

Dr. VL. MORÁVEK:

Permeabilita a bubřivost tkáně řasy *Nereocystis*.

Ústav pro fyziologii rostlin Masarykovy university.

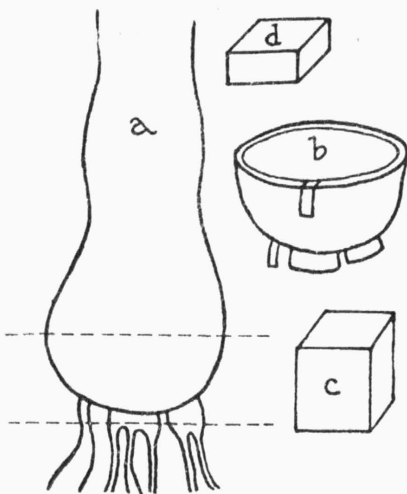
ÚVOD A METODIKA.

Auxografová metoda (literatura viz MACDOUGAL a ÚLEHLA) zaznamenává kontinuálně mnohonásobně zvětšené změny v jednom směru. V biologii užil této metody MACDOUGAL k měření změn objemu kmenu stromů a v jiné modifikaci k měření bubření biokoloidů. U gelů změna v jednom směru jest úměrná změně objemové, takže odpovídá přímo bubření. Jinak je tomu u tkání rostlin a zvířat, nebo u gelů, které byly nerovnoměrně zhotoveny. Makrostrukturní elementy prostupující tkáni a také polarita buněk způsobuje nestejněměrné bubření i u takových tkání, které se zdají homogenní. Diskuse o tomto tématu je vedena mezi STILESEM a KOVÁŘEM. Je jistě jen málo rostlinných objektů vhodných pro měření bubřivosti na auxografu. Jedním z nich je řasa *Postelsia palmaeformis* a to ve způsobu, jak jej užili ÚLEHLA a LLOYD. Nalezl jsem, že také vhodným objektem je tkáň, určitým způsobem vyjmutá z řasy *Nereocystis*. Již dříve jsem na ní studoval průchod chloridového iontu „hlavou“ řasy a to tak, že jsem současně měnil osmotickou hodnotu roztoku po obou stranách a tekutiny za určitou dobu analysoval.

V dosavadních pracech na bubření tkáně bylo uvažováno jen o vodě, jako o jediném faktoru, který mění svoji koncentraci při bubření. Jest opomenuta možnost, že z pokusného materiálu odcházejí po přenesení do jiného prostředí exosmosou některé látky a opět z prostředí, ve kterém tkáň bubří, část látek endosmosuje do tkáně a tím vlastně se tkáň kontinuálně a někdy irreversibilně mění.

Přeneseme-li nabubřelou tkáň do prostředí dehydratisujícího a dosáhneme-li objemové identity s tkání před bubřením, máme před sebou pak tkáň dalekosáhle vnitřně a látkově změněnou, odlišnou od tkáně, se kterou jsme původně pokus začali. Experimentální doklad této myšlenky má přinést tato práce.

Obr. 1 znázorňuje, jak byly připraveny řízky tkáně z kyjovitě rozšířeného a plynem naplněného thalu *Nereocystis*. Na obr. 1 *a* vidíme onu „hlavu“, na *b* prvý řez vedený napříč (obojí zmenšené), na *c* v přirozené velikosti sloupcovitý výřez, ze kterého na mikrotomu byly připraveny řízky o průměrné tloušťce 3·77 mm (3·75—3·80 mm v krajních hodnotách); na *d* je vykreslen jednotlivý řízek v poloze, v jaké byl montován na auxograf. Na dno kyvety byly položeny 3 řízky do rohu rovnostranného trojúhelníku, na ně položena velmi tenká porculánová deštička a o její střed se opírá jehla, spojená s pákovým zvětšujícím převodem. Objem tekutiny přidané do misky byl přesně 20 ccm. Auxografů bylo celkem 16, takže každý pokus byl proveden dvojmo. Pokusnou místností byla temná ko-



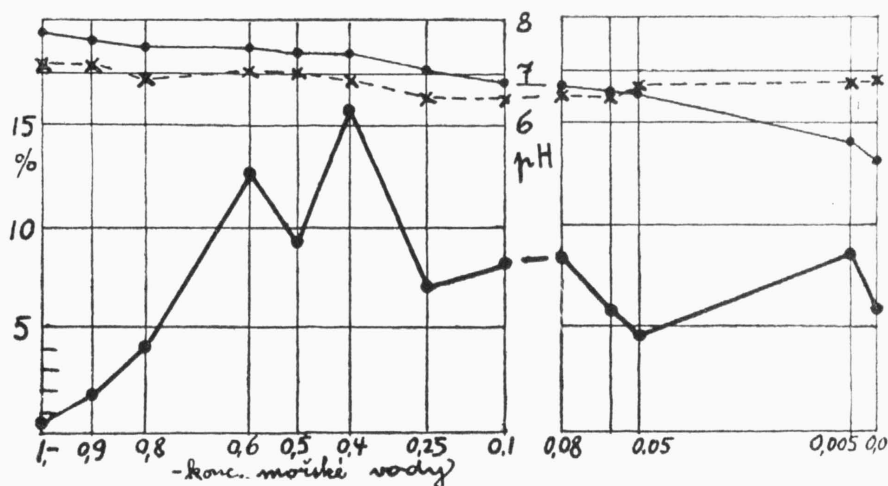
Obr. 1. Zhotovení řízku řasy *Nereocystis* pro auxograf.

mora o konstantní teplotě 14·5° C. O přípravě řezů, umístění na auxografu a přepočtení auxogramových hodnot pojednávají citované práce ÚLEHLOVY, kterých jsem se přesně přidržel. Řasy byly sbírány poblíže Coastal Laboratory of the Carnegie Institution of Washington v Carmel (California) v době přílivu a sice zcela čerstvé, tak jak vlnobitím byly vyrvány a připraveny k pláži. Řasa byla vložena do kbelíku s mořskou vodou, převezena do laboratoře a ihned zpracována. Tkáň skládá se z parenchymatického pletiva velkých buněk, vyplněných až na tenkou plasmatickou vrstvu vakuolou. Korová partie je jen na straně vnější a skládá se z řady deštičkovitých zelených parenchymatických buněk, chráněných na povrchu tuhou kutikulou. Abychom vyhověli jednotnosti materiálu, užili jsme ke každé pokusné serii jen jednu řasu a sice naprosto neporušenou a střední velikosti o váze hlavy asi 150 g.

POKUSY.

Bubření.

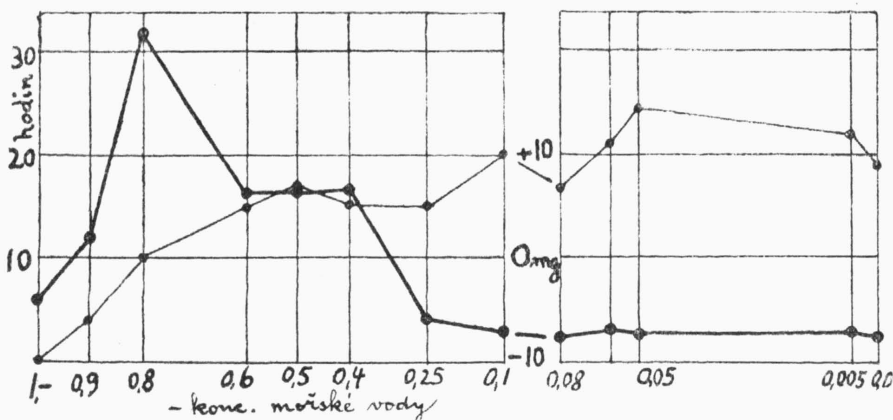
Bubření tkáně bylo sledováno v první serii pokusů (obr. 2) v roztocích o nižší osmotické hodnotě než je mořská voda a to tak, že mořská voda byla ředěna vodou destilovanou. V neředěné mořské vodě (označujeme ji 1·0 konc.) řasa nepatrně bubří. V našem případě se rozpíná o 0·42%. To bylo konstatováno dříve u jiných objektů ÚLEHLOU, který podal toto vysvětlení: Tkáň z intaktních rostlin uvolněná má vyšší ssavé napětí než mořská voda, jež na stanovišti rostlinu obklopovala. V intaktní rostlině je toto napětí kompensováno napětím potenciálním vykonávaným korou, která nedovolí větší rozpínání parenchymu. V destilované vodě bubří řasa o 6%. Hodnoty bubření mezi těmito dvěma koncentračními extrémy nevětšují se plynule, ale procházejí maximem 16% bubření při 0·4 konc. mořské vodě. Od 0·25 konc. až k destilované vodě jsou změny v bubření nepatrně závislé na měnící se koncentraci roztoku. Poslední část křivky nazývá OSTERHOUT „křivka smrti“, neboť v těchto koncentracích tkáň skutečně odumírá. Ponoříme-li tkáň do destilované vody, počne bubřit, neboť v prvním okamžiku na povrchu tkáně ustaví se zředovací potenciál exosmosujícího NaCl z vnitřku tkáně. V prvních minutách vznikne kol tkáně koncentrace NaCl odpovídající určitému zředění mořské vody, ve které tkáň ještě silně bubří. Část exosmosované soli však nezůstává dlouho na povrchu, je velmi silně odváděna difusí do destilované vody a tkáň ztratí tolik soli, že v buňkách nastávají ireversibilní změny. Tuto fázi pozorujeme na auxografu jako odbubření tkáně. Čím tenší řízek bychom zvolili, tím relativně menší a kratší bude buřící fáze v destilované vodě. Isolovaná jedna buňka nejen by nikdy nebubřila, ale ihned by ztratila soli a zmenšila objem. Hodnoty bubření v destilované vodě jsou dány tedy jen uspořádáním pokusu, nikdy ne však vlastnostmi buňky.



Obr. 2. ● — ● bubření v % v různých koncentracích mořské vody;
 ● — ● pH mořské vody před bubřením;
 × — — × pH mořské vody po bubření.

Exosmosa.

Mikrotitračně bylo určeno množství Cl v původním roztoku, v kterém řasy bubřely, a to před a po pokuse. Rozdíl mezi těmito hodnotami, vyjádřený v mg, nám dává relativní čísla (neboť rozměry řízků řasy a tím jejich volum byly konstantní), která, jsou-li kladného znaménka, značí exosmosu, záporná pak značí endosmosu Cl iontu do řasy. Není to samotný chlor, který se na provozu účastní, ale také sodík; ovšem ne zcela ve stoechiometrickém poměru, neboť pH roztoku není při všech pokusech konstantní, jak ještě níže bude podrobně popsáno. V koncentrované a málo zředěné mořské vodě přijímá tkáň chlor (obr. 3); při 0.8 konc. mořské vodě (80 *ccm* mořské vody + 20 *ccm* destilované vody) je rovnováha mezi chlorem ve tkáni a chlorem v roztoku; přesto však tkáň v této koncentraci již značně bubří. 1000 *ccm* mořské vody ze stanoviště obsahuje 19.68 g Cl, 1000 *ccm* čerstvé řasy pak 19.30 g Cl. Poněvadž specifická váha řasy jest o něco vyšší než specifická váha mořské vody, bude řasa obsahovat relativně malý přebytek chloru. Samotné buněčné stěny jsou bez chloru a tak 1000 *ccm* šťávy z řasy vytlačené obsahuje 22.51 g chloru, tedy mnohem více než je v mořské vodě. Při větších zředěních než 0.8 konc. mořské vody jsme našli, že chlor-ion exosmosuje z tkáně do bubřivého prostředí. Endosmosa a exosmosa společně opisují biologickou S-křivku. Koncentrace mořské vody, kde nastává endosmosa nebo panuje rovnováha, považují za neškodné pro tkáň *Nereocystis*. V koncentracích, kde nastává exosmosa, setkáváme se s irreversibilními změnami. Na OSTERHOUTOVU „křivku smrti“, získanou časovým měřením změn vodivosti tkáně při ponoření do destilované vody, pohlížíme jako na pochod registrovaný v prostředí pro tkáň naprosto nevhodném. Jest možno jen výjimečně usuzovati z patologického pochodu (usmrcení tkáně v destilované vodě) na pochod fyziologický (plynulé změny biofyzikálních konstant až k irreversibilitě) a tak naše metoda měření exosmosy v řadě koncentrací spíše vyjádří poškození tkáně vedoucí k jejímu usmrcení. Místo „křivky smrti“ jest lépe zavést křivku exosmosy, neboť ta nám při buření neobjektivněji



Obr. 3. ●—● maximum bubření v hodinách v různých koncentracích mořské vody; —● endosmosa a exosmosa chloru v mg.

znázorní, jak daleko postoupila skutečná změna tkáně. Čísla, která byla získána pro bubření v extrémně zředěných roztocích, jsou čísla získaná na kvalitativně pozměněném materiálu a tím mezi sebou nesrovnatelná. Stejnou chybu bychom učinili, kdybychom měřili bubření gelatiny v koncentrovaném louhu, kde se tato chemicky destruuje.

Časové maximum bubření.

Jinou charakteristickou konstantou pro bubření jest čas, ve kterém bubření dosáhlo maxima (obr. 3). Tvar této křivky jest zcela nezávislý na křivce bubření. S endosmotickou větví chloru jest časová křivka přímo úměrná, s křivkou exosmosy jest úměrná nepřímou. Bod zvratu těchto závislostí leží přesně u 0.8 konc. mořské vody, tedy v témže bodě, kde vládne rovnováha ve výměně iontů mezi tkání a roztokem.

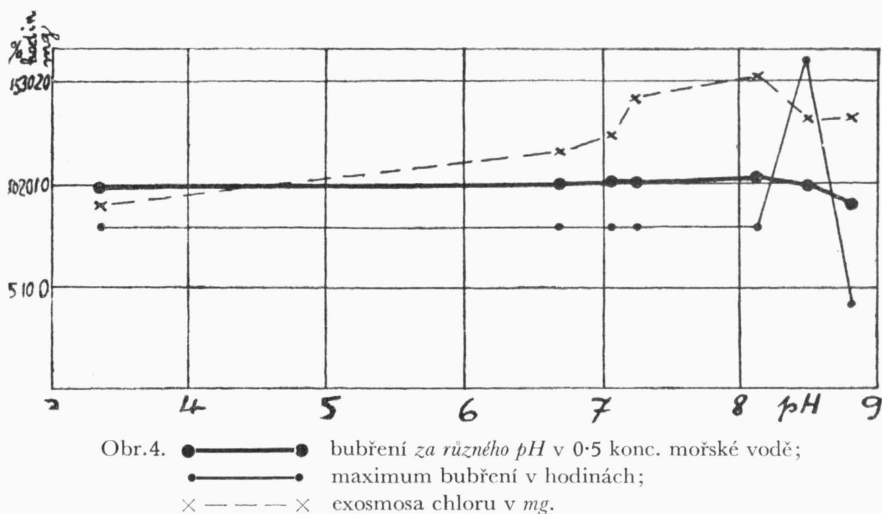
Regulace pH.

Zároveň s vyrovnáním osmotických rozdílů mezi tkání a prostředím probíhá regulace pH. Vytačená šťáva vykázala v chinhydronové elektrodě $\text{pH} = 6,57$ a směrem k této hodnotě bylo regulováno pH roztoku ve kterém řízky bubřily (obr. 2). Mořská voda koncentrovaná měla v laboratoři $\text{pH} = 7,75$ a zředěním destilovanou vodou pH klesá podle exponentiální křivky až k 5.35 pro destilovanou vodu (v rovnováze s CO_2 v laboratorním vzduchu). Čím jest koncentrace mořské vody vyšší, tím méně řasa reguluje, neboť nadbytek ústoju v mořské vodě jest kvantitativně mnohem vyšší než má jich řasa. V nižších koncentracích mořské vody než jest 0.3 konc. stačí řasa zneutralisovat všechny ústoje mořské vody a přivede je na stejné pH jako je šťáva buněk.

Vliv pH na bubření řasy.

V předcházejících pokusech byla variabilní veličinou koncentrace mořské vody. Zředěním však se měnilo pH a museli jsme proto určití resp. eliminovati tento vliv tím způsobem, že jsme za konstantní koncentrace mořské vody měřili za různých pH bubření, exosmosu a dobu, kdy bylo dosaženo maxima bubření.

Jiná řasa byla proto zcela shodným způsobem jako v předešlé serii dána na



auxograf. Bubřela v 0.5 konc. mořské vodě, ke které byla přidávána konc. kyselina chlorovodíková, nebo hydroxyd sodný, abychom dosáhli řadu hodnot pH mezi 3.35—8.80.

Bubření řasy je mezi pH 3.35—8.00 prakticky stejné (obr. 4), v alkaličtějším rozmezí bubření poněkud klesá. Stejně tak doba, kdy bylo dosaženo maxima bubření zůstává konstatní a teprve nad pH 8.15 se prudce vychýlí (obr. 4).

Jedině exosmosa, která u této řasy byla povšechně vyšší než u řasy k dřívějšímu pokusu užití, stoupne od hodnot kyselých k alkalickým podle křivky s maximem u pH 8.15 (obr. 4).

Vidíme, že změna pH tak jak v mořské vodě přichází v úvahu, nemá nejmenšího vlivu na bubření o posunutí osmotické rovnováhy zmíněné řasy. Za to změny v osmotické hodnotě mořské vody jak nastávají při prudkém dešti, nebo při změně proudu poblíže ústí potoků (řasa roste asi 100 m od břehu), mění jak osmotickou hodnotu, tak výměnu solí ve tkáni řasy.

Permeability and Swelling of the Tissue of *Nereocystis*.

The swelling of the kelp (*Nereocystis*) has been measured by means of the auxograph in varying concentrations of the sea water. In the ordinary sea water a dilatation of 0.42% takes place, in the distilled water 6%. The maximum of the swelling amounting 16% has been found in 0.4 conc. sea water (40 cc. of the sea water and 60 cc. of the distilled water). In the ordinary sea water and in the dilutions higher than 0.8 conc. chlorides have been taken from the water and put into the kelp then the concentration of this element in the sap is higher than that of the swelling medium. In the concentrations lower than 0.8 conc. of the sea water we found an exosmosis of chlorides. We regard the solutions where an endosmosis or an equilibrium takes place as harmless for the tissue. The curve illustrating the movement of the ions (chlorine for the sea algae) gives us the true idea about the reversible and irreversible changes occurring inside the cell and tissue. The time expressed in hours where the maximum of the swelling occurs is another characteristic and corresponds

with its highest value with the concentration where an equilibrium between the endo- and exosmosis is located. The swelling media regulate their pH towards the pH of the sap of the kelp which has been measured at 6,57.

Institute of Plant Physiology, Masaryk University.

LITERATURA.

1. KOVÁŘ, LADISLAV, *Protoplasma* 8; 585—627, 1930.
2. LLOYD, F. E. and V. ÚLEHLA, *Trans. Roy. Soc. Can.* III, 20. Section V. 45—73, 1926.
3. Mac DOUGAL, D. T., *Mem. New York Bot. Gar.* 6; 5—26, 1916.
4. MORÁVEK, VLADIMÍR, *Protoplasma* 7; 145—149, 1929.
5. STILES, WALTER, *Protoplasma* 11; 349—381, 1930.
6. ÚLEHLA, VLADIMÍR, *Planta* 2; 618—639, 1926.
7. ÚLEHLA, VLADIMÍR, *Arch. exp. Zellforschung* 6; 370—417, 1928.
8. ÚLEHLA, VLADIMÍR, *Sborník k 60. naroč. prof. Dra V. Růžičky. Praha* 1930.