

## ZASTOSOWANIE METODY FILMOWEJ DO ANALIZOWANIA WZROSTU I RUCHÓW ROŚLIN W CIEMNOŚCI

*Jan Tarłowski*

Instytut Biologii Roślin SGGW, Warszawa

### WSTĘP

Film poklatkowy jest obecnie najbardziej odpowiednią metodą jakościowego badania wzrostu wydłużeniowego oraz ruchów roślin. Metoda ta bowiem po pierwsze daje możliwość dokonywania automatycznej, ciągłej rejestracji poszczególnych faz wzrostu i ruchu z praktycznie dowolną częstotliwością bez konieczności mechanicznego drażnienia badanej rośliny, po drugie podczas projekcji filmu daje możliwość wielokrotnego obserwowania dowolnie przyspieszonego wzrostu i ruchu badanych roślin.

Jednakże metoda filmowa jest nadal mało popularna w zastosowaniu do badań ilościowych. Wiąże się to z trudnościami, jakie napotyka badacz zmuszony do szczegółowego i precyzyjnego analizowania dynamiki wzrostu lub wykreślania dokładnych krzywych ruchu. Jest również druga przyczyna ograniczająca przydatność metody filmowej w zastosowaniu do badania ilościowego wzrostowych reakcji roślin. Filmowanie bowiem wymaga oświetlania, a większość badań w tej dziedzinie musi być prowadzona w ciemności. Wymienić tu można badania ruchów tropicznych, czy endogenicznych ruchów nutacyjnych lub choćby niezwykle rozpowszechnione testy wzrostowe i wygięciowe, wykonywane masowo w ilościowych badaniach aktywności substancji wzrostowych. Nawet zastosowanie wielce kłopotliwych i nietrwałych błon uczulonych na podczerwień nie rozwiązuje problemu, gdyż jak wiadomo [2], na promieniowanie podczerwone wrażliwy jest fitochrom  $P_{660}$ - $P_{730}$ , kontrolujący metabolizm komórek roślinnych, a więc i procesy wzrostowe.

Pierwsze próby przezwyciężenia obu tych przeszkód ograniczających zastosowanie filmu poklatkowego do analizowania dynamiki procesów wzrostowych w warunkach pełnej etiolacji przeprowadzono w r. 1967 [3].

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie udoskonalonej w ciągu trzyletnich badań prostej metody, umożliwiającej poklatkowe filmowa-

nie roślin w oświetleniu morfogenetycznie nieaktywnym oraz urządzenia pozwalającego stosunkowo szybko i precyzyjnie wykreślać krzywe ruchu rosnących organów roślin w dwóch rzutach ortogonalnych podczas zwolnionej projekcji filmu.

## METODA FILMOWANIA

### ZASILANIE

Całą aparaturę sterującą automatycznie zdjęciami poklatkowymi, oświetleniem i pomiarem czasu przystosowano do zasilania prądem stałym z dwóch niezależnych akumulatorów 12 i 24 V. Ładowanie akumulatorów odbywa się automatycznie i jest sterowane oryginalnym układem tranzystorowym<sup>1</sup>. Do ładowania akumulatorów użyto dwóch niezależnych prostowników 12 i 24 V (produkcji Bielawskiej Fabryki Prostowników, typ TFM-24/4 i BM-12/1), w których nietrwałe i wrażliwe na wilgoć stopy selenowe zamieniono germanowymi diodami mocy DMG-4. Układ sterujący jest tak wyregulowany, aby akumulatory podczas pracy były stale bliskie pełnego naładowania. Pobór prądu z obu akumulatorów jest rozłożony w ten sposób, że w przypadku przerwy w dopływie prądu do prostowników z sieci, akumulatory mogą zasilać filmowanie roślin bez żadnych zakłóceń nieprzerwanie przez 48 godzin. W ciągu tego czasu nawet najpoważniejsza awaria może być usunięta.

Rejestracja czasu fizycznego odbywa się na każdej klatce filmu wg wskazań zegara o napędzie elektrycznym, zasilanego z odrębnego akumulatora 12 V, ładowanego co 3 miesiące.

### AUTOMAT DO SAMOCZYNNYCH ZDJĘĆ POKLATKOWYCH

W badaniach stosowano kamerę „Pentaflex 16” o trzech standardowych obiektywach, z silnikiem elektrycznym oraz przystawką do zdjęć poklatkowych. Jako źródło impulsów zastosowano zegar sygnalizacyjny ZS-2, nakręcany elektrycznie. Zdjęcia mogą być wykonywane co 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 20, 21, 24 i 25 minut przez dowolnie długi okres czasu, z maksymalnymi odchyleniami od ustalonej częstotliwości w granicach od 0,07 do 0,3<sup>0</sup>%. Fakt ten zasługuje na szczególne podkreślenie, gdyż automat sterujący zdjęciami poklatkowymi produkcji NRD — Pentacon daje przy częstotliwości zdjęć co 5 i więcej minut impulsy w czasie różniącym się od ustalonego o  $\pm 15$  s, co stanowi 5 do 10<sup>0</sup>% błędu.

Układ wybierakowy sterujący częstotliwością zdjęć opisano szczegółowo w innej pracy [3].

---

<sup>1</sup> Układy tranzystorowe sterujące automatycznym ładowaniem akumulatorów i pracą kamery zostały zaprojektowane przez mgr inż. K. Tarłowskiego, za co autor składa w tym miejscu serdeczne podziękowanie.

W związku z przejściem na zasilanie wszystkich układów prądem stałym z baterii akumulatorów powstała konieczność zastosowania nowego układu tranzystorowego sterującego czas trwania błysku światła podczas zdjęcia, okres pracy silnika oraz okres pracy spustu kamery.

Kolejność operacji podczas każdego zdjęcia jest następująca:

- 1) uruchomienie silnika kamery,
- 2) zapalenie z 0,5 sekundowym opóźnieniem reflektorów oświetlających rośliny,
- 3) wyzwolenie spustu kamery na okres czasu regulowany potencjometrem w granicach od 1/25 do 3 s,
- 4) zwolnienie spustu kamery z jednoczesnym wygaszeniem reflektorów,
- 5) wyłączenie silnika,
- 6) rejestracja kolejnej klatki filmu na czterocyfrowym liczniku telefonicznym, umieszczonym w polu widzenia obiektywu.

#### OŚWIETLANIE ROŚLIN PODCZAS ZDJĘĆ

Jak wspomniano na wstępie największą trudność w filmowaniu wzrostu i ruchów roślin stanowi dobranie takiego oświetlenia, na które nie reagowałyby badane rośliny, a które jednocześnie zapewniłoby dostateczne zaczerwienie błony filmowej.

Widma absorpcyjne barwników czynnych w procesie fotosyntezy wykluczają stosowanie światła niebieskiego i czerwonego. Wrażliwość fitochromu na czerwień i podczerwień jeszcze bardziej ogranicza możliwość wyboru odpowiedniej długości fali świetlnej.

Ostatnie badania [2] wskazują na to, że dla organizmów roślinnych najmniej aktywne jest światło zielone w zakresie 500 do 580 nm, w przeciwieństwie zresztą do wrażliwości oka ludzkiego, dla którego w całym zakresie widma widzialnego światło zielone jest „najwidniejsze” [1].

Niestety wszystkie ortopanchromatycznie uczulone błony czarno-białe są, podobnie jak rośliny, najmniej czułe na światło zielone. Jednakże czułość błon filmowych nawet na światło zielone wielokrotnie przewyższa wrażliwość roślin na tę długość fali świetlnej. Dzięki temu istnieje możliwość eksperymentalnego dobrania intensywności i długości ekspozycji zielonego światła tak, aby krycie (zaczerwienie) materiału światłoczułego było wystarczające, a jednocześnie, aby roślina praktycznie znajdowała się w nieprzerwanej ciemności.

W omawianych badaniach stosowano oświetlenie dwiema żarówkami o włóknie wolframowym 12 V, 100 W, umieszczonymi w ogniskowej reflektorów samochodowych. Dla uzyskania światła zielonego stosowano filtry ciekłe (jak w poprzedniej pracy) oraz filtry z zielonej folii (produkcji angielskiej firmy Cinemoid nr 22 — Moss Green).

## APARAT DO WYKREŚLANIA KRZYWYCH WZROSTU I RUCHU ROŚLIN

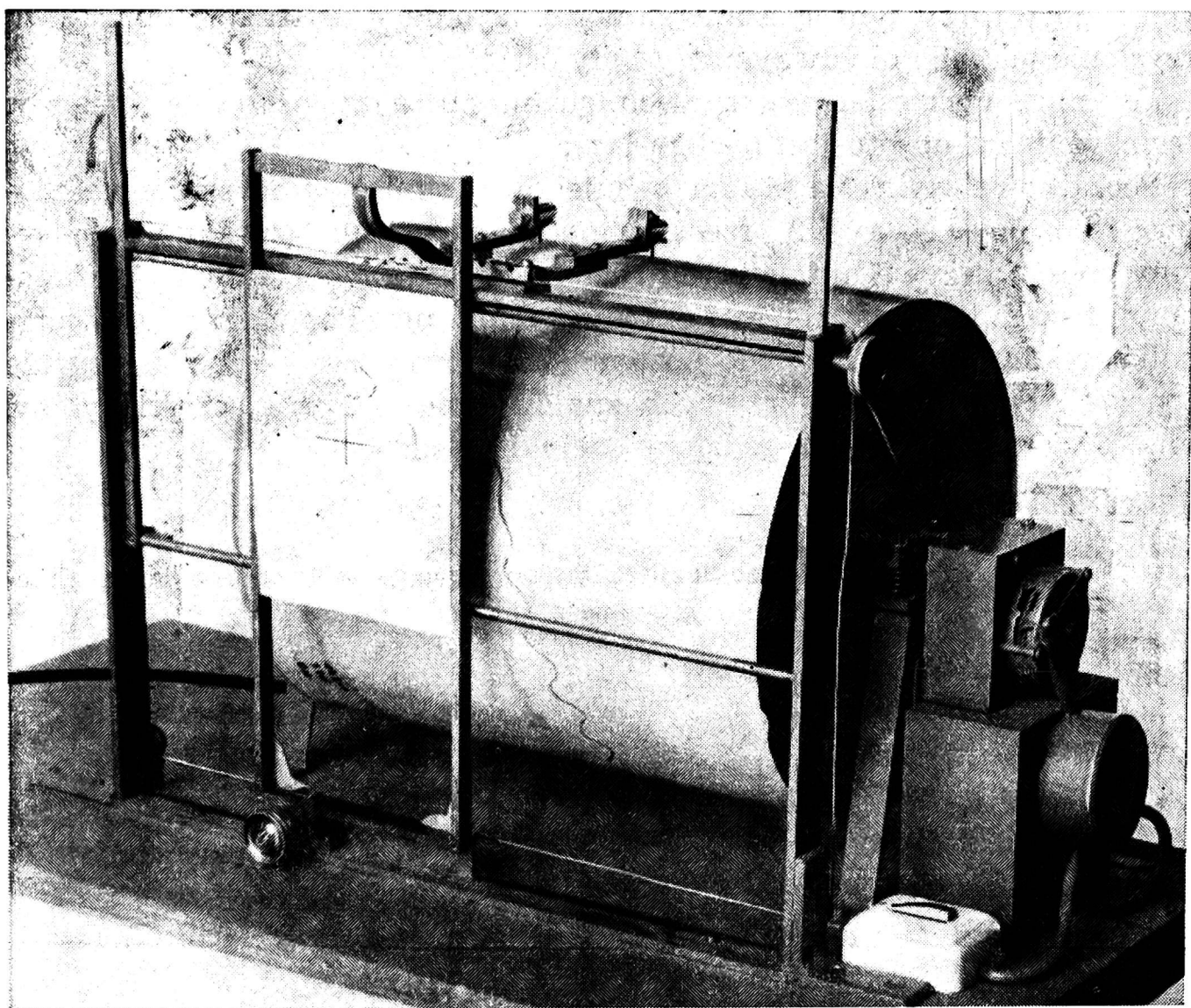
Prototyp urządzenia do graficznego przedstawienia przebiegu wzrostu i ruchów filmowanych roślin opisano już w poprzedniej pracy. Obecnie przedstawiono wersję udoskonaloną tego aparatu.

Do rzutowania obrazu filmowego zastosowano projektor krajowy AP-14. Żarówkę standardową 110 V, 750 W wymieniono na żarówkę przystosowaną do projektorów 8 mm „Łucz-2” na 12 V 90 W. Aby włókno tej znacznie mniejszej żarówki znalazło się w osi optycznej projektora konieczna jest zmiana cokołu lampy. Do oprawy lampy doprowadzono dodatkowe wyjście, aby umożliwić zaświecenie żarówki ze źródła prądu o napięciu 12 V lub mniejszym, niezależnie od pracy silnika projektora. W przypadku długotrwałego rzutowania na ekran pojedynczego kadru można w celu uniknięcia przegrzania błony filmowej zmniejszyć napięcie prądu zasilającego lampę. Chłodzenie żarówki silnym strumieniem powietrza podczas zwolnionej projekcji filmu zapewniono przez zamontowanie na ażurowej kopule lampy wylotu węża odkurzacza Alfa K-2. Dzięki tym modyfikacjom istnieje możliwość uzyskania w dobrze zaciemnionym pomieszczeniu dostatecznie jasnego obrazu, powiększonego linowo stukrotnie.

W celu uzyskania odpowiednio zwolnionego przesuwu taśmy filmowej zamontowano (po zdjęciu tylnej ściany korpusu głównego projektora) dodatkowy silnik synchroniczny o zredukowanej na ślimacznicy liczbie obrotów w stosunku takim, aby projekcja każdej klatki filmu trwała 4 s. Wszystkie te modyfikacje zostały wykonane w ten sposób, że projektor może służyć zarówno do wyświetlania filmów na niewielkim ekranie z normalną szybkością 24 lub 32 kadrów na sekundę lub też po przerzuceniu przekładni pasowej na silnik dodatkowy do zwolnionego rzutowania filmu podczas kreślenia krzywych ruchu roślin.

Aparat służący do wykreślenia krzywych wzrostu i ruchów roślin (rys. 1) składa się z bębna o szerokości 300 mm i obwodzie 840 mm, napędzanego silnikiem synchronicznym (uruchamianym jednocześnie z silnikiem projektora). Jest to szczególnie ważne, gdyż w ten sposób uzyskano całkowitą synchronizację szybkości ruchu bębna oraz przesuwu taśmy, co umożliwia wykreślenie krzywych w funkcji czasu. Przed bębniem umieszczony jest na wspólnej podstawie ekran, przesuwany przy pomocy dwóch niezależnych pokręteł w prostokątnych płaszczyznach: pionowej i poziomej. Precyzyjne ustawienie ekranu umożliwiają zębatki. Każde pokrętło sprzężone jest z dźwignią zakończoną piórką, kreślącą na obwodzie bębna linię o grubości 0,2 mm.

Aby wykreślić krzywą ruchu jakiegoś wybranego punktu badanej rośliny należy nastawiać przy pomocy obu pokręteł ekran tak, aby ten wybrany punkt rośliny nie zmieniał podczas zwolnionej projekcji filmu swego położenia na ekranie. Manipulacja pokrętłami jest tak prosta, że przy minimalnej wprawie nie przedstawia najmniejszej trudności. Prawidłowe



Rys. 1. Aparat do wykreślenia ruchów roślin

ustawienie ekranu w stosunku do rzutowanego nań obrazu ułatwia dwukrotne ukazywanie się każdej kolejnej klatki, za każdym razem na przeciąg 1 s.

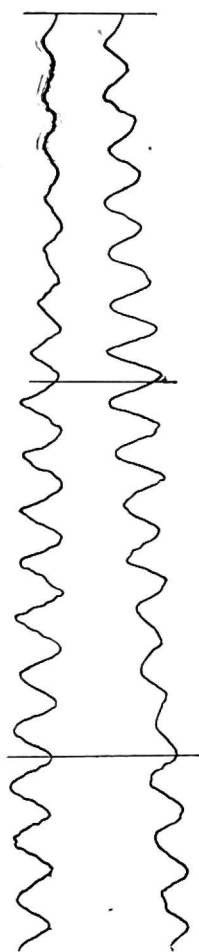
Szybkość obrotów bębna oraz przesuwu taśmy dobrana jest w ten sposób, że przy częstotliwości zdjęć — 1 klatka co 6 minut — bęben przesuwa się o 10 mm, co odpowiada jednej godzinie czasu fizycznego. Zaś jeden pełny obrót bębna odpowiada 3,5 dobom. Natomiast wykreślenie krzywych ruchu wykonanego w rzeczywistości przez jeden ruchomy punkt rośliny w ciągu jednej doby trwa 16 minut. W opisany sposób otrzymuje się wykres składowej poziomej i pionowej ruchu rośliny w płaszczyźnie obrazu.

Nieco bardziej skomplikowana jest technika uzyskiwania krzywych ruchu obrotowego, np. w przypadku rejestrowania nutacyjnych ruchów coleoptile roślin zbożowych lub wschodów roślin dwuliściennych. W tym celu nad badanymi roślinami umocowuje się w polu widzenia kamery lustro nachylone pod kątem  $45^\circ$ . W ten sposób na każdej klatce otrzymuje się jednocześnie dwa obrazy: w dolnej części klatki obraz roślin widzianych z boku, a w górnej — odbity w lustrze obraz roślin widzia-

nych z góry (przy tym sposobie filmowania należy diafragmę obiektywu przysłonić tak, aby obydwie obrazy były ostre).

Technika wykreślania krzywych ruchu obrotowego, filmowanego w płaszczyźnie osi obrotu jest następująca:

Początkowo wykreśla się na bębnie dwie sinusoidalne składowe pionową i poziomą. Na rys. 2 przedstawiono przykładowo uzyskane w opisywany sposób krzywe nutacyjnych ruchów obrotowych 17-dniowej, etiolowanej fasoli. Krzywa z lewej strony ryciny przedstawia ruchy wierzchołka rośliny w płaszczyźnie poziomej, z prawej zaś — w płaszczyźnie pionowej. Początek obu krzywych znajduje się w górnej części ryciny. Linie poziome odcinają 12-godzinne odcinki czasu.



Rys. 3. Kolejne fazy ruchu obrotowego wierzchołka fasoli zintegrowane z krzywych na rys. 2



Rys. 2. Składowe pozioma (lewa) i pionowa (prawa) ruchu obrotowego 17-dniowej, etiolowanej fasoli, wykreślone na podstawie filmu poklatkowego

Następnie na ekran aparatu zakłada się woskowany papier (stosowany do suchych przyrządów samopiszących) i do jego powierzchni dociska się rylec. Po uruchomieniu bębna, manipulując jednocześnie obydwu pokrętłami, wodzi się suchymi piórkami po sinusoidalnych krzywych składowych.

Na wprowadzonym w ten sposób w ruch ekranie rylec wykreśla kolejne fazy ruchu obrotowego. Rys. 3 przedstawia ruchy obrotowe zintegrowane opisanym sposobem na podstawie krzywych z rys. 2. Dla lepszego uwidocznienia kształtu orbit zakreślanych przez wierzchołek rośliny wykreślano każdy kolejny obrót oddzielnie (początek — w lewej górnej części ryciny).

Czynność integrowania składowych ruchu obrotowego musi być wykonywana przez dwie osoby.

## DYSKUSJA I WNIOSKI

Wzrost i ruchy roślin są procesami powolnymi. W związku z tym każda obserwacja musi trwać nieprzerwanie przez wiele dni, a nawet całe tygodnie. Zdarzające się niestety awarie sieci elektrycznej mogą powodować przerwy w dopływie prądu. Każda taka, nawet kilkugodzinna zaledwie przerwa powoduje zakłócenie rytmu zdjęć, nieprzewidziane i niezaplanowane zmiany w reżimie doświadczenia, niezgodność czasu fizycznego i wieku roślin itd. A ponieważ przygotowanie odpowiednio wyselekcjonowanego materiału roślinnego jest również pracochłonne i długotrwałe, może się więc zdarzyć, że kilkugodzinna przerwa w dopływie prądu zniweczy miesięczny trud eksperymentatora.

Zastosowanie wprawdzie dość skomplikowanej, lecz całkowicie zautomatyzowanej aparatury zasilanej wyłącznie prądem stałym pozwala uniknąć tych przykrych niespodzianek.

Już w poprzedniej pracy przedstawione dowody wskazują wyraźnie, że stosowane podczas filmowania błyski zielonego światła nie wywołują żadnych wygięć fototropicznych. Można więc sądzić, że zgodnie z wynikami uzyskiwanymi przez innych autorów zielone światło stosowane w małych dawkach nie wywiera uchwytnego wpływu morfogenetycznego na rośliny doświadczalne i nie zakłóca pełnej ich etiolacji.

W związku z tym można przypuszczać, że opisana metoda znajdzie zastosowanie w tych pracowniach badawczych, gdzie wykonuje się masowe, niezmiernie pracochłonne i kłopotliwe testy wzrostowe i wygięciowe. Jak wiadomo, badania aktywności wszystkich substancji wzrostowych, auksyn, inhibitorów, retardantów i innych związków fizjologicznie aktywnych, przeprowadza się głównie metodą biologiczną przy pomocy różnego rodzaju testów. Testy te polegają na pomiarze wzrostu lub wygięć pod wpływem potraktowania roślin testowych badaną substancją. We wszystkich tych badaniach filmowa rejestracja wzrostu lub wygięć może znacznie ułatwić i uprościć pracę.

Opisana metoda może również znaleźć zastosowanie do badania procesu kiełkowania oraz wzrostu systemu korzeniowego. Światło białe hamuje bowiem proces kiełkowania wielu gatunków roślin, a także wpływa niekorzystnie lub zakłóca normalny wzrost systemu korzeniowego.

W pracy opisano zastosowanie aparatu do ilościowego badania takich ruchów roślin, których analiza była dotychczas zupełnie niemożliwa bez zakłócania światłem procesu etiolacji. Nie ulega wątpliwości, że opisany aparat może znaleźć zastosowanie do badania innych ruchów roślin filmowanych w normalnym, białym świetle. Nic nie stoi na przeszkodzie, aby parametry aparatu, jak szybkość przesuwu filmu oraz obrotów bębna, były dowolnie zmieniane i dostosowane do warunków eksperymentu, częstotliwości zdjęć itd.

Nie bez znaczenia jest również fakt, że wszystkie opisane wyżej urządzenia, zarówno do całkowicie automatycznego filmowania poklatkowego

w warunkach etiolacji, jak też aparat do wykreślenia krzywych wzrostu i ruchów roślin, zostały wykonane metodą gospodarczą w średnio oprzyrządowanym warsztacie z materiałów i części zakupionych w kraju i ich koszt jest znacznie niższy niż podobnych urządzeń pochodzących z importu.

### STRESZCZENIE

Omówiono metodę poklatkowego filmowania ruchów i wzrostu roślin w warunkach pełnej etiolacji oraz aparat umożliwiający precyzyjne wykreślenie krzywych ruchów badanych roślin w dwóch płaszczyznach ortogonalnych.

Filmowanie roślin jest całkowicie zautomatyzowane. Zasilanie prądem stałym z baterii akumulatorów (24 i 12 V), doładowywanych automatycznie z sieci miejskiej. Zdjęcia poklatkowe przy błysku światła zielonego trwającym od 1/25 do 3 s możliwe co 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 20, 21, 24 i 25 min z kamery Pentaflex 16. W układzie sterującym zdjęciami zastosowano zegar ZS-2 współpracujący z wybierakiem telefonicznym. Maksymalny błąd w ustalonej częstotliwości zdjęć od 0,07 do 0,3%.

Aparat do wykreślenia krzywych ruchów i wzrostu badanych roślin umożliwia rysowanie krzywych ruchu dowolnie wybranego punktu rośliny w płaszczyznach prostopadłej i równoległej do sieci optycznej kamery. Przy częstotliwości zdjęć 1 klatka co 6 minut aparat umożliwia wykreślenie w ciągu 16 minut ruchu jednego ruchomego punktu rośliny filmowanego w ciągu 1 doby. Pełna synchronizacja szybkości przesuwu taśmy filmowej (1 klatka = 4 s) w aparacie projekcyjnym oraz obrotów bębna, na którym kreślone są krzywe, zapewnia precyzyjność wykresu w funkcji czasu.

### LITERATURA

1. Klesznin A. F.: Rastienije i swiet, Izdat. AN SSSR, Moskwa 1954, 456.
2. Mohr H.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Berlin 1969, 408.
3. Tarłowski J.: Acta Soc. Bot. Pol. 1968, 37, 67-76.

*Я. Тарловский*

### ПРИМЕНЕНИЕ КИНЕМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ АНАЛИЗА РОСТА И ДВИЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ В ТЕМНОТЕ

#### Резюме

Обсуждено метод киносъемки отдельными кадрами движений и роста растений в условиях полного затемнения и аппарат, дающий возможность точного черчения кривых движений исследуемых растений на двух ортогональных поверхностях.

Киносъемка растений целиком автоматизированная. Питание постоянным током из батареи аккумуляторов. (24 и 12 V), которые подзаряжаются автоматичес-



ки из городской сети. Снимки отдельными кадрами при вспышке зеленого света (max 552 nm), продолжающимся от 1/25 до 3 с. возможные каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 20, 21, 24 и 25 минут из камеры Pentaflex 16. В управляющей снимками системе применяли часы Zs -2 работающие совместно с телефоническим селектором. Максимальная ошибка в определенной частоте снимков от 0,07 до 0,3%.

Аппарат для вычерчивания кривых движений и роста исследуемых растений дает возможность вычерчивания кривых движения произвольно избранной точки растения в перпендикулярной и параллельной поверхностях к оптической оси камеры. При частоте снимков 1 кадр каждые 6 минут аппарат дает возможность вычерчивания в течение 16 минут движения одной подвижной точки растения сделанного в течение суток. Полная синхронизация скорости передвижения киноплёнки (1 кадр = 4 секунды) в проекционном аппарате и оборот барабана, на котором вычерчиваются кривые гарантирует точность чертежа в функции времени.

*J. Tartowski*

### APPLICATION OF FILM METHOD FOR ANALYZING GROWTH AND MOVEMENTS OF PLANTS IN DARKNESS

#### Summary

A method of frame filming of growth and movements of crops in conditions of full etiolation as well as apparatus for the exact plotting of movement curves of crops under examination in two orthogonal planes are discussed.

The filming of crops is fully automatic. Feeding with direct current occurs from the accumulator battery (24 and 12 V) automatically loaded up from the mains. Frame filming at green light flashes (max. 552 m) lasting from 1/25 to 3 s is possible every 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 20, 21, 24 and 25 min from the Pentaflex 16 camera. In the system of steering shots the ZS-2 cloak cooperating with telephonic dial is applied. Maximal error in fixed frequency of shots is from 0.07 to 0.3%.

The apparatus for plotting the curves of movements and growth of the examined plants enables plotting the movement curves of an arbitrarily chosen point on plant in the planes perpendicular and parallel to optical axis of the camera. At the shot frequency every 6 minutes, the apparatus enables plotting within 16 minutes the movement curve of a single point on the plant made within 24 hours. A full synchronization of film shift rate (1 frame = 4 s) in the projecting apparatus with the drum rotations on which the curves are being plotted, ensures the accuracy of the graph as a function of time.