

V. Keilová - Klečková:

Příspěvek k fyziologii Bryophyt

Některé aminokyseliny jako zdroj dusíku a uhlíku a jejich vliv

Ústav pro fyziologii rostlin university Karlovy. Sběrka kultur ČSAV

Zástupci čeledi *Splachnaceae*, jak známo, jsou vázáni na substrát, hojně proycený organickými látkami (fekálie, zbytky odumřelých živočichů). Když jsem studovala otázku, co je příčinou zmíněné skutečnosti, sledovala jsem mimo jiné také asimilovatelnost organického dusíku zástupci této čeledi, ve srovnání s jinými druhy Bryophyt, které nejsou vázány na takovýto organický substrát. Při těchto pokusech jsem použila čistých kultur, abych vyloučila vliv metabolitů jiných organismů a sledovala jsem schopnost přijímati dusík ve formě anorganické a organické. Při těchto pokusech jsem konstatovala zajímavý kvalitativní i kvantitativní účinek některých aminokyselin. Zároveň s tímto problémem se vyskytla další otázka, kterou jsem také řešila, a to zda Bryophyta jsou schopna využívat aminokyselin i jako zdrojů uhlíku.

Metodika

Pokusný materiál: (čísla jsou evidenční čísla ve Sbírce).

- H119 (606) *Riccia fluitans* L. 17. 9. 1948, Blatná, leg: M. Keil.
 H88 (607) *Pellia Fabbriana* Raddi. 8. 4. 1948, Klíčava rivus ripula, leg: M. Keil.
 M1 (253) *Trematodon ambiguus* Hornsch. 12. 7. 1943, Žižov—Blatý distr. Veselí—Mezimostí, leg: V. Klečková.
 M40 (561) *Funaria hygrometrica* Sibth. 25. 5. 1947, Kutná Hora „Haldy“, leg: M. Keil.
 490 *Tetraplodon bryoides* Lindb. 16. 7. 1946, Koprova dolina, Vysoké Tatry, leg: V. Klečková.
 M7 (434) *Taylora tenuis* Schpr. 15. 6. 1946, Prášílské pleso — Gruberg, apud Jezerní potok, Šumava, leg: V. Klečková.
 M24 (431) *Splachnum sphaericum* L. 21. 7. 1946, lacus supra Morské oko, Vysoké Tatry, Polsko, leg: V. Klečková.
 M6 (513) *Splachnum ampullaceum* L. 13. 6. 1946, Gruberg—Seeburg, dextrorsum ad viam in Sphagneto in excremento equino, Šumava, leg: M. Keil.
 M37 (557) *Caliergon stramineum* Kindb. 26. 4. 1947, Jevany, leg: M. Keil.
 M53 (591) *Climacium dendroides* W. et M. 17. 9. 1947, Blatná, leg: M. Keil.

Všechny tyto druhy, s kterými jsem experimentovala, isoloval M. Keil.

Substráty

Jako základního živného roztoku jsem používala živného roztoku Beneckova, který bude nadále označován jako pH HL.

NH_4NO_3	0,2 g	MgSO_4	0,1 g
CaCl_2	0,1 g	$\text{FeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,005 g
KH_2PO_4	0,1 g	H_2O	1000 ml

NH_4NO_3 v tomto roztoku obsažený, byl zdrojem anorganického dusíku. Jako zdroje organického dusíku jsem používala aminokyselin. V tomto případě NH_4NO_3 byl nahrazen některou aminokyselinou.

Aminokyseliny, s nimiž jsem experimentovala:

Glykokol (označení půdy HLG)
Asparagin (označení půdy HLA)
 α -alanin (označení půdy HL α)
Tyrosin (označení půdy HLT)
Cystin (označení půdy HLC)

Aminokyseliny byly používány v centimolárních koncentracích. Jednotlivé pokusy trvaly jeden měsíc. Průměrná teplota udržovaná po dobu pokusů byla asi 20° C. Všechny mechy i játrovky byly pěstovány v roztocích. Pokusy byly prováděny ve zkumavkách světlosti 12 mm, zátkovanych vatovými zátkami. V každé zkumavce bylo po 15 ml roztoku a bylo naočkováno přibližně stejné inokulum. Během pokusů, až do jejich ukončení, nebyla žádná kultura infikována. Při řešení první otázky, to jest při sledování schopnosti přijímat dusík ve formě anorganické i organické, jsem používala k osvětlování kultur 100 Wt žárovky ze vzdálenosti 20 cm. Při řešení problému, zda jsou Bryophyta schopna využívat aminokyselin jako zdroje uhlíku, bylo nutné vyloučit možnost, aby si kultivované organismy opatřovaly stavební materiál fotosynteticky, proto jsem je pěstovala bez přístupu světla.

Vlastní pokusná část

(přijímání dusíku ve formě anorganické a organické)

V první řadě jsem paralelně naočkovala řadu mechů na minerální půdu HL (jako kontrolu) a na modifikovanou minerální půdu bez anorganického dusíku s přidavkem aminokyselin.

Jak je vidět z tabulky I. pro zkoumané druhy játrovek *Riccia fluitans* L. a *Pellia Fabroniana* Rad d i. a pro většinu zkoušených mechů akrokarpních, *Trematodon ambiguus* Horn s ch., *Funaria hygrometrica* Sib t h., *Tetraplodon bryoides* Lind b., *Splachnum sphaericum* L. ♂ a *Splachnum ampullaceum* L. ♂ byl glykokol podle množství vytvořené sušiny lepším zdrojem dusíku než NH_4NO_3 . Pro druh *Tayloria tenuis* Sch p r. byly glykokol a NH_4NO_3 rovnocennými zdroji dusíku. Pro mechy pleurokarpní *Caliergon stramineum* Kin d b. a *Climacium dendroides* W. et M. se ukázal vhodnějším zdrojem dusíku amoniumnitrát.

Asparagin jako vhodnější zdroj dusíku se ukázal u čtyř zkoumaných mechů akrokarpních, a to u: *Funaria hygrometrica* Sib t h., *Trematodon ambiguus* Horn s ch. ♀, *Splachnum ampullaceum* L. ♂ a u *Splachnum sphaericum* L. ♂. Pro druhy *Tetraplodon bryoides* Lind b., a *Tayloria tenuis* Sch p r. se ukázaly amoniumnitrát a asparagin rovnocennými zdroji dusíku. Dvěma zkoumaným druhům mechů pleurokarpních vyhovoval lépe dusík dodávaný ve formě amoniumnitrátu než asparaginu.

α -alanin jakožto zdroj dusíku byl vhodnější, vzhledem k množství vytvořené sušiny, pro druhy Bryophyt: *Riccia fluitans* L., *Funaria hygrometrica* Sib t h. a *Splachnum ampullaceum* L. ♂. Pro *Splachnum sphaericum* L. byl rovnocenným zdrojem s NH_4NO_3 a pro ostatní zkoušené druhy byl vhodnější amoniumnitrát.

Tyrosin byl pouze pro druh *Funaria hygrometrica* Sib t h. rovnocenným zdrojem dusíku s amoniumnitrátem, pro ostatní druhy se zásadně jevil jako méně vhodný zdroj dusíku než NH_4NO_3 .

Cystin byl rovnocenným zdrojem dusíku s amoniumnitrátem pro druhy *Riccia fluitans* L. a pro *Funaria hygrometrica* Sib t h. Pro ostatní druhy se ukázal jako méně vhodný zdroj než NH_4NO_3 .

Protože v přirozeném prostředí je možnost, že mech přichází do styku s glycidy, byly tyto pokusy provedeny souběžně stejně, avšak s přidavkem 2% glukosy.

Označení půd: HLG + glukosa GG

HLA + glukosa GA

HL α + glukosa G α

HLT + glukosa GT

HLC + glukosa GC

(Kontrola v tomto případě: minerální roztok HL + 2 % glukosy G.)

Z tabulky II. je patrné, že přidáním glukosy se u některých druhů, ovšem pouze v kombinaci s některými druhy aminokyselin, podstatně zvýšil poměr vytvořené sušiny vůči kontrole s glukosou, než byl poměr vytvořené sušiny na minerálních půdách s týmiž aminokyselinami vůči kontrole minerální.

Při kombinaci glykokolu s glukosou se zvýšil poměr produkce sušiny u druhů *Riccia fluitans* L., *Pellia Fabbroniana* Raddi., *Trematodon ambiguus* Hornsch. ♀, *Funaria hygrometrica* Sibth., *Tetraplodon bryoides* Lindb., *Splachnum ampullaceum* L. ♂ a *Splachnum sphaericum* L. ♂. U druhů *Tayloria tenuis* Schpr., *Climacium dendroides* W. et M. a *Caliergon stramineum* Kindb. zůstal poměr vytvořené sušiny v serii pokusů s glukosou i bez glukosy stejný.

Kombinace asparaginu s glukosou zvýšila poměr produkce sušiny u druhů *Trematodon ambiguus* Hornsch ♀, *Tetraplodon bryoides* Lindb., *Splachnum ampullaceum* L. ♂ a *Splachnum sphaericum* L. ♂, kdežto u druhů *Riccia fluitans* L., *Pellia Fabbroniana* Raddi., *Tayloria tenuis* Schpr., *Caliergon stramineum* Kindb. a *Climacium dendroides* W. et M. přidání glukosy nemělo vliv na poměr produkce sušiny.

Byla-li glukosa přidána do půd s α -alaninem, zvýšil se poměr produkce sušiny pouze u druhu *Splachnum ampullaceum* L. ♂, kdežto u ostatních zkoumaných druhů zůstal poměr nezměněn. Rovněž nezměněn zůstal poměr vytvořené sušiny v případech tyrosinu a cystinu.

K přesnějšímu vyjádření výsledků pokusů uvádím váhu sušiny z pokusů s kulturami *Splachnum sphaericum* L. ♂ a *Splachnum ampullaceum* L. ♂. Kontrola byla uvažována jako 100 %.

Vliv aminokyselin jakožto morfogenních faktorů na některé druhy zkoumaných Bryophyt

Jakožto morfogenní faktor působily některé aminokyseliny na růst jatrovky *Riccia fluitans* L. Na půdách s asparaginem, glykokolem, α -alaninem a tyrosinem se stélka jatrovky rozrůstala takto: Původní inokulum prakticky vůbec nerostlo, ale na celém povrchu stélky začaly vyrůstat krátké, tenké útvary. Původní část naočkované stélky asi po patnácti dnech vždy odumřela, kdežto tenké výrůstky zůstávaly živé až do ukončení pokusů. Byla-li k půdě s asparaginem přidána glukosa, nerozrůstala se stélka *Riccie* do délky, ale tvořila nahloučené vějířky. Asi po patnácti dnech zastavila tato vějířkovitě rozrostlá stélka růst a rozpadla se na množství rozmnožovacích tělísek. (Tento zajímavý zjev byl opublikován v roce 1951: V. Keilová - Klečková and M. Keil: 10) Podobný zjev byl pozorován na půdě s tyrosinem a glukosou. Přidala-li jsem glukosu k půdě s glykokolem a α -alaninem, rostly stélky normálním způsobem jako v přírodě. Zajímavý byl také vliv cystinu. V substrátě s cystinem se sice stélka rozrůstala zcela normálním způsobem, zato však byla změněna její barva, která byla nápadně modrozelená.

Zajímavé chemomorfosy vytvořilo také *Splachnum ampullaceum* L. ♂ na půdách s α -alaninem. Vytvořené gametofyty na těchto půdách byly průměrně 3 mm dlouhé, fyloidy byly malé, ve velmi nepatrných vzdálenostech od sebe. Vytvořily se vždy shluky gametofytů, které byly hustě obrostlé protonematy. Barva kultury byla sivě zelená, ačkoli obvyklá barva kultur bývá trávově zelená.

Vlastní pokusná část

(Aminokyseliny jako zdroje uhlíku)

Řada Bryophyt byla naočkována na minerální půdu (HL), která sloužila jako kontrola. Paralelně byly tytéž kultury naočkovány na tutéž minerální půdu, ke které byly přidávány aminokyseliny. Hned po naočkování byly pokusy přeneseny do tmy.

Jak patrně z tabulky IV., v kontrole, tedy na minerální půdě bez přístupu světla, nebyl zaznamenán v žádném případě prokazatelný růst. Na půdách s glykokolem pouze u tří druhů mechů a to u *Trematodon ambiguus* H o r n s c h., *Funaria hygrometrica* S i b t h. a *Tayloria tenuis* S c h p r. byl prokazatelný růst, tedy pouze tyto tři druhy měly schopnost do určité míry využívat glykokolu jako zdroje uhlíku, zatím co u ostatních zkoumaných druhů tato schopnost prokázána nebyla.

Asparaginu jako zdroje uhlíku měly schopnost využít pouze dva druhy, a to *Funaria hygrometrica* S i b t h. a *Tayloria tenuis* S c h p r., u nichž byl zřetelný růst protonemat. U ostatních zkoumaných druhů nenastal postřehnutelný růst inokula.

α -alaninu a tyrosinu měla schopnost využít pouze *Funaria hygrometrica* S i b t h., u níž rostla protonemata, kdežto u ostatních zkoumaných druhů tato schopnost zaznamenána nebyla.

Cystinu, jakožto zdroje uhlíku pro růst ve tmě, neměl schopnost využít žádný ze zkoumaných druhů.

Poněvadž je známo, že poměrně vhodným zdrojem uhlíku a tedy i zdrojem energie je glukosa, byla sestavena řada pokusů, kde k minerální půdě bylo přidáno 2 % glukosy (půda G sloužící v této serii pokusů jako kontrola) a paralelně s ní řada, kde mimo glukosy byly přidány ještě aminokyseliny.

Glukosa přidávaná do půd se ukázala vhodným zdrojem uhlíku a energie pro růst některých druhů Bryophyt bez přístupu světla. Stélka *Riccia fluitans* L. se rozrůstala normálním větvením, druhy mechů *Trematodon ambiguus* H o r n s c h., *Funaria hygrometrica* S i b t h., *Tayloria tenuis* S c h p r., *Splachnum ampullaceum* L. a *Splachnum sphaericum* L. tvořily mimo množství protonemat, které se v některých případech později měnily v rhizoidy, i gametofyty. Kultura *Tetraplodon bryoides* L i n d b. tvořila protonemata. Pouze druh jatrovky *Pellia Fabbriana* R a d d i. a druhy mechů pleurokarpních *Caliergon stramineum* K i n d b. a *Climacium dendroides* W. et M. ve tmě na půdách s glukosou nerostly.

Byl-li do půd s glukosou přidán glykokol, ukázal se zajímavý zjev. Ty druhy, které byly schopny ve tmě využít glykokolu jako zdroje uhlíku, tedy *Trematodon ambiguus* H o r n s c h., *Funaria hygrometrica* S i b t h. a *Tayloria tenuis* S c h p r. rostly také na půdách, ve kterých byla mimo glykokolu také glukosa. Jejich růst však byl proti kontrole zbrzděn. Ty druhy však,

které nerostly na půdách s glykokolem (HLG), to znamená *Riccia fluitans* L., *Tetraplodon bryoides* Lindb., *Splachnum ampullaceum* L. a *Splachnum sphaericum* L., nerostly také na půdách s glykokolem a glukosou, přesto, že na půdách s glukosou bez glykokolu rostly dobře. Glykokol tady zřejmě působí na některé druhy Bryophyt ve tmě inhibičně.

Na půdách s asparaginem se ukázal podobný zjev jako na půdách s glykokolem jen s tím rozdílem, že inhibiční účinek asparaginu nebyl tak mohutný jako glykokolu, takže i některé druhy, které nebyly schopny využít asparaginu jako zdroje uhlíku (*Trematodon ambiguus* Hornsch., *Splachnum ampullaceum* L. a *Splachnum sphaericum* L.), mohly využít částečně glukosy jako zdroje uhlíku a vykázaly tedy růst na půdách GA, který však byl přítomností asparaginu brzděn, vzhledem k růstu těchto druhů na půdách s pouhou glukosou. Pro druhy *Riccia fluitans* L. a *Tetraplodon bryoides* Lindb., které také nedovedly využít asparaginu jako zdroje uhlíku, byl asparagin tak mohutným inhibitorem, že přestože tyto druhy na půdě s pouhou glukosou rostly, byla-li k této půdě přidán asparagin, nebyl u inokula zjištěn prokazatelný růst. Druhy *Pellia Fabbriana* Radcl., *Climacium dendroides* W. et M. a *Caliergon stramineum* Lindb. na těchto půdách nerostly.

α -alanin, který *Riccia fluitans* L. nedovedla využít jako zdroje uhlíku, měl tak silný inhibiční vliv pro tento druh, že *Riccia* nerostla, ani byla-li k půdě s α -alaninem glukosa přidána přesto, že na půdě s pouhou glukosou rostla. *Splachnum ampullaceum* L. a *Splachnum sphaericum* L. nedovedly také α -alaninu využít jako zdroje uhlíku, přece však s přidavkem glukosy rostly, růst však byl silně brzděn přítomností α -alaninu vzhledem k růstu kultur na půdě s glukosou.

Na půdách s tyrosinem a glukosou vykazovaly nepatrný růst protonemat *Splachnum ampullaceum* L. a *Splachnum sphaericum* L., které sice nedovedly využít tyrosinu jako zdroje uhlíku, přece však byly schopny využít i při silném inhibičním účinku tyrosinu malé množství energie z glukosy, takže byl zaznamenán, i když v malé míře, přece jen zřetelný růst. *Funaria hygrometrica* Sibth., která dovedla získat z tyrosinu energii k růstu protonemat, v přítomnosti tyrosinu a glukosy, pro značné inhibiční účinky tyrosinu nerostla vůbec, přesto, že na půdách s pouhou glukosou rostla dobře.

Cystin vykázal menší inhibiční účinky, takže zkoumané druhy, které nedovedly cystinu využít jako zdroje uhlíku, na půdách s cystinem a glukosou mohly částečně využít glukosy jako zdroje energie a vykazovaly na těchto půdách růst, i když silně zbrzděný vzhledem k růstu kontroly.

Diskuse

Při řešení problému, je-li dusík mechy lépe přijímán ve formě organické či anorganické, používala jsem jako organického zdroje dusíku aminokyselin. Zjistila jsem, že některé zkoumané druhy Bryophyt rostly lépe na půdě, do níž byly přidány aminokyseliny. Růst se jevil lepší jak co do kvantity, tak co do kvality, to znamená, že gametofyty byly lépe vyvinuty, v některých případech dosahovaly narostlé trsy i luxuriantních forem. Je tedy zřejmé, že těm druhům mechů, které rostly kvantitativně i kvalitativně lépe na půdách s aminokyselinami než na půdách s NH_4NO_3 , vyhovoval lépe dusík dodávaný ve formě aminokyselin, než ve formě amoniumnitrátu.

Markantnější ještě byly rozdíly, byla-li do půd mimo aminokyselin přidána glukosa, jak je zřejmé z vyčíslení přírůstku sušiny v předchozích tabulkách.

Již mnozí starší autoři zjistili, že přidá-li se do půdy jako zdroj uhlíku a energie glukosa, rostou kultury nepoměrně lépe. S e r v e t t a z (18) tvrdí, že pro druh mechu *Phascum cuspidatum* byla glukosa cenným zdrojem uhlíku, nepřekročila-li však koncentraci 1 %. Snad tento výsledek platí pouze pro druh *Phascum cuspidatum*, poněvadž jsem při svých předběžných pokusech zjistila, že druhy Bryophyt mnou zkoumané rostly v koncentraci 2% glukosy mohutněji, než v koncentraci 1%. K stejným výsledkům došel i R o b b i n s (15), který pracoval s druhem mechu *Ceratodon purpureus*.

Pro většinu druhů Bryophyt, s kterými jsem experimentovala, se nejlépe osvědčil jako organický zdroj dusíku glykokol, při jehož dodání do půdy byly u většiny zkoumaných druhů Bryophyt nejlepší přírůstky sušiny. S. A l g e u s (1), který pracoval s řasou *Chlorella vulgaris* a *Scenedesmus obliquus* zjistil také, že je glykokol pro tyto řasy nejen vhodným zdrojem dusíku, nýbrž i zdrojem uhlíku. Hned na druhé místo po glykokolu lze zařadit asparagin. M. L i l i e n s t e r n o v á (11), která pracovala s čistou kulturou jatrovky *Marchantia polymorpha* zjistila, že také pro tento druh je asparagin velmi vhodným zdrojem dusíku. Při přidání α -alaninu byly také produkce sušiny u některých kultur vyšší než na půdě s amoniumnitrátem, nikdy však nedosáhla tak velkého množství jako na půdách s glykokolem a asparaginem. Zajímavé však bylo, že některé druhy Bryophyt pěstované na půdě s α -alaninem i s jinými aminokyselinami, tvořily typické chemomorfosy. Že aminokyseliny, přidané do živných půd vyvolávají různé chemomorfosy, ukazují také práce R. A. S t e i n b e r g a, který pracoval s čistými kulturami tabáku a zjistil, že aminokyseliny přidané do živných půd způsobují morfosy na tabákových rostlinkách. Tyrosin se ve většině případů ukázal nevhodným zdrojem dusíku. Cystin byl pro některé druhy rovnocenným zdrojem dusíku s amoniumnitrátem, pro některé však byl méně vhodný než amoniumnitrát.

Amoniumnitrát byl zásadně vhodnější než aminokyseliny pouze pro dva druhy mechů, patřících k mechům pleurokarpním a to pro druh *Caliergon stramineum* K i n d b. a *Climacium dendroides* W. et M. P r i n g s h e i m (13, 14) však uvádí, že pro *Leptobryum pyriforme* (L.) B r i d. byl také vhodnější dusík vázaný ve formě nitrátu než ve formě aminokyselin.

Působení aminokyselin na druhy Bryophyt, s kterými jsem experimentovala, bylo pro jednotlivé druhy značně specifické a nelze je nikterak zevšeobecnit.

Při řešení druhého problému, zda totiž mohou zkoumané druhy Bryophyt využívat aminokyselin jako zdrojů uhlíku pro růst ve tmě, se ukázalo, že některé druhy Bryophyt jsou schopny využívat aminokyselin jakožto zdrojů uhlíku. Aminokyseliny jsou však zřejmě zdroji uhlíku málo vhodnými, poněvadž množství sušiny, vytvořené ve tmě za přítomnosti aminokyselin bylo velmi malé. Poněvadž při předběžných pokusech se ukázala vhodným zdrojem uhlíku glukosa, byla řada Bryophyt naočkována na půdu s glukosou (2%). Paralelně byly též kultury naočkovány na tutéž minerální půdu s glukosou, ale ještě s přidavkem aminokyselin. Výsledky pokusů ukázaly, že glukosa je skutečně vhodnějším zdrojem uhlíku pro růst ve tmě, než aminokyseliny, poněvadž druhy *Trematodon ambiguus* H o r n s c h., *Funaria hygrometrica* S i b t h., *Tayloria tenuis* S c h p r., *Splachnum ampullaceum* L. a *Splachnum sphaericum* L. vytvořily na této půdě nejen množství protonemat, ale i gametofytů. E. G. Pringsheim a O. Pringsheimová ve své práci (6), ve které pracovali s druhy mechů *Ceratodon purpureus* (L.) B r i d., *Funaria hygrometrica* S i b t h

a *Leptobrium piriforme* (L.) S c h r., které kultivovali trvale ve tmě a jako zdroje uhlíku používali cukr, uvádí, že jim jmenované druhy mechů rostly stále jen ve stadiu protonemat a z toho vyvozují, že k tvorbě mechových rostlinek je nezbytné světlo. Pokusy v této studii popisované však ukázaly, že některé druhy mechů na půdách s glukosou ve tmě gametofyty vytvořily, což také potvrzuje práce M. Keila (3).

Přidané aminokyseliny do půdy s glukosou se však ukázaly při kultivaci ve tmě jako znační inhibiční činitelé, poněvadž množství vytvořené sušiny na půdách s glukosou bylo v některých případech několikanásobně větší než na půdách s aminokyselinami. V mnoha případech byly inhibiční účinky tak značné, že některé druhy, které na půdách s glukosou rostly poměrně dobře, na půdách s glukosou a aminokyselinami nerostly vůbec.

S o u h r n

V zásadě možno říci, že nejvhodnějším zdrojem organického dusíku pro zkoumané druhy zástupců jatrovek a mechů pleurokarpních (*Riccia fluitans* L., *Pellia Fabroniana* R a d d i., *Trematodon ambiguus* Hornsch., *Funaria hygrometrica* Sibth., *Tetrahodon bryoides* Libd., *Tayloria tenuis* Schpr., *Splachnum ampullaceum* L., *Splachnum sphaericum* L.) byl glykolem, který buď podstatně zvyšoval produkci sušiny oproti kontrole s dusíkem anorganickým, nebo byl rovnocenným zdrojem dusíku s NH_4NO_3 .

Totéž možno říci o asparaginu a α -alaninu, které se ukázaly také vhodnějšími zdroji dusíku než NH_4NO_3 pro výše jmenované druhy Bryophyt. Výjimku zde tvořila *Pellia Fabroniana* R a d d i., pro kterou se ukázal asparagin zdrojem nevhodným. Tyrosin se jevil, podle výsledků pokusů, zásadně méně vhodným zdrojem pro zkoumané druhy než NH_4NO_3 . Cystin byl méně vhodný pro druhy rodu *Splachnum*, zatím co pro *Riccia fluitans* L. a *Funaria hygrometrica* Sibth. byl zdrojem rovnocenným s NH_4NO_3 .

Přidáním glukosy k půdám s aminokyselinami se u některých druhů, ovšem pouze v kombinaci s některými aminokyselinami, podstatně zvýšil poměr produkce sušiny oproti půdám s týmiž aminokyselinami bez glukosy. V některých případech nemělo přidání glukosy žádný vliv na poměr vytvořené sušiny.

Zásadní výjimku ze zkoumaných druhů Bryophyt tvořily zástupci rodů mechů pleurokarpních *Caliergon stramineum* Kindb. a *Climacium dendroides* W. et M., u nichž ve všech případech se ukázal vždy vhodnějším zdrojem dusíku NH_4NO_3 , kdežto aminokyseliny zdroji nevhodnými.

Některé aminokyseliny se ukázaly jako morfogenní činitelé pro některé druhy zkoumaných Bryophyt. Morfologické změny byly vyvolány asparaginem, glykokolem, α -alaninem, tyrosinem a cystinem u jatrovky *Riccia fluitans* L. Přidáním glukosy však byl paralysován morfogenní účinek glykoku, α -alaninu a cystinu. α -alanin vyvolal chemomorfozy u druhu *Splachnum ampullaceum* L.

V zásadě působení aminokyselin na zkoumané druhy Bryophyt bylo pro jednotlivé druhy specifické a nelze je nikterak zevšeobecnit.

Některé druhy Bryophyt, s kterými bylo experimentováno, byly schopny využívat některé z dodávaných aminokyselin jako zdrojů uhlíku pro růst ve tmě. *Trematodon ambiguus* Hornsch. využíval glykoku, *Funaria hygrometrica* Sibth. glykoku, asparaginu, α -alaninu a tyrosinu, *Tayloria tenuis* Schpr. glykoku a asparaginu. Ostatní zkoumané druhy Bryophyt tuto schopnost postrádaly.

Vhodným zdrojem uhlíku pro většinu zkoumaných druhů se ukázala glukosa a byly to pouze druhy *Pellia Fabroniana* R a d d i., *Caliergon stramineum* Kindb. a *Climacium dendroides* W. et M., které bez přístupu světla nerostly v žádném případě, tedy ani za přítomnosti glukosy. Některé druhy mechů na substrátech s glukosou vytvářely mimo protonemat a rhizoidů i gametofyty. Byly-li ke glukosovým půdám přidávány aminokyseliny, byl růst inokula značně brzděn, v některých případech byla inhibiční schopnost tak velká, že i když na půdách s glukosou kultura poměrně dobře rostla, byla-li přidána některá z aminokyselin, nebyl růst vůbec prokazatelný.

Tabulka I.

Půdy	<i>Riccia fluitans</i>	<i>Pellia fabroniana</i>	<i>Trematodon ambiguus</i>	<i>Funaria hygrometrica</i>	<i>Tetraplodon bryoides</i>	<i>Tayloria tenius</i>	<i>Splachnum ampullaceum</i>	<i>Splachnum sphaericum</i>	<i>Caliergon stramineum</i>	<i>Climacium dendroides</i>
HLG	1,5	stejně	2	2	1,5	stejně	2	2	0,1	0,2
HLA	stejně	—	3	2	stejně	stejně	1,5	2	0,5	0,5
HLx	2	∅	∅	2	∅	∅	1,5	stejně	∅	∅
HLT	0,2	∅	∅	stejně	∅	∅	—	—	∅	∅
HLC	stejně	∅	∅	stejně	∅	∅	0,5	0,5	∅	∅

V tabulce je vyjádřené množství sušiny vytvořené na půdách s aminokyselinami vzhledem ke kontrole. Číslice v tabulce udávají, kolikrát větší nebo menší byla sušina oproti kontrole. — u inokula nebyl zjištěn růst.

Tabulka II.

Půdy	<i>Riccia fluitans</i>	<i>Pellia fabroniana</i>	<i>Trematodon ambiguus</i>	<i>Funaria hygrometrica</i>	<i>Tetraplodon bryoides</i>	<i>Tayloria tenius</i>	<i>Splachnum ampullaceum</i>	<i>Splachnum sphaericum</i>	<i>Caliergon stramineum</i>	<i>Climacium dendroides</i>
GG	2	1,5	3	5	5	stejně	4	5	0,1	0,2
GA	stejně	—	4	2	3	stejně	2	3	0,5	0,5
Gx	2	∅	∅	2	∅	∅	2	stejně	∅	∅
GT	0,2	∅	∅	stejně	∅	∅	—	—	∅	∅
GC	stejně	∅	∅	stejně	∅	∅	0,5	0,5	∅	∅

V tabulce je vyjádřené množství sušiny, vytvořené na půdách s aminokyselinami a glukosou vzhledem ke kontrole. Číslice udávají, kolikrát větší nebo menší byla sušina oproti kontrole. — u inokula nebyl zjištěn růst.

Tabulka III.

Amino- kyseliny	<i>Riccia fluitans</i>	<i>Pellia Fabroniana</i>	<i>Trematodon ambiguus</i>	<i>Funaria hygrometrica</i>	<i>Tetraplodon bryoides</i>	<i>Tayloria tenius</i>	<i>Splachnum ampullaceum</i>	<i>Splachnum sphaericum</i>	<i>Caliergon stramineum</i>	<i>Climacium dendroides</i>
glykokol půda GG	●	●	●	●	●	○	●	●	○	○
asparagin půda GA	○	○	●	○	●	○	●	●	○	○
α alanin půda Gα	○	/	/	○	/	/	●	○	/	/
tyrosin půda GT	○	/	/	○	/	/	○	○	/	/
cystin půda GC	○	/	/	○	/	/	○	○	/	/

Vliv přidání glukosy na poměr vytvořeného množství sušiny na půdách s aminokyselinami.

○ Stejný poměr vytvořené sušiny na půdách s aminokyselinami jak s glukosou, tak bez glukosy.

● Zvýšený poměr vytvořené sušiny na půdách s aminokyselinami a s glukosou.

Splachnum sphaericum L. ♂

Roztoky	Váha sušiny		Produkce sušiny vyjádřená v % vzhledem k HL
HL	3,4 mg		100
HLA	5,1 mg		150
HLG	7,3 mg		214
		Vzhledem k sušině na G	
G	96,6 mg	100 %	2814
GA	305,5 mg	316 %	8985
GG	360,1 mg	363 %	10591

Splachnum ampullaceum L. ♂

Roztoky	Váha sušiny		Produkce sušiny vyjádřená v ‰ vzhledem k HL
HL	18,0 mg		100
HLA	22,9 mg		127,2
HLG	35,9 mg		199,4
HL α	25,1 mg		139,4
HLT	9,2 mg		51,1
HLC	10,9 mg		60,5
		Vzledem k sušině na G	
G	137,0 mg	100 ‰	761
GA	266,7 mg	194 ‰	1481
GG	414,1 mg	302,2 ‰	2300
G α	230,0 mg	167,8 ‰	1277
GT	9,0 mg	6,5 ‰	50
GC	78,8 mg	57,4 ‰	437

Tabulka IV.

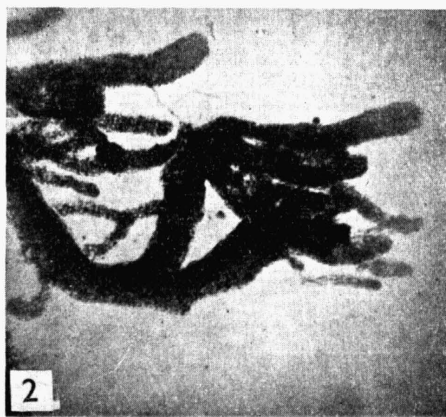
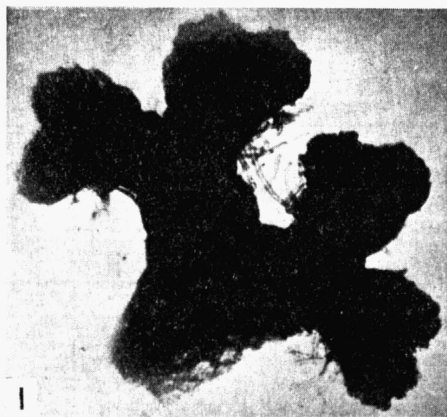
Půdy	<i>Riccia fuitans</i>	<i>Pellia Fabroniana</i>	<i>Trematodon ambiguus</i>	<i>Funaria hygrometrica</i>	<i>Tetraplodon bryoides</i>	<i>Tayloria tenius</i>	<i>Splachnum ampullaceum</i>	<i>Splachnum sphaericum</i>	<i>Caliergon stramineum</i>	<i>Climacium dendroides</i>
HL	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HLG	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—
HLA	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—
HL α	—	Ø	Ø	+	Ø	Ø	—	—	Ø	Ø
HLT	—	Ø	Ø	+	Ø	Ø	—	—	Ø	Ø
HLC	—	Ø	Ø	—	Ø	Ø	—	—	Ø	Ø

Růst Bryophyt na půdách s aminokyselinami ve tmě.

+ prokazatelný růst, — růst inokula nebyl prokazatelný.

Půdy	<i>Riccia fluitans</i>	<i>Pellia Fabbrianiana</i>	<i>Trematodon ambiguus</i>	<i>Funaria hygrometrica</i>	<i>Tetraplodon bryoides</i>	<i>Tayloria tenuis</i>	<i>Splachnum ampullaceum</i>	<i>Splachnum sphaericum</i>	<i>Caliergon stramineum</i>	<i>Climacium dendroides</i>
G	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—
GG	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—
GA	—	—	+	+	—	+	+	+	—	—
Gx	—	∅	∅	+	∅	∅	+	+	∅	∅
GT	—	∅	∅	—	∅	∅	+	+	∅	∅
GC	+	∅	∅	+	∅	∅	+	+	∅	∅

Růst Bryophyt na půdách s glukosou a aminokyselinami ve tmě.
 + prokazatelný růst, — růst inokula by neprokazatelný



Obr. 1. *Riccia fluitans* L. — stélka *Riccie* v minerálním prostředí (normální vzhled stélky).

Obr. 2. *Riccia fluitans* L. — v prostředí s α -alaninem, krátké, tenké útvary, které v tomto prostředí vyrůstaly na původně naočkovaném inokulu.

Jako doklady svých pokusů jsem z materiálu vyrostlého v pokusech pořídila exsikáty, z kterých předkládám několik fotografií.

Tab. XI., obr. 1. *Riccia fluitans* L. — z fotografie je zřejmý rozdílný růst *Riccie* na půdách s různými aminokyselinami. Tento rozdíl je patrný nejen na vzhledu stélky, ale také na množství narostlé sušiny. Ještě markantnější se projevuje tento rozdíl množství sušiny v serii, kde do půd mimo aminokyselin byla přidána ještě glukosa. Poměrně dobře je také patrný případ na půdě GA, kdy rozrostlá stélka zastavila svůj růst a rozpadla se na množství rozmnožovacích tělísek.

Tab. XI., obr. 2. *Splachnum ampullaceum* L. — je patrný značný přírůstek sušiny, hlavně na půdách s aminokyselinami a s glukosou. Na půdách GA a GG je značně zvýšena také tvorba protonemat.

Tab. XII., obr. 3. *Funaria hygrometrica* Sibth. — Rozdíly v množství vytvořené sušiny jsou na různých půdách značně nápadné.

Tab. XII., obr. 4. *Splachnum sphaericum* L. — Velmi markantní jsou rozdíly v množství sušiny vytvořené na půdách s aminokyselinami a s glukosou, kde se mimo gametofytů vytvořila také hustá spleť protonemat.

Tab. XIII., obr. 5. *Splachnum ampullaceum* L. — kultury pěstované bez přístupu světla. Na půdě G se vytvořily dlouhé, etiolované, prakticky bezlisté (listy zredukované pouze na několikabuněčné šupiny) gametofyty. Na půdě GA rostla protonemata.

Tab. XIII., obr. 6. *Splachnum sphaericum* L. — kultury ze tmy. Na půdách s aminokyselinami bez glukosy nebyl zaznamenán prakticky žádný růst. Na půdě G rostla nejen protonemata, ale také gametofyty. Na ostatních půdách s různými aminokyselinami a glukosou rostla protonemata.

Tab. XIII., obr. 7. *Tayloria tenuis* Sch p r. — kultury pěstované ve tmě. Na půdách s aminokyselinami a glukosou rostla protonemata.

Literatura

1. Algéus S. (1949): Alanine as a Source of Nitrogen for Green Algae — *Physiologia Plantarum* 2 (3) : 266—271.
2. Algéus S. (1948): Glycocoll as a Source of Nitrogen for *Scenedesmus obliquus*. — *Physiologia Plantarum* 1 : 65—84.
3. Algéus S. (1948): Utilisation of Glycocoll by *Chlorella vulgaris*. — *Physiologia Plantarum* 1 : 236—244.
4. Algéus S. (1949): Demination of Glycocoll by *Scenedesmus obliquus* in Intermittent Light. — *Physiologia Plantarum* 2 : 145.
5. Braunštejn A. E. (1949): Biochimia aminokyslotnoge obmena. — Izd. Akad. Med. Nauk SSSR, Moskva.
6. Burkholder P. R., Castle H. and Smith P. H. (1948): Studies on the Nutrition of the Moss *Catharina undulata* (L.) Web. f. and Mohr. — Paper presented before AAAS meetings, Washington, D. C. Sept. 1948. Citace podle: Sanders M. E., Burkholder P. R. (1948): Influence of Amino Acids on Growth of *Datura* Embryos in Culture. — *National Academy of sciences* 34 (11) : 516—526.
7. Garjeanne A. J. M. (1932): Manual of Bryology: 216—217.
8. James W. O. (1949): The Amino-Acids Precursors of the *Belladonna* Alkaloids. — *New Physiologist* 48 (2) : 172—185.
9. Keil M. (1949): The Origin of Gametophytes in Cultures without Acces of Light. — *Experimentia* V. (5) : 206.
10. Keilová-Klečková V., Keil M. (1951): A new type of vegetative propagation of *Riccia fluitans* L. — *Studia Botanica Českoslova* 12 (4) : 261—262.
11. Liliensternová M. (1928): Physiologische Untersuchungen über *Marchantia polymorpha* in Reinkultur. — *Ber. d. deutsch. bot. Gesell.* 46 : 370—383.
12. Prát S., Minassian B. (1929): Über die Stoffaufnahme und Wasserabgabe bei Moosen. — *Protoplasma* 5 : 161—167.
13. Pringsheim E. G. (1921): Physiologische Studien an Moosen. — *Jahrb. für wissenschaftl. Bot.* 60 (4) : 500—530.
14. Pringsheim E. G., Pringsheim O. (1936): Physiologische Studien an Moosen. — *Jahrb. f. Botanik* 82 (2) : 311—332.

15. Robbins W. J. (1918): Direct Assimilation of organic Carbon by *Ceratodon purpureus*. — Botanical Gazette 65 : 543—551.
16. Sanders M. E., Burkholder P. R. (1948): Influence of Amino Acids on growth of *Datura* embryos in culture. — National Academy of Sciences 34 (11) : 516—526.
17. Schoene K. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Laubmoossporen und zur Biologie der Laubmoosrhizoiden. — Flora 96 : 276—321.
18. Servettaz C. (1913): Recherches experimentales sur développement et la nutrition des mousses en milieux stérilisés. — Ann. sc. nat. Bot. 9 (17) : 111—224.
19. Uebisch v. G. (1913): Sterile Mooskulturen. — Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 31 : 543—552.

V. Keilová - Klečková:

Beiträge zur Physiologie der Bryophyten

Einige Aminosäuren als Stickstoff- und Kohlenstoffquellen und ihr Einfluss

Grundsätzlich lässt sich sagen, dass für die untersuchten Arten von Lebermoosen und pleurokarpen Moosen (*Riccia fluitans* L., *Pellia Fabbriana* Raddi., *Trematodon ambiguus* Hornsch., *Funaria hygrometrica* Sibth., *Tetraplodon bryoides* Ldb., *Tayloria tenuis* Schpr., *Splachnum ampullaceum* L., *Splachnum sphaericum* L.) Glykokoll die geeignetste organische Stickstoffquelle darstellt. Im Vergleich mit Kontrollversuchen, in welchen anorganischer Stickstoff zur Anwendung kam, erhöhte jenes die Produktion von Trockensubstanz beträchtlich oder erwies sich mindestens als eine dem NH_4NO_3 gleichwertige Stickstoffquelle.

Dasselbe gilt für Asparagin und α -Alanin, welche für die obgenannten Bryophytenarten ebenfalls geeignetere Stickstoffquellen darstellen als NH_4NO_3 . *Pellia Fabbriana* Raddi., für welches sich Asparagin als ungeeignet erwies, bildete hier eine Ausnahme. Wie die Versuchsergebnisse zeigten, ist Tyrosin für die behandelten Arten weniger vorteilhaft als NH_4NO_3 . Cystin erwies sich für die Arten der Gattung *Splachnum* als weniger geeignet, während es für *Riccia fluitans* und *Funaria hygrometrica* als Stickstoffquelle dem NH_4NO_3 nicht nachstand.

Eine Zugabe von Glucose zu den Aminosäuren enthaltenden Nährböden hatte bei einigen Arten eine merkliche Steigerung des Verhältnisses der Trockensubstanzproduktion im Vergleich mit denselben Aminosäuren ohne Glucose zur Folge, natürlich nur in Kombination mit bestimmten Aminosäuren. In anderen Fällen hatte die Zugabe von Glucose keinen Einfluss auf das Verhältnis der gebildeten Trockensubstanz.

Eine grundsätzliche Ausnahme unter den Bryophytenarten, mit welchen experimentiert wurde, bilden die Vertreter der pleurokarpen Moose *Caliergon stramineum* Kindb. und *Climacium dendroides* W. et M., für welche NH_4NO_3 die vorteilhafteste Stickstoffquelle darstellte, während die Aminosäuren sich nicht bewährten.

Einige Aminosäuren erwiesen sich als morphogenetische Faktoren für einige der untersuchten Bryophytenarten. Beim Lebermoose *Riccia fluitans* L. wurden durch Asparagin, Glykokoll, α -Alanin, Tyrosin und Cystin morphologische Veränderungen hervorgerufen. Durch eine Zugabe von Glucose wurde aber die morphogenetische Wirkung von Glykokoll, α -Alanin und Cystin paralyisiert. α -Alanin rief bei der Art *Splachnum ampullaceum* L. Chemomorphosen hervor.

Der Einfluss der Aminosäuren auf die untersuchten Bryophytenarten ist für die einzelnen Arten spezifisch und kann nicht verallgemeinert werden.

Einige der Bryophytenarten, mit welchen experimentiert wurde, waren fähig, einige der verabreichten Aminosäuren als Kohlenstoffquelle für ihr Wachstum im Dunkeln auszunützen. Dies war bei *Trematodon ambiguus* Hornsch. für Glykokoll, bei *Funaria hygrometrica* Sibth. für Glykokoll, Asparagin, α -Alanin und Tyrosin, bei *Tayloria tenuis* Schpr. für Glykokoll und Asparagin der Fall. Die anderen untersuchten Bryophytenarten besaßen diese Fähigkeit nicht.

Eine geeignete Kohlenstoffquelle stellte für die Mehrzahl der untersuchten Arten die Glucose dar, nur die Arten *Pellia Fabbriana* Raddi., *Caliergon stramineum* Kindb. und *Climacium dendroides* W. et M. wuchsen in keinem Falle ohne Zutritt des Lichtes, also auch nicht bei Zugabe von Glucose. Einige Moosarten bildeten auf Glucose enthaltenden Substraten ausser Vorkeimen und Rhizoiden auch Gametophyten aus. Bei Zugabe von Aminosäuren zu Glucose enthaltenden Nährböden wurde das Inoculum in seinem Wachstum stark gehemmt. In manchen Fällen war diese Hemmwirkung so stark, dass nach Zugabe einer Aminosäure überhaupt kein nachweisbares Wachstum eintrat, auch wenn die Kultur auf nur Glucose enthaltenden Nährböden verhältnismässig gut gedieh.