektronový mikroskop byl materiál preparován podle rady Dr S. L h o t s k é h o tak, že chomáč vláken byl zalit běžným způsobem do parafinu a rozřezán na mikrotomu na řezy o tloušťce 0,025 mm. Po převedení řezů z parafinu přes xylen a alkohol do vody byl odstraněn buněčný obsah roztokem chlornanu sodného a po vyprání destilovanou vodou (za použití centrifugy) byla získána suspence útržků buněčných blan. Této suspence bylo přímo použito k přípravě preparátů pro elektronový mikroskop. Podle velmi různé tloušťky útržků buněčných blan (jak byla pozorována v optickém i elektronovém mikroskopu) je velmi pravděpodobné, že při tomto poněkud drastickém způsobu preparace se buněčná blána štěpí až na jednotlivé vrstvy, složené aspoň ze dvou soustav kolmo se křížících pásů micel. Taková jedna vrstva je zachycena na obr. (2). Dva šikmo přes snímek probíhající pásy odpovídají pásům, probíhajícím kolmo na osu buněk na optickém snímku.

Ačkoliv autoři nemohli soustavně pracovat na studiu dalších objektů, přesto publikují toto sdělení jako příklad, jak se mohou výsledky moderních metod s výsledky metod starších navzájem doplňovat.

[Sledování struktury buněčné blány *Spirogyra maxima* bylo prováděno současně s prvními pracemi O. L h o t s k é h o a M. R o z s í v a l a o struktuře buněčných blan řasy *Closterium moniliferum* (3), jež měly zcela obdobné výsledky].

Elektronové snímky byly provedeny v prosinci 1947 na elektronovém mikroskopu Č e s k o s l o v e n s k ý c h c h e m i c k ý c h z á v o d ů, národní podnik, Praha. Autoři děkují jak ČCHZ, n. p., za umožnění práce na elektronovém mikroskopu, tak p. prof. Dr S. P r á t o v i, přednostovi ústavu pro fyziologii rostlin Karlovy university, za přenechání pokusného materiálu a zájem o prováděnou práci.

Literatura.

1. C z u r d a V.: Conjugatae. Linsbauers Handbuch der Pflanzenanatomie, II. Abt., Bd. VI., 1937.
2. G e i t l e r L.: Der Formwechsel der pennaten Diatomeen, Arch. f. Protistenk., 78; 1, 1932.
3. L h o t s k ý O.: The Cell-Wall Structure in *Closterium moniliferum* (Bory) Ehrb. 6. Věstník Král. české spol. nauk, roč. 1951, No XII., p. 1—26, 8 fig.
4. P a l m e r T. Ch. a K e e l e y F. J.: The Structure of the Diatom Girdle. Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia. 1900.
5. T o m a n, M.: The Variability of the Diatomaceae. (To the Question of the Validity of the Mac Donald — Pfitzer Rule.) Studia botanica čechoslovaca, 11: 75—83, 1950.
6. T o m a n M.: Navicula seminuloides H u s t. u nás. Čs. botan. listy; 2; 128—130, tab. XV., 1950.
7. T o m a n M. a R o z s í v a l M.: The Structure of the Cell Wall of *Melosira varians* AG. Stud. botan. čechosl., 11; 65—69, 1950.

М. Тома и М. Розсивал:

Материалы для ознакомления с клетчатой оболочкой водорослей.

Авторы определили частично при помощи новейших методов (электронные микрофотографии) новые подробности структуры клетчатой оболочки диатомных водорослей и водоросли *Spirogyra maxima*.

В видово чистых культурах *Gomphonema parvulum* v. *micropus* (Kg.) Cl. находятся единицы «субминимальной» величины, отклоняющиеся от диагноза, не только малыми размерами, но и тератологической структурой клетчатой оболочки. (См. рис. 3, 4, 7 — тератологии у *Gomphonema parvulum* v. *micropus*.) Потерей симметрии и отклоняющимся образованием рафеальной системы или ее полным отсутствием теряют эти единицы знаки видовые вплоть до порядковых. Подобные тератологические явления были найдены и у других диатомных водорослей (напр. *Navicula seminuloides* Hustedt, *Nitzschia amphibia* Gr.) (см. рис. 8).

Боковые полосы диатомных водорослей из порядка *Pennales* имеют подобную структуру, как и боковые полосы диатомных водорослей из порядка *Centrales*. Речь идет о подковообразных, соприкасающихся открытых полосах, расширенных приблизительно в середине так, что эта расширенная часть закрывает промежуток между концами соседней полосы. (См. рис. 5 — боковые полосы *Gomphonema parvulum* v. *micropus*, рис. 9 — части боковых полос *Pinnularia mesolepta*.) Подобную структуру боковой стены показали авторы в прежнем своем сообщении относительно *Melosira varians* Ag. Точное описание структуры бокового пояса диатомных водорослей из порядка *Pennales* требует еще дальнейшего изучения.

При помощи микрофотографии в поляризованном свете (рис. 10) и электронной микрофотографии (рис. 11) было доказано, что в клетчатой оболочке *Spirogyra maxima*, которая описана как гладкая и без структуры, проходят две взаимно перпендикулярные системы полос целлюлозных миселлий. Клетчатая оболочка конъюгат в своей структуре таким образом в принципе не отличается от структуры фанерогам.

M. Toman u. M. Rozsival:

Ein Beitrag zur Kenntnis von Algenzellwänden.

(Zusammenfassung.)

Die Autoren fanden unter Benützung von Elektronenmikroskop neue Einzelheiten der Struktur von Zellwänden von Diatomeen, sowie von der Konjugate *Spirogyra maxima*.

In Monospezieskulturen von *Gomphonema parvulum* v. *micropus* (Kg.) Cl. kommen Individuen von „subminimaler“ Größe vor, die nicht nur durch kleine Dimensionen, sondern auch durch ihre teratologische Zellwandstruktur von der Diagnose der Art abweichen (Fig. 1 links, fig. 3, 4, 7). Durch Verlust von Symmetrie, abweichende Ausbildung oder gar Fehlen von Raphealsystem verlieren die Schalen die Art-, Gattung-, oder im Extremfalle sogar die Ordnungsmerkmale. Ähnliche Teratologien wurden auch bei anderen Diatomeen

gefunden (*Navicula seminuloides* H u s t., (Fig. 8). *Nitzschia amphibia* G r u -
n o w.).

Die Gürtelbänder der pennaten Diatomeen haben eine ähnliche Struktur, wie die Gürtelbänder der Centrales. Es handelt sich um ineinandergreifende hufeisenförmige offene Bänder, die ungefähr in der Mitte (Fig. (5): Gürtelband von *Gomphonema parvulum* v. *micropus*, fig. 9. Gürtelbandteile von *Pinnularia mesolepta*.) in der Weise verbreitet sind, daß die Verbreitung die Lücke zwischen den Enden des angrenzenden Bandes schließt, ähnlich wie es von den Autoren dieser Mitteilung in einer früheren Mitteilung für die *Melosira varians* A g a r d h beschrieben wurde. Eine genaue Beschreibung der Strukturverhältnisse bei den Pennales bedarf doch noch weiterer Untersuchungen.

Durch Mikrofotographie in polarisiertem Licht und durch elektronenmikroskopische Aufnahmen wurden bei der als glatt und strukturlos bezeichneten Zellwand einer *Spirogyra* feine Einzelheiten gefunden. In der Zellwand verlaufen zwei sich rechtwinklig kreuzende Systeme von Mizellenbändern (Fig. 10 : lichtoptische, fig. 11 elektronenoptische Mikroaufnahme von *Spirogyra*-Zellwandstruktur); die Zellwand der Konjugaten ist in der feinen Struktur von derjenigen der Phanerogamen nicht grundsätzlich verschieden.