

Miloš Spurný:

Pronikání vody osemením hrachu (*Pisum sativum* L.)Pobočka Ústavu experimentální botaniky ČSAV
oddělení pro studium životních dějů filmem Brno

Při studiu funkce osemení v procesu klíčení semen jsme objevili některé jevy, které významně dokumentují vzájemnou souhru fyziologických úkonů s vnitřní architekturou rostlinných tkání. Již v dřívější práci, kde jsem studoval permeabilitu osemení hrachu pro vodu, se ukázalo, že speciální struktura epidermálních buněk osemení v prostoru chalazy ji předurčuje k tomu, aby byla vstupní branou vody při botnání semene (SPURNÝ 1954c). Práce PRINGSHEIMA (1930), který sledoval primární vtok vody u semen *Lupinus albus* v závislosti na pronikání roztoků barviv, nepřinesla jednoznačné výsledky.

Byla-li lokace primárního vtoku vody spolehlivě nalezena v tkáni chalazy, (v dřívějších pracích autora nesprávně uveden termín cikatrix) bylo třeba ověřit hodnoty rychlosti pronikání vody do semene, získané metodou osmotrickou (SPURNÝ 1954c); lze totiž vnést námitky proti výsledkům získaným touto metodou, při níž tím, že pracujeme s úkrojky tkáně osemení, nezbytně porušíme přirozenou tkáňovou soustavu, v níž může hrát také roli vzduch uzavřený v intercelulárních prostorech a hlavně v prostoru mezi osemením a dělohami.

Sledovali jsme tedy pronikání vody osemením na celých neporušených semenech, aby se mohla uplatnit vzduchová fáze, která pravděpodobně mohla inhibovat pronikání vody.

Použili jsme metody filmové registrace celého procesu botnání semene hrachu, zvláště v jeho prvních fázích; ze získaných filmových záznamů jsme pak mohli spolehlivě hodnotit charakteristická stadia pronikání vody a tak získat přehled o dynamice celého procesu.

Materiál a metoda

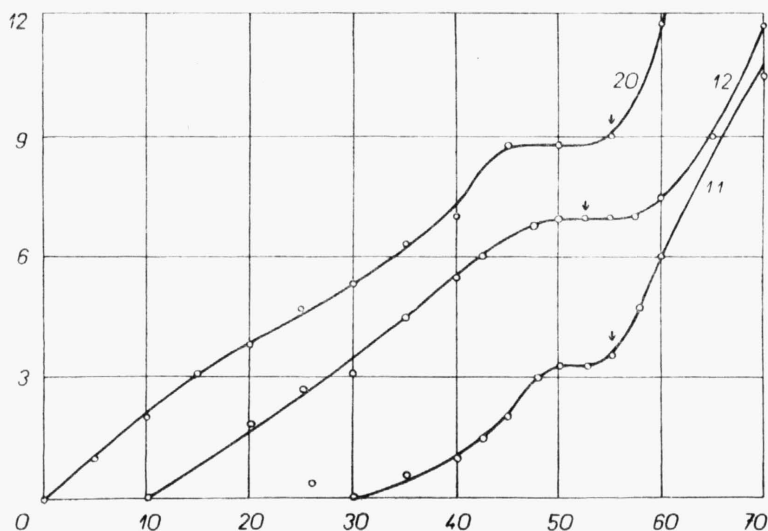
K pokusům jsme užili semena hrachu *Pisum sativum*, L. sortu kulatý, zelený ze sklizně r. 1959.

Pro sledování rychlosti pronikání vody tkáni chalazy jsme pokus seřídili tak, že jsme umístili v jedné pokusné sérii vždy 12 semen v misce z Umaplexu do předvrtaných otvorů, aby při botnání semena neměnila polohu. To bylo velmi důležité pro vyhodnocování změn tvaru semen během botnání. Semena v misce jsme orientovali tak, aby byly dobře patrné všechny změny tkáně v okolí chalazy. Na začátku pokusu byla semena opatrně přelita vodou a současně bylo spuštěno zařízení pro sběrnou filmovou registraci; použili jsme kameru na 35 mm film a snímali jsme frekvencí 1 obrázek za 1 minutu. Všechny pokusy probíhaly při konstantní teplotě 21° C. Z filmových záznamů jsme pak vyhodnocovali změny tvaru jednotlivých semen v časovém průběhu tak, že jsme proměřovali průměry semen v jednotlivých fázích botnání ze snímků pořízených při lineárním zvětšení 10 ×. Prakticky jsme měřili na snímcích vzdálenost středu chalazy k protilehlému okraji semene (SPURNÝ 1961). Vedle toho jsme pořídili serie filmových záznamů botnání semen hrachu, kde jsme především sledovali lokaci primárního vtoku vody. Semena v miskách přelitá vodou jsme orientovali tak, aby jednotlivé struktury osemení, tj. chalaza, hilum, raphe a klový otvor byly dobře patrný; také v těchto pokusech jsme užili frekvence snímání 1 obr./min.

Výsledky pokusů a diskuse

V serii pokusů s botnáním semen hrachu, jehož průběh byl zaznamenáván kinematograficky, bylo zjištěno shodně s výsledky dříve publikovanými (SPURNÝ 1954c), že voda proniká do semen nejprve tkání chalazy. Jen v případech, kdy je osemení poškozeno, proniká voda jinudy; v žádném případě nepronikala voda tkání kolem hilum, raphe nebo klového otvoru.

Spolehlivým indikátorem proniknutí vody testou je její lokální zkrabacení; při průniku vody tkání chalazy je patrné, že tato nejprve čočkovitě zduří (tab. XXIII., obr. 1—2), vyklene se (tab. XXIV., obr. 3) a poté charakteristicky zkrabatí (tab. XXIV.—XXVI., obr. 4—7). Snímky 4 a 5 současně ukazují, že v době, kdy voda již proniká tkání chalazy, je osemení v prostoru kolem hilum a klového otvoru úplně hladké; je to důkaz, že tudy voda nepronikala. Při stanovení rychlosti pronikání vody tkání chalazy se ukázala být metoda filmové registrace s proměřováním tvaru semen na zvětšených snímcích záznamu velmi výhodná (SPURNÝ 1961). V tabulce jsou sestaveny hodnoty změn velikosti semen hrachu působené botnáním tkáně chalazy; typický průběh změn je dobře patrný z křivek obr. 1 sestavených z hodnot tabulky pro vzorky semen č. 11, 12 a 20 a ze schematického obr. 8 (tab. XXVI.), v němž jsou všechny fáze nabotnání skresleny. Z grafu je patrné, že nejde o křivky monotonní; jejich počáteční vzestup, značící botnání tkáně chalazy (které začíná v průměru již po 15—20 min. ponoření semene do vody), je přerušen krátkou fází zdržení, která teprve



Obr. 1: Změny velikosti semen hrachu (*Pisum sativum* L.) působené botnáním tkáně chalazy. Na abscise doba botnání v minutách, na ordinátě změny v % původní velikosti semene. Číslo vzorku semene uvedeno u každé křivky. (Sestrojeno podle hodnot tabulky). Viditelné počáteční zkrabacení osemení je vyznačeno u každé křivky.

Bild 1: Der Verlauf der Größenänderung des Erbsensamens (*Pisum sativum* L.), die durch die Samenschalenquellung verursacht wird. Abscise: Quellungsclauer in Minuten, Ordinate: Samengrößenänderungen in % der Originalgrösse. Die Samenprobennummer ist bei jeder Kurve angeführt. Die Zeit, zu der die Samenschalenquellung anfang, ist bei jeder Kurve verzeichnet.

Doba botnáni semen v min. Quellungsdauer der Samen in Minuten	V z o r k y s e m e n —									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
5	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	101	100,5	100,6	100	100,6	100	100	101,4	100	100
25	101	100,5	—	100	101	100,5	100,6	100,5	100	100
30	102	101,8	102,8	101,3	102	101	103,2	101	100	100
35	103	103,5	104,2	101,6	103	101,4	104	101	100,2	101,8
40	104	104,2	106	102	104,4	102	105	101	100,4	101,9
42,5	—	—	—	—	105,2	102	—	—	—	—
45	105	104,3	106	101,8	106,2	102	105	101	102	102,3
47,5	—	—	—	—	106,7	102,5	—	—	—	—
50	106,2	105,2	107,8	102	107	104	107	101,5	103,5	104
52,5	—	—	—	—	107,5	104,2	—	—	—	—
55	108,5	105	108,3	104	107,5	105	107	102,1	104,5	103,8
57,5	—	—	—	—	108	108	—	—	—	—
60	108,5	106,2	109,5	105	108,5	111	107	103	105	104,2
65	109	107,7	110,2	105,5	109	—	107,8	104,5	108,5	106,2
70	112,5	109,7	111	106,2	111	114,1	109	105,1	110,5	106,2
80	—	—	—	108,8	—	—	—	108,5	—	109,8

Změny velikosti semen hrachu (*Pisum sativum* L.) působené botnáním tkáně osemení v okolí chalazy. Hodnoty získány proměřením snímků semen z původního filmového záznamu, zvětšeného 16× lineárně (10násobek originální velikosti semen) a vyjádřeny v % původní velikosti semen. Hodnoty značící počátek fáze zdržení botnání a počátek krabacení osemení jsou vyznačeny silným tiskem.

pak znovu přechází v trvalý vzestup křivky, tj. další botnání semen. Analýsa těchto křivek a jejich porovnání se snímky tvaru semen z filmových záznamů ukázaly, že fáze zdržení spadá v jedno s dobou, kdy je chalaza maximálně nabotnalá a po krátký časový interval nemění svoji velikost ani tvar. Teprve po průběhu této fáze se počínají objevovat první stopy krabacení tkáně. Hodnoty, znamenající počátek a konec fáze zdržení, jsou vyznačeny v tabulce proloženým tiskem.

Je pravděpodobné, že doba, kdy je dosaženo maximálního nabotnání tkáně chalazy (tj. počátek fáze zdržení v botnacích křivkách obr. 1) značí okamžik, kdy voda pronikla tkání chalazy do semene. Tyto časové údaje pro jednotlivá semena byly porovnány s hodnotami, dosaženými metodou osmotrickou (SPURNÝ 1954c). Vypočtená hodnota, opatřená statistickými veličinami udává, že v průměru pronikala voda tkání chalazy za $45,4 \pm 3,1,23$ min.; $s = \pm 5,23$ min. (statistické symboly viz Hrubý 1950).

Ve srovnání s rychlostí pronikání vody, zjištěnou osmotrem ($41,6 \pm 3,1,66$ min.; $s = \pm 4,08$ min. — SPURNÝ 1954c), str. 250), byla tedy zjištěna doba poněkud delší. Statistickým zhodnocením pomocí t-testu (HRUBÝ 1950) nebyla však prokázána průkaznost rozdílů obou srovnávaných průměrů; lze tedy považovat hodnoty rychlosti pronikání vody testou, získané osmotrickou metodou za správné. Faktory, uvedené v úvodu této práce, které mohly nekontrolovaně ovlivnit pronikání vody testou, nemají tedy podstatný vliv na rychlost procesu nabotnání semen hrachu.

Numer der Samenproben

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	102	100,8	100	101	100,3	100
100	100	100	100,5	100	100,2	102	101,8	100	102	102	100,4
—	—	100	100,5	100	100,2	102	101,8	100	103,1	103	100,4
100	101,8	101	102	100	100,2	103,2	101,8	101,3	103,8	103,5	101
100	102,7	102	102,5	101	100,2	103,2	102,5	101,5	104,7	104,3	102,2
100	103,1	102	102,5	102,2	100,3	103,2	103	103	105,3	106,2	102,3
100,6	104,5	102	103	103	100,8	104	105,3	104	106,3	107	103
101	105,5	102	103	103,4	100,8	104	106	105	107	107,2	104
101,5	106	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
102	106,5	103	103,5	104,8	100,8	104	106	106	103,8	109	104
103	106,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
103,3	107	104,5	105,2	104,3	100,8	105,5	106,5	106	108,8	110,1	104
103,2	107	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
103,5	107	104,5	105,2	105	100,8	105,6	108,5	107,2	109	113	104,8
104,7	107	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
106	107,5	105	106,7	106,8	100,8	106	110,3	108,7	111,8	—	105
109	109	107	109,4	107,9	100,8	108	114	111,3	—	—	106,3
110,4	111,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Grössenänderungen der Erbsensamen (*Pisum sativum* L.), die durch Samenschalenquellung im Raume der Chalaza verursacht werden. Die in der Tabelle angeführten Werte wurden durch Messung von Aufnahmen der ursprünglichen 16-fach linear vergrösserten Filmregistrierung erhalten und in % der Samenoriginalgrösse ausgedrückt. Werte, die den Anfang der Quellungsunterbrechungsphase, sowie den Anfang der Samenschalenanschwellung anzeigen, sind durch Fettdruck bezeichnet.

V souhrnu výsledků uvádíme, že kinematografickou metodou byl detailně vyšetřován proces botnění semen hrachu, zvláště v jeho prvních fázích; ověřili jsme zjištění, že primární vtok vody do semene se děje tkání chalazy (tab. XXIII.—XXVI., obr. 1—7). Křivky botnění testy, získané vyhodnocením filmových záznamů (tab. XXVI., obr. 8) ukazují, že chalaza počíná zjevně botnat v průměru již po 15 až 20 min. ponoření do vody (tj. doba počátku pronikání vody do tkáně chalazy), po 45 min. je již chalaza maximálně nabotnalá (tj. voda pronikla do tkáně chalazy až k dělohám), po krátké fázi (5 min.), kdy semeno nemění svůj tvar, počíná voda pronikat do okolní tkáně testy, což vede k jejímu lokálnímu zkrabacení v prostoru chalazy (tab. XXIV., obr. 4). Tato zjištění lze uvést ve shodu s anatomicou stavbou a s tkáňovou mikrostrukturou osemení hrachu, uváděnou v dřívějších pracích autora (SPURNÝ 1954a, b).

Souhrn

1. Sledovali jsme lokaci a rychlost primárního vtoku vody do semene hrachu (*Pisum sativum* L.) kinematografickou metodou frekvencí snímání 1 obr./min.

2. Vyhodnocením filmových záznamů jsme potvrdili, že voda přednostně vniká do semene tkání chalazy. Rychlost proniknutí vody osemením v prostoru chalazy byla stanovována z charakteristického průběhu botnacích křivek, sestavených z hodnot, získaných proměřením semen na filmových záznamech.

3. Detailní analýsa průběhu botnění provedená kinematograficky ukázala, jak úzce v tomto případě souvisí fyziologické procesy s anatomicou stavbou.

Literatura

1. HRUBÝ K.: Variabilita a korelace v biologii. Rozpravy II. tř. české akademie, roč. LX, č. 17, 1950.
2. PRINGSHEIM E. G.: Untersuchungen über Samenquellung. 1. Mitteilung. Die Abhängigkeit der Quellung von der Beschaffenheit der Samen und vom Medium. *Planta* 11 : 528—581, 1930.
3. SPURNÝ M.: a) Struktura blány palisádových buněk testy semene hrachu (*Pisum sativum* L.). *Preslia* 26 : 79—88, 1954.
4. SPURNÝ M.: b) Světelná zóna epidermálních buněk testy semene hrachu (*Pisum sativum* L.). *Preslia* 26 : 139—142, 1954.
5. SPURNÝ M.: c) Propustnost testy pro vodu a otázka nerovnoměrnosti botnění semen hrachu (*Pisum sativum* L.). *Preslia* 26 : 239—262, 1954.
6. SPURNÝ M.: Kinematografie jako metoda vědeckého výzkumu. *Vesmír* 40 : 49—52, 1961.

Text k tabulím XXIII.—XXVI.:

Obr. 1—4: Charakteristické fáze botnění osemení hrachu (*Pisum sativum* L.) v okolí chalazy. Fáze 1 — v 0 čase ponoření semen do vody, fáze 2 — po 30 min., fáze 3 — po 45 min. a fáze 4 — po 60 minutách botnění. Semena orientována tak, aby byly dobře patrný hypokotyl se základem kořínku (K), hilum (H) a chalaza (CH). Zvětšeno lineárně 30×.

Bild 1—4: Charakteristische Quellungsphasen der Erbsensamenschale (*Pisum sativum* L.) im Raume der Chalaza. Phase 1—im 0 — Zeitpunkt, Phase 2—30 Minuten nach dem Zeitpunkt, als der Same mit Wasser übergossen worden war, Phase 3 — nach 45 Min. und Phase 4 nach 60 Min. Quellungsdauer. Die Samen wurden so orientiert, dass alle Organe, wie das Hilum (H), die Chalaza (CH) und die Keimwurzelhülle (K) gut sichtbar waren. Vergrößerung 30fach.

Obr. 5—7: Charakteristická forma zkrabacení tkáně osemení hrachu (*Pisum sativum* L.) v okolí chalazy po proniknutí vody. Fáze 5 a 6 po 60 minutách, fáze 7 po 80 minutách ponoření semene do vody. Zvětšeno lineárně 30×.

Bild 5—7: Charakteristische lokale Gewebeschwellung der Erbsensamenschale (*Pisum sativum* L.) im Raume der Chalaza nach dem Wassereindringen. Phase 5 und 6 — 60 Min., Phase 7 — 80 Min. nach dem Zeitpunkt, als der Same mit Wasser übergossen worden war. Vergrößerung 30 fach.

Obr. 8: Změny velikosti semene hrachu (*Pisum sativum* L.) působené botnění osemení v okolí chalazy v jednotlivých časových intervalech. (Podle filmového záznamu botnění vzorku semene 12). Změny zakresleny po 0, 10, 20, 30, 40, 45, 50, 55, 60 a 65 minutách botnění.

Bild 8: Formänderungen des Erbsensamens (*Pisum sativum* L.), die durch die Samenschalen-, anschwellung im Raume der Chalaza verursacht werden (nach Filmregistrierung der Samenprobe No. 12 verzeichnet). Die einzelnen Bildphasen zeigen die Samenform nach 0, 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60 und 65 Minuten Quellungsdauer.

M. Spurný:

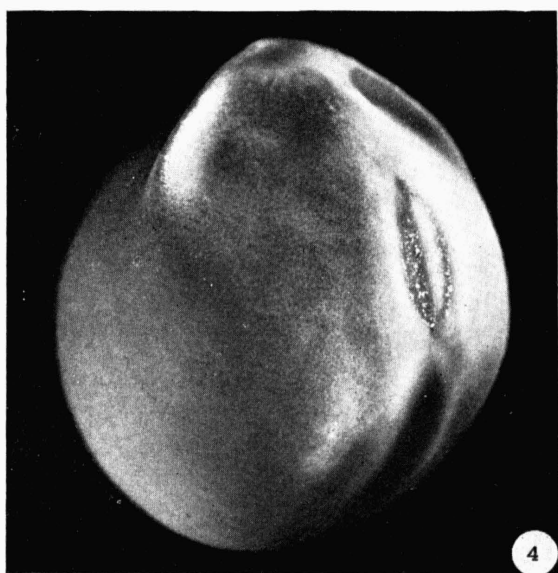
Das Wassereindringen durch die Erbsensamenschale (*Pisum sativum* L.)

1. Es wurde die Lokalisation sowie die Geschwindigkeit des primären Wassereindringens in den Erbsensamen (*Pisum sativum* L.) mittels Zeitrafferkamera studiert.

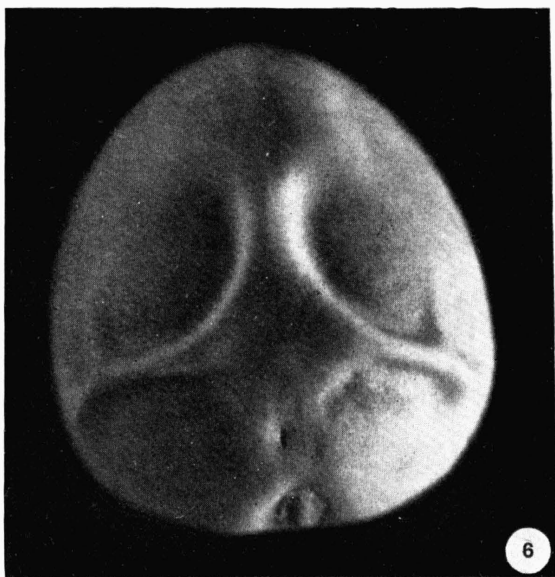
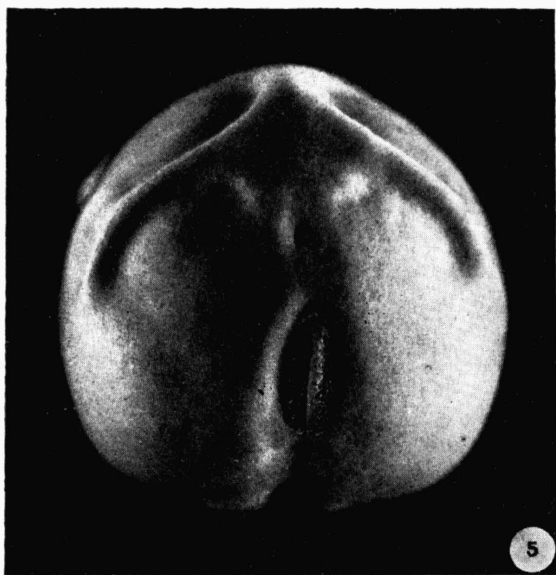
2. Nach Auswertung der Filmregistrierungen wurde festgestellt, dass Wasser vorzüglich durch das Gewebe der Chalaza in den Samen eindringt. Die Geschwindigkeit des durch die Samenschale im Raume der Chalaza eindringenden Wassers wurde auf Grund des charakteristischen Quellungskurvenverlaufes festgestellt.

3. Eine ausführliche durch Filmregistrierung ermöglichte Analyse des Quellungsprozesses bei Erbsensamen hat gezeigt, wie eng in diesem Falle die physiologischen Prozesse mit dem anatomischen Bau zusammenhängen.

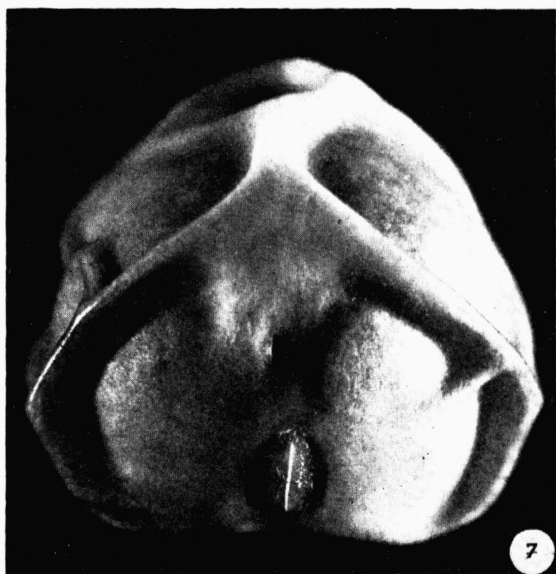
Laboratorium für biologische Filmstudien der ČSAV, Brno.



M. Spurný: Pronikání vody osemením hrachu (*Pisum sativum* L.)



M. Spurný: Pronikání vody osemením hrachu (*Pisum sativum* L.)



M. Spurný: Pronikání vody osemením hrachu (*Pisum sativum* L.)