

Bohumil Hlucho v s k ý a Vladimír S r b :

Vráskovitost povrchu listu se zřetelem ke svěracím buňkám průduchů.

Katedra biologie Vojenské lékařské akademie Jana Evangelisty Purkyně v Hradci Králové

Vráskovitost na povrchu listů rostlin je dnes už poměrně dobře známa (Němec 1930, Küster 1951 a j.) a byla velmi důkladně studována Kurerem (1917), Haberlandtem (1918) a později Martensem (1934). Její systematické studium je však technicky dosti obtížné a Martensovi se dařilo hlavně proto, že pro své pokusy vyhledával vhodné objekty, jako např. plátky korunní z poupat podeňky viržinské (*Tradescantia virginica* L.).

Tuto striaci na povrchu listu lze studovat buď přímým mikroskopickým pozorováním nebo na kolodiových replikách (Wolf 1954), avšak ani jedna z uvedených metod nepodává její přesný obraz. Při přímém pozorování listu vznikají v důsledku horšího osvětlení nejasné obrazy a rovněž i repliková metoda má určité specifické obtíže. Na řezaných preparátech vidíme zase pouhé zoubkovité nerovnosti a nemůžeme si učinit žádnou představu o jejich průběhu po ploše listu. Bylo tedy třeba vypracovat vhodný metodický postup, kterým by byla vráskovitost povrchu spolehlivě znázorněna. Tato metoda byla nalezena v barvení listů sudanem III, rozpuštěným v některých tukových rozpustidlech.

Materiál a metoda

Pokusným materiálem v naší práci byly listy jednadvaceti rostlin z osmnácti různých čeledí. Rostliny byly vybrány tak, aby zastupovaly nejen přízemní bylinné patro, ale i vegetaci keřovou a stromovou: *Acer pseudoplatanus* L. — klen (*Aceraceae*), *Aesculus hippocastanum* L. — jírovec madál (*Aesculaceae*), *Achillea millefolium* L. — řebríček obecný, *Arctium lappa* L. — lopuch větší, *Taraxacum officinale* W e b., ssp. *vulgare* (L a m.) S c h. T h e l l. — smetánka lékařská obecná (všechny *Asteraceae*), *Berberis vulgaris* L. — dřšťál obecný (*Berberidaceae*), *Capsella bursa pastoris* (L.) M e d. — kokoška pastuší tobolka (*Brassicaceae*), *Equisetum arvense* L. — přeslička rolní, letní lodyha (*Equisetaceae*), *Atriplex nitens* S c h k u h r — lebeda lesklá (*Chenopodiaceae*), *Iris pseudacorus* L. — kosatec žlutý (*Iridaceae*), *Melissa officinalis* L. — meduňka lékařská (*Lamiaceae*), *Sambucus nigra* L. — bez černý (*Loniceraceae*), *Syringa vulgaris* L. — šejřík obecný (*Oleaceae*), *Chelidonium majus* L. — vlašovičnick větší (*Papaveraceae*), *Plantago lanceolata* L. — srha říznačka, *Zea mays* L. — kukuřice setá (obě *Poaceae*), *Fragaria vesca* L. — jahodník obecný (*Rosaceae*), *Hyoscyamus niger* L. — blín černý (*Solanaceae*), *Urtica dioica* L. — kopřiva dvoudomá (*Urticaceae*) a *Lupinus polyphyllus* L i n d l. — vlčí bob mnoholistý (*Viciaceae*).

Při studiu povrchové vráskovitosti jsme našli objekty, kde vrásky (strie, rýhy) byly zcela dobře patrné i při přímém mikroskopickém pozorování neporušených listů. Z našeho materiálu jsou to např. listy *Sambucus nigra*, *Aesculus hippocastanum*, *Syringa vulgaris* a *Taraxacum officinale*, ssp. *vulgare*, na kterých můžeme tuto striaci pohodlně pozorovat. Na jiných objektech, např. listy *Achillea millefolium*, *Acer pseudoplatanus*, *Atriplex nitens*, *Berberis vulgaris*, *Chelidonium majus*, *Hyoscyamus niger* a ostatních, jsme však na nativních preparátech nepozorovali striaci buď vůbec nebo jen zcela nezřetelně.

Pozorování je však umožněno a velmi zpřesněno, zbarvíme-li povrchovou kutikulu jednoprocenním roztokem sudanu III v xylenu, benzenu nebo amylacetátu. Jiná tuková rozpustidla, jako je aceton nebo alkohol, nejsou pro tento účel vhodná, protože po zředění vodou v tkáni barva rychle vypadává a tvoří hrudky nebo krystalky. Sudanové roztoky dobře vybarvují pokožku a zvláště pěkně znázorňují strie, a to i na takových objektech, kde přímým pozorováním nemůžeme tyto struktury zjistit a kde mikoreliefová metoda poskytuje výsledky jen těžko hodnotitelné. Mimoto zbarvení sudanovými roztoky umožňuje další histologické studium objektů na zmrazených řezech. Pozorování přímo pod mikroskopem ukázala, že barvicím procesem nevznikají na kutikule žádné nevhodné artefakty. Hlavní předností metody je, že umožňuje sledovat striaci tam, kde dosud nebyla pozorována a dále že dovoluje rozlišit i její jednotlivé formy.

Fotografická dokumentace takto získaných obrazů je však velmi obtížná, protože je nemožné dosáhnout na celých zbarvených listech pravidelného osvětlení i potřebné hloubky obrazu při větších zvětšeních.

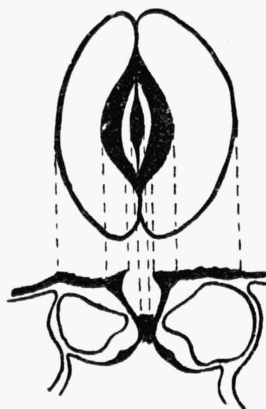
Preparáty k mikroskopickému studiu se zhotovují tak, že ostrou trubičkou o průměru asi 5 mm se vytne (na korkové nebo gumové podložce) kotouček listové čepele, který se ponoří na okamžik do barvicího roztoku a i s ulpělým barvivem se přenesne na podložní sklíčko. Preparáty se ihned pozorují a jsou až do vyschnutí použitelné. Pozorovat lze i bez krycího sklíčka. Zbarveny jsou kutikulární útvary a blány buněčné, a to různě u různých objektů.

V ý s l e d k y p o k u s ů

Téměř na všech námi pozorovaných objektech jsme mohli striaci dokázat. Existují však objekty, na kterých ani tato metoda jejich existenci nedokáže. V našem materiálu to byly *Zea mays*, *Iris pseudacorus*, *Plantago lanceolata* a *Dactylis glomerata*. U některých objektů může být důvodem špatná barvi-



Obr. 1. Církulární a koncentrické uspořádání strií ve svěracích buňkách průduchů u *Sambucus nigra*. Poměrně dobře je patrná zóna vnějších strií. Podélná striace na nervech listu a odštěpování svazků strií k jednotlivým průduchům. Spodní strana listu, nativní preparát, barveno amylacetát-sudanem.



Obr. 2. Schema vybarvení průduchu amylacetát-sudanem. Příčný řez (dole) a jeho promítnutý plošný obraz (nahore). Silně zbarvená kutikulární vnější zobánkovitá lišta překrývá zónu vnitřních strií. Dýchací skulina je vyplněna „zátkou“ barvicí tekutiny.

telnost, jak je tomu např. u *Urtica dioica*, jejíž listy se velmi špatně barví a proto striace na nich je nezřetelná. Je však zajímavé, že u větších případů, kde přes dobré zbarvení nebyla striace pozorována, šlo vesměs o listy s monokotylární nervaturou a tím s velmi pravidelným uspořádáním průduchů mezi nervy. U listů s nervaturou dikotylární jsme totiž tyto strie až dosud pozorovali.

Na studovaných objektech jsme se setkali s několika typy striace. Většinou se strie jeví jako svazky intenzivně zbarvených proužků, střídajících se s proužky nezbarvenými. Avšak na některých objektech nacházíme místo popsané striace systém zbarvených bodů, ležících v jedné čáře. Tyto „čáry“ jsou opět odděleny proužky nezbarvenými (*Fragaria vesca*, *Lupinus polyphyllus*). Uspořádání striace je buď pravidelné nebo nepravidelné. Tak např. na listech *Aesculus hippocastanum* a *Syringa vulgaris* je striace výrazně patrná po obou stranách listu, ovšem na straně svrchní není uspořádání pravidelné. Na každé



Obr. 3. Průduch na listu *Sambucus nigra*, do něhož ústí svazky paralelních strií z okolních buněk. Spodní strana listu, nativní preparát, barveno amylocetát-sudanem.

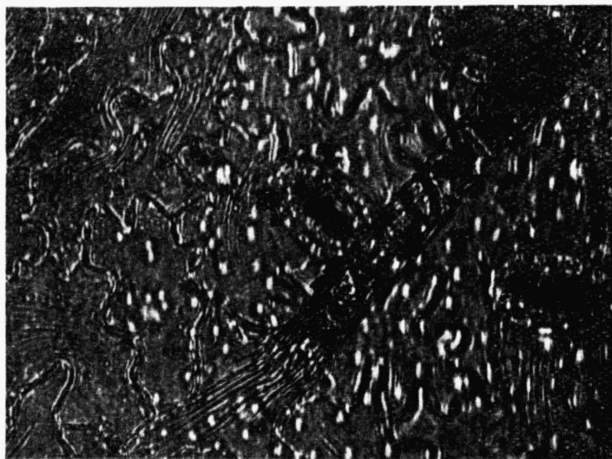
epidermální buňce má totiž jiný směr a i na jednotlivých buňkách mohou být směry různé. Striace na svrchní straně listů není orientována k ojedinelým průduchům. Na spodní straně uvedených listů je striace uspořádána tak, že směřuje přes několik epidermálních buněk k průduchům. U rostliny *Melissa officinalis* je striace naopak orientována k trichomům.

Za velmi zajímavý a pokud je nám známo nový nález pokládáme zjištění striace na svěracích buňkách průduchů. U většiny objektů jsou strie uspořádány cirkulárně a koncentricky a můžeme je pozorovat na kutikule až k vnější zobánkovité liště průduchů (obr. 1). Například u *Sambucus nigra* je těchto strií, tvořících dvě zóny, asi čtrnáct. Vnější zóna je tvořena asi sedmi rýžkami hrubšími, poněkud hůře se barvícími a proto na zbarveném preparátu vždy diferenzními. Vnitřní zóna obsahuje vcelku stejný počet rýžek, které jsou však jemnější a také se mnohem lépe barví. Proto často shledáváme, že tvoří silně zbarvený proužek, splývající s dobře vybarvenou vnější zobánkovitou lištou průduchů (obr. 2). Zónu vnitřních strií můžeme poměrně dobře sledovat na nezbarvených preparátech ve fázovém kontrastu.

Ve vztahu k ostatní striaci povrchu listu představují průduchy jakási orientační centra. Na vhodném materiálu můžeme totiž vidět, jak svazky paralelních strií okolních buněk ústí ze všech stran do svěracích buněk průduchů (obr. 3). Při pečlivém pozorování, které se nám však nepodařilo doložit fotograficky, vidíme ústít tyto podélné rýhy přímo do zevní zóny cirkulárních strií tak, že se ypsilonovitě rozvětvují a s těmito cirkulárními rýhami splývají.

Zatím pouze v jediném případě, a to na letní lodyze *Equisetum arvense*, jsme na svěracích buňkách průduchů pozorovali odlišné uspořádání striace. Rýhy nejsou koncentrické, ale radiální a překračují i na sousední epidermální buňky, takže průduchy nabývají přibližně hvězdčovitého vzhledu a dýchací skulina je jakoby jejich středem, do kterého rýhy ústí. Tato popsaná striace je poměrně hrubá.

Podélnou striaci můžeme dobře pozorovat i na nervatuře listu, kde vidíme, jak se svazky strií odštěpují a směřují k nejbližším průduchům (viz obr. 1). Najdeme však také stomata, kterým se strie vyhýbají a ani do nich neústí. Zřetelnou podélnou striaci lze též sledovat na trichomech, na něž svazky strií přecházejí radiálně z okolních epidermálních buněk (obr. 4).



Obr. 4. Sloupnatá epidermis z listu *Sambucus nigra*. Částečně patrná vnitřní zóna cirkulárních strií ve svěracích buňkách průduchů. Spodní strana listu, bez fixace a barvení, pozorováno ve fázovém kontrastu.



Obr. 5. Příčný řez listem *Sambucus nigra*. Mohutná kutikula prostupuje do značné hloubky blánu buněčnou. U druhé buňky zleva je kutikula (s dobře patrnou striací) přetažena přes příčně říznutou epidermální buňku. Spodní strana listu, fixace zmrazením, barveno amylocetát-sudanem, tloušťka řezu 50 μ .

Diskuse

O významu strií byly vysloveny v podstatě dva názory. Martens (1934) se domnívá, že kutikula je sekrečním produktem blány buněčné. Tvoří se prý větší a proto je zrůdněná. Vrásky představují „zásobu povrchu“, který se spotřebuje při

dalším růstu. K tomuto závěru dochází Martens proto, že na korunních plátcích poupěte *Tradescantia virginica* pozoroval změny směru vrás, a to od podélných přes síťové opět k podélným.

Proti Martensovým názorům, že kutikula je pouhým sekretem blány buněčné, že lpí pouze na povrchu a že zvrásnění je způsobeno jen splením vnitřních stěn vrás, mluví zcela jasně naše mikroskopické nálezy. Např. na obr. 5 pozorujeme, že kutikula prostupuje tlustou blánu buněčnou do značné hloubky. Vnitřní stěny vrás jsou odděleny zónami celulosy, takže na sebe naléhají pouze jejich stěny vnější. Když už bychom chtěli mluvit o splení vrás, nepřicházelo by to v úvahu u jejich stěn vnitřních, ale jediné u stěn vnějších. Tento mikroskopický nález zřetelně dokazuje, že zvrásnění kutikuly je založeno již v celulosové vrstvě blány buněčné. Sotva ho lze tedy uvést v soulad s tvrzením Martensovým, že kutikula je sekrečním produktem buněčné membrány. Jestliže Martens pozoroval vrásnění i na oddělené kutikule, znamená to opět, že nikoliv vnitřní stěny vrás, ale naopak jejich stěny vnější jsou spleny. Samozřejmě ani samotný fakt, že se mu podařilo izolovat kutikulu nikterak nedokazuje, že by tato byla sekrečním produktem blány buněčné. Domníváme se, že našimi nálezy se stal jeden z důležitých argumentů Martensových neudržitelný.

Velmi důležitým problémem je též fyziologická úloha strií. Martens ji viděl pouze ve spotřebování vrás při růstu a odmítal např. názor H a b e r l a n d t ů v (1918). Ten chápal strie jako kapiláry, sloužící k tomu, aby kapičky vody spadlé na listy se rychle šířily po velkém povrchu. Opíral se při tom o kritiku K u r e r o v u (1917), který uváděl, že striaci lze pozorovat na obou pokožkách listu. Současně Martens odmítal i dřívější koncepcí, jmenovitě Schwendener-Volkensovu a Strasburgerovu. S c h w e n d e n e r (1882) a rovněž i V o l k e n s (1884) tvrdili, že kutikulární záhyby jsou pouze výsledkem ztráty turgoru epidermálních buněk. S t r a s b u r g e r (1882) se domníval na základě pozorování trichomů u *Coleus*, že pelikulární vrstva buněk se při růstu protáhne nad mez elasticity, což je hlavní příčinou zvrásnění. Strasburger opíral tuto domněnku o pozorování v polarizačním mikroskopu, které mu umožnilo stanovit na příčných řezech epidermis různou polarisaci. Martens odmítal Schwendener-Volkensovu koncepci hlavně proto, že nepozoroval, že by deturgescence následkem vadnutí způsobovala u květů jejich striaci, i když ji snad učinila viditelnější. O Strasburgerově koncepci Martens tvrdí, že je dnes již úplně překonána hlavně proto, že Strasburger nevhodně generalisoval nálezy na trichomech u *Coleus* pro celou kutikulu a dále proto, že jeho teorie předpokládala změnu samotné vnější stěny buněčné v kutikulu. Přitom Strasburgerova teorie nemůže, podle Martense, vysvětlit vznik směru strií. Martensovi se podařilo, na příklad osmotickými zásahy, uvolnit kutikulu, což by sotva svědčilo o její těsné souvislosti s vnějšími celulosovými stěnami. Mimoto i po této izolaci pozoroval zachovalé vrásnění.

K celé práci Martensově (1934) je nutno dodat, že jím užitý pokusný materiál byl výjimečný. Šlo o plátky korunní v poupatech, kde funkce strií je omezená, jmenovitě při vodním hospodářství. Mimoto tato petala nemají průduchy, takže eventuální význam striace ve vodním provozu vzhledem k průduchům je přirozeně naprosto setřen. Domníváme se proto, že Martens neprávem podceňuje Volkensovy názory (1884) o radiálním rozložení strií kolem stomat a trichomů. Na našem materiálu jsme se totiž přesvědčili o naprosté správnosti Volkensových nálezů a mimoto jsme tyto nálezy doplnili

bezpečným zjištěním striace na svěracích buňkách průduchů. Radiální striace je pravidelná a rovněž i cirkulární strie na svěracích buňkách jsou prokazatelným nálezem. Dále jsme zjistili, že strie ze sousedních buněk ústí do cirkulárních strií těchto svěracích buněk. Nemůže být pochyb o tom, že takového uspořádání je funkční a nemohlo vzniknout pouhým spotřebováním „zásobního povrchu“. Jedině přijatelným zdá se nám funkční výklad Haberlandtův (1918). Máme za to, že strie jsou kapilární aparát listu, sloužící k rozvádění vody po jeho povrchu a že většinou ústí do průduchů. Jejich hlavním úkolem je zachytit droboučké kapičky vody (např. rosy) a svést je k průduchům. Důležitá je i jejich funkce zabránit větru, aby snadno odvanul vodní páru s povrchu listu a způsobil tak jeho nadměrné vysychání.

Za velmi důležitý považujeme též nález podélné striace na nervech, který výrazně svědčí proti Martensově koncepci. Kdyby totiž směr vrásnění vznikal pouhým spotřebováním „zásobního povrchu“, pak by na této protuberanci muselo být vrásnění příčné a ne podélné.

To, že strie nacházíme na obou epidermis, nikterak nemluví, jak se mylně domníval Martens, proti fyziologické koncepci Haberlandtově. Proti nadměrnému vysychání musí být chráněny obě strany listu a k rozvádění vody je třeba strií rovněž na obou listových plochách. Za deště se uplatní striace na horní straně listu, kdežto při rose na straně spodní. Dá se dokonce soudit, že zvrásnění na spodní epidermis je důležitější pro zachycení drobných rosných kapek než striace na horní epidermis, která se uplatňuje poměrně zřídka.

Jedním z hlavních našich nálezů je, že striaci nacházíme téměř bez výjimky na listech s dikotylní nervaturou a že strie jsou převážně orientovány k průduchům (někdy též k trichomům). Na listech s nervaturou monokotylní nebyla dosud striace nalezena. Považujeme-li striaci za funkční strukturu, důležitou pro vodní provoz rostlin, můžeme říci, že tato není u listů s monokotylní nervaturou nutná. Je to patrně proto, že nervatura zde sama nahrazuje funkci strií. Průduchy jsou totiž uspořádány v řadách, sevřených jednotlivými, podélně probíhajícími nervy. Tyto nálezy potvrzují naši domněnku, že striace je v úzké spojitosti s vodním provozem rostlin a opravňují k závěru, že jde o povrchový kapilární systém, sloužící k poutání a rozvádění vody po povrchu listu. Naše vývody jsou též opřeny o pozorování pravidelného uspořádání strií kolem stomat u listů s dikotylní nervaturou. Svěrací buňky průduchů jsou pravidelně opatřeny cirkulárními striemi a jen výjimečně rýhami radiálními. O významu rozdílnosti v tomto uspořádání nelze se zatím vyjádřit a bude nutné provést ještě další podrobnější studie. Stejně tak je obtížné pochopit význam strií neúplných — „tečkovitých“. Rovněž i tomuto úkazu bude v dalších pokusech věnována patřičná pozornost.

Závěrem lze shrnout, že metoda barvení listových čepelí jednoprocenním roztokem sudanu III umožnila nález striace u objektů, kde strie nebyly dosud pozorovány, dále umožnila rozlišit některé typy striace i nález odlišných vrás na svěracích buňkách průduchů.

S o u h r n

1. Zbarvení sudanem je velmi výhodné k pozorování různých typů striace kutikuly po obou stranách listu a umožňuje rovněž důkaz i rozlišení této striace na svěracích buňkách průduchů některých rostlin.

2. Strie byly pozorovány na listech s dikotylní nervaturou a ne na listech s nervaturou monokotylní.

3. Striace je vykládána, v soulase s koncepcí Haberlandtovou, jako kapilární aparát, který slouží k poutání i rozvádění vody po povrchu listu a zabraňuje jeho nadměrnému vysychání.

Literatura

- Haberlandt, G. (1918): Physiologische Pflanzenanatomie. — Leipzig.
Kurer, G. A. (1917): Kutikularfalten und Protuberanzen an Haaren und Epidermen und ihre Verwendung zur Differenzialdiagnose offizineller Blätter. — Bern.
Küster, E. (1951): Die Pflanzenzelle. — Jena.
Martens, P. (1934): Recherches sur la cuticule. III. Structure, origine et signification du relief cuticulaire. — Protoplasma, XX. Band, 483—515.
Němec, B. (1930): Nauka o buňce. Anatomie rostlin. — Praha.
Schwendener, S. (1882): Die Schutzscheiden und ihre Verstärkungen. — Abhandl. d. K. Akad. Wiss. Berlin.
Strasburger, E. (1882): Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. — Jena.
Volken, G. (1884): Zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Standort und anatomischem Bau der Vegetationsorgane. — Jahrb. d. bot. Gart. u. bot. Mus. Berlin, 3 : 1.
Wolf, J. (1954): Mikroskopická technika. Praha.

Došlo: 29. 10. 1957.

B. Hlučovský, V. Srb:

Striation der Blattoberfläche mit Rücksicht auf die Schliesszellen der Spaltöffnungen

Die Autoren studierten die Striation der Blattoberfläche bei verschiedenen Pflanzen. Sie stellten fest, dass für den Beweis und die Beobachtung dieser Striation der Kutikule auf beiden Seiten des Blattes die Färbung mit 1% Lösung von Sudans III in Xylen oder Benzen und insbesondere in Amylacetat sehr vorteilhaft ist. Auf diese Weise gelang es ihnen, bei einigen Pflanzen eine Zirkularstriation auch auf den Schliesszellen der Spaltöffnungen festzustellen. Die Spaltöffnungen stellen mit Rücksicht auf die übrige Striation der Blattoberfläche gewisse Orientierungspunkte dar, in die Parallelfaltenbündel aus nebenstehenden Epidermiszellen zusammenlaufen. Abschliessend wird die Striation in Übereinstimmung mit Haberlandt's Auffassung als Kapillargerät erklärt, das der Wasserverteilung auf der Oberfläche des Blattes diene und seine übermässige Vertrocknung verhindert soll.

Б. Глуховский и В. Срб:

Морщинистость поверхности листа с точки зрения устьичных клеток

Военно-медицинская академия им. Я. Е. Пуркине, Градец Кралове

Авторы изучали морщинистость (стриацию) поверхности листа у различных растений. Они убедились, что для доказательства наличия и для наблюдений этой морщинистости кутикулы по обеим сторонам листа весьма удобно пользоваться окраской 1 % раствором Судана III в ксиле или бензене, а главное потом в амилацетате. Таким образом им удалось установить у некоторых растений наличие циркулярной борозчатости и на устьичных клетках. Вообще, устьичные клетки представляют своего рода центры ориентации для морщинистости остальной поверхности листа. К ним сходятся пучки параллельных бороздок из окружающих клеток эпидермы. В заключении работы стрияция объясняется — в соответствии с концепцией Haberlandt-a — как капиллярный аппарат, служащий для разведения воды по поверхности листа и препятствующий его чрезмерному высыханию.