

MÕNEDE TAIMEDI HÜPOKOTUÜLIDE REGENERATSIOONI- JA REPRODUKTSIOONIVÕIME

Bioloogiatead. kand. A. Toomsalu

Taimede regeneratsiooni probleem on äratanud botaanikute tähelepanu juba loodusteaduste arengu varasematel etappidel. Huvi selle probleemi vastu seletub selle teoreetilise ja praktilise tähtsusega terve rea ontogeneesi küsimuste lahendamisel. Olulise tähtsusega on regeneratsiooniprotsesside uurimine ka evolutsioonilise morfoloogia küsimuste lahendamisel.

Kõige suuremat huvi nii teaduslikust kui praktilisest seisukohast lähtudes pakub regeneratsiooninähtuste rühm, mis kuulub reparatiivse regeneratsiooni valdkonda ja väljendub ühe või teise vigastatud või eemaldatud osa taastumises.

Tihedas seoses reparatiivse regeneratsiooniga on ka teine nähtus, mis, tõi küll, on tunduvalt vähem levinud. See on vegetatiivne reproduktsioon ehk organismist isoleeritud osa omadus taastada tervet organismi tervikuna. Sealjuures mõeldakse organismi adventiivset, mitte preventiivset taastumist.

Regeneratsioonivõime on selliste protsesside aluseks, nagu haavade paranemine, vigastatud või eemaldatud osade taastumine, transplantatsioon, adventiivne reproduktsioon jne. Regeneratsiooninähtust saab kasutada morfogeneesis tähtsate seaduspärasuste avastamisel nii ontogeneetilises kui ka fülogeneetilises suunas.

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida mõnede taimede hüpokotüülide regeneratsiooni- ja reproduktsioonivõimet, milline küsimus on suhteliselt vähe uuritud.

Kuni käesoleva ajani ei ole veel kindlaks kujunenud üldiselt tunnustatud regeneratsiooni ja reproduktsiooni mõiste formuleeringut, sellepärast tuleb sellel küsimusel lühidalt peatuda.

Üks tähtsamaid botaanikuid Ph. Van Tieghem (1873) mõistis termini «regeneratsioon» all kogu nähtuste rühma, mis haarab niihästi eemaldatud osa kui ka terve organismi taastumist adventiivsel teel, taastumist preventiivpungadest ühendas ta aga termini all «reproduktsioon». H. V ö c h t i n g (1884) seevastu kasutas ühtainsat terminit «regeneratsioon». Sellist nende mõistete lahtimõtestamist toetasid ka W P f e f f e r (1904) jt. Ph. Van

Tieghem, W. Pfeffer, B. Němec (1924) kinnitasid samal ajal, et nende nähtuste vahel on nii palju ühist, et teravat piiri nende vahele tõmmata on võimatu.

Vastandina H. Vöchtlingile kasutas N. P. Krenke (1950) nende terminite liigset diferentseerimist ja eristas sõltuvalt taastumise kohast ning selle iseloomust restitutsioonitüüpi regeneratsiooni ja reproduktiivset tüüpi regeneratsiooni.

O. F. Mihhailov (1951, 1952, 1957 a, b) mõistab termini «regeneratsioon» all kudede, organite ja taime osade adventiivse taastumise nähtuste rühma nende eemaldamise või vigastamise korral, s. o. vaatleb regeneratsiooni kui osa taastamist terviku poolt. Samasuguseid nähtusi, millede puhul toimub terve organismi taastamine isoleeritud osa poolt, ühendab ta termini all «vegetatiivne reproduktsioon», mis võib toimuda nii preventiivsest kui ka adventiivsest algest. Vastavalt sellele võib vegetatiivne reproduktsioon kanda preventiivset või adventiivset iseloomu.

Vaatamata sellele, et kirjandus taimede regeneratsiooni valdkonnas on üsna laialdane, on hüpokotüüli regeneratsiooni- ja reproduktsioonivõime uurimisega tegelnud suhteliselt vähe uurijaid. Mis puutub nende küsimuste uurimisse mõningate meie poolt valitud taimede juures, siis kannavad nad kirjeldavat iseloomu, mistõttu on raske teha mingeid kindlaid üldisema iseloomuga teoreetilisi ja praktilisi järeldusi. Rida autoreid: J. Roeper (1824), H. Wydler (1850), H. Reichardt (1857), Th. Irmisch (1857), A. Hansen (1881), P. Burns ja M. Hedden (1906), F. Blank ja W. Lüdi (1944) jt. esitavad oma töodes adventiivpungade arenemise fakte mõningate taimede hüpokotüülidel, kuid ei anna sealjuures histoloogilist analüüsi, s. o. ei valgusta küsimuse kõige huvitavamat ja tähtsamat külge.

Erilist huvi käesoleva töö suhtes pakub M. S. Navašini (1955) töö, kes uuris adventiivpungade moodustumise anatoomilis-histoloogilist pilti lina hüpokotüülil. Selle tuntud teadlase uurimuse põhiülesandeks oli hüpokotüüli rakkude pooldumise kõige varajasemate, adventiivsete algete edasisele diferentseerumisele viivate protsesside pildi väljaselgitamine. M. S. Navašini poolt teostatud hoolikad uurimised näitasid, et dekapiteeritud noorel linataimel toimub regeneratsiooni esialgne protsess kuni diferentseerunud alge moodustumiseni rakkude mitootilise pooldumise teel. Sealjuures annab autor selle huvitava nähtuse käigust üksikasjalise pildi ja teeb järelduse, et samal viisil peab kulgema protsess ka teistel objektidel.

Ülalnimetatud lüngad uurimistöös viitavad sellele, et hüpokotüüli regeneratsiooni- ja reproduktsioonivõime uurimisele tuleb rohkem tähelepanu pöörata, arvesse võttes hüpokotüüli suurt bioloogilist tähtsust.

Käesolevas töös teostati katseid järgmiste taimedega: tomat — *Solanum lycopersicum* L. sort «Väike kobar»;

päevalille kultuurvorm — *Helianthus annuus* var. *cultus* sort «Saratovski» 169;

peakapsas — *Brassica oleracea* L. sort «Enkhuizen»;

koralltomat — *Solanum capsicastrum* Link.

Hüpokotüüli regeneratsiooni- ja reproduktsiooniprotsesside esilekutsumiseks on vaja muuta taime arengu välis- ja sisetingimusi. Taime normaalse ainevahetuse katkestamiseks kasutati dekapiteerimist, kudede vigastamist, varre eemaldamist jne. Taimede dekapiteerimist teostati ainult 2—3-päevaseil idandeil, kuna varre eemaldamist hüpokotüülini — kogu vegetatsiooniperioodi jooksul. Operatsioone teostati nii, et lõige läbis hüpokotüüli 2,5—5 mm (päevalillel isegi 10—20 mm) altpoolt idulehti. Seega oli takistatud kasvukuhiku meristemsete kudede taastumine ja idulehe kaenalpungade mõju adventiivpungade tekkele.

Opereeritud taimi kultiveeriti niiskusekambris (t° 17—25° C, niiskus 80—90%), vältides seejuures otseste päikesekiirte mõju. Kamber oli õhurikas, klaasseinte ja -laega.

Käesolevas töös kasutatud mikroskoopiline tehnika sarnaneb üldiselt M. S. N a v a š i n i (1936) poolt väljatöötatud meetodikaga. Fiksaatorina kasutati enamasti Navašini segu, harva Carnoy' segu, sest viimane ei andnud vanemate taimekudede fikseerimisel häid tulemusi.

Materjali fikseerimine toimus päeval erinevatel kellaaegadel ja öösel kella 3—4. Öisi fikseerimisi kasutati üksikasjalisemateks raku kariökineesi uurimisteks. Positiivselt mõjus materjali fikseerimisele kudede infiltreerimine.

Raku tuuma, kesta ja protoplasma värvimiseks kasutati järgmisi värve:

- 1) gentsiaanvioletti-kongopunast,
- 2) Heidenhaini raudhematoksüliini,
- 3) Hanseni hematoksüliini-eosiini,
- 4) neutraalpunast.

Kõik mikroftod on originaalsed. Töö käigus teostati fikseerimisi 319.

Käesolevas töös analüüsiti hüpokotüüli kudede anatoomilis-histoloogilisi muutusi adventiivpungade tekkimisel. Noortel tomatitaimedel (1. ja 2. lehepaari esinemisel) eemaldati vars ja 4—5 mm pikkune ülemine hüpokotüüli osa. 16 tundi pärast operatsiooni rakkudel morfoloogilisi muutusi ei märgatud, küll aga füsioloogilisi. Kogu löikepinna lähedased rakud värvusid intensiivselt (tugevate oksüdatsiooniprotsesside tõttu) Br. K a b u s (1912), N. A. M a k s i m o v (1946) jt. märgivad, et kudede vigastamisel hingamisprotsessid intensiivistuvad, mistõttu toimub nende rakude tugevam värvumine.

Alles 48—50 t. pärast operatsiooni oli märgata löikepinna lähedal parenhüümsete rakkude pooldumist (joon. 1) Algul raku tuum suurenes, tuumake kadus ning protoplasma tihenes. Diferent-

seerunud parenhüümsed rakud pooldusid ja muutusid uuesti meristeemseteks, mis allusid omakorda intensiivsetele paljune- misprotsessidele. Rakkude esimene pooldumine toimus juhtkoe lähedal parenhüüm-rakkudes ning alles hiljem selle perifeerses osas. Hüpokotüüli löikepinna lähedal on esialgu kahe rakukihi ulatuses toimunud uute rakkude teke, kus on näha äsja tekkinud noored rakud, mis kohe ei allunud pooldumisprotsessidele (joon. 1). Noored rakud on pikergused, suurte tuumadega, nende protoplasma on teralise ehitusega ning plastiididerikas.

Mida intensiivsem on hüpokotüüli koore-parenhüüm-rakkudes assimilatsioon, seda energilisemalt toimuvad regeneratsiooniprot- sessid. Tavaliselt 4. või 5. päeval tekkis kambiumi- ja juhtkoelähe- daste parenhüüm-rakkude pooldumisel meristeemsete rakkude kühmuke. Löikepinna-lähedaste rakkude pooldumine toimus int- ensiivsemalt kui hüpokotüüli sügavates kudedes (joon. 2). 9—10 päeva pärast oli löikepind kaetud meristeemrakkude kühmudega, mis värvusid väga tugevasti. Sügavates kudedes diferentseerusid prokambiumirakkude rühmadest juhtkoed. Viimastest tekkisid kõige enne trahheiidid, mis soodustasid toitainete ja vee liikumist arene- vasse punga. 17—30 päeva pärast operatsiooni oli hüpokotüüli löikepinnal adventiivpungade algeid tavaliselt mitu (joon. 3). Kal- luse perifeersetest rakkudest ei diferentseerunud kunagi trahheide. Viimased kujunesid ikka endogeenselt. Adventiivpunga algete pro- kambiumirakud olid ühenduses hüpokotüüli juhtkoega, mis samuti polnud veel täiesti diferentseerunud. Meristeemsetest algetest formeerusid mõned adventiivpungad, milledest ainult üks arenes taimeks, kuna teised jäid embrüonaalsesse olukorda.

Histoloogilist pilti noore areneva adventiivvõsu tekkekohast hüpokotüülil kujutab joon. 4. Pikilõigul on näha ka hüpokotüüli kudesid, kus eriti hästi on arenenud trahheiidid, mille läheduses võib näha veel meristeemrakke. Joonise parempoolsel osal on näha hüpokotüüli perifeerse osa kudede vigastamise koht, mille läheduses rakud on kasvanud pikaks. Neil on suured piklikud tuumad, mis asetsevad rakkude otstes. Purustatud rakud stimuleerivad füsio- loogilis-biokeemiliselt alumiste rakkude kasvu. Adventiivpungast arenenud varre juhtkude polnud veel diferentseerunud. Esinesid ainult meristeemrakud, mis kulgesid kogu varre ulatuses korra- päratute väätidena. Hüpokotüüli koore-parenhüüm-rakkude vahele jäid meristeemrakkude rühmad (4—5 raku koos), mis püsisid vegetatsiooniperioodi lõpuni, kui ei muudetud taime arenemiseks vajalikke sise- ja välistingimusi. Adventiivpunga tekkekoht hüpo- kotüülil muutus järk-järgult jämedamaks parenhüüm-rakkude pool- dumise arvel. Adventiivpungast arenenud esimesed lehed võsul olid ebanormaalse ümara kujuga, alles 4.—5. lehepaar saavutas tomatile omase kuju. Normaalse kujuga lehtede tekkimisel muutus taimevars jämedamaks kui hüpokotüül, mis oli tingitud järgmis- test asjaoludest.

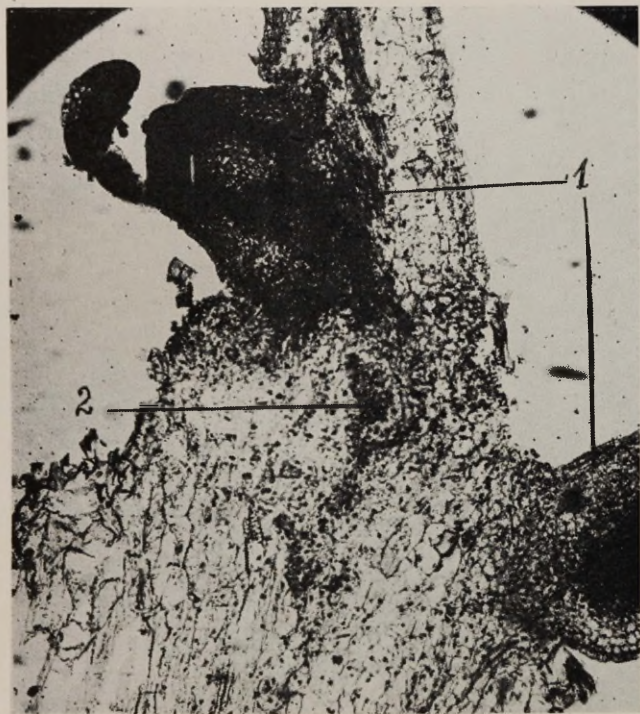
1. Hüpokotüülil tekkinud adventiivvõsu varres arenesid rikka-



Joon. 1. Tomatitaime hüpokotüüli pikilõik 50 tundi pärast operatsiooni. 1 — meristeedrakud. (Suurend. 10×40 .)



Joon. 2. Tomatitaime hüpokotüüli lõikepinnal tekkinud meristeedrakkude kühmu pikilõik 4 päeva pärast operatsiooni. (Suurend. 10×8 .)



Joon. 3. Tomatitaimede hüpotüüli pikilõik 35 päeva pärast operatsiooni. 1 — adventiivpungad, 2 — meristeemrakude väädid. (Suurend. 7×8 .)



Joon. 4. Adventiivvõsult hüpotüüli ülemineku koha pikilõik. 1 — hüpotüüli trahheiidid, 2 — adventiivpunga meristeemrakude väädid, 3 — vigastuse koht, 4 — adventiivpunga alge. (Suurend. 10×40 .)

likult spiraaltrahheidid, mis ei kulgenud sirgjooneliselt, vaid looklevalt ja olid ümbritsetud meristeemrakkudega. Üleminekul adventiivvõsust hüpokotüülile ei ühinenud spiraaltrahheidid korrapäraselt hüpokotüüli juhtkudedega, mistõttu siin toitainete ja vee vool oli pidurdatud. Juhtkudedelähedastes parenhüümsetes rakkudes toimus intensiivne rakkude pooldumine, tõenäoliselt sellepärast, et siia kogunesid toitained.

2. Hüpokotüüli koed olid ontogeneetiliselt vanemad ning diferentseerusid varem kui adventiivvõsude omad, mis omakorda võis takistada normaalset toitainete voolu adventiivvõsust hüpokotüüli üleminekul.

3. Diferentseerumata varrekude rakud kasvasid kiiremini kui diferentseerunud hüpokotüüli rakud.

4. Hüpokotüül jäi ka sellepärast peenemaks, et operatsioon teostati hüpokotüüli varasel arengufaasil, mistõttu normaalne kasv oli takistatud ja jäi ka hiljem saavutamata.

Tomatitaimede noored koed reageerisid vigastustele kiiresti (2—3 päeva jooksul) Hüpokotüüli kudede vigastamise koha lähedastes rakkudes suurenesid kõigepealt tuumad (joon. 5). Pikkade kooreparenhüümrakkude purustamise tagajärjel arenesid uued, hoopis väiksema läbimõõduga rakud. Vanematel tomati- ja samuti ka päevalilletaimedel, alates 3.—4. lehepaari ilmumisest, ei tekkinud hüpokotüülil kunagi kallust (joon. 5)

Katsed päevalillega näitasid, et idandite hüpokotüülidel on võimalik esile kutsuda regeneratsiooni- ja reproduktsiooniprotsesse. Operatsioonil kõrvaldati kasvukuhik, idulehe kaenalrakud ning siis eemaldati klaastoruga (läbimõõt 1,75 mm) kasvukuhikualused koed. Kasvukuhik taastus 5—7 päeva pärast, mistõttu teda eemaldati korduvalt, enne kui ta jõudis täielikult taastuda. Katsetest selgus, et kui kasvukuhikut ei kõrvaldatud, siis ei tekkinud hüpokotüülil ühelgi juhul adventiivpungi.

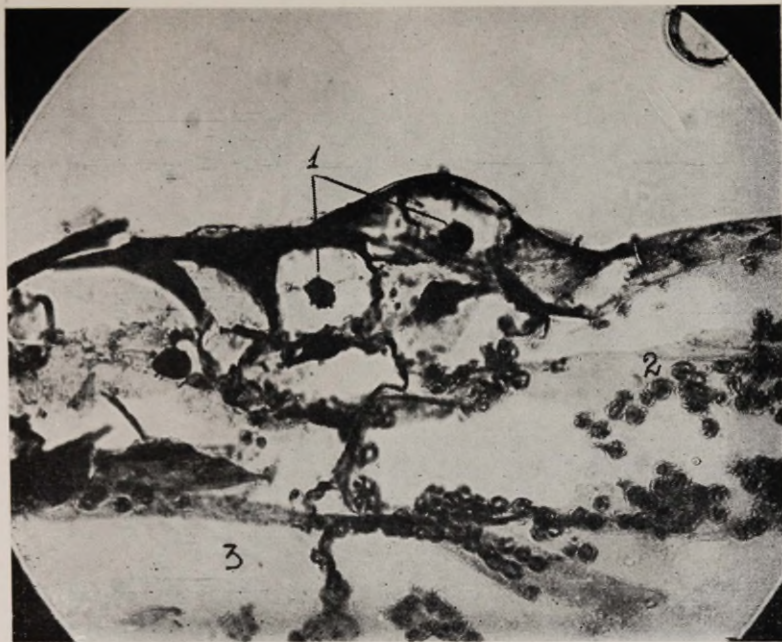
Vigastuskoha anatoomilis-histoloogilistel analüüsidel täheleandati, et parenhüümrakud juhtkudede lähedal 4—5 päeva möödumisel operatsioonist pooldusid. Tekkisid meristeemsed rakud, mis omakorda intensiivsel pooldumisel moodustasid kühmukese — adventiivpunga alge (joon. 6) 9—10 päeva pärast operatsiooni arenesid adventiivpungal esimeste lehtede alged (joon. 7) Samaaegselt pooldusid kasvukuhiku juhtkoe meristeemrakud. Nad ei ühinenud veel täielikult hüpokotüüli juhtsüsteemiga. Hiljem diferentseerusid meristeemrakkudest juhtkoed. Niipea kui adventiivpungal esimesed lehed muutusid fotosünteesivõimelisteks, kaotasid idulehed tähtsuse — nad kuivasid. Adventiivpunga tekkekoht polnud täpselt lokaliseeritud.

Vastupidiselt eelmistele katsetaimedele toimusid kapsa hüpokotüülil intensiivsed regeneratsiooni- ja reproduktsiooniprotsessid hilisemal arengufaasil. Eriti hästi toimus see pärast pea formeerumist. Siin ilmnusid anatoomilis-histoloogilised muutused (peridermi teke, tagavaraainete talletamine parenhüümrakkudesse,

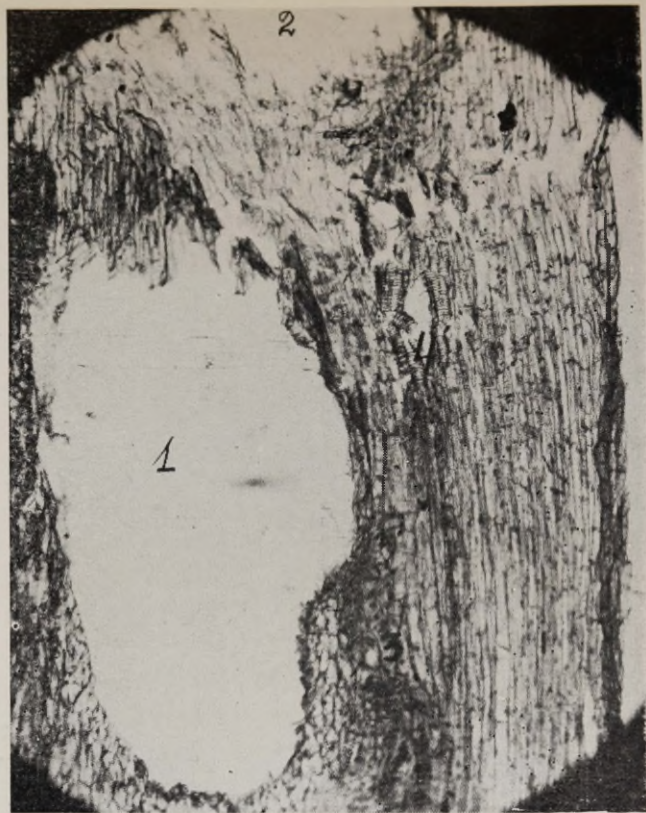
epidermise kadumine jne.), mis soodustasid adventiivpungade teket. Kapsa hüpokotüüli kudede vigastamisel pärast pea formeerumist tekkis rikkalikult kallust, mille rakud olid hüpokotüüli omadest palju pikemad. Kalluserakkude keskmine pikkus oli 17—26 μ ning laius 3—6 μ ja koore-parenhüüm-rakkude keskmine pikkus 5—9 μ ning laius 4—6 μ . Kalluse parenhüümses koes täheldati meristeemrakkude kühmuke. Kalluserakud olid plastiididerikkad. Kallusekühme kattis pealt üherakuline kiht epidermisetaolisi rakke, mis hiljem muutusid pruuniks ja korgistusid. Samal ajal oli kalluses märgata adventiivpunga formeerumist. Meristeem arenes kalluses algul üksikute rakurühmadena. Edasises arenguprotsessis meristeemrakkude rühmad ühinesid ja moodustasid kalluses meristeemrakkude koldeid, milledes kulgesid trahheiidid. Rakud olid toitainete- ja veerikkad, mille arvel võisid toimuda kiired diferentseerumisprotsessid. Adventiivpungade teke kallusest nõudis kapsa hüpokotüüli tavaliselt 3—4 kuud. Sügisel vigastatud kapsa hüpokotüülid asetati veebruarikuus laboratooriumi niiskusekambrisse. Pärast niiskusekambrisse toomist teostati täiendav operatsioon (varre eemaldamine hüpokotüülini). Kalluses toimus intensiivne meristeemrakkude paljunemine pooldumise teel (algul mitoos, kuid hiljem märgati ka amitoosi). Meristeemrakkude kolletest arenesid 10—12 päeva pärast üksikud lehed, millede keskel asetses adventiivpung (joon. 8). Nagu nähtub jooniselt, läbis pikilõige adventiivpunga kasvukuhiku perifeerset osa ja selle lehti. Nii kasvukuhikul kui ka lehtedel polnud juhtkoed diferentseerunud. Lehed funktsioneerisid vähe aega. Nad hävisid, kui adventiivpungast arenenud võsul oli juba toimunud juhtkoe diferentseerumisprotsess.

Kasvukuhik ise oma esimeste lehtedega oli anormaalne. Lehe alged olid erineva suurusega: mõned neist olid suureks kasvanud, kuna osa oli jäänud väikeseks. Ühes kallusekühmus diferentseerus algul üks adventiivpung võsuks, kuna teised jäid embrüonaalsesse olekusse. Adventiivvõsu eemaldamine tõi kaasa teiste pungade hooga arenemise kalluses. Kalluserakkudel olid erakordselt suured võimed taastumiseks. Võsude tekkimisel kallusest ei esineud üldisi seaduspärasusi.

Hüpokotüüli toimusid subepidermilistes rakkudes samaaegselt kalluses esinevate arenguprotsessidega histoloogilised muutused. 7—8 päeva möödudes operatsioonist muutusid subepidermiliste rakkude tuumad suuremaks ja pooldusid karüokineetiliselt, mille tagajärjel ühes rakus tekkis hulk noori meristeemrakke (algul tekkis ühes rakus kaks, need omakorda pooldusid jne.), mida kujutab joon. 9. Emaraku kest püsis veidi aega, ta oli paksem ning teistest selgesti eristatav. Noorte meristeemrakkude kiire paljunemine põhjustas vana rakukesta rebenemise. Rakukest kadus 28—32 tunni pärast. Rakkude pooldumine toimus kiiresti, mistõttu 3—5 päeva pärast oli isodiameetriliste ja suurte tuumadega meristeemrakkude kühmuke arenenud suureks. 14—15 päeva pärast



Joon. 5. Tomatitaime hüpotüülikude vigastamise koha pikilõik. 1 — tuumad, 2 — klorofülliterad, 3 — koore-parenhüümrakud. (Suurend. 10×40 .)



Joon. 6. Päevalilletaime hüpotüüli kasvukuhiku ja selaluste kudede vigastamise koha pikilõik. 1 — hüpotüülikude klaastoriga eemaldamise koht, 2 — kasvukuhiku eemaldamise koht, 3 — adventiivpunga alge, 4 — juhtkude. (Suurend. 7×40 .)



Joon. 7. Päevalilletaime adventiivpunga pikilõik. 1 — adventiivpunga esimesed lehed, 2 — adventiivpunga kasvukuhik. (Suurend. $7 \times 3,5$.)



Joon. 8. Kapsa hüpokotüülil formeerunud punga pikilõik. 1 — lehe alge, 2 — juhtkude. (Suurend. $10 \times 3,7$.)

kujunes adventiivpunga alge. Kasvukuhikus formeerusid esimesed lehed ning diferentseerus ka oma juhtkude.

Samuti teostati katseid koralltomatitaimede regeneratsiooni- ja reproduktsiooniprotsesside uurimiseks erinevates vanustes. Katsematerjaliks olid kahepäevaste idandite kuni nelja aasta vanuste taimede hüpokotüülid. 8—10 tunni möödumisel idandite operatsioonist löikepinna lähedastel rakkudel tuumad suurenesid ja värvusid intensiivselt (raudhematoksüliin). Hüpokotüülirakkude regeneratsioon algas kõigepealt kesksilindri osa floemist või kambiumist või selle lähedastest rakkudest. Eriti selgesti ilmnes see vanemate taimede hüpokotüülidel.

Koralltomatitaimede hüpokotüüli löikepinnale arenes juba 3.—4. päeval pärast operatsiooni meristeemrakkude kühmuke, mis oli ühenduses hüpokotüüli juhtkudedega. Noored meristeemrakkud pooldusid omakorda ja 2—3 päeva pärast olid kühmukesed makroskoopiliselt nähtavad. Edasises arengus tekkisid nendest adventiivpungad.

Adventiivpungade arvu ühel hüpokotüülil polnud võimalik kindlaks teha — neid arenes väga palju. Paljud neist diferentseerusid adventiivvõsudeks ning jätkasid intensiivset kasvu.

Jälgides adventiivvõsude korduvate eemaldamiste mõju regeneratsiooni- ja reproduktsiooniprotsessidele selgus, et see ei põhjustanud koralltomati hüpokotüüli hävimist, nagu seda nähti päevalille puhul. Pärast primaarsete adventiivvõsude eemaldamist tekkisid sekundaarsed, tertsiarised jne. adventiivpungad.

Operatsioonid teostati igal aastaajal, kuid kõige intensiivsem rakkude pooldumine (nagu teistelgi katsetaimedel) oli varakevadel. Operatsioonidel eemaldati vars kuni hüpokotüülini. Kudede regeneratsiooniprotsessid ilmnesis kahel viisil:

- 1) diferentseerunud rakkude meristeemseks muutumise ja
- 2) diferentseerumata rakkude paljunemise näol.

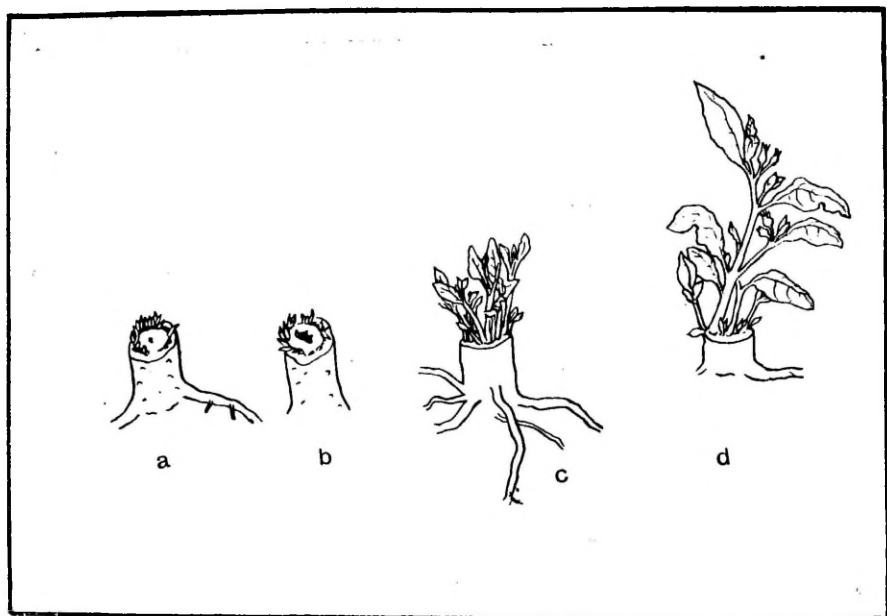
Anatoomilis-histoloogiline analüüs näitas, et kõige enne reageerisid vigastustele kambiumi- ja floemirakud. Nad pooldusid karüokineetilisel ning 3—4 päeva pärast tekkis makroskoopiliselt nähtav rohekas rõngas kogu löikepinna ulatuses. Need noored meristeemrakkud koos juhtkudedelähedaste parenhüümrakkudega moodustasid kambiaalse tsooni, mille rakud jäid mõneks ajaks õhukeseseinalisteks ja protoplasmariikkaiks. Samal ajal, kui kambiaalses tsoonis toimusid aktiivsed rakkude pooldumise protsessid, hüpokotüüli perifeerses suunas see järk-järgult vähenes. Peridermi lähedal vigastatud rakud regenereerusid, kuid reproduktsiooni siin ei toimunud. Koore-parenhüümrakkud juhtkudedele ja peridermi lähedal olid morfoloogiliselt ühesugused, kuna füsioloogiliselt nad erinevad. Põhjuseks tuleb pidada juhtkoelähedaste rakkude soodsamat toitainete ja veega varustamist ning intensiivset ainevahetust, samuti ka rakkude meristeemsust, mistõttu nad vigastustele kiiresti reageerisid (joon. 9)

5.—6. päevaks pärast operatsiooni peridermilähedased koed



Joon. 9. Subepidermaalsete rakkude ristlõige. 1 — meristeemrakud. (Suurend. 10×40 .)

regeneerusid ning seega suurenes kambiaalne meristeemrakude rõngas. Isodiameetriselised rakud olid plastiididerikkad. Säsi-parenhüüm-rakkude pooldumine algas säsi-osa tsentrist ning levis



Joon. 10. Adventiivpunga arengu morfoloogiline pilt koralltomatitaimelise hüpo-kotüülil.

hiljem ksüleemi suunas. Nende rakkude pooldumine toimus samuti karüokineetiliselt, kuid arengus jäid nad maha floemi lähedal asuvatest rakkudest. Morfoloogilist pilti adventiivpungade tekkest hüpokotüülil kujutab joon. 10. Algul, 6.—7 päeval pärast operatsiooni märgati kallusest arenenud meristeemrakkudest koosnevaid korrapäratuid hambakeste-taolisi moodustisi (joon. 10, a). Paar päeva hiljem üksikud neist kasvasid suuremaks, sama oli näha säsiosas (joon. 10, b). Edasine kudede diferentseerumine toimus aga kiiresti: ööpäeva jooksul formeerusid korrapäratutest moodustistest adventiivvõsukesed esimeste lehtedega (joon. 10, c). Adventiivpungadest arenevatel võsudel olid juba arengu ning kasvu esimestel päevadel erinevad potentsiaalsed võimed. Ühed adventiivvõsud kasvasid kiiresti, nende koed diferentseerusid ning neil arenesid lehed, kuna teised esinesid alles meristeemsete kühmudena või neil formeerusid alles lehealged. Kahekümnepäevastel adventiivvõsudel arenesid juba õiepungad (joon. 10, d). Õied olid täiesti normaalse ehitusega, kuid vilju ei arenenud, sest arvatavasti polnud küllaldaselt valgust või puudusid vastavad toitained ning tingimused tolmlemiseks.

Käsitletud katsetaimede hüpokotüülide regeneratsiooni- ja reproduktiooniprotsesside analüüsist võib teha järgmise kokkuvõtte.

1. Katsetaimede hüpokotüülide võrdlevad morfoloogilis-anatoomilised ja histoloogilised uurimised näitasid, et hüpokotüül on organ, mille hästi ilmneb regeneratsiooni- ja reproduktioonivõime. Käesolevas töös ühinetakse Ph. Van Tieghem'i, W. Pfefferi, B. Nemec'i jt. vaadetega, et regeneratsiooni- ja reproduktiooniprotsesside vahele on võimatu tõmmata teravat piiri. Katsetaimede hüpokotüülidel olid need protsessid tihedalt teineteisega seotud ning toimus pidev üleminek regeneratsioonilt reproduktioonile.

2. Adventiivpungade teke hüpokotüülil algas floemi ja kambiumi ning nende lähedaste parenhüümsete rakuare karüokineetiliselt pooldumisel. Nad tekkisid kõigil katsetaimedel ainult pärast operatsiooni (mitte ühelgi juhul ilma varre või selle kasvukuhiku eemaldamiseta).

3. Hüpokotüüli regeneratsiooni- ja reproduktioonivõime on otseses seoses rakkude ja kudede diferentseerumise astmega.

4. Uuritud taimede hüpokotüülide ehituses täheldati rida liigilisi, morfoloogilisi kui ka anatoomilis-histoloogilisi erinevusi, millest on tingitud ka nende rakkude erinev reageerimine vigastustele.

5. Kõigist adventiivpungadest, mis tekkisid katsetaimede hüpokotüülidel, arenes üks õitsvaks taimeks, kuna teised jäid meristeemseteks (tomat, päevalill) Koralltomati- ja kapsataimede hüpokotüülil täheldati palju adventiivvõsusi. Primaarse punga eemaldamisel tekkis alati uus (kas sekundaarne, tertsiaarne jne.) adventiivpung. Adventiivpunga lehtedel oli algul anormaalne kaju. Eriti selgesti ilmnnes see esimestel lehtedel.

6. Hüpokotüüli regeneratsiooni- ja reproduktioonivõime sõl-

tus välis- ja sisetingimuste kompleksist: valgusest, niiskusest, taime liigilisest spetsiifikast, tema fülogeneetilisest ja ontogeneetilisest vanusest, samuti rakkude ja kudede diferentseerumise astmest.

KIRJANDUS

- Blank, F. von und Lüdi, W. 1944. Über Hypokotyl- und Wurzelsprosse von *Brassica oleracea* var. *capitata* L. Bern.
- Burns, P and Hedden, M. 1906. Conditions influencing regeneration of hypocotil. Beh. z. Bot. Cbl., II.
- Irmisch, Th. 1857. Über die Keimung und Erneuerungsweise von *Convolvulus sepium* und *C. arvensis* sowie über hypocotyliche Adventivknospen bei den Krautartigen Gewächsen. Bot. Ztg., 15.
- Kabus, Br. 1912. Neue Untersuchungen über Regenerationsvorgänge bei Pflanzen. Cohns. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, II.
- Нѣмес, В. 1924. Methoden zum Studium der Regeneration der Pflanzen. Handb. biol. Arbeitsmethoden, Abt. XI, Teil 2.
- Pfeffer, W. 1904. Pflanzenphysiologie. 2. Aufl., Bd. II. Leipzig.
- Reichardt, N. W. 1857. Beiträge zur Kenntnis hypokotylichen Adventivknospen und Wurzelsprosse bei krautigen Dikotylen Wien.
- Roepер, J. 1824. Enumeratio Euphorbiarum. Göttingen.
- Van Tieghem, Ph. 1873. Recherches physiologiques sur la germination. Annales des Sciences Naturelles, Ser. 5, XVII.
- Vöchting, H. 1884. Über Organbildung im Pflanzenreich. II. Bonn.
- Wydler, H. 1850. Ueber subcotyledonare Sprossbildungen. Flora № 22.
- Кренке Н. П. 1950. Регенерация растений. М.—Л.
- Максимов Н. А. 1946. О механизме действия ростовых веществ на растительные клетки. Бюлл. Моск. О-ва испыт. природы, отд. биол., 51(2).
- Михайлов О. Ф. 1951. Морфогенез новообразований подсолнечника и гороха, полученных на изолированных семядолях. Ученые записки ЛГОЛУ. № 139. Серия биологических наук, вып. 26.
- Михайлов О. Ф. 1952. Биологическая специфика семядолей в семенах растений, не сохраняющих эндосперм. Научные труды, посвященные 150-летию Тартуского Государственного Университета. Tallinn.
- Михайлов О. Ф. 1957а. Метод культуры тканей и получение новых форм растений. Ученые записки Тартуского Гос. Университета, № 46.
- Михайлов О. Ф. 1957б. К вопросу о филогенетическом значении явления регенерации у растений. Ученые записки Тартуского Гос. Университета, № 46.
- Навашин М. С. 1936. Методика цитологического исследования для селекционных целей Сельхозгиз, Л.
- Навашин М. С. 1955. Совещание эмбриологов в Ленинграде 25—31 I 1955 г. Тезисы докладов. Л.

РЕГЕНЕРАЦИОННАЯ И РЕПРОДУКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ГИПОКОТИЛЯ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ

Канд. биол. наук А. Тоомсалу

Резюме

Проблема регенерации растений привлекала внимание ботаников уже на ранних этапах развития естественных наук. Интерес к этой проблеме объясняется ее большим теоретическим и практическим значением в разрешении ряда вопросов онтогении и филогении растений.

Наибольшее значение как с теоретической, так и с практической точки зрения представляет та группа регенерационных явлений, которая относится к области патологической или репаративной регенерации, выражающейся в восстановлении той или иной поврежденной или утраченной части организма.

В тесной связи с репаративной регенерацией находится и другое явление, степень распространения которого, однако, значительно меньше, а именно вегетативная репродукция или свойство отдельной части, изолированной от всего организма, возобновлять весь организм в целом, имея в виду при этом возобновление адвентивного, а не превентивного типа.

Целью данной работы являлось изучение регенерационных и репродукционных свойств гипокотыля некоторых растений, одного из важнейших органов, который, однако, в данном аспекте сравнительно мало изучен.

Вследствие того, что регенерационная и репродукционная способность гипокотыля и в количественном и в качественном отношении находится в определенной зависимости от целого комплекса обстоятельств, в том числе от возраста организма и его стадийного состояния, нами были использованы однолетние, двухлетние и многолетние растения на различных этапах их онтогенеза.

В качестве исходного материала были использованы растения томата, культурной формы подсолнечника, капусты и кораллового томата. Помимо общеморфологических наблюдений над объектами исследования, производился сравнительный анатомо-гисто-

логический анализ, которому уделялось особое внимание. Фиксация материала производилась по Навашину и реже по Карнуа. Срезы окрашивались железным гематоксилином Гейденгайна, гематоксилином Ганзена с эозином, генциановым фиолетовым с конго-красным, нейтральным красным и др.

Объекты исследования подвергались соответствующей операции, после чего производилось:

а) Культивирование изолированного гипокотила в искусственной питательной среде, как частный случай метода культуры тканей и органов.

б) Выращивание растений с различными повреждениями в области гипокотила и растений с различной степенью декапитации во влажной камере.

Через 48—50 часов после операции наблюдалось начало кариокинетического деления паренхимных клеток около проводящих тканей поверхности среза. Образующиеся при этом молодые клетки носили меристематический характер и образовывали своеобразные очаги, в которых через 30—35 дней после операции дифференцировались адвентивные почки. Одна из этих почек развилась в плодоносящее растение, прочие останавливались на определенной стадии дифференцировки до тех пор, пока для дальнейшего развития не создавались соответствующие условия. Весьма часто, однако, в различных частях гипокотила образовывалось большое количество отдельных листьев аномального строения. На адвентивных побегах только 4-ая или 5-ая пара листьев приобретала нормальный для данного вида характер.

Возникновение адвентивного побега на гипокотиле не было точно локализовано.

Интенсивно регенерировали после повреждения ткани гипокотила проростков томата. Гипокотили более старых растений томата на повреждение столь эффективно не реагировали.

Своеобразная картина наблюдалась при повреждении гипокотила проростка подсолнечника. Чтобы вызвать образование адвентивных почек на гипокотиле подсолнечника, производились повторные операции. После декапитирования удалялись ткани гипокотила в пазухах семядолей, а затем при помощи стеклянной трубки, диаметром 1,75 мм, удалялись ткани, расположенные под точкой роста.

Гистологическое исследование показало, что паренхимные клетки, находившиеся в контакте с проводящими тканями, начинали на 4—5-ый день после операции делиться, а через 7—8 дней из образовавшихся при этом меристематических клеток возникал бугорок, в котором продолжались процессы деления и дифференцировалась адвентивная почка.

Равным образом изучалась регенерационная и репродукционная способность гипокотила капусты.

Осенью, после формирования кочана, в результате повреждения тканей гипокотила образовывался мощный каллус. Развитие

меристемы в каллюсе. начиналось с образования групп клеток. Эти группы далее объединялись и образовывали центры скопления меристематических клеток, в которых на 10—12 день после декапитации дифференцировались адвентивные почки.

На гипокотиле капусты адвентивные почки развивались также и из субэпидермальной клетки. Гистологическое исследование показало, что при этом сначала происходило увеличение ядра этой клетки, а затем обычный кариокинез. Через 14—15 дней, после интенсивного деления клеток, наблюдалось образование зачатка адвентивной почки.

Интенсивные регенерационные и репродукционные процессы наблюдались в гипокотильях как проростков, так и одно-, двух-, трех- и четырехлетних растений кораллового томата. В гипокотильях проростков вблизи поверхности среза восстановительные процессы происходили очень быстро, и на поверхности среза уже на шестой или седьмой день в меристематических бугорках дифференцировались адвентивные почки. На адвентивных побегах 20-дневного возраста развивались цветочные почки.

Гипокотили исследованных нами растений обладали рядом видовых отличий как в морфологическом, так и в анатомо-гистологическом плане.

1. Сравнительное изучение морфолого-анатомических и гистологических особенностей строения гипокотыля подопытных растений показало, что гипокотиль представляет собой орган, на котором очень удобно изучать регенерационные и репродукционные процессы.

2. Степень регенерационной и репродукционной способности гипокотыля находится в прямой зависимости от степени дифференцировки клеток и тканей.

3. Возникающие на оперированных гипокотильях адвентивные почки в ряде случаев развивались в побеги, у основания которых, в местах исхода из гипокотыля, в свою очередь, образовывались адвентивные почки второго, третьего и последующего порядков.

4. Адвентивные почки всех порядков имели явно выраженные морфологические аномальности. Особенно ярко это проявлялось в строении первых листьев. Последующие листья обладали аномальностями, выраженными менее сильно.

5. Регенерационные и репродукционные свойства гипокотыля зависят от целого комплекса внешних и внутренних условий: света, влажности, видовой специфики растения, его филогенетического и онтогенетического возраста и степени дифференцировки клеток и тканей, состояния растения до и во время операции, а также от некоторых детерминирующих обстоятельств, понимая под этим и выработавшийся в процессе исторического развития способ органобразования.

REGENERATIONS- UND REPRODUKTIONSFÄHIGKEIT DES HYPOKOTYLS EINIGER PFLANZEN

A. Toomsalu

Zusammenfassung

Das Problem der Regeneration der Pflanzen hat schon auf den frühen Entwicklungsstufen der Naturwissenschaften die Aufmerksamkeit der Botaniker auf sich gezogen. Das Interesse, das diesem Problem zuteil wird, erklärt sich durch seine grosse theoretische wie auch praktische Bedeutung bei der Lösung einer Reihe von auf die Ontogenese und Phylogenese der Pflanzen bezüglichen Fragen.

Die grösste, sowohl theoretische als auch praktische Bedeutung kommt der Gruppe von Regenerationserscheinungen zu, bei denen es sich um pathologische oder reparative Regeneration handelt, die in der Erneuerung des einen oder anderen verwundeten oder eingebüssten Teiles eines Organismus zum Ausdruck kommt.

In engem Zusammenhang mit der reparativen Regeneration steht auch eine andere Erscheinung, die jedoch bedeutend weniger verbreitet ist, nämlich die vegetative Reproduktion oder die Fähigkeit eines vom Organismus isolierten Teiles, den Organismus als Ganzes zu erneuern, wobei wir es mit einer Erneuerung adventiver und nicht präventiver Art zu tun haben.

Der Zweck der vorliegenden Abhandlung ist die Erforschung der Regenerations- und Reproduktionsfähigkeit des Hypokotyls einiger Pflanzen, als eines der wichtigsten Organe, der jedoch vom gegebenen Gesichtspunkt verhältnismässig wenig erforscht ist.

Da die Regenerations- und Reproduktionsfähigkeit des Hypokotyls sowohl in quantitativer als auch qualitativer Hinsicht in einer gewissen Abhängigkeit von einem ganzen Komplex von Umständen steht, darunter vom Alter des Organismus und seinem Entwicklungsstadium, wurden von uns ein-, zwei- und mehrjährige Pflanzen auf verschiedenen Etappen ihrer Ontogenese untersucht.

Das Ausgangsmaterial bildeten Pflanzen der Tomate, der Sonnenblume, des Kohles und der Korallentomate. Ausser allge-

meinen morphologischen Beobachtungen fand eine vergleichende anatomisch-histologische Untersuchung der Forschungsobjekte statt, der besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Die Fixation des Materials erfolgte nach Nawaschin, seltener nach Carnoy. Zur Färbung der Schnitte wurden Heidenhainsches Eisenhämatoxylin, Hämatoxylin nach Hansen mit Eosin, Gentionviolett mit Kongorot, Neutralrot u. a. verwandt.

Die Forschungsobjekte wurden einer entsprechenden Operation unterzogen. 48—50 Stunden nach der Operation konnte eine karyokinetische Teilung der parenchymatösen Zellen nahe dem Leitungsgewebe der Schnittoberfläche beobachtet werden. Die sich dabei bildenden Zellen waren von meristematischem Charakter und bildeten eigenartige Herde aus denen sich 30—35 Tage nach der Operation Adventivknospen differenzierten. Aus einer dieser Knospen entwickelte sich eine fruchthragende Pflanze, die übrigen verharrten auf einer gewissen Stufe der Differenzierung, bis für ihre weitere Entwicklung entsprechende Bedingungen geschaffen wurden. Recht häufig aber kam es in verschiedenen Teilen des Hypokotyls zur Bildung einer grossen Anzahl einzelner Blätter von regelwridriger Form. Auf den Adventivsprossen erreichte nur das vierte oder fünfte Blattpaar das für die gegebene Art normale Aussehen.

Die Entstehung des Adventivsprosses auf dem Hypokotyl konnte nicht genau lokalisiert werden.

Intensiv regenerierten nach einer Verwundung die Hypokotylgewebe an Tomaten-Keimpflanzen. Die Hypokotyle älterer Tomatenpflanzen reagierten nicht so effektiv auf eine Verwundung.

Eine eigenartige Erscheinung war nach Verwundung des Hypokotyls bei Sonnenblumen-Keimpflanzen zu beobachten. Um am Hypokotyl der Sonnenblume die Bildung von Adventivknospen auszulösen, waren wiederholte Operationen notwendig. Nach Entfernung der Spitze wurden die Gewebe des Hypokotyls in den Achseln der Keimblätter entfernt und alsdann mit Hilfe einer Glasröhre, die einen Durchmesser von 1,75 mm besass, die unter dem Vegetationspunkt befindlichen Gewebe beseitigt.

Die histologische Untersuchung hat gezeigt, dass bei den parenchymatösen Zellen, die mit den Leitungsgeweben in Verbindung standen, die Teilung am 4.—5. Tage nach der Operation begann, nach 7—8 Tagen aber bildete sich aus den dabei entstandenen meristematischen Zellen eine Ausbuchtung, worin die Teilungsprozesse fort dauerten und sich die Adventivknospe differenzierte.

In derselben Weise wurde die Regenerations- und Reproduktionsfähigkeit des Kohls erforscht.

Im Herbst entstand nach Bildung des Kopfes, infolge von Verwundung der Gewebe des Hypokotyls ein gewaltiger Kallus. Die Entwicklung des Meristems im Kallus begann mit der Bildung von Zellengruppen. Diese Gruppen vereinigten sich später und bildeten die Mittelpunkte von Ansammlungen meristematischer

Zellen, aus denen am 10.—12. Tage nach Entfernung der Spitze Adventivknospen entstanden.

Am Hypokotyl des Kohls fand die Bildung von Adventivknospen auch aus einer subepidermalen Zelle statt. Histologische Untersuchungen haben gezeigt, dass dabei anfangs die Vergrößerung des Kernes der gegebenen Zelle stattfand und danach die übliche Karyokinese. 14—15 Tage nach einer intensiven Teilung der Zellen konnte die Bildung der Anlage der Adventivknospe beobachtet werden.

Intensive Regenerations- und Reproduktionsprozesse waren auch an den Hypokotylen sowohl der Keimpflanzen als auch der ein-, zwei-, drei- und vierjährigen Pflanzen der Korallentomate festzustellen. In den Hypokotylen der Keimpflanzen verliefen nahe der Schnittoberfläche die Erneuerungsprozesse sehr rasch, und auf der Oberfläche des Schnittes differenzierten sich schon am 6.—7. Tage in den meristematischen Ausbuchtungen die Adventivknospen. An den Adventivsprossen entwickelten sich am 20. Tage Blütenknospen.

Die Hypokotyle der von uns untersuchten Pflanzen wiesen sowohl in morphologischer als auch anatomisch-histologischer Hinsicht ein Reihe von Artunterschieden auf.

1. Eine vergleichende Untersuchung der morphologisch-anatomischen und histologischen Eigentümlichkeiten in der Struktur des Hypokotyls bei den Versuchspflanzen hat gezeigt, dass das Hypokotyl ein für die Erforschung der Regenerations- und Reproduktionsprozesse besonders günstiges Organ darstellt.

2. Die Regenerations- und Reproduktionsfähigkeit des Hypokotyls steht in unmittelbarer Abhängigkeit von der Differenzierungsstufe der Zellen und Gewebe.

3. Aus den an den operierten Hypokotylen entstandenen Adventivknospen entwickelten sich in mehreren Fällen Sprosse, an deren Basis, an den Ausgangsstellen aus dem Hypokotyl ihrerseits Adventivknospen zweiter, dritter und weiterer Ordnung entstanden.

4. Die Adventivknospen fast aller Ordnungen wiesen scharf ausgeprägte morphologische Abnormitäten auf, was sich besonders deutlich in der Form der ersten Blätter äusserte. Bei den folgenden Blättern kamen besagte Abnormitäten in schwächerem Masse zum Ausdruck.

5. Die Regenerations- und Reproduktionsfähigkeit des Hypokotyls hängt von einer Gesamtheit äusserer und innerer Bedingungen ab, und zwar von Licht, Wärme, Feuchtigkeit, der Art der Pflanze, ihrem phylogenetischen und ontogenetischen Alter und der Differenzierungsstufe ihrer Zellen und Gewebe, vom Zustand der Pflanze vor und während der Operation, wie auch von einigen determinierenden Bedingungen, einschliesslich der sich aus ihrer geschichtlichen Entwicklung ergebenden Fähigkeit der Organbildung.