

## A DIFFERENCIÁLÓDÁS FOKA AZ IN VITRO TENYÉSZTETT NÖVÉNYI SZÖVETEKBE

### I. Növesztőanyagok hatása a sárgarépa továbboltható szövettenyésztésére

Írta: KLUJBER LÁSZLÓ\*

#### Bevezetés

Az állati- és növényi szövet-, sejt-, szervtenyészetek mind nagyobb szerepet kapnak az élettani, kórtani, genetikai vizsgálatokban. Tagadhatatlan az a tény, hogy a modern kísérletes biológiának igen fontos módszere lesz a szövettenyésztés, mivel a módosító faktorok szabályozása, változatlanul tartása sokkal inkább megvalósítható in vitro, mint in vivo.

Az állati- és növényi szövettenyészetek között a sok hasonlóság mellett (felhasználás, táplálás) két alapvető különbség van. 1. A növényi szövettenyésztés technikája kevésbé kidolgozott. 2. A növényi szövettenyészetek differenciálódnak, az eredetileg homogén szövet teljes növényé regenerálódhat. Mivel a differenciáció a tenyészetek tulajdonságainak állandóságát csökkenti, a növényi szövettenyésztés központi kérdése kell, hogy legyen a differenciáció genetikai és fiziológiai törvényeinek tisztázása. A kórtani, élettani, genetikai kutatásokhoz biztosítani kell a stabil, homogén, korlátlanul növekedő, a szó szoros értelmében vett szövettenyészetet.

A növényi szövettenyésztés módszerét 1938—39-ben R. J. GAUTHERET, P. NOBECURT, P. R. WHITE dolgozta ki. Azóta igen sokan használták fel ezt a módszert morfogenetikai kutatáshoz. Az eredményekből a módszer helyességére következtethetünk, bár a morfogenezis komplex folyamatát nem oldotta meg.

A morfogenezis bonyolult anatómiai, élettani, genetikai folyamatok összessége. A folyamatban olyan anyagok is szerepet játszhatnak, amelyek a felhasznált tápfolyadékok ismeretlen összetételű komponensei (kókusztej, élesztőkivonat, malátakivonat, kazeinhidrolizátum, méhtermékek, növényi részek extraktuma) így megnehezítik a morfogenezis okainak feltárását.

A differenciálódásnak három elkülöníthető, de valószínűleg egymással összefüggő fokozatát különböztethetjük meg: 1. Citogenetikai differenciálódás — ami poliploidizációt is jelent. 2. Szöveti differenciálódás. 3. Szervkialakulás vagy regenerálódás.

A tenyészeteknél a kiindulási explantátum általában többféle szövetet tartalmaz, igen gyakran kambiumot is. A táptalajra helyezett szövetdarabkák növekedésében GAUTHERET 3 típust különböztet meg:

1. Homogén parenchímás osztódás. 2. A növekedés jól elkülöníthető kambiummal történik. 3. A növekedés a szövetben rendszertelenül elhelyezkedő merisztematikus részek, „növesztő pontok” segítségével történik [7, 8].

Ezek a típusok általánosságban érvényesek, nemcsak a primér tenyészetekre, hanem a folyamatosan továbboltott tenyészetekre is. Azt azonban ma már nem állíthatjuk, hogy ezek a típusok fajra, szövetfélésekre is jellemzők.

Az osztályozás már magában foglalja a szöveti differenciálódást, mivel a „kambium” jelenléte a tenyészetben szöveti differenciálódást eredményez. A növekedés első típusa ered-

\* Tanárképző Főiskola, Növénytani Tanszék, Pécs. A Tanárképző Főiskolák 1964. május 8-án Szegeden rendezett Tudományos Ülészak-án tartott előadás.

ményezhet, differenciálatlan szövetet. A szervfejlődést mindig szöveti differenciálódás előzi meg, bár a szöveti differenciálódás nem okoz mindig szervfejlődést. A szervfejlődés jelenthet csak gyökér, csak szár, de jelenthet gyökér és szár kialakulást is. A regeneráció folyamata a következőkben összegezhető:

1. Szöveti differenciáció.

2. „Növesztő pontok” kialakulása, többnyire a szállítóelemek körül.

3. A „növesztőpont” proembriószerűen osztódik és az embrióhoz hasonlóan fejlődik.

A teljes növény kifejlődésekor először mindig a gyökérkezdemény jelenik meg [2, 14, 18, 20].

A szervfejlődés útja általános érvényűnek tekinthető, de ha figyelembe vesszük azt, hogy évekig differenciálatlan kallusz a körülmények változása nélkül rügyeket és gyökereket képezhet, vagy ezt a jellemző tulajdonságot hirtelen elveszítheti [7], a vírus és crown-gall daganat pedig szervformálásra képes, akkor látjuk, hogy a differenciálódás lényegéhez nem sokkal jutottunk közelebb.

A kalin, rhizokalin, vernalin, florigén mint általános szervformáló anyagok nem léteznek [15].

A differenciáció folyamatának megközelítése leginkább a kémiai reguláció útján történhet, amely út a genetikai tulajdonságok módosításával függhet össze. A sejtmegnyúlást szabályozó auxinok, a sejtosztódást irányító kininek már ismertek. Szervformáló tényezők léteznek, bár ezek specificitása és a differenciációban való részvétele eltérő.

A differenciáció kémia szabályozásában az elért eredmények száma viszonylag kevés és ezek áttekintése elengedhetetlen.

A sejtek osztódásának ütemét a dohánybél tenyészetben az IES, kinetin aránya szabályozza [15]. A kókusztel és az élesztőkivonatot a poliploidizációt segíti elő [14].

A polaritással nem rendelkező, homogén kallusz szövetben IES hatására szállítóelemek alakulnak, ha a szövet nem alámerült kultúrában van. A „nyalábképzés” szempontjából kedvezőbb, ha az auxint a szárcsúcs felőli részen juttatjuk a szövetbe, mint azt WETMORE az orgonánál [7], CLUTTER pedig a dohánybélnél bizonyította [6]. WETMORE és RIER néhány fajtánál a cukrok mennyiségi hatását is tisztázta, szerepük a fahéncs arány meghatározásában és a nyalábok egymáshoz viszonyított elrendezésében van [21]. A sárgarépa kallusz auxinmentes vagy IES tartalmú táptalajon „nyalábos” szerkezetű. Butenko kókuszteljet, kazeinhidrolizátumot és 2—4 D-t is tartalmazó táptalajon teljesen homogén szövetet kapott.

A szervképzés mechanizmusát SKOOG és munkatársai alaposan tanulmányozták a dohány szár tenyészeteknél [14]. Ennél a szövetnél osztódás csak auxin, kinetin valamint homológjai és magas foszfáttartalom mellett következik be. Az IES és kinetin aránya a szervformálást is szabályozza.

2 p. p. m. auxin + 0,1 p. p. m. kinetin differenciálatlan kalluszt eredményez.

2 p. p. m. auxin + 0,02 p. p. m. kinetin gyökérfejlődést okoz.

2 p. p. m. auxin + 0,5 p. p. m. kinetin rügy és szárfejlődést indukál.

A kinint, adenint, tirozinnal, guaninnal vagy kareinhidrolizátummal helyettesíteni vagy hatását támogatni lehet. Az IES emelésével a rügyformálás megszűnik, amiből kitűnik, hogy a hatás módosító iránya a két vegyülettípus arányától függ. Az IES hatását citromsavval gátolni lehet. A két vegyület hatása a nukleinsav anyagcseréin keresztül érvényesül és befolyásolja a növények növekedését [8, 13, 14, 15, 16].

Az auxin, kinetin vagy kinetinszerű vegyület egymásrahatásának reguláló hatása mellett szól BALL *Sequoia* tenyészet, amely csak az első négy átoltásig képez rügyet [7], TRYON vizsgálata, aki a dohány rügyképzését IES-val, a gyökérképzést kinetinnel gátolta [7]. A babnál THYMANN kinetin hatásra rügyet kapott [7]. BUTENKO sárgarépa differenciálatlan tenyészetében növesztő pontokat indukált adenin, ribonukleinsav hatására [1, 2]. Hasonló hatás lehet a borsó kallusztenyészetnél is, ahol magas koncentrációjú élesztőkivonat és kevés 2,4 D hatására gyökereket indukáltak [20].

A reguláló hatás ellen szól MOREL szőlőkallusz kísérlete, ahol kinetin hatására nem képződött rügy [7].

Nehezen magyarázható ezen regulációs tényezővel a sárgarépa tenyészeteknél kapott néhány adat és megállapítás. STEWARD és CAPLIN kókusztel hatására gyökérképzést kapott. (A kókusztel IES tartalmú). WIGGANS szerint a sárgarépa kallusz 10 mg/l IES hatására ad optimális növekedést és gyökérképződést. Erre a tenyészetre az adeninszulfát közvetlenül hatástalan volt, de ha újra IES tartalmú táptalajra vitték, rügyeket kaptak [22]. STEWARD és munkatársai kókusztel tartalmú folyékony táptalajon kallusból és embrióból igen nagy számú „embrioid” sejtet, majd szabályos embriókat kaptak, amivel a sejtek totipotenciáját bizonyították [18]. Ezek az adatok, bár közvetlenül nem támogatják SKOOG megfigyeléseit,

de a vázolt mechanizmus általános érvényűségét sem zárják ki, mivel primer tenyészetek voltak és a szülőtől hozott anyagok (kinetin vagy IES) hatása érvényesülhetett.

Mint a differenciáció legmagasabb szintjéről (amikor az in vitro szövettenyészetből teljes növény regenerálódott), kell még megemlékezni. MOREL egyetlen sárgarépa sejtből regeneráltott teljes növényt [7]. STEWARD és munkatársai szabályos raktározó gyökérrel rendelkező növénykét neveltek differenciálatlan kalluszból. BUTENKO és JAKOVLEVA a sárgarépán termést is észlelt, és ugyancsak egysejt tenyészetből nyert embrioidokat fejlesztett ki növényé. A kifejlődés szakaszában két fontos és egymással ellentétes lépést különítenek el:

1. A „növesztő pontok” kialakulása, amit fokozott fehérje és nukleinsav anyagcsere segít elő. A kinetin homologok nélkülözhetetlenek a folyamatban.
2. A szervképződés folyamata az „embrioidból”. Ehhez a szakaszhoz auxin jelenléte és a fehérjeanyagcsere csökkentése kell [1, 2].

Az eddigi eredményekből világosan kitűnik, hogy a kinetin és analógjai, valamint az auxinok egymásrahatása a vizsgált növényfajoknál a sejtosztódás, sejtmeinyulás és szervképződés folyamatait is befolyásolják, irányítják. Bizonyíték arra, hogy ez a rendszer a növények növekedésének egyik, a nukleinsav anyagcserén és ezzel összefüggő fehérjeszintézisen keresztül ható, biztosan nem egyetlen irányítója, amit in vitro igazoltak.

### Anyag és módszer

A kísérletekhez sárgarépa kallusztenyészetet használtam. A steril tenyészetet MARÓTI Mihály docenstől (ELTE Növényélettani Intézet) kaptam, amiért ezúton mondok hálás köszönetet. A tenyészet a GAUTHERET-féle anyagból származik és Prágán át került Budapestre, majd 1964 januárjában Pécsre. Magyarországon jelenleg a 17. passzálásban van és eddig rajta semmiféle szervformálást nem tapasztaltunk.

A tenyésztést 100 ml-es ERLÉNMEYER lombikban 40 ml WHITE táptalajon végeztem, amely 0,5 ml A—Z oldatot, 3% szaharózt, 125 mg/l enzimatisikus kazeinhidrolizátumot, 20 mg/l ciszteint, 2 mg/l thiamint, és 0,8% agar-agart és a kontroll kivételével indolecetsavat (IES), naftilecetsavat (NES) 2—4 diklorfenoxiecetsavat (2—4 D) 0,01—10 mg/l logaritmusan növekvő koncentrációban tartalmazott. A kísérlethez való felhasználásig a szövetek 0,1 mg/l IES tartalmú táptalajon nőttek.

A növényi szövettenyészetben szokásos módszertől eltérően az auxinokat nem autoklávoztam, hanem a táptalajt csiramentes tenyészedeényekbe, sterilen méntem szét.

A kiindulási és a végső súlyt, a nyerssúlyban adom meg, amit analitikai mérlegen sterilen mértem le. A tenyészeteket diffúz fényben, 26 C° hőmérsékleten, 75% relatív páratartalmú tenyésztőszekrényben tartottam. Az első súlymérést, a sejtszámot, sejtméretet és a szöveti differenciálódást 29 napos tenyészeteken, a végső súly és külső morfológiai elemzést 40 napos tenyészeteken végeztem.

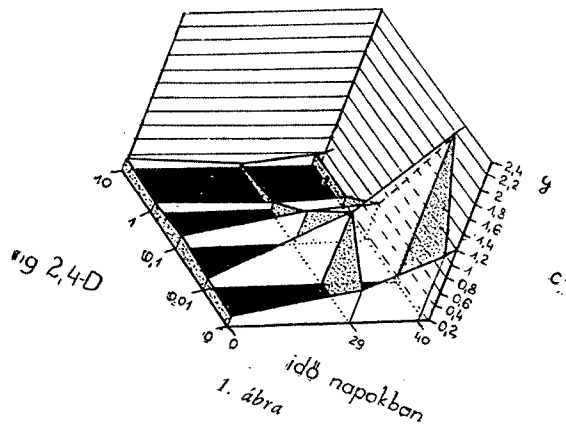
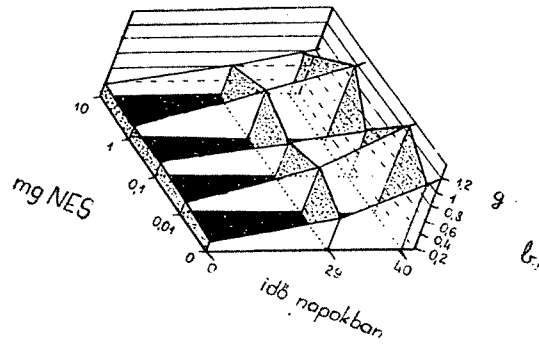
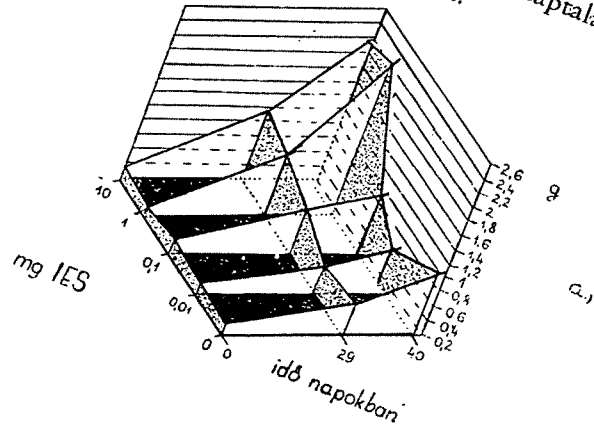
A szövettani vizsgálatokhoz NAVASIN-rögztítőt, a szokásos paraffin metodikát, 8  $\mu$ -os metszeteket és safranin-fastgreen festést használtam.

A sejtméret a sejtek legnagyobb méretét, azaz a sejtek „hosszát” jelenti.

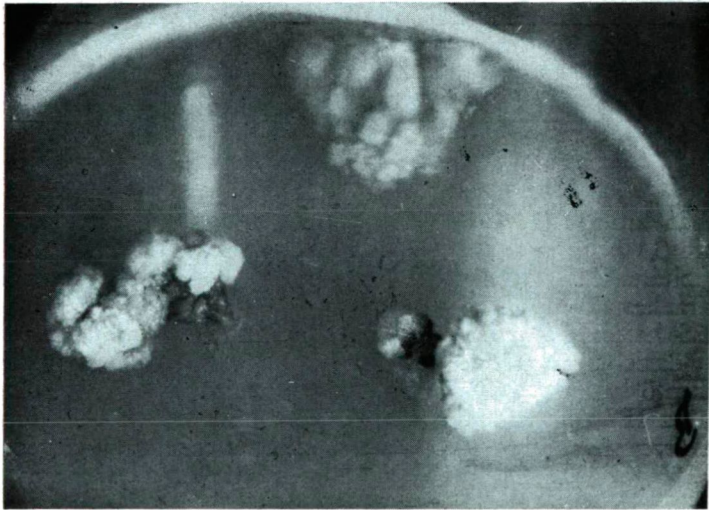
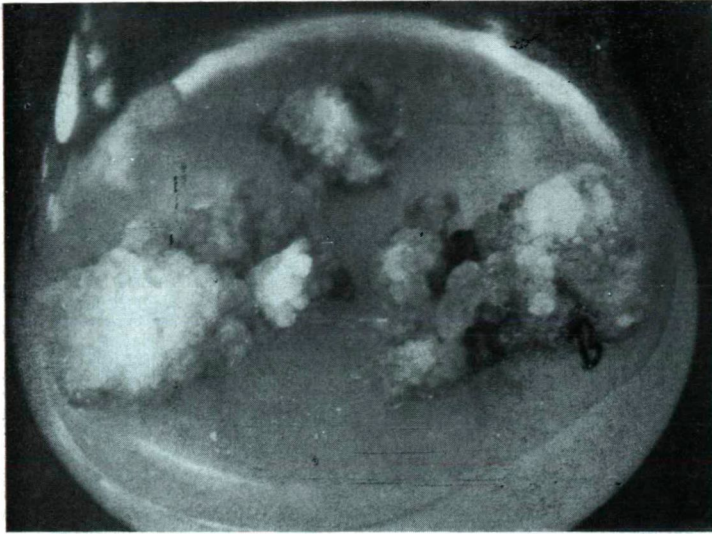
### A kísérleti eredmények és értékelésük

A szövettenyészeteknek a felhasználhatóság szempontjából igen fontos tulajdonsága a növekedésintenzitás. A használt szövettörzs jellemző tulajdonsága, hogy auxin- és kókusztej mentes táptalajon is növekszik.

CAPLIN megállapításával ellentétben [5] ha kókusztejet egy tenyésztési intervallumban használtam, a kókusztej mentes táptalajon a növekedés intenzitás a kontrollhoz viszonyítva nem csökkent.



1. ábra



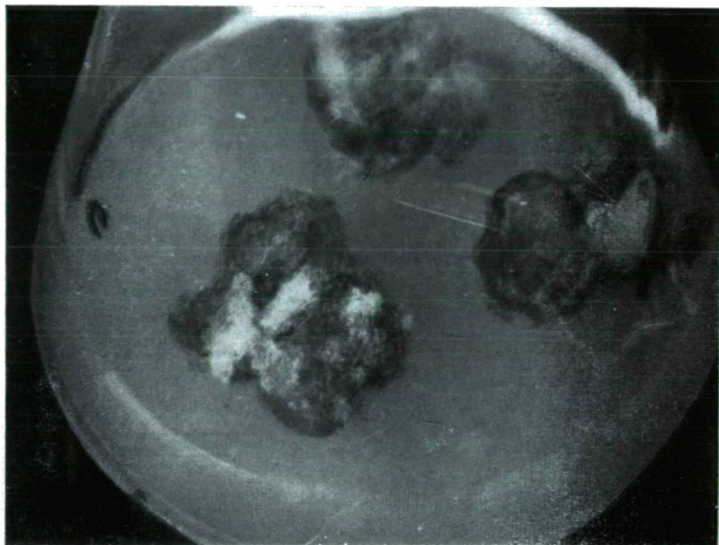
2. ábra: a. 0,01 mg/l 2—4 D tartalmú táptalajon nőtt 40 napos tenyészet,  
b. 1 mg/l 2—4 D tartalmú táptalajon nőtt 40 napos tenyészet.

Az IES, NES, 2—4 D hatását a növekedésre az 1. ábra mutatja.

A grafikonon a kiindulási méretet és a relatív növekedést mutatom be. A 2—4 D tartalmú táptalajon a növekedés a koncentrációval fordítva arányos. A 0,01 p. p. m koncentráció maximális növekedést eredményezett. Egy esetben 40 nap alatt 3089 mg volt a szövet produktuma, ami közel 80 mg napi növe-

kedést jelent. Meg kell azt jegyezni, hogy a 10 p. p. m koncentráció nem volt toxikus, bár a szövet megbarnult és minimális volt a növekedés. A tenyészetet 2–4 D tartalmú táptalajon elvesztették jellegzetes zöld színüket, a sárgás de nem karotin szín jellemző rájuk.

Az IES növekedésserkentő hatása a 29 napos tenyészetben a koncentráció növelésével arányosan növekszik, ami egybevág WIGGANS adatával [22]. Ké-



3. ábra: 10 mg/l IES tartalmú táptalajon nőtt 40 napos tenyészet.

sőbb azonban kitűnik (1. ábra), hogy ez a hatás nem a koncentrációval arányos, hanem 0,1 p. p. m felett — mint küszöbérték felett — hirtelen nő a növekedés intenzitása. Ezt a jelenséget a sejtszám, sejtméret változásának ismeretében magyarázhatjuk meg.

A NES hatása feltűnően eltér az előzőktől. A koncentráció változással nem mutat összefüggést a nyersúly növekedése, bár az 1 mg/l koncentrációt kivéve serkentő hatású. A tenyészetek a szövettörsre jellemző zöldes színűek, amely szín az IES és NES koncentrációjának növelésével a sárgás felé hajlik.

Ha a nyersúly növekedést összefüggésbe hozzuk, a tenyészetben levő sejtszámmal és a sejtméret átlagával, az osztódás és a sejtmeinyulás egyensúlyára is következtethetünk (5. ábra).

A 2–4 D koncentráció változás hatására az osztódás, a sejtmeinyulás egyensúlyi folyamatról tanúskodik. Az optimális 2–4 D koncentráció bizonyos méretnagyobbodásra vezet, de ezek nem tekinthetők hiperhidrikus sejteknek, ami néhány tenyészetnél előfordul.

Az IES alacsony koncentrációja főleg a meinyulást segíti elő, amíg a magasabb koncentrációk az osztódás és a meinyulás ideális egyensúlyához vezetnek. Amit világosan mutat a kezdeti nagyobb súlynövekedés, ami kis sejtszámmal jár és ez a növekedésintenzitás később meglehetősen visszaesik az osztódás csökkenése miatt. Ez a kísérlet világosan bizonyítja azt, hogy az élettani vizs-

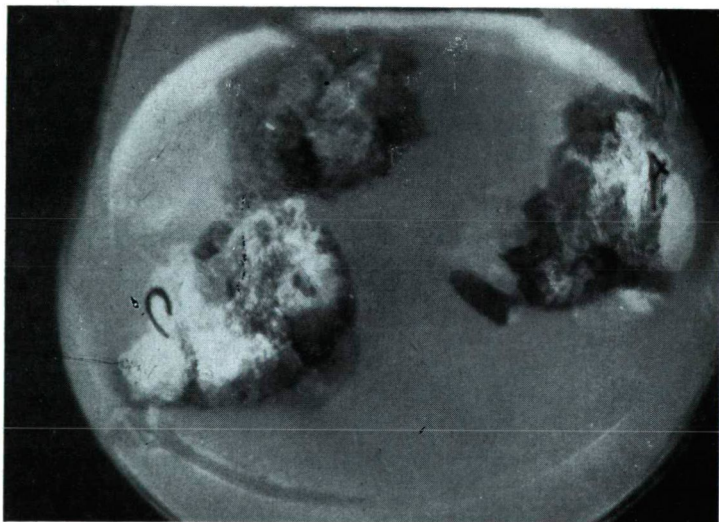


gálatoknál használt alacsony koncentrációjú IES az előbbi bizonyítékok alapján nem megfelelő, mivel a növekedés, különösen rövid tenyésztési időnél nagyrészt a sejt megnyúlásos növekedéséből adódik, ezért az eredmények hamis következtetésekre vezethetnek.

A NES-ra adott növekedési reakció a sejtszám és a sejtméret viszonyában még bonyolultabb, ezen határok tisztázására újabb megfigyelés szükséges. A sárgarépa szövettenyésztésénél az IES NES-val nem helyettesíthető.

A differenciáció mértékét vizsgálva meg kell állapítanom, hogy a vizsgált tényezők hatására szervfejlődés nem következett be. Mivel mások [7, 14, 22] hasonló, vagy azonos körülmények közt szervformálást tapasztaltak és az általam használt tenyészetek ezektől abban különböztek, hogy hosszú ideje tenyésztetben voltak, ez a tény arra utal, hogy az állati szövettenyészetekhez hasonlóan feltétlenül különbséget kell tenni a primer és továbboltható tenyészetek között. Mivel ezek a tenyészetek néhány tulajdonságban — így az optimális kiindulási méretben, differenciálódásban — különböznek.

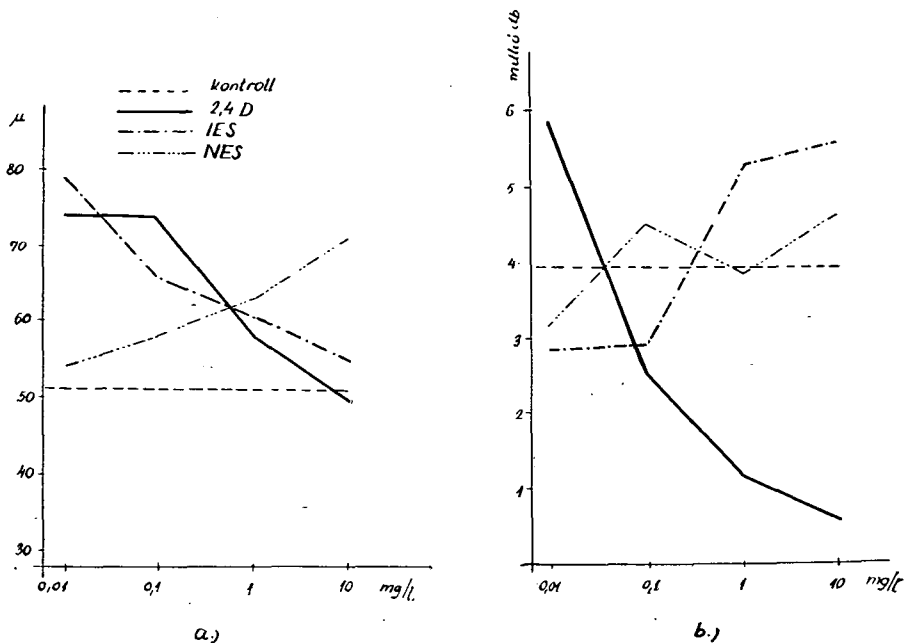
A szöveti differenciálódás bizonyos foka a tenyésztett törzsre és a sárgarépa tenyészetekre általában néhány kivételtől eltekintve [1, 2] jellemző [7]. Ezek közül a tulajdonságok közül, a növesztőanyagok változásától függetlenül állandó jelleggel megtalálhatók a tracheidák. A tracheidák megnyúlt, nem csőalakú sejtek, hanem szabálytalan parenchima-szerű habitussal, fásodott, hálózatosan vastagodott sejtfalúak (6. ábra: a). Általánosan jellemző tulajdonság az is, hogy a sejtek között intercellulárisokat nem találunk, ez a tulajdonság is



4. ábra: 1 mg/l NES tartalmú táptalajon nőtt 40 napos tenyészet.

jellemzi azt a tipikus szövetformát, amit a kallusztenyészetekben lehet megfigyelni, amelyek átmeneti tulajdonságokat mutatnak a parenchima és a meristema tulajdonságok között (Vakuolizáltak, izodiametrikusak, nagy sejtmagvúak, osztódásra képesek, 6. ábra: b). Jellemző még az is, hogy a cellulózfalú szállító részek a tracheidákat kísérik, néha azoktól függetlenül hánccszerű ele-

mek is megjelennek. Ezek a sejtek leginkább a háncsparenchimához hasonlítanak. GAUTHERET a sárgarépa szövettenyésztésénél kollaterális nyílt nyalábról beszél [7]. Ennyire határozott szállítószövegről azonban, véleményem szerint, nem lehet szó. A keresztmetszetben háncs elemeknek (rostacsőnek és kísérősejt) minősíthető szövet, ha hosszmetsetben vizsgáltam, osztódó résznek bizonyult (6. ábra: c, d).



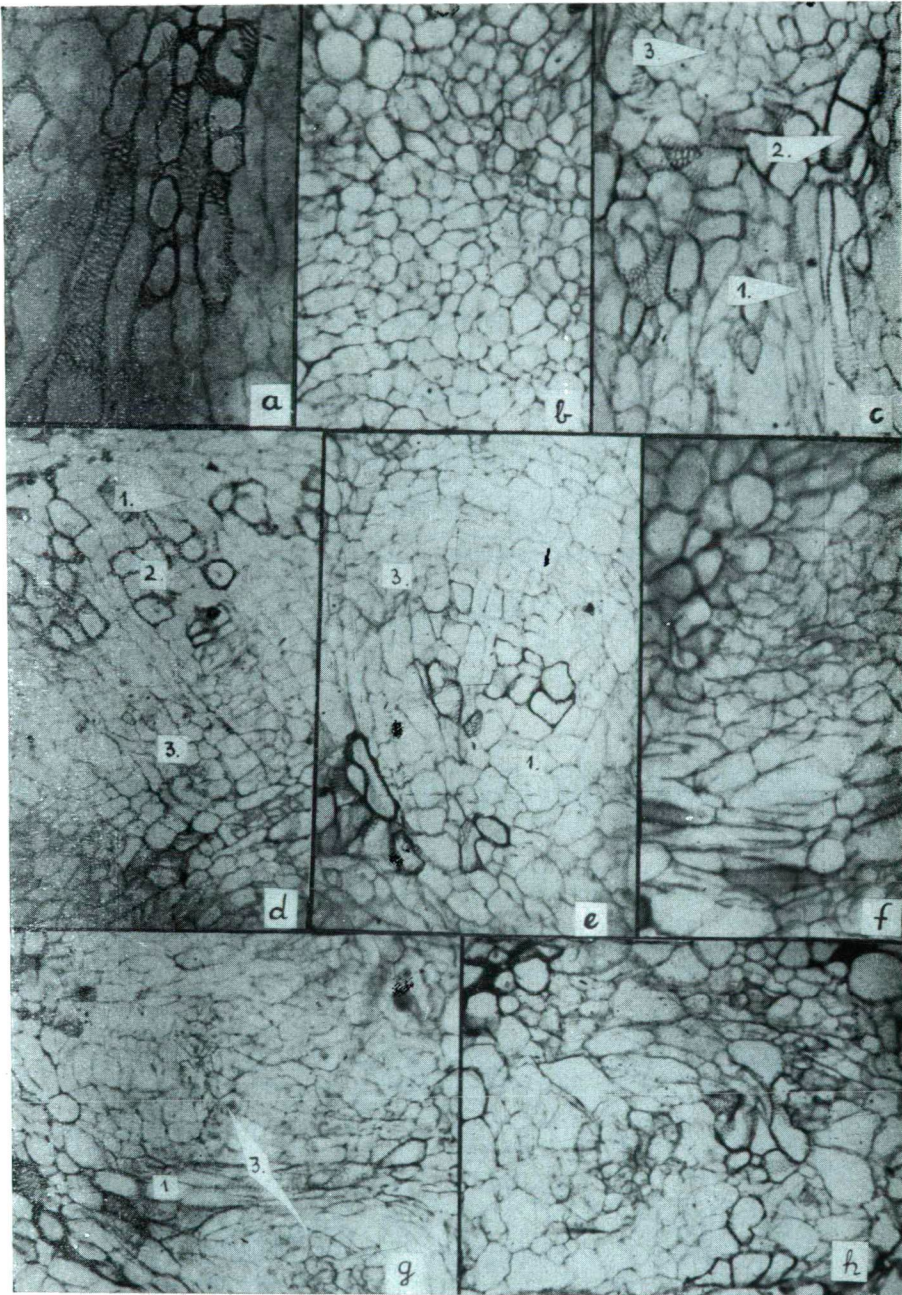
5. ábra: a. a sejtek átlagos mérete 29 napos tenyésztésben,  
b. a sejttség átlaga tenyészetenként 29 napos tenyésztési idő után.

A szállításra módosult szövetréteg nem mindig tartalmaz „kambiumot”. A szövet bármely részében, a központban is, található rendszeresen elszórt osztódó sejteket. A fásodott sejtek elhelyezkedésében törvényszerűség nem figyelhető meg. Igen kisméretű kloroplasztisz csak a legkülső sejtsorban fordul elő.

A növesztőanyag nélküli tenyésztésben néhány esetben valóban megfigyeltem nyalábszerű képződményeket, a farész centrálisan, az osztódó rész ennek külső oldalán helyezkedik el (6. ábra: e). A szövet szélével párhuzamosan összefüggő osztódó zóna figyelhető meg. A szaporodás történhet azonban „növesztő pontokkal” is (6. ábra: f). Ezek a nagy ütemben osztódó sejtcsoportok a szövet külső részében található, legtöbbször a szállító elemeket kísérik (6. ábra: g).

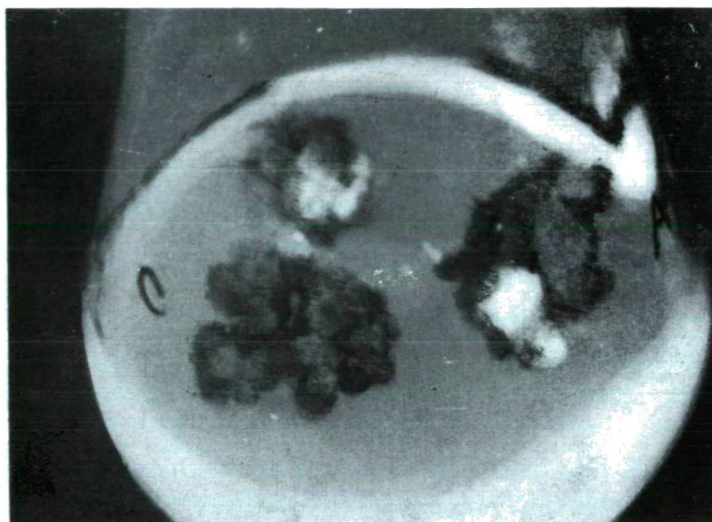
Az IES hatására jellegzetesen megnő a fásodott elemek száma. A növekedés a szállítóelemektől független, mezőkbe tömörült meristemikus sejtekkel, nyalábszerű képződményekkel történik. A szállítókegyek határozottak, erőteljesen megnyúlt, sokszor óriás sejtekkel. Különösen a magas koncentrációjú (10 mg/l) IES hatására képződnek a szövet felszínén, a leírt organizációs pont-





6. ábra: Szöveti differenciálódás 29 napos sárgarépa tenyészetekben:  
 1. cellulózfalú szállítósejtek,  
 2. tracheidák,  
 3. osztódó részek.

hoz hasonló képződmények (6. ábra: h), de ezek nem differenciálódtak szervvé, hanem növekedést eredményeztek. Ugyanennél a koncentrációnál figyeltem meg elég nagy számmal polienergidas sejteket, amelyeket az in vitro tenyésztett állati sejtekben is megfigyelhetünk.



7. ábra: Bogyós szerkezetű tenyészetek:  
a. 1 mg/l IES-t tartalmazó tápfolyadékban,  
b. 1 mg/l 2—4 D-t tartalmazó tápfolyadékban.

A 2–4 diklorfenoxiecetsav tartalmú táptalajon nőtt szövetek hasonlítotak legkevésbé a természetes körülmények között élő növények szaporodásához, bár külön hangsúlyozni szeretném, hogy ezek sem voltak homogének, mert mindig tartalmaztak szállításra módosult sejteket, tracheidákat. A cellulózfalú szállító sejtek nem annyira jellegzetesen megnyúltak, mint az IES tartalmú táptalajon, viszont a tracheidák néhol kifejezetten rostalakúak. A növekedésben aktív zóna azonban, a véletlenből adódó találkozást kivéve, nem függ össze ezekkel a „nyaláb” elemekkel, hanem úgynevezett növesztő pontokat alkot (6. ábra: f). A sejtek többsége osztódik, így az egész sejtöteg igen változatos korú és változatos nagyságú sejteket tartalmaz.

Naftilecetsav tartalmú táptalaj hatására furcsa, az eddigieknél nem tapasztalt rendeződés is előfordul. Gyakoriak az olyan „nyalábok”, ahol az osztódó rész az axilláris oldalon van, ami más növesztőanyagnál nem található meg, a NES-nél minden koncentrációban előfordul. Ez a felépítés azonban nem zárja ki az előzőekben ismertetett elrendeződést sem. A növekedés másik jellegzetes szervezői a növesztő pontok, amelyek mindig a felülethez közel helyezkednek el.

A NES és IES hatásáról meg kell azt jegyezni, hogy mindkét esetben a tracheidák és „hánccselemek” mennyisége a koncentráció emelésével jól megfigyelhetően emelkedik. Ez együtt jár a fokozott növekedésből adódó víz- és tápanyagellátás biztosításával.

Meg kell említenem még egy, a differenciálódás problémájához kapcsolódó – valószínűleg mutációból vagy előzően használt táptalajváltozásból (pl. kókusztej) adódó esetet, ami világosan mutatja a szövettényeszetekkel végzett munka egyik nagy nehézségét, a tenyészetek stabilizációjának biztosítását is. A kísérletek értékelés közben felfigyeltem arra a tényre, hogy az eredetileg azonos külső alakú szövetek, a növesztőanyag variációjától teljesen függetlenül, két törzsre különültek. Az egyik – amely az eredeti szövettörzsre jellemző – többé-kevésbé sima, kompakt, legfeljebb a felületen tagolt (2., 3., 4. ábra) jól növekvő, az előzőekben ismertetett szöveti szerkezetű. A másik törzs leginkább bogyósnak nevezhető. Szinte szabályos gömböcskék halmazából épül fel (7. ábra). Hasonló differenciációt figyelt meg TORREY és SHIGEMURA a borsó kallusz tenyészetében folyékony táptalajon. Az általuk „omlékony”-nak nevezett szövet magas koncentrációjú élesztőkivonat és kevés 2–4 D hatására keletkezett és auxinmentes táptalajon gyökérré differenciálódott [19].

Az általam kapott sejtörzsek bár morfológiailag hasonlóak, és abban is megegyeznek, hogy a bogyós törzs lassúbb növekedésű, belőlük gyökér egyik táptalajvariáción sem alakult ki. Anatómiailag sem hasonlít ez a sárgarépa törzs a borsótenyészetnél leírtakra. Az ilyen alak a sárgarépa esetében a növesztőpontok aktív működésének eredménye. A keletkezett szövet az eredetihez hasonló, bár a sejtméret kisebb és a szállítóelemek kialakulása nem jellegzetes.

A kísérleti anyagból az a szövettényeszetknél fontos tény is megállapítható, hogy a továbboltható sárgarépa tenyészetnél az optimális kiindulási súly meglehetősen magas, 200 mg körül van. Az 50 mg-os darabok nem vagy alig növekedtek. Kétségtelen az is, hogy a tenyésztéshez használt szövetdarabkák optimális mérete nem csak faji vagy szövettörzsre jellemző tulajdonság, hanem a táptalajtól is függ (A magas IES tartalmú táptalajon viszonylag kis explantátumok is jól nőttek).

Mivel a szövettani vizsgálatok a kísérletekhez használt szövettörzsnél a

szállítóelemek meglétét bizonyították, így a szövet bizonyos fokú polárossággal rendelkezik, amit az összehasonlító vizsgálatoknál feltétlenül figyelembe kell venni, hiszen a táptalaj felületében való elhelyezés iránya a növekedést nagymértékben módosíthatja.

## Összefoglalás

1. A differenciálódásvizsgálatok arra mutatnak, hogy a növényi szövet-tenyésztési technikában is meg kell különböztetni továbboltható és primér tenyészeteket, mivel a primér tenyészetek a kiinduló növényből magukkal hozott anyagok miatt eltérően viselkednek in vitro.

2. IES, NES, 2—4 D eltérő koncentrációban a táptalajon keresztül a növénybe juttatva szervformálást nem eredményezett. A használt vegyületek jelentősen módosították a szöveti felépítést, különösen a növekedés típusait.

3. A használt anyagokra a továbboltható sárgarépa szövettenyészet növekedésben eltérő módon reagált. Az osztódás és sejtmegegyezés optimális arányát a 10 mg/l IES és 0,01 mg/l 2—4 D biztosította.

4. A használt szövettenyészetre jellemző a szállítóelemek kialakulása, amelyeknek felépítése a természetes körülmények között nőtt növényekre nem jellemző alakú. Elrendezésük nagyon változatos és nem mutatja a kiindulási növény jellegzetességeit, tracheidákból és megnyúlt kalluszsejtekből áll.

5. A tenyészetek gyarapodása, a szövettenyészeteknél megfigyelt mindhárom növekedési mód variációjának eredménye.

## IRODALOM

- [1] BUTENKO, R. G.: Kultura izolirovannuh tkanye i kletok rasztenija. Vesztnik Akademii Nauk SzSzsZR, 2, 76—79, 1963.
- [2] BUTENKO, R. G., JAKOVLENA, Z. M.: Kontroliruennuj organogenez i regeneracija celogorasztenija v kulture redifferencirovannoj tkani. Izvesztija Akademii Nauk SzSzsZR. (Szerija biológicseszskaja), 2, 230—242, 1962.
- [3] CAPLIN, S. M.: Effect of initial size on growth of plant tissue cultures. Amer. J. Bot., 50, 91—94, 1963.
- [4] CAPLIN, S. M.: The use of carrot root to study differentiation. Plant. Physiol., 38, 653, 1963. Supplement.
- [5] CAPLIN, S. M.: Variability of carrots to auxin, casein hidrolsate and coconut milk. Amer. J. Bot., 43, 749—754, 1956.
- [6] CLUTTER, M. E.: Hormonal induction of vascular tissue in tobacco pith in vitro. Science, 132, 548—549, 1960.
- [7] GAUTHERET, R. J.: Histogenesis in plant tissue cultures. Journal of the National Cancer Institute, 19, 555—590, 1957.
- [8] HILDEBRANDT, A. C.: Tissue and single cell cultures of higher plants as a basic experimental method. In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. 5 Band Springer-Verlag Berlin—Göttingen—Hidelberg, 1962, 383—421.
- [9] LIPETZ, J.: Calcium and the control of lignification in tissue cultures. Amer. J. Bot., 49, 460—464, 1962.
- [10] LOEWENBERG, J. R., SKOOG, F.: The control of differentiation in tobacco callus by citric acid. Plant. physiol., 37, LXVII., 1962.
- [11] MARÓTI, M.: Izolált steril növényi szövetkultúrák anyagcseréje. V. Biokémiai Vándorgyűlés, 215—224, 1963.
- [12] MILLER, C., SKOOG, F.: Chemical control of bud formation in tobacco stem segments. Amer. J. Bot., 40, 768—773, 1953.
- [13] REINERT, J.: Morphogenesis in plant tissue cultures. Endeavour, 21, 85—90, 1962.



- [14] SKOOG, F., MILLER, C. O.: Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. In: Symposium on biological action or growth. Symposia Soc. Exptl. Biol., 11, 118—131, 1957.
- [15] SKOOG, F., TSUI, C.: Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultured in vitro. *Amer. J. Bot.*, 35, 782—787, 1948.
- [16] STEWARD, F. C., MAPES, M. O., KENT, A. E.: Carrot plants from cultured cells: new evidence for the totipotency of somatic cells. *Amer. J. Bot.*, 50, 1963, Suppl.
- [17] STEWARD, F. C., MAPES, M. O., MARS, K.: Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.*, 45, 705—708, 1958.
- [18] STREET, H. E., HENSHAW, G. G.: Cell division and differentiation in suspension cultures of higher plant cells. In: Symposium of the Society for Experimental Biology No: XVII. Cell differentiation. Cambridge. University Press, 234—255, 1963.
- [19] TORREY, J. G., SHIGEMURA, Y.: Growth and controlled morphogenesis in pea root callus tissue grown in liquid media. *Amer. J. Bot.*, 44, 334—344, 1957.
- [20] WETMORE, R. H., RIER, J. P.: Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperm. *Amer. J. Bot.*, 50, 418—430, 1963.
- [21] WIGGANS, S. C.: Growth and organ formation in callus tissues derived from *Daucus carota*. *Amer. J. Bot.*, 41, 321—326, 1954.



## СТЕПЕНЬ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЯХ, РАЗВЕДЕННЫХ IN VITRO

### I. Влияние веществ выращивания на дальше привитые возведенные ткани моркови

*Л. Клужбер*

Автор совершил исследования дифференциации и нарастания племени моркови находящейся в разведении *in vitro*.

В исследованиях пользовался с 0,01—10 p.p.m., IES, NES 2,4-D логаритмически повышающейся концентрации, на агарной питательной среде, содержащей казеин-гидролизат.

После 40 суточного разведения не испытывал развития органа и не получил однородной паренхимы. Дальше привитое разведение ткани моркови характеризует постоянное наличие воздушных отверстий. Но не испытывал правильного образования пучка. Нарастание произошло с помощью точки роста, диффузных делительных клеток или соединенных „камбиальных” слоев, с побегом одной нарастительной формы в различной степени зависимо от ауксин.

Гармоническое соотношение деления и вытягивания клетки обеспечивали 10 p.p.m. и 0,01 p.p.m 2,4-D, где и самая большая была интенсивность нарастания.

В течении разведения племенного не зависимо от изменения питательной среды различались на один ягодной и на один гладкий, твердый ствол.

## DER GRAD DER DIFFERENZIERUNG DER IN VITRO GEZÜCHTETEN PFLANZLICHEN GEWEBE

### I. Die Wirkung von Wuchsstoffen auf verimpfbare Mohrrüben-Gewebekulturen

Von

*L. Klujber*

In an seit mehreren Jahren *in vitro* gezüchteten Mohrrüben-Stämmen durchgeführten Differenzierungs- und Wachstumsuntersuchungen wurden in logarithmisch zunehmenden Konzentrationen 0,10—10 p. p. m. IES, NES und 2—4 D auf auch Kaseinhydrolysat enthaltenden Agar-Nährboden verwendet.

Eine Organentwicklung war nicht festzustellen und auch ein homogenes Parenchym wurde nach 40-tägiger Züchtung nicht erhalten. Eine typische Eigenschaft der verimpfbaren Mohrrübergewebekultur ist das ständige Vorhandensein der Tracheiden. Eine regelmässige Bündelbildung konnte jedoch nicht beobachtet werden. Das Wachstum erfolgte mit Hilfe von diffus sich teilenden Zellen der Wachstumspunkte oder zusammenhängender „Kambium“-Schichten, wobei in Abhängigkeit von den Auxinen die eine oder die andere Wachstumsform den Vorrang erreichte.

Ein harmonisches Verhältnis von Teilung und Zellstreckung wurde durch 10 p. p. m. IES und 0,01 p. p. m. 2—4 D gesichert, wo auch die Wachstumsintensität die grösste war.

Im Laufe der Züchtung trat — unabhängig von der Veränderung des Nährbodens — Trennung des Kulturstammes in einen beerenförmigen und einen glatten, harten Stamm ein.