

Zdeňka P a z o u r k o v á :

K otázce amitosity u *Allium cepa*.

Jedním z nejdůležitějších životních pochodů buňky je její dělení. Do nedávna byl přijímán všeobecně názor, že dělení buněčné je většinou závislé na dělení jaderném. Jadernému dělení byla od konce minulého století věnována velká pozornost, protože se ukázalo, že je značně složité a struktury jevíci se při tomto pochodu, byly později uváděny v souvislost s otázkami genetickými. Bylo to zvláště dělení nepřímé, mitosa, které badatele upoutávalo. Dělení přímého, amitose, byl připisován podřadný význam a u vyšších rostlin bylo pokládáno za patologický zjev; normálním zjevem bylo jen ve výjimečných případech.

V poslední době se však vyskytla řada prací, které popírají význam mitosy a které se dokonce snaží dokázat, že mitosa není tak bezvýhradně rozšířeným zjevem, jak se dříve předpokládalo. Je uváděno mnoho případů, kde se amitosa vyskytuje. Nedostatkem těchto prací je, že většinou není popsána metodika, takže pokusy nelze dobře reprodukovat. Výskyt amitosity při regeneračních procesech popřel již v r. 1899 B. N ě m e c, ale někteří autoři v poslední době se opět snažili existenci amitos v těchto případech dokázat. (Ellengorn J. J., Gluščenko I. J., Afanasjeva A. S. 1951 a Hlucho v s k ý). J. B a r t o š (1955) však znovu dokázal, že v těchto případech skutečně o amitosu nejde.

Z řady prací, zabývajících se existencí amitos, mne zvláště zajímala práce Ch. M. K a r o l i n s k é (1951). Autorka tam tvrdí, že amitosity lze nalézt na řadě objektů, mimo jiné i v kořínkách klíčních semen cibule. Metodika práce byla jednoduchá: „Nakličovali jsme semena cibule na filtračním papíře a fixovali v tom okamžiku, kdy délka vyklíčených kořínků dosáhla 2,4 a 8 mm.“ Z předchozího vysvítá, že kořínky byly fixovány Navašinovou směsí, řezy byly zhotoveny v tloušťce 5 až 7 μ , barveny byly železitým haematoxylinem, některé Feulgenem.

Autorka dále tvrdí, že „pro cytologické práce se obvykle používá meristem kořínků i jiných orgánů dospělejších rostlin“. Toto tvrzení není dosti správné, protože meristem naklíčených semen lze výhodně užít k testování různých vlivů a nedá se ani říci, že by užití kořenových meristemů ze starších orgánů bylo v praxi tak rozšířeno. Myslím, že je tomu právě naopak. Na našem pracovišti se po řadu let v mikroskopických praktikách pracovalo s kořenovými meristemy naklíčených semen a preparáty byly sledovány s cytologického hlediska, ale nikdy jsme popisované amitosity nezjistili. Od doby, kdy práce Karolinské byla publikována, jsem zkoumala na většině preparátů, které byly v našem ústavu zhotoveny, jádra, ale vždy se záporným výsledkem.

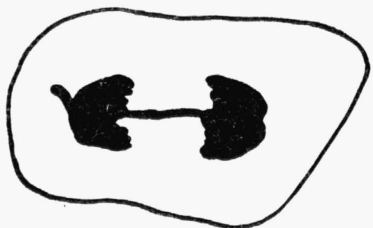
Velice často se u nás používalo pro různé účely právě semen cibule kuchyňské (*Allium cepa*) a protože zmíněná práce uvádí tento materiál, věnovala jsem jádrům naklíčených kořínků největší pozornost. K práci jsem převážně užívala semen odrůdy Všetatské.

Naklíčení materiálu bylo prováděno na Petriho miskách o průměru 12 cm, na filtračním papíře, zvlhčeném 5 cm vody. V každé misce bylo 100 semen. Po vysetí byl materiál nakličován jednak ve tmě v termostatu při konstantní teplotě +23 °C, jednak na světle v laboratoři, kde během dne teplota kolísala. Kořínky byly odřezávány ve všech velikostech; ihned po objevení klíčku až do délky 1 cm. Materiál byl fixován Navašinovou směsí, sublimát-octovou,

Němcovou směsí II. (kys. chromová, dvojjodan draselný a formaldehyd) a Němcovou pikrooctosírovou fixází. Fixované kořínky byly zality do parafinu, řezány mikrotomem na řezy 6 až 8 μ tlusté a barveny byly Heidenhainovým železitým haematoxylinem, Cajal-Brožkem, krystalvioleti a Feulgenem.

Velké množství materiálu bylo zpracováno rychlými metodami: aceto-karmínovou, acetoorceinovou, acetolakmoidovou a acetonnigrosinovou.

Zvláště detailně jsem sledovala jádra na kořínkách zpracovaných modifikovanou acetonnigrosinovou metodou. Při opracování této metody a při dalších pokusech, při nichž bylo této metody používáno, jsem zvláště prohlížela preparáty, které měly být po skončení pokusu likvidovány. Protože jsem chtěla vyjádřit procento amitos, zaznamenávala jsem počet prohlédnutých buněk. Bylo jich zhruba 62 000. V tomto počtu buněk, kde byly poměrně zastoupeny všechny fáze mitotického dělení, jsem našla pouze tři figury abnormální, které byly t. zv. pseudoamitosami. Vznikly tím, že při rozestupování chromosomů k pólům zůstaly obě skupiny chromosomů spojeny chromatinovým můstkem. Jsou to aberantní mitosy, při nichž se dceřiné chromosomy neposunuly k pólům normálním způsobem. Skutečnou amitosu jsem nenalezla v žádném případě.



Schema nalezené „pseudoamitosy v meristemu kořínku *Allium cepa*.

S Karolinskou mohu souhlasit v tom, že na počátku klíčení roste embryo prodlužovacím růstem, protože v kratičkých kořínkách (až asi do 2 mm) nebylo možno pozorovat žádných mitos, ani amitos. Naprosto však s ní nemohu souhlasit v tom, že by se tvořil „vrcholový meristem nově vznikajících orgánů pochodem amitotického dělení, které je v pozdějších stádiích nahrazeno mitosou“. Ani na řezech, ani na preparátech, zhotovených rychlými metodami jsem se nesetkala se zjevem, které popisuje Karolinska. Rozhodně nelze říci, že „rozeznat amitoticky rozdělené buňky je lehké“ v tom smyslu, že dělicí se jádra přiléhají jedno ke druhému a jsou velice blízko u sebe. V tomto případě mohou nastat omyly; nejjednodušší je ten případ, kdy pozorovaná jádra mohou pocházet z buněk ležících nad sebou, takže se zdá, jako by byla položena blízko sebe. Pro potvrzení amitosy je však třeba nalézt vhodný přechod mezi jádrem mateřským a dceřiným, ať ve formě diatmesy, diaspasy nebo vůbec jádra dělicí se fragmentací. Je nutno si také všimnout toho, že buňky, z nichž mají vzniknout svazky cévní, mají jádra odlišného tvaru než buňky ostatní. Ale i v nich vidíme často zřetelnou mitosu, t. j. nejen telofázi, o níž by se dalo tvrdit, že to jsou dvě jádra vzniklá amitosou, ale i profázi, metafázi a anafázi. Není vyloučeno, že různé omyly v pozorování jsou zaviněny zjevem při degeneraci jader v buňkách, z nichž se mají diferencovat sítkovice, případně cévy, jak opět popisuje již B. Němec (1910).

Závěrem lze říci, že snahy o nalezení amitos jsou vedeny snahou po podpoření názorů T. D. Lysenka a O. B. Lepešinské a jsou namířeny proti t. zv. teorii pohlavní cesty. Mají dokázat velké rozšíření amitosy zvláště v počátcích růstu. Tím by bylo dokázáno nepravidelné rozdělení jaderného obsahu a vyvrácen předpoklad kontinuity chromosomů. Nelze říci, že autoři, kteří amitosu nevidí jsou zaujati; spíše se dá říci, že jsou zaujati ti autoři, kteří amitosu vidí tam, kde není.

Souhrn

Ve své práci jsem sledovala výskyt amitosis v meristemu kořínků naklíčených semen cibule kuchyňské (*Allium cepa*). Kořínky byly odřezávány ve všech velikostech; ihned po objevení klíčku až do délky 1 cm. Materiál byl zpracováván jednak klasickými metodami (t. j. po fixování byly kořínky zalévány do parafinu, řezány mikrotomem 6 až 8 μ silně a barveny Heidenhainovým železitým haematoxylinem, Cajal-Brožkem, krystalvioletí a Feulgenem), jednak rychlými metodami roztlačovými za tepla i za studena. Celkem bylo podrobně prozkoumáno 62 000 buněk. V tomto počtu buněk, kde byly poměrně zastoupeny všechny fáze mitotického dělení, jsem našla pouze 3 figury abnormální, které byly t. zv. „pseudoamitosami“. Skutečnou amitosis jsem nenalezla v žádném případě.

Adresa autora: Dr. Z. P a z o u r k o v á, Praha II, Viničná 5.

Literatura

- Bartoš J. (1955): Dělení buněk a jader při tvorbě hojivého peridermu na hlízách bramboru (*Solanum tuberosum*). Čs. biol. 4: 478—479.
- Ellengorn J. J., Gluščenko I. J., Afanasjeva A. S. (1951): Nekotoryje voprosy genezisa rastitelnoj kletki. Izv. AN SSSR, ser. biol. 5: 12.
- Hlučovský B., Bartoš F. (1955): Amitosisy v explantátech stonkové hlízy brukve. Čs. biol. 4: 98—102.
- Karolinskaja Ch. M. (1951): Značenie amitoza v processe razmnoženija kletok. Agrobiologija 3: 98—103.
- Karolinskaja Ch. M. (1952): Amitotičeskoje delenie i jevo mesto v razmnoženiji kletok. Usp. sovr. biologii, 33 No 2.
- Němec B. (1899): Über Kern- und Zellteilung bei *Solanum tuberosum*. Flora 86: 214.
- Němec B. (1910): O degeneraci buněčných jader. Rozpravy Čes. akad. cis. Fr. Jos. II. Tř. XIX. č. 40.

З. П а з о у р к о в а :

К вопросу о распространении амитозов у *Allium cepa*.

В своей работе я занималась вопросом распространения амитозов в меристеме корешков проросших семян лука (*Allium cepa*). Отрезывались корешки всех возрастов: сразу же после появления проростков и до длины 1 см включая. Материал мы обрабатывали как классическими методами (т. е. после фиксации мы включали корешки в парафин, делали срезы при помощи микротомов от 6 до 8 μ толщиной и окрашивали гематоксилином Гейденгайна, Кайал-Брожек, кристаллвиолетом и Фейлгенем), так и быстрыми методами раздавливания в условиях повышенной и пониженной температуры. Итого подобно исследовано 62.000 клеток. Среди этого числа клеток, где встречались в определенных отношениях все фазы митотического деления, я обнаружила только три аномальные фигуры, являющиеся т. н. псевдоамитозами. Истинный амитоз не наблюдался ни в одном случае.

Z. P a z o u r k o v á :

A contribution to the question of amitosis in *Allium cepa*.

As the existence of the amitosis in meristems of onion was reported by some authors (e. g. Karolinskaja 1952), cells of root meristematic tissue of seedlings of onion (*Allium cepa*) had been investigated with an attention to the possibility of its occurrence. The roots were cut just from the beginning of the growth till to the length of 1 cm. The objects were treated by the methods of the classical microtechnic (i. e. embedding in paraffin-wax and staining of microtome cuts by means of Heidenhain's iron-alum haematoxylin, basic fuchsin and picro-indigo-carmin according to Cajal—Brožek, crystal violet and Feulgen's nuclear stain), as well as by the rapid acetic squash methods (aceto-carmin, acetic orcein, acetic nigrosine). In all 62 000 cells have been observed. All phases of the normal mitotic division were represented proportionally in this number. Only three figures with chromosome bridges have been found which eventually may be considered as "pseudo-amitosis". The typical amitosis has not been found at all.