

Petr Milovidov:

## O umělém rozptylování chromatinu v rostlinné buňce

### Studie s nukleální reakcí

Výzkumný ústav léčivých rostlin, Praha

Svému učiteli akademikovi profesorovi dr. Bohumilu Němceovi k jeho 85. narozeninám v oddanosti a láске věnuje autor.

### Úvod

Otázka přítomnosti chromatinu, resp. desoxyribonukleinové\*) kyseliny v cytoplasmě má zásadní důležitost. Zde jde o přítomnost chromatinových částic v cytoplasmě buď normálních anebo pathologicky změněných buněk. Tyto pathologické změny mohou být zase buď rázu přirozeného nebo uměle vyvolány.

V normálních buňkách jevnosubných rostlin je chromatin koncentrován zpravidla v jednom jádře. V buňkách některých tajnosubných, na př. ve vláknech hub, je více jader; v tomto případě je chromatin v buňce rozložen na menší díly více méně rovnoměrně. V buňkách bakterií a Cyanophyceí jsou částice chromatinu přítomny jako zrníčka a vlákénka v cytoplasmě, jádro však netvoří. Jsou známy dále případy, kdy se chromatin během vývoje organismu pravidelně částečně vylučuje z jádra (eliminační a diminuční chromatin u živočichů); tak na př. u nálevníků chromatin se eliminuje z makronuklea. Breindl a Jírovec (1934) popsali tento pochod u *Ichthyophthirius multifiliis* (nukleální reakce). Při „eliminaci chromatinu“ u Lepidopter jde však o výstup ribonukleinové kyseliny a proteinu z chromosomů (Ris a Kleinfeld 1952). U rostlin a živočichů mohou se také jednotlivé chromosomy během dělení jádra pravidelně dostávat do cytoplasmy, kde tvoří tak zv. „chromatinová jádrčka“ (Navašín 1911, Milovidov 1933a u *Zebrina pendula*: nukleální reakce).

Vlivem různých chemických a fyzikálních činitelů mohou se částice chromatinu různé velikosti dostat do cytoplasmy během jaderného dělení. Z jádra v klidu chromatinové částice mohou přecházet do cytoplasmy pouze pathologickou cestou (Milovidov 1949, 1954, kapitoly VIe, XII B, 6, 7, 9). Němce (1910) popsal výstup chromatinových zrníček z jádra do cytoplasmy v hálkách u *Pritscharidia*, což nebylo zatím opakováno s nukleální reakcí. Pravděpodobně i zde jde o zjev pathologický. Tentýž autor podrobně popsal rozpouštějící vliv KOH a NaOH na jádro rostlinných buněk. Extrakce chromatinu se může dít také vlivem různých chemikálií, takže tento pak lze dokázat v cytoplasmě nukleálním barvením (Milovidov 1932). Při nekrobiose — postupném odumírání buněk — jádra mohou být vlivem různých činitelů silně deformována a změněna, při čemž vznikají bizarní útvary (Milovidov 1933b). Výstup chromatinu z jádra se děje také během pochodu karyorexe — rozpadu jádra v buňkách hlavně vlivem různých zevních činitelů, na př. ozařování a pod. Různými zásahy, na př. ozařo-

\*) Autor zásadně používá starého vžitého názvu „nukleínová“ kyselina (nikoliv „nukleová“), který pokládá za správný, poněvadž pochází od slova „nuklein“, nikoliv od „nucleus“, jak bychom se mohli logicky domnívat při novém názvu (nucleus . . . nukle + ová, t. j. jaderná kyselina).

váním nebo chemikáliemi, může se doolít však i pravého rozprašování, resp. rozptýlení chromatinové hmoty v buňce; zde vznikají chromatinová tělíska různé velikosti až na hranici viditelnosti.

W. Lewis (1922) popsal ve starých kulturách buněk endothelia kuřecího embrya in vitro vypuzení jadérka do cytoplasmy a fragmentaci jader a pokládá jej za patologický zjev. L u d f o r d (1925a) popisuje v epithelových buňkách epididymis myši pučení jader, tvoření „druhotných jader“ a vypuzení basofilní substance jadérka (chromatinu?) do cytoplasmy (obr. 11—13, 24, 25). Také v kulturách fibroplastů (1925b) in vitro z ledvin a kůže krysy našel výstup části jadérka a části jaderné substance pučením (obr. 2A—E a obr. 1A—C). Pokládá tento pochod za abnormální. R o s k i n (1925) našel v cytoplasmě některých buněk adenokarcinomu myši (nátěry a řezy) nukleální tělíska, z nichž některé jsou zbytky hyperchromatických jader, jiné tyčinkovité inkluse neznámého původu. Mohly by to být jednak bakterie, jednak částičky chromatinu vyhozené z jádra při preparaci. Pučení jader a výstup chromatinu z jader tumorů popisují Horning a Richardson (1930), Horning a Miller (1930) a jiní. L u d f o r d (1925c) zmiňuje se pouze o výstupu jadérové substance v různých buňkách dehtových tumorů myši. Podle L a C o u r a (1944) mohou někdy nukleální tělíska vystupovat z jádra do cytoplasmy některých druhů leukocytů. D i s c o m b e (1946) našel výstup chromatinu v některých leukocytech myši a člověka, a to jak zdravých tak i nemocných, a domnívá se, že tento výstup se děje v buňkách, které jsou na vyšší své fyziologické síly, ale nejsou schopny dalšího dělení.

Většina těchto prací se vztahuje na degenerační zjevy a nepoužívala nukleální reakce. Y a m a h a (1927a, b) referuje o rozpouštějícím účinku různých alkalických látek jako KOH,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  atd. Tyto látky rozpouštějí většinou chromosomy a spiremy beze stopy, karyotin klidného jádra zanechává vločkovité nebo sraženinovitě (gerinnselige) zbytky. Při nekrobiose buněk chromatin klidného jádra a chromosomů často difunduje jadernou blanou neb obalem chromosomů (H ü l l e) do cytoplasmy, kde obyčejně zanechává zbytek sraženiny. 3,25% KOH působí bubření a rozpouštění karyotinu až do kapkovitých zbytků (na jeho obr. 113 však kapky nejsou!). Také destilovaná voda způsobuje asi při 44 °C exosmosu karyotinu. Mnohé mikrofotografie Y a m a h y jsou velmi nejasné a neprůkazné pro špatnou reprodukci. Popsané změny nebyly kontrolovány nukleální reakcí.

D u s t i n o v a karyoklastická reakce byla pozorována nejenom na mitotických figurách, nýbrž vyvolává také integraci klidných jader. Tak D u s t i n j r. (1947) se zmiňuje o pyknotosách a rychlé fragmentaci jich ve velké množství drobných částiček, nukleálních a anukleálních, v cytoplasmě živočišných buněk pod vlivem hydrochinonu, kolchicinu a jiných látek během degenerace buněčného jádra; naproti tomu u rostlin i 10% koncentrace kolchicinu nevyvolává podobný efekt (L e v a n 1951).

D e L i t a r d i è r e (1947) našel v četných meristematičných buňkách kořinek několika asijských druhů *Elymus*, na př. *E. angustus*, po H e l l y h o i fixaci a nukleálním barvení během interfáze 1—2 drobná nukleální tělíska různé velikosti (0,5—2,5  $\mu$ ) nejčastěji uprostřed cytoplasmy v určité vzdálenosti od jádra a častěji bez spojení s ním. Jsou to kuličky, ovidy; nejmenší jsou silně chromatické, nehomogenní, se sotva viditelnou strukturou, větší tělíska mají stejnou vláknitou strukturu a jadérko jako jádra normální. L i t a r d i è r e jmenuje je „mikrojádra“ a domnívá se, že vznikají pučením z mateřského jádra. Poněvadž v mateřských jádrech nebyla pozorována fragmentace jadérek ani dvě jadérka, domnívá se, že se jadérko v mikrojádrech velmi pravděpodobně tvoří de novo sekrecí chromosomových nití. V suprameristematičných buňkách popsaná tělíska jsou vzácnější, jakož i u dvou dalších druhů *Elymus*. Ve prospěch své domněnky o vzniku těchto mikrojader pučením mateřského jádra L i t a r d i è r e uvádí apofysy a mikrojádra spojená s mateřským jádrem. Předpokládá, že je to patologický zjev, přestože kořinky měly naprosto normální vzezření, nebyly napadené parasy a v buňkách bylo nalezeno mnoho mitotických figur všech fází. Tento zjev byl pozorován na všech objektech této serie, nikoliv však v jiných seriích. Kořinky jiných rostlin, vyklíčených za stejných podmínek, byly normální, autor se proto domnívá, že některé druhy *Elymus* jsou citlivé k nějakému dosud neznámému toxickému faktoru. Tato tělíska popsaná L i t a r d i è r e m mohla by odpovídat karyomerům, ačkoli není vyloučena možnost, že byla vyvolána špatnou fixací během nekrobiosy nebo eventuálním předešlým mořením semen před zásilkou. Nukleální tělíska v cytoplasmě mateřských pylových buněk a tapetových buněk několika rostlinných druhů (*Trillium*, *Lilium*, *Allium* a j.), popsaná S p a r r o w a H a m m o n d (1947) jsou bezpochyby artefakty, vyvolány pravděpodobně fixací a mechanickým tlakem během preparace prašníků, a známými i z prací M i e h e, L e v i t s k é h o, N ě m c e, M i l o v i d o v a a j. (srv. M i l o v i d o v 1949). Tato tělíska vznikají pouze v meiotické profázi, která se vyznačuje velkou citlivostí vůči různým vlivům, zvláště mechanickým, jsou někdy spojena s jádrem téže nebo i sousední buňky („cytomixis“) jemným vláknem, některá z nich leží na hranici buňky nebo dokonce i mimo ni (obr. 6, 7, 8, 10) atd. Jsou to kapky chromatinu vystouplé z profázního jádra vlivem tlaku na buňky prašníků (hlavně roztřevé a roztlakové preparáty). Chromatinové částičky různého tvaru

a velikosti byly popsány v cytoplasmě buněk kořínků *Vicia faba* vedle částečně extrahovaných jader po působení lewisitu (Milovidov 1948, obr. 11 a 12).

Salordová (1948) pozorovala v jádrech *Trillium sessile* po 6 hod. působení nízké teploty ( $-9^{\circ}\text{C}$ ) intenzivní agregaci mitotických figur a více méně intenzivní pulverisaci chromatinu; klidná jádra zůstávala normální. Dóxeý a Rhódes (1949) a Nygren (1949) pozorovali výstup chromatinových částíček do cytoplasmy rostlinných buněk vlivem herbicidů. Dóxeý a Rhódes použili Na-soli 4-chloro-2-methylfenoxyoctové kyseliny různé koncentrace během  $\frac{1}{2}$ —48 hod. a kontrolovali výsledky nukleální barvením. Po působení roztoků mírné koncentrace našli podélné smrštění, bubření, slepování chromosomů, můstky v anafázi a následkem toho vznik mikrojadér. Při vyšší koncentraci našli pučení jader a uvolnění nukleálních pupenů do cytoplasmy, při čemž se jádra barví slabě. Dále našli separaci chromatid v metafázi jakož i pyknosy. Konečně celá cytoplasmata se stává slabě nukleální a obsahuje velmi mnoho drobných chromatinových zrníček. Mitotické figury mizí, ale v některých buňkách se zachovávají i normální mitosy. Autoři připomínají některé podobné pochody po působení hořčičného plynu, X-paprsků i v neoplasmách a diskutují možnost působení společného faktoru ve všech těchto případech.

Nygren popisuje po působení 2,4-D a jiných herbicidů vznik dlouhých jaderných apofysů, někdy rozvětvených (obr. 10), které se později oddělují od mateřského jádra a leží volně v cytoplasmě. Leván (1949, 1951) a Leván a Tjio (1951) pozorovali výstup chromatinu do cytoplasmy z jádra rostlinných buněk při působení solí lehkých kovů ( $\text{LiNO}_3$ , KCN) a penicilinu G. Poslední dva autoři našli, že penicilin v koncentraci 10—20 MIU/100 ml (pH kolem 7) vyvolává letální zjev v rostlinných buňkách (*Allium*). Klidná jádra mají charakteristické výrůstky do cytoplasmy podobné hřibům, tyto protuberance často „explodují“ a tvoří chromatinové kapky; v extrémních případech celé jádro se může rozpadnout v četné fragmenty různé velikosti. Totéž bylo pozorováno po letálním působení narkotik (chloroform: Steinegger a Leván 1947, str. 518, obr. 1a—c), a pyrogalolu (myší epithel: Ahlström a Leván, neuv., nikoliv však u *Allium*). Popsané změny jsou letální a nezvratné. Obvyčejně se kořínky po takových změnách nezotaví; avšak někdy zotavení bylo pozorováno v kořících s fragmenty klidného jádra, na př. pokus 3a (konec. 10 MIU/100 ml, 2 hod. působení). Po fixaci po 4 hod. odpočinku na preparátech byly nalezeny zřejmě vitální struktury a po jednom dni mnoho normálních mitos.

Keek a Hoffmann-Ostenhof (1954) potvrdili, že různé chemické látky, na př. penicilin G, 2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina a vodní extrakty z hlíz *Allium sativum* způsobují výstup chromatinu z jader rostlinných buněk (kořenový meristem *Allium cepa*, *A. sativum*, trichomy tyčinkových nití *Tradescantie*, pokožkové buňky cibule a pod.) ve tvaru kapek a vláken, jež dávají reakce desoxyribonukleové kyseliny (NR) a reakci Sakaguchihio na arginin bohaté bílkoviny. V klidných jádrech našli strukturální změny, vakuolisaci, někdy vychlípení, při větším poškození odměšování chromatinu a pravděpodobně štěpení thymonukleohistonu v obě složky. Soudí na depolymerisaci desoxyribonukleové kyseliny, protože struktury se pak nebarví methylovou zelení podle Kurnicka. Ve volných protuberancích dokázali desoxyribonukleovou kyselinou a argininem bohaté bílkoviny (histon).

Peters (1954) našel v buňkách kořínků *Vicia faba* až 28 hod. po ozářování radiem „Nebenkerne“, které pravděpodobně z části byly rozptýleným chromatinem. Nedávno (Milovidov 1954) jsem popsal pochod jemného rozptýlení chromatinové hmoty v cytoplasmě buněk mladých kořínků bobu 5 hod. vlivem 1% fosfátových pufrů ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ); pH kolem 7, při  $37^{\circ}\text{C}$ , z pokusů provedených před mnoha léty (1938). Podobný efekt jsem našel při působení roztoku piperazinu, kterému věnuji toto sdělení.

V literatuře nalézáme také několik málo zmínek o přítomnosti chromatinu v cytoplasmě normálních buněk. Tak na př. Macdonald (1947, 1949) popisuje v cytoplasmě špiček vláken a poblíž přezky u *Marasmius androsaceus* skupiny pohyblivých zrníček, která dávají pozitivní nukleální barvení; jádra v klidu jsou anukleální (živý a fixovaný materiál). Není vyloučeno, že na živém materiálu by to mohly být vakuolární inkluze v Brownickém pohybu. Ritchie (1948) nalézá na basi basidií *Amanita caesarea* nukleálně pozitivní tělíska. Není vyloučeno, že to jsou degenerovaná jádra nebo i elementy vakuomu, diktyosomy a pod.; 7hod. působení fuchsinsirčité kyseliny po 10min. hydrolyse nevylučuje barvení zásobních látek. Tyto údaje musíme hodnotit velmi opatrně. V těchto případech jde pravděpodobně o jiné inkluze než chromatinové; nebyly-li dělány kontrolní pokusy, za nukleální barvení mohlo být pokládáno barvení různých zásobních látek v cytoplasmě hub. Preer (1948a, b, 1950) pozoroval v cytoplasmě „Killer“-kmenů *Paramaecium aurelia* četná mikroskopická nukleální tělíska velikostí od 0,2 až do 0,8  $\mu$ , tvaru kuliček, ovoidů neb dvojitých kuliček. Jejich nukleální barvení je slabé, barvení Giemso u po hydrolyse dobré. Desoxyribonukleová kyselina byla v nich dokázána také desoxyribonukleasou. Preer našel tato barvitelná tělíska pouze v killerkmenech, které obsahují v cytoplasmě faktor kappa a uvolňují do tekutiny, ve které žijí, anti-

biotika parameciny; citlivé kmeny kappa faktoru postrádají a jsou parameciny usmrcovány, kdežto killer-kmeny jsou vůči parameciinům resistantní. Podle van Wagten donka (1948) je paramecin pravděpodobně desoxyribonukleoproteidem. Na základě těchto údajů identifikuje P r e e r tato chromatinová tělíska s kappa partikulami a nevylučuje, že tato odpovídají nukleoidům Rickettsii a bakterií. Tato domněnka se nám zdá být velmi pravděpodobnou, jeho mikrofotografie jsou dostatečně přesvědčivé.

## Metodika pokusů

Vyklíčená semena bobu *Vicia faba* byla máčena ve vodném roztoku piperazinu koncentrace 0,025 %, 0,1 % a 1 % během 4, 10, 20 a 42 hod., vymyty ve vodě a fixována směsí N a v a š i n o v o u. Jiné objekty byly po stejné dlouhém působení piperazinu vymyty ve vodě a ponechány růst v pilinách 15, 22, 26 hod. a po opláchnutí fixovány ve stejné tekutině. Hodnoty pH byly 7, 8,5 a 10. Po fixaci objekty byly důkladně vyprány v tekoucí vodě, dehydratovány obvyklým způsobem, zality do parafinu a řezány na mikrotomu do serií. Barvení s malou výjimkou (železitým haematoxylinem) provedeno podle F e u l g e n a, také s dobarvováním světlou zelení. Aby se zjistilo, zda efekt vyvolávaný piperazinem nezávisí výhradně na určité hodnotě pH, byly provedeny paralelně serie pokusů se sodou ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), a to ve vodném roztoku koncentrace 0,025 % (pH 10) a 1 % (pH 11, ke konci pokusu 10). Další zpracování stejné. Tímto způsobem jsme mohli porovnat nejenom koncentrace roztoků v obou případech, nýbrž také pH a dobu působení. Hlavní výsledky pokusů jsou znázorněny v tabulkách I—V. Pokusy byly provedeny v roce 1955 a 1956.

## V ý s l e d k y

Po 4 hod. působení piperazinu v k o n c e n t r a c i 0,025 % (pH 7) byla pozorována macerace pletiv, pyknotická jádra, normální mitosy nebyly nalezeny. Jádra mají často „rozcuchané“ vzezření — nepravidelné a nejasné kontury, což svědčí pravděpodobně o částečné exosmose chromatinu. Nukleální barvení je někde velmi slabé, jinde velmi dobré. Rozptýlení\*) chromatinu nebylo pozorováno.

V paralelních pokusech s roztokem sody (pH 10) nalezeno celkem totéž, také silná vakuolisace cytoplasmy.

Když po 4 hod. působení téhož roztoku piperazinu rostliny byly přeneseny na 48 hod. do vlhkých pilin, byl nalezen na preparátech normální obraz s mitotickými figurami. Totéž i v paralelním pokuse s roztokem sody stejné koncentrace.

V k o n c e n t r a c i 0,1% (pH 8,5) vyvolává piperazin po 4 hod. působení také maceraci a pyknosy. Mitotické figury na některých objektech byly pozorovány, na jiných nikoliv. Nukleální barvení velmi dobré. Po stejné dlouhém působení téhož roztoku a růstu kořínků v pilinách (48 hod.) byly nalezeny normální obrazy s mitotickými děleními. Paralelní pokusy se sodou nebyly provedeny.

Koncentrace do 0,1 % tedy nevyvolává značných nebo žádných změn v buňkách kořínků. Alkalisace do pH 10 sama o sobě nestačí pro vyvolání efektu rozptýlení.

\*) Používáme výrazu „rozptýlení“ nikoliv „rozprašení“ vzhledem k tomu, že chromatin během popisovaných změn ztekutuje a jeho částičky mají povahu kapek.

V těchto pokusech s 0,025% a 0,1% koncentrací roztoku piperazinu a sody (4 hod.) kořínky i po přenosu do pilin dobře rostly. V jiných pokusech (1 %) většinou zčernaly a pravděpodobně odumíraly. V 1% sodě po 4 hod. však rostly.

1% roztok byl aplikován 4, 10, 20 a 42 hod.; pH 10.

Po 4 hod. působení mitotické figury zmizely, v čepičce bylo pozorováno rozptýlení chromatinu v cytoplasmě. V paralelním pokusu se stejnou koncentrací sody (pH 11, ke konci pokusu 10) nebyly nalezeny ani mitotické figury, ani rozptýlení. Zaznamenány macerace, pyknosy, vakuolisace cytoplasmy. Nukleální reakce velmi slabá. Necháme-li působit roztok 4 hod. a pak objekty dáme do pilin na 15 hod., najdeme deformaci jader, pyknosy, ale žádné mitotické figury; dále rozptýlení chromatinu, hlavně v buňkách čepičky. V paralelním pokusu se sodou (růst 48 hod.) mitosy byly nalezeny, ale rozptýlení nikoliv. Nukleální reakce velmi slabá.

Po 10 hod. působení 1% roztoku piperazinu nalezena deformace jader a částečná extrakce („rozcuchaná jádra“), rozptýlení chromatinu, pyknosy; mitotické figury žádné; nukleální barvení velmi dobré. Po stejně dlouhém působení roztoku a růstu 22 hod. mitotické figury nebyly nalezeny, zato však rozptýlení chromatinu a pyknosy. Paralelní pokus s roztokem sody nebyl prováděn.

Tabulka I

Piperazin			Soda		
koncentrace 1%		pH 10	koncentrace 1%		pH 10—11
doba působení	mitosy	rozptýlení	doba působení	mitosy	rozptýlení
4 hod.	—	+ (čepička)	4 hod.	—	—
4 hod. + 15 hod.	—	+ (čepička)	4 hod. + 48 hod.	+	—
10 hod.	—	+ (čepička)			
10 hod. + 22 hod.	—	+			
20 hod.	—	+ (čepička)	20 hod.	—	+
20 hod. + 22 hod.	— +	+	20 hod. + 23 hod.	— +	+ (čepička)
42 hod.	—	+	42 hod.	— +	+
42 hod. + 26 hod.	—	+	42 hod. + 26 hod.	— +	+
koncentrace 0,1% pH 8,5					
4 hod.	— +	—			
4 hod. + 48 hod.	+	—			
koncentrace 0,025% pH 7			koncentrace 0,025% pH 10		
4 hod.	—	—	4 hod.	—	—
4 hod. + 48 hod.	+	—	4 hod. + 48 hod.	+	—

Tabulka II  
R ů z n é p H (stejná koncentrace, stejná doba působení)

Látka	pH	Koncentrace	Doba působení	Mitosy	Rozptýlení
Piperazin	7	0,025%	4 hod.	—	—
Soda	10	0,025%	4 hod.	—	—

Po 4 hod. + 48 hod. růstu: Piperazin: normální vzezření

Soda:     mitosy — nebo +, rozptýlení —

Tabulka III  
S t e j n é p H (různá koncentrace, stejná doba)

Látka	pH	Koncentrace	Doba působení	Mitosy	Rozptýlení
Piperazin	10	1%	4 hod.	—	+
Soda	10	0,025%	4 hod.	—	—

Po 4 hod. + 48 hod. růstu: Piperazin: totéž (čepička)

Soda:     mitosy — nebo +, rozptýlení —

Piperazin	10	1%	42 hod.	—	—
-----------	----	----	---------	---	---

Po 42 hod. + 26 hod. růstu: totéž

Tabulka IV  
S t e j n á k o n c e n t r a c e (pH skoro stejné, stejná doba)

Látka	pH	Koncentrace	Doba působení	Mitosy	Rozptýlení
Piperazin	10	1%	4 hod.	—	+ (čepička)
Soda	11—10	1%	4 hod.	—	—

Po 4 hod. + 15 (resp. 48) hod. růstu: Piperazin: mitosy —, rozptýlení + (čepička)

Soda:     mitosy +, rozptýlení —

Piperazin	10	1%	42 hod.	—	+
Soda	11—10	1%	42 hod.	— +	+

Po 42 hod. + 26 hod. růstu: Piperazin: totéž

Soda:     totéž

Po 20 hod. působení nalezeno: deformace buněk, vakuolisace cytoplasmy, pyknosy a rozptýlení chromatinu v buňkách čepičky; mitosy nebyly nalezeny. V paralelním pokusu se sodou: macerace pletiv, pyknosy a také vakuolisace jader a rozptýlení chromatinu do stadia, ve kterém nebylo již možno rozlišovat jednotlivá zrníčka. Nukleální reakce slabá až dobrá. Nalézaly-li se kořínky po 20 hod. působení piperazinu 22 hod. v pilinách, byly pozorovány pyknosy, rozpad jader a rozptýlení chromatinu, mitotické figury byly zpozorovány jen někdy. V paralelním pokusu s roztokem sody celkem totéž. Přítomnost mitos v některých objektech svědčí o tom, že některé kořínky nebo jejich části byly živé. Po 42 hod. působení 1% roztoku piperazinu nalezeno: deformace jader, pyknosy, rozptýlení chromatinu v buňkách čepičky a periferických buňkách kořínku, odumírání pletiv, mitosy nejsou. V paralelním pokusu se sodou: mitosy někde jsou, dále pyknosy, macerace pletiv a rozptýlení chromatinu až do submikroskopických částecek. Nukleální barvení velmi dobré.

Po 42 hod. působení a 26 hod. růstu v pilinách jsme zjistili: pyknosy, silné rozptýlení chromatinu, nikoliv mitotické figury. Nukleální barvení velmi dobré. V paralelním pokusu se sodou: deformace buněk, pyknosy, silné rozptýlení chromatinu, mitosy byly někde nalezeny, zvláště ve starších částech kořínku. Nukleální barvení slabé až dostatečně jasné.

Tabulka V

Nest e j n á k o n c e n t r a c e (nestejně pH, stejná doba):

Látka	pH	Koncentrace	Doba působení	Mitosy	Rozptýlení
Piperazin	7	0,025%	4 hod.	—	—
	8,5	0,1%	4 hod.	— +	—
	10	1%	4 hod.	—	+ (čepička)
Soda	10	0,025%	4 hod.	—	—
	11—10	1%	4 hod.	—	—
Piperazin	7	0,025%	4 hod. + 48 hod.	+	—
	8,5	0,1%	4 hod. + 48 hod.	+	—
	10	1%	4 hod. + 15 hod.	—	+ (čepička)
Soda	10	0,025%	4 hod. + 48 hod.	— +	—
	10	1%	4 hod. + 48 hod.	+	—

Z těchto přehledů je vidět, že se mitotická dělení zastavují již po 4 hod. působení 1% piperazinu, ale že i po 20 hod. působení + 22 hod. růstu byly ještě zaznamenány mitosy. Znamená to, že přece ojedinelé buňky kořínku mohly být živé.

Po 4 hod. působení 0,1% roztoku byly zaznamenány mitosy, také i po zotavení v pilinách.

Po 4 hod. působení 0,025% roztoku dělení se zastavilo, ale po růstu v květináčích znovu se objevilo.

Rozptýlení chromatinu, nejdříve v čepičce, se objevilo již od 4 hod. působení a potom zesílilo a rozšířilo se i na vnitřní vrstvy kořínků. U sody poměry při 0,025% koncentraci jsou stejné jako u piperazinu (žádné mitosy, žádné rozptýlení chromatinu).

Při 1% koncentraci po 4 hod. působení nebyly nalezeny žádné mitosy, ale po zotavení se mitotické figury znovu objevily již po 48 hod. Rozptýlení však nebylo nalezeno. Efekt u sody je tedy slabší než u piperazinu. Avšak přesto, že byly prováděny pokusy na četných objektech a vyhotoveny četné preparáty z nich, není vyloučeno, že při statistickém zpracování nebyl by ten rozdíl veliký.

Po delší době působení (20 až 42 hod.) mitosy nejsou nebo jsou nalézány, mohou se také zachovat i po cca 24 hod. růstu v pilinách. Zase je pozorován slabší účinek než u piperazinu. Rozptýlení bylo nalezeno všude.

Při bližším pozorování nalézáme v buňkách kořínků po působení piperazinu a sody jádra nepravidelných obrysů, skoro všude typu pyknotického až do úplného sbalení chromatinu v kuličku uprostřed buňky, také útvary hranaté a nepravidelné. Mitotické figury, pokud jsou, mohou být silně deformovány a pyknotické (pásek chromatinu ev. 2 rovnoběžné pásy uprostřed buněk). Dále byla pozorována vakuolisace klidných jader (věnec vakuol).

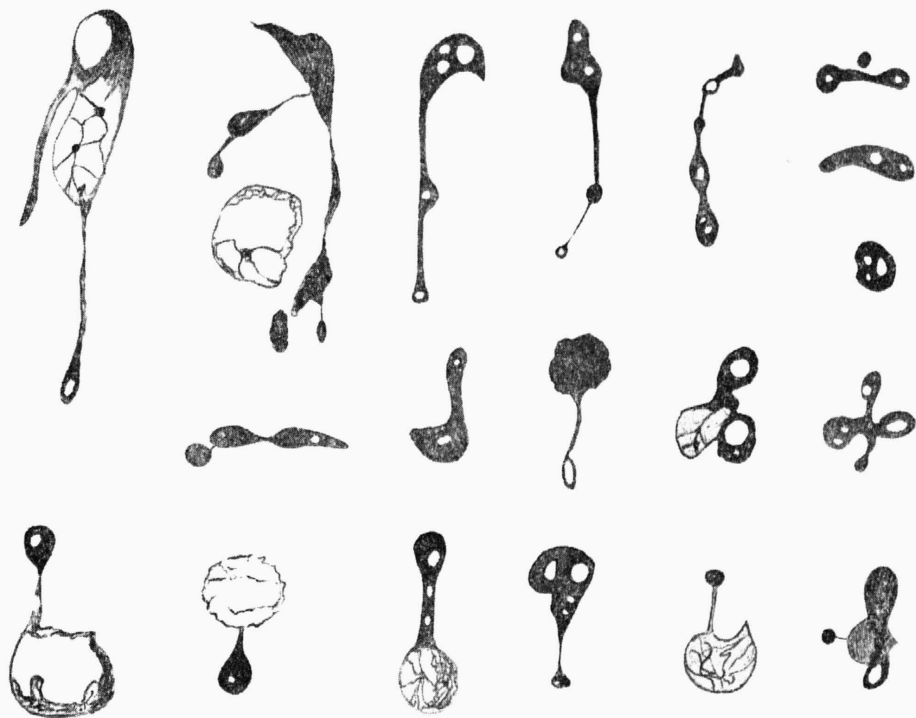
Rozptýlení chromatinu nejdřív v čepičce a v periferických buňkách kořínku svědčí o tom, že tyto buňky nejdřív odumírají.

Při vakuolisaci jader bylo pozorováno také paprscité uspořádání tenkých chromatinových vláken, resp. lamel, sbíhajících se kolem jáderka. Podobné uspořádání bylo popsáno Němcem (1910) na tomtéž objektu, jakož i na *Pisum sativum* po působení 1% KOH. Byla také nalezena vakuolisace nabubřelých chromosomů, podobná popsané při působení horké vody (Němec 1910, Milovidov 1932, tab. I, obr. 9). Bubření klidných jader a chromosomů v různých fázích dělení dosahuje někdy velmi značných rozměrů (obr. 3, 16), takže konec konců nalézáme nejasné „negativy“, poseté hlavně na okrajích, drobnými zrníčky chromatinu, která tvoří jakousi síť nebo růženec. Při bubření, rozpouštění a rozpadu jader nalézáme četné bizarní útvary nejrůznějších nepravidelných tvarů, včetně protuberancí typu „ampulek“ nebo žláznatých trichomů u rostlin, dále skelety a slabě zbarvené zbytky jader — „fantomy“. Jádro pod vlivem piperazinu patrně silně bubří, pak se postupně rozpouští za vakuolisace, z něho jakoby „pučením“ vznikají nahoře popsané ampulky, hrušky nebo kapky, intenzivněji zbarvené Feulgenem, často na delších stopečkách, při čemž se rozplývající základ jádra barví v tom případě slaběji než kapky a protuberance (obr. v textu). Celý útvar často má vzezření jakéhosi nepravidelného centra, ze kterého paprscitě vyčnívají tyto „ampulky“ (obr. 1 a 8). Vedle toho vidíme v cytoplasmě různá chromatinová tělíska, hlavně kuličky a zrníčka různých rozměrů, obvykle s vakuolkou nebo s několika uvnitř (obr. 1, 6, 9). Jemné kapky se tvoří pravděpodobně prasknutím a „pučením“ větších (srv. Levana Tjio, obr. 4b, d), jemná zrníčka mohou vznikat také zrnitým rozpadem chromatinových struktur, jež pozorujeme po působení piperazinu. Jemné zrnité sítě, vzniklé po silném bubření chromosomů v různých fázích dělení nebo i klidného jádra, postupně ztrácejí souvislost a zbývá po nich jemný prášek, dávající nukleální barvení.

Rozpad jader postupuje od periferie kořínků ke středu, takže počáteční



stadia tohoto postupného rozpadu najdeme vždy blíže ke středu, v pleromu a na jeho hranici s periblemem, největší pak rozptýlení na periferii periblemu a v dermatogenu, kde již daleko pokročilo. Při malém zvětšení jeví se buňky po takovém působení jako zasypané jemným fialovým práškem (NR), při pozorování s větším zvětšením najdeme v buňkách zrníčka nebo kapky ne- stejné velikosti, ale celkem podobné; cytoplasma je také nezřídka slabě zbar-



Různá stadia rozpadu buněčného jádra pod vlivem piperazinu. Schematisováno. — P. Milovidov et J. Štorchová del.

vena difundujícím chromatinem (srv. Milovidov 1932: horká voda). Toto zbarvení cytoplasmy je nejmarkantnější v těch buňkách, kde jádro již skoro nedává nukleální zbarvení a které jsou vyplněny drobným chromatinovým „práškem“ (obr. 17). V čepičce nezřídka nalézáme jádro silně extrahované, vedle něho protuberance téhož kapkovitého typu nebo i kapky již vystouplé z jádra do cytoplasmy.

Částičky silně zbarveného chromatinu vedle skoro prázdných jader a difusní zbarvení cytoplasmy svědčí o vyluhování chromatinu z jádra. Také „rozcuehaná“ jádra s nepravidelnými a nejasnými obrysy svědčí o exosmose chromatinu a jeho postupném rozpuštění. Celý pochod si tedy můžeme představit jako bubření chromatinových struktur spojené s rozpuštěním chromatinu, který konečně vede k úplné desintegraci jádra a dost rovnoměrnému rozptýlení chromatinu v buňce. Výstup chromatinových kapek z jádra děje se pravděpodobně vlivem osmotického tlaku a tlaku bubření (Quellungsdruck) v jádře.

Další pozorovaný efekt: v různých fázích dělení, a také v chromosomech již utvořených, jasné oddělení od sebe chromatid (srv. D o x e y a R h o d e s) a též jejich rozvíjení; podobný efekt pozorovali jsme také po působení ergotaminu.

I když efekt rozptýlení nebyl pozorován ve všech buňkách kořínků, ani u všech objektů jedné serie, přece můžeme mluvit o určité pravidelnosti těchto zjevů, poněvadž se odehrávají ve velmi mnoha buňkách stejným způsobem.

Většina uvedených autorů vyobrazuje hlavně „mikrojádra“ a ojedinelé, dost velké částičky chromatinu (srv. K e e k a spol., obr. 9; D o x e y a R h o d e s, tab. I, obr. 2, 3, 4); v našem případě charakteristickým zjevem je právě jemné rozptýlení chromatinu ve velké množství drobných zrníček. Celkový obraz rozptýlení chromatinu odpovídá obrazu nalezenému po působení fosfátů (M i l o v i d o v 1954).

## D i s k u s e

Dosud není úplně jasno, zda rozptýlení chromatinu probíhá pouze v odumřelých pletivech nebo také i v odumírajících a snad i živých. Otázka je tedy, jak dlouho při působení piperazinu a sody zůstávají buňky kořínků na živu. Pseudoplasmolysa, silná pyknosa a pod. svědčí o tom, že ke konci pochodu rozptýlení chromatinu buňky jsou již mrtvé. Toto však nevylučuje možnost, že by b ě h e m tohoto pochodu buňky mohly odumírat postupně (nekrobiosa), takže v určité době by mohly být ještě živé. Kdyby se někdy podařilo udržet na živu buňky s rozptýleným chromatinem, mohli bychom sledovat osud takových buněk a jejich genetické vlastnosti. Zde by přicházely v úvahu nejspíše jednobuněčné organismy.

Co se týče sody, uvádí Y a m a h a (1927a), že roztok této látky v koncentraci M až 0,0625 M čili 28,6 až 2,6% (pH 10,98—11,2) způsobuje fixaci nebo smrštění a vakuolisaci cytoplasmy, bubření a rozpouštění chromosomů a karyotinu klidných jader až do vločkovitých zbytků, které byly na preparátech nalezeny v cytoplasmě po difuzi chromatinu. Byly pozorovány také anomální mitosy. Za smrtelnou koncentraci považuje Y a m a h a 0,03125 M až 0,0078 M (pH 11,17 až 10,96), t. j. koncentraci 0,9% až 0,2%. Efekt zde byl: buňky porušeny, cytoplasma sraženinovitá nebo vločkovitě vakuolisovaná. Karyotin vločkovitě síťovitý, chromosomy sraženinovité, hustší, fragmentované, v nepořádku, splývají. Jednotlivé dvojjaderné buňky. Koncentraci mezi 0,0039 M a 0,00048 M (pH 10,8 až 10,2), t. j. 0,1% až 0,01% považuje za „účinnou“; byly pozorovány pouze nepravdělnosti tvaru chromosomů, můstky, celkem normální vzezření buněk.

V našich pokusech byly poměry celkem podobné. Při koncentraci 0,025% jsme našli pyknosy, maceraci buněk, silnou vakuolisaci cytoplasmy, mitotické figury nebyly, po zotavení v pilinách se pak objevovaly mitosy. Je to koncentrace čtyřnásobně nižší než horní hranice, udávaná Y a m a h o u (0,1%), zde tedy můžeme předpokládat, že kořínky byly ještě na živu nebo v jiných případech teprve začínaly odumírat. 1% koncentrace odpovídá skoro smrtelné koncentraci (0,9%) a zde byly námi pozorovány zjevy letální, japonský učenek však nepopisuje rozptýlení chromatinu.

Přece se zdá, že obrazy výstupu a rozptýlení chromatinu v pletivech již mrtvých a odumírajících jsou trochu rozličené: v mrtvých buňkách, na př. v odumřelé čepičce se tvoří při tomto jen několik málo velkých kuliček chro-

matinu, vedle několika menších, kdežto v postupně odumírajících živých buňkách chromatinová hmota bubří, stává se stále řidší, takže jednotlivá zrníčka se stále od sebe vzdalují a pak jsou rozložena v cytoplasmě; nebo se jádro buněčné postupně vyluhuje, tvoří se protuberance, dále větší kapky, a z nich pak vakuolisací a rozpadem drobnější částičky, až se z nich utvoří velejemný prášek, který dává nukleální reakci, takže konečně vidíme pouze jakýsi růžový nádech, aniž bychom mohli již rozeznat v mikroskopu jednotlivá zrníčka. Avšak tento výklad rozdílů může být subjektivní. Zda tato zrnka se vysrážejí teprve při fixaci nebo existují již v buňkách nefixovaných, nemůžeme s určitostí tvrdit; zdá se, že ta druhá možnost je mnohem pravděpodobnější. Ve prospěch toho, že drobná zrníčka, resp. kapky chromatinu se tvoří před fixací, mluví možnost sledovat často veškeré jejich přechody od větších až k nejjemnějším a také pravidelnost jejich tvarů. Typicky vysrážené částičky chromatinu difundujícího z jádra na př. ve vakuolách jsou nepravidelné (háčky, tyčinky, šupiny a pod.) a trochu jinak Feulgenem zbarvená (do hněda) (srv. po působení horké vody); tyto jsme také pozorovali, ale řidčeji (soda). Chromatinové struktury jádra patrně se částečně rozpouštějí („tavení“) a splývají, pak chromatin vystoupí z deformovaného zbytku jako jedna nebo i několik kapek (vzdálená obdoba jádérka, vypuzovaného z jádra centrifugováním: obr. 4—7, 10, 11, 13, 14, 15). Kapky chromatinu dávají silnou nukleální reakci, ostatní jaderný obsah mnohem slabší. V jiných případech celé jádro se rozplývá, vakuolisuje, ale i zde některé části jsou kapkovité a barví se intenzivněji.

Levan a Tjio (1951) a Keck a Hoffmann-Ostenhof (1954) pokládají za příčinu výstupu chromatinových kapek z jádra osmotický tlak v něm a tlak bubření, které vytlačuje chromatin z jádra. Toto vysvětlení se nám zdá pravděpodobným. Zdá se, že Nygren pokládá reakci jádra v těchto případech za vitální a domnívá se, že vzniklé fragmenty jsou schopny dalšího života (viz Levan a Tjio); u těchto posledních autorů reakce probíhala pravidelně za letality buněk, oni se přiklánějí k tomu, pokládat tyto zjevy v buňce spíše za fyzické než za zjevy fyziologické. Keck a Hoffmann-Ostenhof rozlišují dvě fáze jaderných změn: během první nastává vakuolisace jaderného obsahu a vznikají protuberance, během druhé — rozpouštění jaderných struktur a odměšování chromatinu. Nepokládají tyto pochody za specifické pro určité chemické látky, nýbrž se domnívají, že usmrcování buněk bez fixace rozvazuje buněčné mechanismy, které fungují stejným způsobem ve všech podobných případech. Oni připouštějí i spolupůsobení jaderných a buněčných enzymů. Levan a Tjio podrobně popisují pochody vzniku protuberancí (obr. 3 a 4, nukleální reakce). Domnívají se, že změna osmotických poměrů v jádře přivádí zvýšení tlaku v něm. Nejdříve elastická blána jaderná odolává tlaku, později někde povolí a vychlípí se ven, v této protuberanci se nahromadí chromatin a celý útvar může se oddělit a tvoří v cytoplasmě kapky; nebo jaderná blána praskne a obsah protuberance se vyhodí jako četné kapky — „nukleoplasmoptysa“. Na těchto obrázcích lze vidět jednak vakuoly uvnitř „pučících“ nebo i již oddělených chromatinových kapek (obr. 4d) a dále jakési „satelity“ těchto drobných kapek (obr. 4b, d) na nitích, nebo druhotné pučení těchto kapek (naš obr. 1, 10, 16). Silnou vakuolisaci klidných jader lze vidět na obr. 1 a 2 (krystalová violet). Celkový obraz rozpadu jádra při působení piperazinu a sody odpovídá těmto útvarům a je téhož typu, pozorovali jsme však často velmi dlouhé nukleální „stopečky“

u kapek, které byly někde velmi jemné a stávaly na hranici viditelnosti (obr. 2, 4, 5, 6, 8). Přítomnost vakuolek v kapkách a jejich další pučení předpokládala by působení těchže sil jako i v jádře.

Veškeré tyto typické figury rozpadu jaderného nejsou následkem specifického působení určitých chemických látek, nýbrž projevem různých stadií postupného odumírání jádra a celé buňky — nekrobiosy. Pokud bylo možno zjistit, byly tyto zjevy pozorovány pouze v roztocích látek s pH od 7 nahoru; bylo by proto zajímavé zjistit, zda některé látky nepůsobí stejné efekty také při pH nižších než 7. Levan a Tjio nevyklučují, že efekt penicilinu G mohl z části být vyvolán sodíkem, poněvadž v pokusech byla použita Na-sůl penicilinu. Neutrony vyvolávají fragmentaci a i pulverisaci jader (Resende 1951). Nepřímé působení záření, na př. X-paprsků, je připisováno působení OH radikálů na buňku, resp. na její jádro (rozptýlení chromatinu). Totéž se děje vlivem  $H_2O_2$  v přítomnosti Fe-solí. Velmi pravděpodobně je proto, že i námi popsané případy se dají vysvětlit uvolňováním těchto radikálů. Snad i vliv nedostatku kyseliny v zaživacím ústrojí na vznik tumorů je v souvislosti s větším počtem OH radikálů? Tyto typické pochody rozpadu jádra buněčného mohly by, vedle pyknosy, karyolysy a karyorhexe tvořit další typy degenerace jádra. Rozptýlení chromatinu nemusí se vždy dít cestou prasknutí nebo explose jádra, může se to stát také postupným rozpadem jádra, zde popsaným, nebo tvořením vychlípenin a odškrcováním kapek chromatinu. Pro tento pochod postupného rozpadu jádra buněčného snad by byl nejvhodnější název rozplývání čili karyotexis (vliv horké vody a uváděných zde činitelů). Výsledkem těchto pochodů je rozptýlení chromatinu čili karyoskédasis. Karyoptysu (srv. Levan a Tjio) jako výbušné prasknutí jádra můžeme pokládat za jeden ze způsobů karyorhexe. Jak karyoptysa tak i karyotexe pak mohou vésti k úplnému rozptýlení čili karyoskédasi jádra.

Tyto pokusy a pozorování znovu potvrzují schopnost chromatinu rozptylovat se ve značné míře za změněných fyzikálně-chemických a chemických podmínek v buňce. Figury rozpadu buněčných jader pak znovu svědčí o velké plasticitě chromatinové hmoty. Jsou výstrahou těm badatelům, kteří za každou cenu chtějí vidět i za normálních okolností „pučení“ jádra a jiné fantastické pochody. Naskytuje se otázka, zda pro takové rozprášení chromatinu je nezbytné buňku usmrтит a zda takový chromatin, získaný i z mrtvých buněk nebyl by schopen nějaké indukce na způsob transformujícího principu pneumokokků?

## Z á v ě r

Srovnáme-li nyní různé údaje z uvedených tabulek, nalézáme že:

1. při různém pH, ale stejné koncentraci a stejné době působení efekt může být stejný, a to u piperazinu a sody;
2. u obou látek je stejný ráz změn při stejné koncentraci a skoro stejném pH;
3. různý efekt může být při stejném pH a různé koncentraci;
4. při stejné době působení se stoupáním koncentrace a pH stoupá efekt piperazinu, zůstává stejný u sody;
5. při stejné koncentraci je určité zesílení efektu u piperazinu od 4 hod. působení, u sody od delší doby;

Pro efekt rozptýlení nerozhoduje tedy pH samo o sobě, nýbrž rozhoduje koncentrace, doba působení a pH.

Zdá se, že efekt piperazinu je o něco silnější než u sody. Působení piperazinu není specifické, ale částečně závisí na povaze působící látky. Pravděpodobně zde hraje velkou úlohu osmotická hodnota roztoků látek. Nejvyšší efekt (z vyzkoušených) jsme shledali při pH 10, koncentraci 1% a době 42 hod.

Piperazin je jeden z faktorů, který způsobuje značné, a to velmi jemné rozptýlení chromatinu při odumírání rostlinných buněk.

## S o u h r n

1. Vodní roztoky piperazinu v koncentraci 0,025% až 0,1% nezpůsobují velkých změn v kořínkách bobu *Vicia faba* během 4 hod.: zastavení mitotického dělení, pyknotické změny v jádrech, macerace a pouze částečné odumírání pletiv. Po 48 hod. zotavení v pilinách nalézáme na preparátech normální obrazy, včetně mitotických figur. Roztok sody v koncentraci 0,025% působí stejně.

2. Roztok piperazinu v koncentraci 1% vyvolává odumírání pletiv a silné rozptýlení chromatinu v cytoplasmě, jádro buněčné se rozpouští až do úplného zmizení. Soda vyvolává stejný, o něco slabší efekt.

3. Chromatinová hmota je ve značné míře schopna plastické deformace a může být uměle rozptýlena v rostlinné buňce během nekrobiosy. Piperazin je jednou z látek, které snadno vyvolávají takové rozptýlení.

4. Toto působení piperazinu není úzce specifické, rozptýlení není však způsobováno pouze samotným určitým stupněm alkality, zde spolurozhoduje koncentrace látky, doba působení a výška pH. Největší efekt v našich pokusech byl nalezen při 1% koncentraci, 42 hod. působení a pH 10.

5. Mikroskopické obrazy, připomínající „pučení“ jádra a pod. jsou artefakty, vznikající při bubření, rozpouštění a rozpadu buněčných jader vlivem různých činitelů při nekrobiose buněk a mohou být podrobně sledovány pomocí nukleální reakce.

6. Autor navrhuje pro výbušné prasknutí jádra název *karyoptysa*, pro pochod postupného rozpadu jádra název *karyotexis*, t. j. *rozplývání* a pro pochod, spojený s konečným *rozptýlením* jaderného chromatinu termín *karyoskésis*.

P. Milovidov:

## Über künstliche Zerstäubung des Chromatins in pflanzlichen Zellen Studien mit Nuklealreaktion

### Zusammenfassung

1. Wässrige Piperazininlösungen in der Konzentration von 0,025 bis 0,1% rufen in den Wurzelspitzenzellen von *Vicia faba* nach 4-stündiger Einwirkung nicht zu starke Veränderungen hervor: Mitoseneinstellungen, Gewebemazeration ev. nur partielles Absterben der Zellen und einige pyknotische Erscheinungen im Zellkern. Nach 48-stündiger Erholung in Sägespänen findet man normale zytologische Bilder, einschliesslich mitotischer Figuren. Eine 0,025% Sodalösung wirkt ähnlich.

2. Eine 1% Piperazininlösung ruft das Absterben der Gewebe und eine starke Chromatinzerstäubung im Zytoplasma hervor, der Zellkern kann dabei vollständig zerstört werden. Eine Sodalösung wirkt ähnlich, nur etwas schwächer.

3. Die Chromatinsubstanz ist einer plastischen Deformation sehr fähig und kann in den

pflanzlichen Zellen im Laufe der Nekrobiose auch künstlich fein zerstäubt werden. Das Piperazin ist einer der Stoffe, welcher eine solche Zerstäubung leicht hervorrufen.

4. Diese Piperazinwirkung ist nicht streng spezifisch, die Chromatinerstäubung wird aber nicht durch einen bestimmten Alkalitätsgrad der Lösung selbst (pH), sondern durch die Zusammenwirkung von Konzentration, Einwirkungsdauer und pH verursacht. Der Maximaleffekt wird in unseren Versuchen bei 1% Konzentration, 42-stündiger Einwirkungsdauer und pH 10 beobachtet.

5. Die an die Kernknospung erinnernden mikroskopischen Bilder sind Artefakten, welche bei der Aufquellung, Auflösung und beim Zerfall der Zellkerne im Laufe der Nekrobiose unter dem Einfluss von verschiedenen Faktoren zustanden kommen und mit Hilfe der Nuklealreaktion ausführlich verfolgt werden können.

6. Der Verfasser schlägt für den Vorgang des explosiven Platzens des Zellkernes den Fachausdruck *Karyoptysis*, für den Vorgang des allmählichen Zerfalls des Kernes den Ausdruck *Karyotexis* (Kern-Zerfließen) und für den zur endgültigen Chromatinerstäubung führenden Prozess den Ausdruck *Karyoskedasis* (Kern-Zerstäubung, -zerstreuung) vor.

П. Миловидов:

## Об искусственном распылении хроматина в растительных клетках

### Резюме

1. Водные растворы пиперазина в концентрации 0,025—0,1% вызывают сравнительно небольшие изменения в корешках *Vicia faba* в течение 4 час., а именно прекращение митотического деления, пикнотические изменения клеточных ядер, мацерацию тканей, иногда частичное их отмирание. После 48 час. роста во влажных древесных опилках на микроскопических препаратах можно констатировать нормальные картины, включая митотические фигуры. 0,025% раствор воды оказывает сходное действие.

2. 1% раствор пиперазина вызывает отмирание тканей и сильное распыление хроматина в цитоплазме, причем ядра полностью распадаются. Сода вызывает такой же эффект, но несколько слабее.

3. Хроматин обладает в высокой степени способностью к пластической деформации и может быть тонко распылен в цитоплазме клетки при ее некробиозе. Пиперазин является одним из веществ, способных легко вызывать такое распыление.

4. Указанное действие пиперазина не является специфическим, однако распыление хроматина не вызывается, повидимому, только определенной степенью щелочности раствора (pH): это действие зависит от концентрации вещества, продолжительности его действия и от pH. Максимальный эффект в наших опытах был найден при 1% концентрации, 42 час. продолжительности действия и при pH 10.

5. Микроскопические картины «почкования» ядер и т. п. представляют собой артефакты, вызванные разбуханием, растворением и распадом клеточных ядер под влиянием разных факторов при некробиозе клеток и могут быть подробно изучены при помощи нуклеальной реакции.

6. Автор предлагает для обозначения процесса взрывного опорожнения клеточного ядра термин «*кариоптизис*», для описанного процесса постепенного растекания ядра термин «*кариотексис*» и для процесса, связанного с полным распылением ядерного хроматина термин «*кариоскедазис*».

### Literatura

- Breindl, V., Jírovec, O. (1934): Die Zytologie und Entwicklung von *Ichthyophthirius multifiliis* (Foug.). Věstník Čs. Zool. Spol. č. 20, 1.
- Discombe, G. (1946): Extrusion of nucleic acid from the nuclei of human granulocytes. Nature 157; 370—371.
- Doxy, D., Rhodes, A. (1949): The effect of the plant growth-regulator 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid on mitosis in the onion (*Allium cepa*). Annals of Botany N. S. 13; 105—111.
- Dustin, P. jr. (1947): Some new aspects of mitotic poisoning. Nature 159, 794—797.
- Horning, E., Miller, J. (1930): Chromidial extrusion and its relationship to atypical nuclear phenomena in tumour cells. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 7, 151—159.
- Horning, E., Richardson, K. (1930): Cytological differences between normal and malignant tissues. Med. J. Aust. 1; 238—247.

- Keck, K., Hoffmann-Ostenhof, O. (1954): Über den chemisch induzierten Chromatinstreit aus pflanzlichen Zellkernen. *Expert. Cell Res.* 7, 111—124.
- Lacour, L. (1944): Mitosis and cell differentiation in the blood. *Proc. Roy. Soc. Edinb.* B 62; 73—84.
- Levan, A. (1949): The influence on chromosomes and mitosis of chemicals, as studied by the *Allium* test. *Proc. 8-th Int. Cong. Genet., Stockholm* (Hereditas, Suppl. Vol.); 325—337.
- Levan, A. (1951): Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 16, 233, cit. Keck a spol.
- Levan, A., Tjio, J. (1951): Penicillin in the *Allium cepa*. *Hereditas* 37; 306—324.
- Lewis, W. (1922): Endothelium in tissue cultures. *Amer. J. Anat.* 30; 39—59.
- Delitardière, R. (1947): Sur la présence de micronaux dans le méristème radicalaire d'*Elymus asiaticus*. *C. R. Acad. Sci. Paris* 224; 981—983.
- Ludford, R. (1925a): Cell organs during secretion in the epididymis. *Proc. Roy. Soc. (B)* 98; 354—372.
- Ludford, R. (1925b): Nuclear activity in tissue cultures. *Proc. Roy. Soc. (B)* 98; 457—467.
- Ludford, R. (1925c): The cytology of tar tumours. *Proc. Roy. Soc. (B)*, 98; 557—577.
- Macdonald, J. (1947): *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 31; 92.
- Macdonald, J. (1949): Structure of the resting nucleus in *Marasmius androsaceus* Fries. *Nature* 163; 579—580.
- Milovidov, P. (1932): Einfluss von Wasser hoher Temperatur auf den Kern der Pflanzenzellen im Lichte der Nuklealreaktion. *Protoplasma* 17, 32—88.
- Milovidov, P. (1933a): Über die nukleale Natur der „Chromatinnukleolen“ und anderen Körperchen bei *Zebrina pendula*. *Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat.* 19, 689—697.
- Milovidov, P. (1933b): Bizarní deformace buněčného jádra u rostlin. *Vesmír* 11; 253—255.
- Milovidov, P. (1948): O vlivu yperitu a lewisitu na rostlinnou buňku. *Sborník ČSAZ* 21 (1); 12—26.
- Milovidov, P. (1949, 1954): Physik und Chemie des Zellkernes. *Protoplasma-Monographien* 20, 21; 570 u. 427 S.
- Nawaschin, S. (1911): Über eine Art Chromatindiminution bei *Tradescantia virginica*. *Ber. d. Dtsch. Bot. Ges.* 29; 437—449.
- Ňěmec, B. (1910): Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. *Borntraeger Berlin*, 532 S.
- Nygren, A. (1949): Cytological studies of the effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid and 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid on *Allium cepa* (Prel. rep.). *Kungl. Lantbrukshögskolans Annaler* 16, 723—728. *Ref. Biol. Abstr.* 24 (6), 14035 (1950).
- Peters, K. (1954): Über das Auftreten und Verhalten von Nebenkernen in den Wurzelspitzenzellen von *Vicia faba* nach Einwirkung von Radiumstrahlen. *Zeitschr. f. Zellf.* 39; 414—420.
- Preer, J. jr. (1948a): The killer cytoplasmic factor kappa: its rate of reproduction, the number of particles per cell, and its size. *Amer. Nat.* 82; 35—42.
- Preer, J. jr. (1948b): Microscopic bodies in the cytoplasm of „killers“ of *Paramecium aurelia* and evidence for the identification of these bodies with the cytoplasmic factor, kappa. *Genetics* 33; 625.
- Preer, J. jr. (1950): Microscopically visible bodies in the cytoplasm of the „Killer“ strains of *Paramecium aurelia*. *Genetics* 35 (3); 344—362.
- Resende, F. (1951): Agentes modificadores do metabolismo celular. I. *Bol. Soc. Portug. Cie. nat.* II, s. 3, 181—211.
- Ris, H., Kleinfeld, R. (1952): Cytochemical studies on the chromatin elimination in *Solenobia (Lepidoptera)*. *Chromosoma* 5, 363—371.
- Ritchie, D. (1948): Nuclei and cytoplasmic inclusions in basidia of *Amanita*. *Botan. Gaz.* 109; 521—525.
- Roskin, G. (1925): Histophysiologische Studien an Geschwülsten. *Zeitschr. f. Krebsforsch.* 22, 472—479.
- Salord, J. (1948): Modificaciones estructurales patológicas en los cromosomas, producidas por temperaturas bajas. *Bol. Sol. Portuguesa Ciênc. Nat.* 16 (1/2). *Ref. Biol. Abstr.* 24 (1) č. 39; (1950).
- Schussnig, B. (1953): *Handbuch der Protophytenkunde* I. G. Fischer, Jena VI + 636 SS.
- Sparrow, A., Hammond, M. (1947): Cytological evidence for the transfer of desoxyribose nucleic acid from nucleus to cytoplasm in certain plant cells. *Amer. J. Bot.* 34; 439—445.
- Steinegger, E., Levan, A. (1947): The cytological effect of chloroform and colchicine on *Allium*. *Hereditas* 33; 515—525.
- Van Wagtenonk, W. (1948): The action of enzymes on paramecin. *J. biol. Chem.* 173; 691—704.

Y a m a h a, G. (1927a): Experimentelle zytologische Beiträge. I. Journ. Fac. Sci. Univ. Tokyo (III), 2, 1—214.

Y a m a h a, G. (1927b): Experimentelle zytologische Beiträge. II. Journ. Fac. Sci. Univ. Tokyo (III), 2, 215—296.

### V y s v ě t l e n í o b r á z k ů

Tabulka V.—VII.

Různá stadia rozpadu buněčného jádra mladých kořinků *Vicia faba* při působení 1% roztoku piperazinu (42 hod. + 26 hod. růstu). Nukleární reakce. Lumipan Zeiss, Apochromat 40 (0,65), Okular Zeiss Projektiv 4, zvětšení negativu 160, celkové po reprodukci 850 ×. Zelený filtr Agfa BG 4. Foto Ing. J. V a v á k.

Obr. 1—16. Karyotexis.

Obr. 17. Postupné rozptýlení chromatinu—karyoskedasis.

Obr. 4, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 15. „Pučení“ jádra.

Obr. 2, 4, 6, 8, zvl. 5. Jemné nitě spojující „pupen“ s jádrem.

Obr. 1, 10, 16. Tvoření „satelitů“ na kapkách chromatinu.

## Nové knihy

The natural history of Juan Fernandes and Easter Island. Edited by C. Skottsberg Vol. I. Geography, Geology, Origin of Island life. Vol. II. Botany. Vol. III. Zoology.—Uppsala 1920—1956, 2086 p., 150 pl., cena 525 šv. kor.

D a w s o n, W. J.: Plant diseases due to Bacteria.—University Press, Cambridge 1957. 232 p., 44 fig., cena 32 sh.

E r i c h s e n, C. F. E.: Flechtenflora von Nordwestdeutschland. Herausgegeben von W. Christiansen. Für die Herausgabe durchgesehen von O. Klement und W. S a x e n. — Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1957, 441 p. Cena DM 48.

K r o k, Th. O. B. N., A l m q u i s t, S.: Svensk flora. I. Fanerogamer och ormbunksväxter. Utgiven av E. Almqvist. Textbilderna av C. A. M. Lindman. — Svenska Bokförlaget 1957, 403 p., 195 textfig. Cena 13 šv. k.

Der Stickstoff-Umsatz. Nitrogen Metabolism. Redigiert von K. Mothes. — Handbuch der Pflanzenanalyse — Encyclopedia of Plant Physiology. Band VIII. 1320 p., 44 Abb. Cena DM 286, v subskripci DM 228,80. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg 1957.

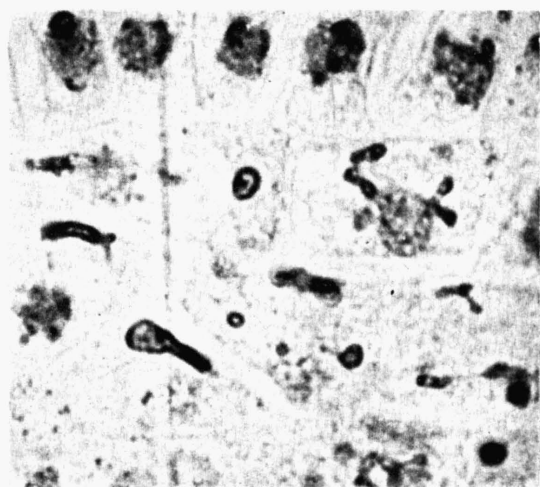
S c h m e i l — F i t s c h e n: Flora von Deutschland. — Ein Hilfsbuch zum Bestimmen der in Deutschland wildwachsenden und häufig angebaute Pflanzen. 67/68 Auflage, neu bearbeitet von H. Voerkerl und G. Müller. — VEB Gustav Fischer-Verlag, Jena 1957. 590 p., 1000 Abb. Cena 9 DM.

M i c h a e l — H e n n i g: Handbuch für Pilzfreunde. Band I. Die wichtigsten und häufigsten Pilze. — VEB Gustav Fischer, Jena. 220 p., 120 barevných tabulí, 20 vyobrazení v textu. Cena 28 DM.

B a c k e b e r g, C.: Handbuch der Kakteenkunde. Band I. Einleitung und Beschreibung der Peireskioideae und Opuntioideae. — VEB Gustav Fischer Jena 1957, 544 p., 620 obr. Cena 58 DM.

M a r s h a l l, N.: Tiefseebiologie (z angličiny přeložil G. Grümmer). — VEB Gustav Fischer-Verlag, Jena 1957, 334 p., 103 obr. v textu, 5 barevných tabulí. Cena 33 DM.

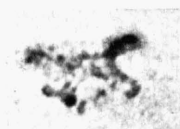




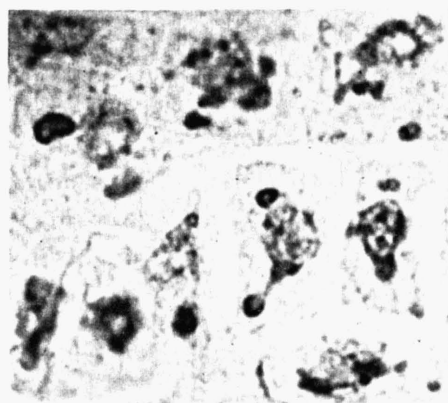
1



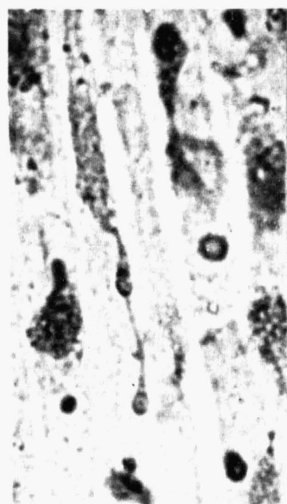
2



3



4



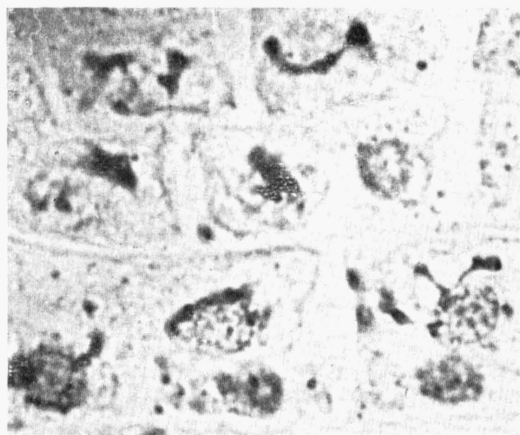
6



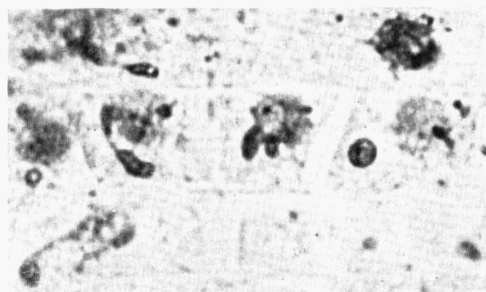
5



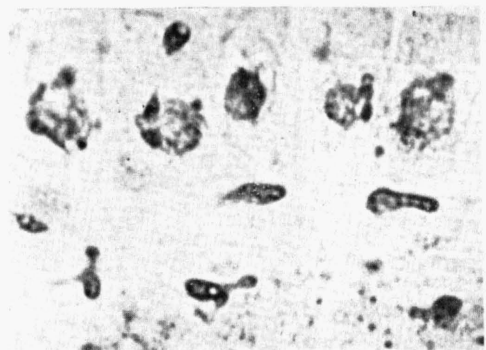
7



8



9



10



11



12



13



14



15



16

P. Milovidov: O umělém rozptylování chromatinu v rostlinné buňce.

