Przebieg regeneracji wierzchołka korzenia *Hordeum vulgare*

Verlauf der Regeneration der Wurzelspitze von Hordeum vulgare

FR. KADEJ

WSTĘP

Zagadnienie stosunku merystemu do „komórek inicjalnych“ wierzchołka korzenia jest jeszcze ciągle aktualne. W badaniach dotyczących wzrostu i rozwoju korzenia nadal jeszcze poświęca się wiele uwagi ilości komórek inicjalnych, ich odrębności i trwałości rozwojowej lub też kształtowi merystemu i wreszcie jego mechanizmowi rozwojowemu. Tak np. badania nad rozwojem wierzchołków korzeni o różnych wzorach strukturalnych doprowadziły G u t t e n b e r g a (1947) do przekonania, że centrum twórcze korzeni różnych typów rozwojowych można sprowadzić do jednej komórki centralnej, analogicznej do komórki wierzchołkowej u paprotników. Komórka centralna jest zasadniczą komórką inicjalną, ale w rozwoju ontogenetycznym może być zamaskowana wytworzonymi przez nią komórkami pochodnymi, które przez pewien czas pełnią funkcję histogenów. W badaniach wczesnych stadiów rozwoju zarodka *Poa* (G u t t e n b e r g, H e y d e l i P a n k o w 1954) i *Allium* (G u t t e n b e r g, H. i P. 1954) G u t t e n b e r g próbował znaleźć potwierdzenie swoich wniosków.

W najnowszej pracy (G u t t e n b e r g, B u r g e r m e i s t e r i B r o s e l l 1955) podtrzymuje jeszcze nadal dawniejsze swoje przekonania, pomimo ukazania się ostatnio kilku prac podających jego poglądy w wątpliwość. Badania eksperymentalne B r u m f i e l d a (1943) stosującego metodę znakowania komórek przez aberracje chromosomowe otrzymane po naświetlaniu komórek promieniami X dostarczyły pewnych dowodów, że u *Vicia faba* i *Crepis capillaris* właściwe centrum twórcze składa się z małej (3—4) grupy komórek, wspólnych dla wszystkich pratkaneł łącznie z czepkiem. C l o w e s (1950 i 1954) opierając się na

analizie kompleksów komórkowych w korzeniach *Fagus* i *Vicia* twierdzi, że centrum twórcze, czyli tzw. cytogeneratywne centrum (c.g.c.) jest szerokim promerystemem, szerszym znacznie niż minimalne konstrukcyjne centrum (m.k.c.). Szerokość promerystemu zależy od grubości korzenia. Właściwymi komórkami inicjalnymi są komórki leżące na powierzchni m.k.c. Komórki te wyróżniają się wysoką aktywnością twórczą. Natomiast aktywność komórek m.k.c. jest bardzo nieznaczna i może wzrastać jedynie w przypadkach uszkodzenia komórek przyległych. Szeroki merystem ma, jak się powszechnie uważa, budowę piętrową. Piętra oddzielone są od siebie ostrą i trwałą granicą. Wzrost komórek na szerokość, szczególnie w korzeniach z szeroką kolumellą, bez względu na typ konstrukcyjny rozpoczyna się, według C l o w e s a, dopiero na zewnętrznej części promerystemu. Potwierdzenie swoich poglądów C l o w e s s znajduje w zachowaniu się wierzchołków *Vicia faba* oraz *Zea mays* i *Triticum* po zabiegach chirurgicznych.

Podstawą dla interpretacji centrum twórczego i rozwoju merystemu jest nadal klasyczna metoda analizy struktury komórkowej podczas normalnego rozwoju korzenia. Jedynie B r u m f i e l d i C l o w e s zastosowali metody eksperymentalne.

Praca niniejsza jest pierwszą częścią pracy, która jako całość ma być próbą wykorzystania przebiegu regeneracji oraz reakcji wierzchołka korzenia na niektóre bodźce zewnętrzne do badań nad działalnością i właściwościami merystemów oraz do badań nad mechanizmem rozwojowym wierzchołka korzenia.

W ten sposób pomyślanych badań dotychczas nie prowadzono. Oparte o metodę chirurgiczną badania C l o w e s a ograniczały się jedynie do analizy końcowego efektu procesu regeneracji, przy milczącym założeniu, iż jest on dostatecznie znany. Jednakże o przebiegu regeneracji wierzchołka korzenia wiemy niewiele. Podstawowym źródłem wiadomości są nadal prace wykonane przed kilkadziesiąt laty przez C i e s i e l s k i e g o (1872), S a c h s a (1874), P r a n t l a (1874), L o p r i o r e ' a (1896), S i m o n a (1904) i N e m e c a (1905). Badania G a u t h e r e t a (1935) nie wniosły wiele nowego. Wszystkie wyniki tych prac były oparte na korzeniach grubych (*Vicia* i *Zea*), przy czym operowano je wyłącznie techniką ręczną, dzięki czemu miejsca płaszczyzny i kierunki cięć były w wysokim stopniu przypadkowe. Dlatego opisy i wnioski dotyczące przebiegu zmian strukturalnych, udziału prątkanek i charakteru procesu regeneracji wymagają rewizji w oparciu o dokładniejsze metody i odpowiedniejszy materiał eksperymentalny.

W tej sytuacji postanowiłem:

- 1) dokonać możliwie dokładnej analizy przebiegu regeneracji wierzchołka korzenia w różnych warunkach operacji,

- 2) rozważyć, czy i w jakim stopniu obserwacje nad przebiegiem regeneracji można wykorzystać do badań nad istotą centrum twórczego, zróżnicowaniem merystemu i mechanizmem rozwojowym wierzchołka korzenia.

W dalszym ciągu niniejszej pracy ograniczę się wyłącznie do analizy przebiegu regeneracji. Zagadnienia ujęte w drugim punkcie będą rozważane osobno.

METODA

Część eksperymentalną pracy wykonałem w okresie od października 1954 do stycznia 1955 r. Podstawowe doświadczenia przeprowadzałem na siewkach *Hordeum vulgare*, uzupełniające na siewkach *Brassica oleifera*. Operacje wykonywałem na korzeniach o długości od 0,5—1,5 cm. Cięcia przeprowadzałem mikroskalpelem sporządzonym z ułamka żyłki pod mikroskopem o powiększeniu 50 i 100 x, przy pomocy mikromanipulatora. W przypadku *Hordeum* operowałem jeden korzeń, pozostałe usuwałem unikając w ten sposób ewentualnych błędów. Zoperowane siewki i siewki kontrolne umieszczałem w szczelinach utworzonych przez zgięcie szklanego pręta i hodowałem w wodzie wodociągowej, zmieniając ją codziennie zamiast przewietrzenia, w naturalnych warunkach oświetlenia i w temperaturze od 25°—27°C. Warunki hodowli zapewniały normalny rozwój siewek jęczmienia w okresie co najmniej 10 dni. Po 8 dniach hodowli kontrolne siewki jęczmienia miały zdrowe, ciemnozielone liście i korzenie długości od 20—30 cm. Utrwalałem w mieszaninie CrAF 0,5—1—20. Czas utrwalania wahał się od 24 godz. do 2 tygodni. Skrawki mikrotomowe grubości 6 μ barwiłem hematoksyliną według Heidenheina podbarwiając taniną + alun żelazowy i odwrotnie — taniną + alun żelazowy podbarwiając hematoksyliną. Podstawowe doświadczenia z jęczmieniem przeprowadziłem na 27 seriach eksperymentalnych. Liczba zoperowanych i utrwalonych korzeni w każdej serii wahała się od 25 do 50 tak, że do analizy uzyskano przeciętnie około 20 gotowych preparatów z każdej serii. Fotografowałem przy pomocy mikroskopu „Lumipan“ małoobrazkową kamerą Kineexacta.

Przeprowadziłem trzy grupy eksperymentów:

Doświadczenia w pierwszej grupie polegały na dekapitacji wierzchołka korzenia na granicy między czepkiem a częścią osiową. Poszczególne serie regeneratów w kolejnych eksperymentach były hodowane przez określony okres czasu. Utrwalono po 4, 16, 29, 39, 44, 48, 66, 72 godzinach, po 5 i po 8 dniach hodowli. Korzenie hodowane przez 8 dni dekapitowano z wolnej ręki. W związku z tym płaszczyzna cięcia była przypadkowa, ale zawsze powyżej granicy czepka.

W drugiej grupie eksperymentów dekapitowano w różnej odległości od granicy czepka. W grupie tej uzyskano co najmniej dwa stopnie zaawansowania regeneracji utrwalając mniej więcej po 40 i 70 godz., a czasem także po 6 dniach. Dekapitowano w odległości 0,5, 1,0, 1,5 i więcej niż 1,5 wysokości czepka od komórek inicjalnych oraz ucinano część czepka pozostawiając przy regeneracie dwa do trzech pięter komórek czepka przyległych do części osiowej korzenia.

W ostatniej grupie doświadczeń wykonałem kilka serii cięć podłużnych możliwie dokładnie przez środek osi wierzchołka korzenia na różną głębokość od granicy czepka. Nacinano podłużnie na głębokość 2—3 komórek poniżej granicy czepka, dokładnie do jego granicy, do pięter siostrowanych komórek inicjalnych walca środkowego, na głębokość 0,5 wysokości czepka i wreszcie na głębokość równą wysokości czepka od granicy z częścią osiową utrwalając po 40, 66 i niekiedy po kilku dniach. Materiałem kontrolnym były siewki hodowane w identycznych warunkach, jak siewki operowane. Utrwalano wierzchołki korzeni wkrótce po wykiełkowaniu, gdy korzeń miał długość 0,5—1 cm, oraz po 8 dniach hodowli.

REGENERACJA POPRZECZNA *

a. Obserwacje wstępne

Zoperowane i odstawione do hodowli korzenie zachowały się różnie. Jeśli korzeniom odcięto wierzchołki w strefie komórek inicjalnych, zdekapitowany korzeń rósł z normalną szybkością dalej nie wykazując widocznej różnicy w stosunku do korzenia kontrolnego. Jeśli natomiast płaszczyzna cięcia przechodziła w coraz większej odległości od granicy czepka, następowało częściowo zahamowanie wzrostu, odpowiednio silniejsze i trwające dłuższy okres czasu. Wreszcie gdy płaszczyzna zranienia przechodziła przez strefę odpowiadającą strefie wydłużania, wzrost korzenia ustawał całkowicie. Zahamowaniu wzrostu towarzyszyło silne pokręcenie się korzenia, następnie korzeń taki otaczał się gęstą sferą włósników, które wyrastały nawet z płaszczyzny cięcia, tj. z komórek miękiszu kory pierwotnej. Po kilku dniach rozpoczynał się intensywny rozwój korzeni bocznych. W pierwszych dniach wszystkie zranione korzenie były podatne na ataki drobnoustrojów, w szczególności wymoczków. Korzenie, w których cięcie przechodziło poniżej granicy czepka tak, że komórki osiowej części były nienaruszone, wykazywały wyraźne przyspieszenie wzrostu w pierwszych ośmiu godzinach w stosunku do korze-

* Termin regeneracja poprzeczna i regeneracja podłużna wprowadził Krenke (1951).

nia kontrolnego. Notowane przez Prantla i Simona powstawanie korzeni samorzutnie rozwidlonych miało miejsce i w moich doświadczeniach. Powstawały one tylko wtedy, gdy płaszczyna cięcia poprzecznego przechodziła w odległości co najmniej równej wysokości czepka od komórek inicjalnych.

Dalszy rozwój zoperowanego wierzchołka korzenia, dający się zaobserwować pod mikroskopem stereoskopowym pod średnim powiększeniem, rozpoczyna się od lekkiego uwypuklenia płaszczyny cięcia, na której początkowo tworzy się zwykle kilka wtórnych wzgórków. Miejsce i charakter tworzenia się tych wzgórków jest raczej przypadkowy i nie da się zidentyfikować z tzw. „Ringwall“, czyli wałem merystematycznym stwierdzonym podczas regeneracji korzenia *Zea mays* przez Simona. W pierwszym dniu hodowli płaszczyna cięcia jest tylko nieznacznie uwypuklona. Jednocześnie szczytowy fragment wierzchołka wykazuje pewną tendencję przyrostu na grubość. Przyrost taki jest dosyć znaczny w przypadkach, gdy dekapitowano w dalszej odległości od granicy czepka. W drugim dniu powierzchnia cięcia uzyskuje już kształt zbliżony do stożka opartego podstawą o odwinięty i znacznie pozostały w tyle pokład protodermy. W tym też czasie, tj. mniej więcej po 39—48 godzinach po dekapitacji, zaznacza się wyodrębnianie czegoś w rodzaju czepka, a w zewnętrznych, wydłużonych komórkach pojawia się skrobia statolityczna. Cała szczytowa część wierzchołka wykazuje zwartą budowę komórkową o charakterze jednorodnym bez przestrzeni międzykomórkowych. Słupy powietrza normalnie sięgające na wysokość komórek inicjalnych, pozostają obecnie dosyć daleko od szczytu. W trzecim dniu granica czepka jest już bardziej regularna, chociaż szczytowa część korzenia tworzy jeszcze nadal raczej bezkształtną masę. Po trzech dniach zaznacza się granica walca środkowego. Jednakże wszystkie trzy strefy histogenetyczne są nadal niewyraźne. Zawsze jeszcze takie korzenie dadzą się z łatwością odróżnić od korzeni kontrolnych.

Według dotychczasowych poglądów, proces regeneracji w pierwszym dniu ma polegać prawie wyłącznie na procesach wstępnych, morfologicznie niewidocznych (tzw. Reaktionszeit), następnie dzięki induktywnej i inicjującej działalności perycyklu zachodzić mają stosunkowo niewielkie zmiany w układzie komórek, prowadzące do regeneracji promerystemu. Regeneracja jego ma przebiegać pod koniec trzeciego dnia i to tak szybko, że poszczególne jej stadia są trudne do uchwycenia. Proces regeneracji do całkowitego odtworzenia promerystemu trwałby łącznie tylko trzy dni.

Moje wstępne wyniki, oparte na obserwacji korzeni *in toto* prowadzą do wniosku, że (przynajmniej u *Hordeum* i *Brassica*) całkowita regeneracja korzenia, tj. odtworzenie normalnej struktury wierzchołka, wymaga

znacznie dłuższego czasu niż trzy dni, które mają wystarczać według klasycznych badań Prantla i Simona do całkowitej regeneracji korzenia *Zea mays* i *Vicia faba*. Taki wniosek wynika także z badań Gauthere'ta (1935) nad hodowlą merystemów *Zea mays* in vitro. Badania mikroskopowe pozwalają wnikać znacznie głębiej w przebieg procesów regeneracyjnych.

b. Analiza mikroskopowa korzeni dekapitowanych na granicy czepka

Zgodnie z dotychczasowymi obserwacjami, zmiany w początkowym okresie regeneracji są nieznaczne, niemniej jednak rozpoczynają się bardzo wcześnie i są bardziej znamienne, niżby to wynikało z prac klasycznych. Pierwsze, prawdopodobnie nieistotne i przejściowe zmiany pojawiają się bezpośrednio po dekapitacji wierzchołka. Na centralnych przekrojach podłużnych zaznacza się na dosyć dużej przestrzeni merystemu wyraźne odchylenie antyklinalnych ścian komórkowych w korze pierwotnej od kierunku, jaki utrzymuje się w strukturze korzeni kontrolnych. Jest to szczególnie widoczne w pobliżu płaszczyzny cięcia (Tabl. I, 1). Przesunięcie się ścian komórkowych jest prawdopodobnie spowodowane zmianą ciśnienia w naprzężonych dotychczas komórkach i względnym przesunięciem się masy ciała korzenia. Zmiana ciśnienia przejawia się jeszcze w tym, że w niektórych korzeniach tej serii prosta linia przecięcia wygina się od razu w linię falistą, wklęsłą w terytoriach kory pierwotnej i wypukłą na wysokości walca środkowego. W komórkach bezpośrednio przyległych do powierzchni przecięcia nie stwierdza się żadnych zmian cytologicznych, wskazujących na nekrozę. Nie różnią się one właściwie niczym od innych komórek strefy merystematycznej. Jedynie ściany graniczące z powierzchnią zewnętrzną są dość silnie uwypuklone.

Po czterech godzinach hodowli nie stwierdza się już wyraźnego, ukośnego nachylenia antyklinalnych ścian komórkowych w korze pierwotnej. We wszystkich komórkach, w szczególności w pobliżu rany zaznaczają się cechy intensywnego rozwoju. Silne uwypuklenie, a często znaczne wydłużanie się ścian antyklinalnych w kierunku terytorium usuniętego wierzchołka, jest widocznym skutkiem aktywnego wzrostu tych komórek. Między pozostałą przy życiu masą komórkową a otoczeniem rozpoczyna się wytwarzać coś w rodzaju nabłonka, który jest wytworem obumarłych w międzyczasie komórek i ścian komórkowych, przylegających do powierzchni cięcia. Wskutek wzrostu całego wierzchołka zostają one zgniatané tak, że najczęściej tworzą jednolitą masę silnie się wybarwiająca, z której wystają jedynie szczątki ścian komórkowych. Jednakże analiza takiego prowizorycznego nabłonka po 16 godzinach hodowli

(Tabl. I, 2) sugeruje, że w jego wytwarzaniu dużą rolę aktywującą odgrywa również żywa masa wierzchołka. Powstanie prowizorycznego nabłonka byłoby więc pierwszym widocznym efektem procesu regeneracyjnego. Proces ten ma charakter wybitnie doraźny, skierowany na jak najszybszą izolację od otoczenia. Nabłonek taki jest całkowicie różny w swojej budowie i właściwościach barwnych od nabłonka śluzowego charakterystycznego dla korzeni traw, który wytworzy się później i przenikając wszystkie przestrzenie międzykomórkowe w partiach powierzchniowych wytworzy w ten sposób zwarty system izolujący.

Nie zmieniony w zasadzie układ strukturalny komórek utrzymuje się jeszcze po 16 godzinach hodowli. Jednakże obecnie wyczuwa się już pewne naruszenie dotychczasowego porządku. W regularnym i charakterystycznym układzie pojawiają się tu i ówdzie na całej przestrzeni szczytowej podziały komórkowe w płaszczyznach przypadkowych. Linie antyklinalne w szczytowej części ulegają znaczniejszemu zakrzywianiu i robią wrażenie, jak gdyby otaczały nowe niewidoczne centrum, znajdujące się mniej więcej na powierzchni uwypuklającej się płaszczyzny cięcia. Takie nowo wytworzone „antykliny“ są szczególnie dobrze widoczne w przypadkach pewnego zagęszczenia podziałów komórkowych. Wtedy podziały komórkowe w tej strefie ustawiają się tak, że wykreślają nowe linie mające tendencję do silnego zakrzywiania się w korze pierwotnej, przenikają stare antykliny, stwarzając wrażenie silnie zakłóconego porządku podziałów komórkowych w tej strefie (Tabl. I, 3). Niekiedy też szczytowa część różni się od pozostałej masy ciała jedynie podwyższonym stopniem wakuolizacji oraz tendencją do hipertrofii. Takie ukośne podziały i wakuolizacja komórek prowadzą do wyodrębniania się szczytowej części wierzchołka od głębszych „zdrowych“ części ciała korzenia. Granicę stanowi mniej lub bardziej wyraźne pasmo zagęszczonych komórek, wklęsłe w kierunku płaszczyzny cięcia. Fakt ten jest bardzo ważny i według mnie stoi w bezpośrednim związku z regeneracją przyszłego centrum twórczego (c. tw.), którego determinacja nastąpi mniej więcej po 29 godz. hodowli. W tym czasie, tj. po 29 godzinach zmiany w strukturze komórkowej regeneratu, choć wciąż jeszcze niewielkie, są bardzo znamienne (Tabl. I, 4). Płaszczyzna cięcia na wszystkich preparatach tej serii uległa dosyć znacznemu uwypukleniu. Miejsce prowizorycznego nabłonka, po którym pozostały szczątki w postaci silnie barwiących się zaśmieceni, przylegających do zewnętrznych komórek, zajęła masa barwiąca się identycznie jak nabłonek śluzowy w nienaruszonej części korzenia, łącząca się z nim bezpośrednio i wnikać jednocześnie w przestrzenie międzykomórkowe najbardziej zewnętrznych komórek, które w międzyczasie uległy silnej hipertrofii. Nieco głębiej, w pobliżu wspomnianego przed chwilą zagęszczonego pasma, wklęsłego ku szczytowi, pojawia się

szereg dalszych podziałów komórkowych, wyodrębniających się obecnie jako drugie pasmo, tym razem wypukłe ku szczytowi.

Pasma to i obszar szczytowy przez nie oddzielony były interpretowane różnie. Dopiero wyodrębnienie się tego pasma obaj klasycy uważali za widoczny etap procesu regeneracyjnego. *Simon* cały obszar szczytowy uważał za prowizoryczny czepek, uzasadniając to tym, że ze względu na hipertrofię nie można go objąć definicją kallusa. Za takim ujęciem przemawia według *Simona* wyraźnie biegunowy sposób wzrostu tych komórek, podobny do wzrostu komórek czepka korzeni kontrolnych. A dosyć wczesne pojawianie się w tych komórkach skrobi statolitycznej wskazuje, że nie różnią się one również pod względem znaczenia, jakie mają podobne komórki w korzeniach kontrolnych. *Prantl* widzi w nim wygiętą miseczkowato warstwę odróżnicowanych jednorodnych komórek, rodzących na zewnątrz komórki kallusa. *Simon* w tym czasie nie dostrzega jeszcze wcale wyodrębniającego się skomplikowanego układu, jaki widział *Prantl*. Podkreśla on, że na rozległej, szczytowej części regeneratu układ komórkowy jest w zasadzie bardzo prosty i naruszony jedynie w perikambium oraz w przyległych do niego słupach kory pierwotnej. Jedynie w tych, najwyżej trzech, słupach komórek zachodzić mają w tym czasie charakterystyczne podziały komórkowe, nachylone do środka i szczytu kikuta.

Otóż dokładniejsza analiza struktury wierzchołka regeneratu w tej fazie rozwojowej wykazuje, że układ komórkowy wcale nie jest ani tak skomplikowany i przypadkowy, jak twierdził *Prantl*, ani też zgodny z interpretacją *Simona*.

Wyodrębnienie się tego pasma wpłynęło w sposób zasadniczy na zmianę w dotychczasowym układzie strukturalnym. Wprawdzie dawny słupowy charakter merystemu nadal jeszcze dominuje, jednakże kształtowanie się nowego planu organizacyjnego daje się wyczuć w wielu szczegółach.

W wyodrębnianiu owych linii wypukłych ku szczytowi największy udział biorą podziały komórkowe zachodzące w endodermie i w przyległych słupach kory pierwotnej. Podziały te obserwował *Simon* i mylnie odnosił do perycyklu. Uszło jednak uwagi obydwu autorów, że nachylenie płaszczyzn podziałów jest zawsze najbardziej ostre w głębszych partiach i maleje w kierunku szczytu. Dzięki temu zarysowują się linie w uderzający sposób wykreślające granice nowych stref pierwotnych.

Podziały komórkowe po zewnętrznej stronie pasma, zwykle tylko słabo wypukłe, lecz z reguły bardziej uderzające, przebiegające poprzez cały obszar aż do protodermy, prowadzą do wyodrębnienia wspomnianego terytorium szczytowego, który daje się zidentyfikować z prowizorycznym czepkiem *Simona*. Następnie, prawdopodobnie nieco później, poja-

wiają się podziały komórkowe również tworzące zagęszczone pasmo, które biorą początek od głębszych zdrowych słupów endodermy i biegną ku szczytowi do środkowych partii korzenia. Wykreślają one w ten sposób granicę między determinującą się korą pierwotną i walcem środkowym.

Wykreślone w ten sposób terytoria tkankowe, które nawiązując do obu klasyków uważam za prowizoryczne strefy histogenetyczne, są

Ryc. 1. Schemat przekroju podłużnego regeneratu ilustrujący układ strukturalny po 29 godzinach hodowli (por. tabl. I, 4—5). Linia kreskową zaznaczono prowizoryczne granice między wyodrębniającymi się strefami histogenetycznymi, linią kropkową — pole merystematyczne; c — prowizoryczny czepek; k — kora pierwotna; w — walec środkowy; d — protoderma; e — endoderma.

Schema eines Längsschnittes des Regenerats, das die Strukturordnung nach 29 Stunden Kultur darstellt (vergl. Taf. I, 4—5). Die unterbrochenen Linien zeigen die Grenzen der sich absondernden histogenetischen Zonen, die punktierte Linie — das meristematische Feld; c — provisorische Wurzelhaube; k — primäre Rinde; w — Zentralzylinder; d — Protodermis; e — Endodermis.

w bezsporny sposób widoczne na wszystkich przekrojach korzeni po 29, 39 i 44 godz. hodowli (Tabl. I, 4, fot. 4 i 5 oraz ryc. 1). Należy podkreślić, że nie mają one nic wspólnego ze zregenerowanymi w przyszłości właściwymi strefami „zastępczymi“. Specyficzność wyodrębniających się w ten sposób prowizorycznych stref histogenetycznych przejawia się głównie w różnej jakości cytoplazmy. Mianowicie komórki ugrupowane na zewnętrznej granicy różnicujących się stref prowizorycznych, na całej przestrzeni przekroju, tj. poprzez korę pierwotną aż do starej protodermy, barwią się intensywniej w porównaniu z sąsiednimi. Jednocześnie pojawiają się w nich sporadyczne podziały prostopadłe do krzywizny tej strefy. Podziały te uważano za początek wyodrębniania się nowej epidermy, która miała się różnicować począwszy od najbardziej odsuniętych od szczytu słupów starej protodermy w kierunku przyszłego centrum twórczego. Ja uważam ją jako jedynie zewnętrzną część prowizorycznej kory pierwotnej, ponieważ do tego czasu nie wyróżnicowała się jeszcze żadna, zdeterminowana we właściwym znaczeniu tkanka pierwotna. Po-

za tym niektóre preparaty wykazują, że podobne podziały mają głębszą przyczynę i są odbiciem zmian w tworzeniu nowej kory pierwotnej. Różnice w zabarwieniu między korą pierwotną a walcem środkowym są z reguły słabsze. Jednakże granice między nimi są dosyć dobrze widoczne dzięki ukośnym podziałom w endodermie i w przyległych słupach kory pierwotnej. Rzecz oczywista, że w niektórych wypadkach ściśle odgraniczenie stref prowizorycznych jest trudniejsze.

Wszystkie linie krzywe — rezultat ukośnych podziałów — zbiegają się do środkowej części wierzchołka regeneratu, gdzie odrębność stref prowizorycznych jest niedostrzegalna. Jednocześnie w strukturze komórkowej tej części wierzchołka wyodrębnia się innego rodzaju układ. Mianowicie, ściany komórkowe tworzące linie zbliżone do antyklin, widoczne już po 16 godz. hodowli i linie obecnie wytworzone, do poprzednich symetryczne, tj. wypukłe do strony szczytowej, przenikając się wzajemnie zarysowują pewne terytorium, przypominające elipsę ułożoną poprzecznie względem osi korzenia, które chciałbym nazwać polem merystematycznym (Tabl. I, fot. 4 i 5 i ryc. 1). Pole to bokami sięga w partię kory pierwotnej, od zewnątrz obejmuje wewnętrzną część terytorium prowizorycznego czepka, od głębszych zaś partii masy korzenia oddzielone jest przebiegiem owych linii odpowiadających nowym antyklinom. Pole merystematyczne zajmuje z reguły terytorium środkowej części wierzchołka, lecz może się przesunąć w stronę kory pierwotnej, a nawet, za czym przemawiają niektóre preparaty, środek pola merystematycznego może się wyodrębniać całkowicie w korze pierwotnej. Nachylenie jego jest zależne od wielu czynników. Położenie pola merystematycznego ma istotne znaczenie dla dalszego przebiegu regeneracji, gdyż płaszczyzna prostopadła do jego długiej osi wyznacza kierunek rozwoju przyszłego wierzchołka korzenia.

Znaczenie pola merystematycznego w regenerującym wierzchołku będzie rozważane osobno. Jednakże już teraz nasuwa się uwaga, że nie wyraża ono jedynie linii przyrostów. W przeciwnym bowiem razie musiałoby nastąpić zakłócenie równoległego dotąd biegu starych, pionowych słupów komórek, co rzeczywiście nastąpi, ale znacznie później. Powstanie charakterystycznego układu w kształcie elipsy można sobie jedynie tłumaczyć jako morfologiczny wyraz przegrupowania w organizacji żywej masy i wykrywania się nowych zdolności kierunku rozwojowego. Wytworzenie się pola merystematycznego i stref prowizorycznych ma znaczenie zwrotne w procesie regeneracji. Można je uważać za zakończenie początkowej fazy procesu regeneracyjnego. W tym okresie procesów doraźnych i odróżnicowania, organizm przebudował niejako część swoich tkanek i wytworzył w nich nowe centra regulatorów rozwojowych, które w wyniku wzajemnego oddziaływania pokierują odtąd podziałami

i wzrostem komórek, zapoczątkowując nowe centrum twórcze z charakterystycznym dla gatunku wzorem konstrukcyjnym. Proces przebudowy postępuje powoli. Układ komórkowy tworzący pole merystematyczne zachowuje się jeszcze po 39 a nawet po 44 godzinach bez większych zmian w porównaniu z układem po 29 godzinach hodowli.

Należy tutaj z całym naciskiem podkreślić, że nigdzie, aż do całkowitej regeneracji c. tw., nie stwierdzono żadnych zmian w słupach komórkowych perycyklu, które by wskazywały na jakąkolwiek szczególną jego rolę w procesie regeneracji. Charakterystyczne ukośne podziały opisywane przez *P r a n t l a* i *S i m o n a* w słupach perykambium mają miejsce jedynie w komórkach endodermy i w przyległych słupach kory pierwotnej.

To stwierdzenie ma zasadnicze znaczenie dla zrozumienia przebiegu procesu regeneracji korzenia, ponieważ, jak wykazę później, nie ma żadnych podstaw do rozróżniania regeneracji bezpośredniej, tj. „direkte Regeneration“ *S i m o n a* i regeneracji prokambialnej wzgl. parcjalnej, w którym to typie regeneracja wierzchołka polegałaby na wyłącznym wpływie perycyklu.

W okresie od 29 godz. do mniej więcej 44 godzin po operacji nie zachodzą żadne istotne zmiany. Do najważniejszych zmian można by zaliczyć dalsze podziały w wewnętrznych słupach kory pierwotnej, a w szczególności w endodermie, która ulega prawie zawsze rozszczepieniu niekiedy na dosyć dużą odległość, dając 2 do 4 słupów komórkowych. Podziały komórkowe zachodzą również na całym obszarze walca środkowego łącznie z centralnym słupem metaksylemu, gdzie były obserwowane również przez *S i m o n a* i *P r a n t l a*. Poza tym można by zwrócić uwagę na dalszą hipertrofię zewnętrznych komórek prowizorycznego czepka, którego granica od części osiowej jest ciągle bliżej niezdeteminowana i niewidoczna.

Właściwa granica czepka wyodrębnia się dopiero na skutek zmiany kierunku rozwojowego komórek czepka mniej więcej po 60 godz. (Tabl. II, fot. 2 i 3). Wyodrębnianie się granicy czepka wyznacza jednocześnie różnicującą się protoderme, co jest zresztą dla niej jedyną cechą szczególną. Charakterystyczne podziały w płaszczyznach prostopadłych do powierzchni granicy czepka nie mają takiego znaczenia, jakie przypisywali obaj klasycy. Nigdy nie zaobserwowałem częściowo zarysowanej granicy czepka. Jeśli czepok jest wyodrębniony, to granica jego jest zawsze w bezsporny sposób widoczna na całej przestrzeni powierzchni stożka. Zawsze można z łatwością przeprowadzić linię, od której począwszy komórki wykazują odmienny kierunek wzrostu. Spostrzeżenie to prowadzi do wniosku, że różnicowanie się „epidermis“, a zatem różnicowanie się granicy

pratkaneek, nie postępuje stopniowo od starych części pratkaneek w kierunku do środka, jak opisywano, ale przebiega szybko, mniej więcej równocześnie na całej przestrzeni. W przeciwnym bowiem razie na wielu preparatach rozwój granic czepka musiałby wykazać wyraźne stadia pośrednie. W podobny sposób szybko na całej przestrzeni mniej więcej równocześnie wyodrębnia się prawdopodobnie granica między korą pierwotną a walcem osiowym. Granica ta różnicuje się po 70 godzinach. Najwcześniejsze stadium uchwycono jedynie na kilku obiektach, gdzie zmiany w strukturze tej strefy miały charakter wybitnie jednoczesny (Tabl. II, fot. 3). Jednakże zmiany komórkowe podczas tego procesu nie są tak uchwytnie jak w różnicowaniu się granicy czepka z powodu wielu podziałów. Fakt ten oczywiście stoi w związku z tym, że granica między wewnętrznymi pratkankami jest zawsze trudniej widoczna oraz że różnicowanie się takiej granicy nie jest związane z istotną zmianą kierunku rozwojowego.

Do regeneracji więc zasadniczego układu rozwojowego potrzeba było mniej więcej około 70 godzin. Odtworzony po tym okresie czasu układ strukturalno-rozwojowy bynajmniej nie osiągnął jeszcze stanu równowagi. Jest bardzo zmienny. Pokrewieństwo komórek można prześledzić tylko w ograniczonym stopniu. Granice między strefami histogenetycznymi zacierają się często powtórnie. Na terytoria poszczególnych stref nasuwają się pojedynczo lub całymi piętrami komórki wewnętrznych partii wierzchołka. W ten sposób między nowotworzącym się czepkiem a korą pierwotną wykreślenie granicy jest niekiedy bardzo trudne. Na terytorium czepka obserwuje się często kilka charakterystycznych grubszych linii poprzecznych, obejmujących pewne kompleksy komórkowe, które są śladami dawnych, kolejno „funkcjonujących“ granic czepka. Podobnie niemożliwe jest również w tym czasie oznaczenie nie tylko przypuszczalnych komórek inicjalnych w poszczególnych piętrach, ale nawet samych pięter histogenetycznych. Jeszcze ciągle utrzymuje się dawny słupowy układ. Pionowe linie biegą bez większego zakłócenia nawet w tworzącym się nowym c. tw. poprzez czepkę aż do powierzchni szczytu. A ponieważ charakter tych linii staje się wskazówką sposobu i kierunku wzrostu wierzchołka, fakt ten nabiera szczególniejszego znaczenia i przemawia za tym, że sposób wzrostu w nowym c. tw. albo różni się jeszcze od sposobu wzrostu c. tw. korzenia kontrolnego, albo sposób wzrostu w merystemie u traw wymaga jeszcze dodatkowych wyjaśnień.

Powyższa charakterystyka regenerującego wierzchołka po mniej więcej 70 godzinach hodowli wykazuje, że procesu regeneracji wcale jeszcze nie można uważać za ukończony, jak sądzili Prantl i Simon, z chwilą wytworzenia stref histogenetycznych. Struktura takiego przejściowego merystemu niekiedy nie wykazuje nawet podobieństwa do ty-

pu korzeni jednoliściennych. A właśnie owo całkowite podobieństwo w strukturze podkreślają obaj klasycy jako końcowy efekt regeneracji po 3 dniach. Bardzo znaczne różnice w strukturze zachowują się jeszcze nawet po 5-ciu dniach (Tabl. II, fot. 4).

Całkowite odtworzenie struktury merystemu z charakterystycznym dla gatunku wzorem konstrukcyjnym następuje powoli i ustala się dopiero po 8—10 dniach hodowli (Tabl. II, fot. 5). Dopiero tak długo hodowane korzenie nie różnią się prawie wcale od kontrolnych (Tabl. II, fot. 6).

Cały okres od wyodrębnienia się stref histogenetycznych po 3 dniach od operacji do ustalenia się układu strukturalnego, takiego jak u roślin kontrolnych, jest okresem stopniowo ustalającej się równowagi rozwojowej. Powstaje pytanie, czy okresu tego nie należałoby wyodrębnić w oddzielną, końcową fazę procesów regeneracyjnych. Nie potrafię tej sprawy definitywnie rozstrzygnąć. Fakt, że układ strukturalny wierzchołka regeneratu *Brassica* nawet po 8 dniach hodowli ma jeszcze charakter wybitnie prowizoryczny, chociaż wytworzenie się stref histogenetycznych obserwowano również po 3 dniach (jak w przypadku *Hordeum*), przemawia raczej za celowością wyodrębniania końcowej fazy procesu regeneracyjnego, która polegałaby na stopniowej likwidacji wpływów przyranych. Przebieg i czas trwania tej fazy byłby również, jak cały proces regeneracji, rezultatem charakterystycznych właściwości organizmu.

Przedstawiony poniżej opis regeneracji odpowiadałby „direkte Regeneration“ S i m o n a. Charakterystyczną cechą tego procesu jest fakt, że w wytwarzaniu nowego c. tw. mogą brać udział w zasadzie wszystkie komórki zdekapitowanego wierzchołka korzenia.

c. Analiza korzeni dekapitowanych w dalszych odległościach od granicy czepka

Zdolność do regeneracji poszczególnych stref i pokładów pierwotnych w strefie merystematycznej według Prantla i Simona nie jest jednakowa i w miarę oddalania od granicy czepka zwęża się do najbardziej wewnętrznych pokładów przylegających do perycyklu. Regenerację zaś, która polegałaby prawie wyłącznie na działalności perycyklu, Simon opisał jako „regenerację parcjalną“. Sądzę, że problem regeneracji parcjalnej wymaga jeszcze dodatkowych badań. Dotychczasowe moje obserwacje wykazują, że regeneracja nowego wierzchołka na całej przestrzeni merystematycznej, przejawiającej w ogóle zdolność do odbudowania merystemu, przebiega w zasadzie w identyczny sposób. (Tablica III). Uchwycenie wyraźnych różnic w przebiegu regeneracji wierzchołków korzeni dekapitowanych w najdalszych odległościach od granicy

czepka jest bardzo trudne. Można by tu wskazać na silne zahamowanie wzrostu w pierwszych 3 lub 4 dniach. W tym czasie z łatwością można obserwować nagromadzenie się dużej ilości podziałów poprzecznych, w wyniku których zostaje niejako odbudowany usunięty szczytowy obszar merystematyczny. Równocześnie obok podziałów poprzecznych pojawia się wiele podziałów podłużnych, które powodują opisywane wyżej rozszczepienie w wewnętrznych słupach kory pierwotnej, a także rozszczepienie w wielu słupach komórek walca środkowego. Fakt ten jest bardzo ważny. W wyniku rozszczepień słupów pleromu, średnica jego ulega nieznacznemu zwiększeniu (Por. Tabl. III, 1-2-3-4 i Tabl. I, 6). Im to zawdzięcza wierzchołek korzenia pewne zgrubienie szczytowych partii w tej serii eksperymentu, a jak to się później okaże, powiększenie się średnicy pleromu stoi w bliskim związku przyczynowym z regeneracją korzeni samorzutnie rozwidlonych. Równocześnie z „odbudowywaniem” strefy merystematycznej regeneratu w odtwarzającym się obszarze zachodzą procesy prowadzące do wyodrębniania prowizorycznych stref histogenetycznych, tj. prowizorycznego czepka, kory pierwotnej oraz walca środkowego (ryc. 2). Wyodrębnienie się ich jest również ściśle sprzężone z wyodrębnieniem się pola merystematycznego, terytorium przyszłego centrum twórczego. Wyodrębnia się ono co prawda obecnie częściej na granicy peryblem-plerom, lecz może się z łatwością wyodrębniać wyłącznie w środku terytorium pleromu. Faktowi temu nie należy jednak przypisywać większego znaczenia, ponieważ identyczne fakty acentrycznego występowania pola merystematycznego obserwuje się również często podczas regeneracji korzeni dekapitowanych na granicy czepka. To acentryczne „przesunięcie” się pola merystematycznego stoi raczej w ścisłym związku z lokalnymi wpływami, spowodowanymi ostrzem mikroskalpela oraz tym, że płaszczyzna cięcia najczęściej nie przebiega idealnie prostopadle do osi korzenia.

W wyróżnionych strefach prowizorycznych następuje z kolei wyodrębnianie właściwych, zastępczych stref histogenetycznych (Tabl. III, fot. 5). Sposób i kolejność różnicowania się ma również identyczny charakter z opisanymi wyżej. Również i w tym przypadku poszczególne figury strukturalne regeneratu w kolejnych fazach rozwojowych wyodrębniały się od razu w całości, a nie, jak uważano w wyniku sukcesywnego różnicowania się od partii „zdrowych”, stopniowo w kierunku przyszłego centrum twórczego. Jakichkolwiek różnic czasowych w wyodrębnianiu się wzoru rozwojowego pomimo silnego zahamowania ogólnego przyrostu regeneratu na długość nie udało się stwierdzić. Obserwacje regeneratów *in toto* podczas hodowli oraz analiza przekrojów mikrotomowych wykazały, że czas trwania poszczególnych faz procesu jest również taki sam, jak w regeneracji wierzchołków dekapitowanych na granicy czepka. We

wszystkich eksperymentach z usuwaniem wierzchołków różnej długości, w których korzeń przejawiał zdolność do regeneracji, odtworzenie właściwych zastępczych stref histogenetycznych zostało zrealizowane po trzech dniach. Natomiast ustalenie się równowagi rozwojowej i odtworzenie typowego wzoru konstrukcyjnego przebiegało stopniowo i po sześciu dniach układ strukturalny takich wierzchołków różnił się jeszcze znacznie od struktury wierzchołków korzeni kontrolnych.

Ryc. 2. Centralny przekrój podłużny przez wierzchołek korzenia *Hordeum vulgare* dekapitowanego w odległości równej 1,5 wysokości czepka od jego granicy po 66 godz. hodowli (por. tabl. III, 5). Grubszymi liniami wyodrębniono pierwotne słupy komórkowe, kropkami — nowe centrum twórcze, kółkami — nowy peryble. d — protoderma; e — endoderma; p — perycykl; m — centralny słup metaksylemu.

Medianer Längsschnitt durch die Wurzelhaube von *Hordeum vulgare*, dekapitiert in der Entfernung 1,5 der Höhe der Wurzelhaube von ihrer Grenze nach 66 Stunden Kultur (vergl. Taf. III, 5). Durch stärkere Linien wurden die primären Zellensäulen angezeigt, durch die punktierten — das neue Bildungszentrum, durch Kreise — das neue Periblem; d — Protodermis; e — Endodermis; p — Pericykl; m — zentr. Metaxylem.

Podczas regeneracji takich korzeni również nie zdołano stwierdzić żadnej ściślej określonej roli perycyklu. Pozostawał on w wielu miejscach pokładu wcale nie rozszczepiony podłużnie bądź też rozszczepieniu podłużnemu ulegało jedynie kilka komórek. Niekiedy nie zdołano stwierdzić z całą pewnością, czy przyszłe piętro pleromu wyodrębnia się w terytorium walca środkowego czy też w komórkach pochodzących z podłużnego rozszczepienia pokładu endodermy.

d. Powstawanie korzeni samorzutnie rozwidlonych

Przebieg regeneracji wierzchołka korzenia zdekapitowanego daleko od granicy czepka różni się więc zasadniczo od opisów w literaturze. W związku z tym omówić należy sprawę wielokrotnego uzyskiwania regenerujących korzeni z samorzutnie rozwidlonymi dichotomicznie dwoma wierzchołkami (Tabl. V). Korzenie takie uzyskiwano wyłącznie w regeneratach dekapitowanych uprzednio w najdalszych, „krytycznych” odległościach. Powstawanie takich, samorzutnie rozwidlonych korzeni, w świetle znajomości roli perycyklu w rozwoju korzeni bocznych, było łatwe do wytłumaczenia. Według Simona, w wyniku twórczej działalności perycyklu i najbardziej wewnętrznych pokładów do niego przyległych, na powierzchni cięcia wytwarza się wał merystematyczny. Komórki wału merystematycznego wykazują jednakowe możliwości twórcze. W wyniku konkurencji jednakże pewna grupa komórek wału merystematycznego uzyskuje przewagę rozwojową i ona w dalszym rozwoju regeneratu odtwarza nowy wierzchołek korzenia. Może się jednak w pewnych — zwykle rzadkich przypadkach — zdarzyć, że więcej grup komórek wału merystematycznego przejawia równie silne zdolności rozwojowe. Przewaga rozwojowa tych grup nad rozwojem pozostałych komórek w walcu merystematycznym prowadzi do wytworzenia się większej ilości centrów twórczych, dając w rezultacie regenerat o kilku, najczęściej dwóch, wierzchołkach.

Samorzutne powstawanie korzeni rozwidlonych daje się jednakże wyjaśnić w inny sposób, bez potrzeby uciekania się do „twórczych” właściwości perycyklu. Moje obserwacje wykazały, że istotną przyczyną regeneracji korzeni rozwidlonych są uboczne, przypadkowe lub wtórne bodźce o charakterze traumatycznym, które wywołują zaburzenia w rozwoju i związane z nimi przeróżnicowanie dotychczasowych właściwości biologicznych w pewnych grupach komórek regenerującego wierzchołka.

Regeneracji korzeni rozwidlonych, które powstają przeważnie w przypadkach dekapitacji wierzchołków w dalszych odległościach od szczytu (co najmniej w odległości równej wysokości czepka) sprzyjają następujące okoliczności: Zdolność do regeneracji w strefie stosunkowo odległej od granicy czepka jest coraz słabsza. Proces regeneracji przebiega w niekorzystnych warunkach. Potencjał rozwojowy takich wierzchołków na skutek usunięcia większej części tkanek o właściwościach merystematycznych jest osłabiony. Zewnętrznym i morfologicznym wyrazem tego stanu jest silnie zahamowany wzrost takich kikutów w pierwszych trzech, czterech dniach oraz nagromadzenie się na nich drobnoustrojów. Przebiegowi procesu regeneracji towarzyszy charakterystyczne odtwarzanie

merystematycznej strefy szczytowej, odpowiadającej obszarowi strefy podziałów w korzeniach kontrolnych. Równocześnie następuje szereg rozszczepień podłużnych, przede wszystkim w słupach komórkowych walca środkowego, przyczyniając się w ten sposób do znaczniejszego przyrostu szczytowego odcinka korzenia na grubość. Podziały te niekiedy nagromadzają się bardziej i tworzą pasmo przechodzące przez środek przekroju, powodując mniej lub bardziej wyraźne spłaszczenie wierzchołka regeneratu. Takie zagęszczenie podziałów jest najprawdopodobniej spowodowane nagnieciem dekapitowanego wierzchołka podczas operacji, które staje się bodźcem traumatycznym, wywołującym pewne odchylenia w przebiegu procesu.

W wyniku powyższych okoliczności nawet stosunkowo nieznaczny bodziec zewnętrzny może spowodować jakieś przypadkowe uszkodzenie bądź nekrotyczne, bądź tylko silniej zakłócające dotychczasowy porządek rozwojowy w pewnej grupie komórek regenerującego korzenia, znajdujących się na terytorium walca środkowego lub na granicy kory pierwotnej. Zakłócenie w biologii tych grup komórek prowadzi do odróżnicowania ich dotychczasowych właściwości oraz do większej ilości dodatkowych podziałów komórkowych na pograniczu plerom-peryblem. W rezultacie tych podziałów komórki w miejscu zaburzenia tracą swoje dawne charakterystyczne właściwości morfologiczne i przybierają charakter raczej jednorodny. Następnie część tych komórek ulega parenchymatyzacji i w ten sposób przybiera cechy komórek kory pierwotnej, przez co dawna granica między nią i walcem środkowym ulega tym samym również odróżnicowaniu (Tabl. IV i V). W rozerwanym w ten sposób walcu środkowym z obu stron odróżnicowanego obszaru następuje wyodrębnianie nowych granic. Od tej chwili wytworzyły się dwa walce środkowe, na szczycie których regenerują dwa centra twórcze.

Bezpośrednią przyczyną regeneracji korzeni samorzutnie rozwidlonych są więc uboczne i przypadkowe bodźce traumatyczne, wywołujące od dawna znane dwa zjawiska: wzmożoną aktywność rozwojową oraz odróżnicowanie. Regeneracja wierzchołków takich korzeni nie jest zatem rezultatem morfogenetycznych zdolności perycyklu, ale pewnym szczególnym przypadkiem regeneracji wierzchołków korzeni zranionych lub naciętych podłużnie. Dlatego taki regenerat słuszniej byłoby uważać za produkt regeneracji podłużnej.

Zdolność do regeneracji merystemu wierzchołkowego korzenia z charakterystycznym dla korzeni kontrolnych wzorem konstrukcyjnym przejawia strefa merystematyczna na obszarze od szczytu do poziomu, w którym komórki wykazują pierwsze cechy wydłużania.

Zdolność do regeneracji spada dosyć ostro i organ dekapitowany w dalszych odległościach po pewnej fazie wzmożonych podziałów komór-

kowych ulega całkowitemu zróżnicowaniu. Po kilku dniach następuje intensywny rozwój korzeni bocznych, które mogą regenerować z płaszczyzny rany, jednakże wykształcają się one wyłącznie z części środkowych korzenia. Korzenie takie, zgodnie z wielokrotnymi opisami, nie mają nic wspólnego z typowymi regeneratami.

REGENERACJA PODŁUŻNA

Regeneracja korzeni nacinanych podłużnie z uwzględnieniem charakteru zmian komórkowych i udziału tkanek w strefie merystematycznej była również badana, głównie przez Prantla i Simona. Pierwszy z nich dał dosyć dokładny opis zmian komórkowych w przebiegu regeneracji, chociaż interpretacja tych zmian, według której np. regeneracja nowego wierzchołka odbywałaby się za pośrednictwem tworzącego się przejściowo kallusa, nasuwała pewne wątpliwości. Drugi położył nacisk na analizę udziału tkanek w procesach regeneracyjnych na różnej odległości od szczytu, przywiązując wielką wagę do ich znaczenia w uzasadnieniu regeneracji parcjalnej. Lecz właśnie dlatego ten typ regeneracji wymaga ponownego sprawdzenia tym bardziej, że nie ma dotąd żadnych informacji o losach starego i o sposobie różnicowania nowego centrum twórczego podczas podłużnej regeneracji.

Wstępne obserwacje na korzeniach nacinanych podłużnie przez środek na różną głębokość względem granicy czepka wykazały, że korzenie nacinane podłużnie jedynie przez czepkę poniżej jego granicy zawsze rosły dalej nie rozszczepione i wykazywały przyspieszenie wzrostu w pierwszych ośmiu godzinach.

Korzenie nacinane na wysokość piętra pleromu również nigdy nie ulegały rozwidleniu. Takie płytkie rozszczepienia dawały ten sam efekt co dekapitacja (Tabl. VI. 1). Dopiero kiedy cięcia podłużne sięgały do pleromu na głębokość odpowiadającą pół wysokości czepka, uzyskano 50% korzeni rozdwojonych. Korzenie nacinane podłużnie powyżej tej strefy wytwarzały niemal zawsze dwa wierzchołki, z których jednakże często jeden od samego początku rozwijał się wolniej.

Analiza mikroskopowa centralnych przekrojów podłużnych wykazała, że nawet dość płytkie zranienie podłużne, naruszające komórki czepka poniżej jego granicy z częścią osiową, wyzwała zupełną reorganizację wierzchołka korzenia, tj. powstanie nowego centrum twórczego.

Komórki położone ponad raną zostają pobudzone do podziałów i do przyspieszonego wzrostu w kierunku rany. Ten pobudzający wpływ zranienia obejmuje zwykle wszystkie trzy piętra histogenetyczne. Zmiana kierunku wzrostu i przyspieszone tempo podziałów komórkowych sprawia, że w miejscu niedawno pojedynczych komórek inicjalnych powstają

wydłużone pionowo kompleksy o wspólnym pochodzeniu, odnawiające czepek.

Dotychczasowe granice histogenetyczne zacierają się. Nowe prowizoryczne granice histogenetyczne wyodrębniają się między komórkami należącymi pierwotnie do różnych pokładów i naturalnie nie wyrażają żadnych związków genetycznych.

Nowe centrum twórcze różnicuje się zwykle z komórek pochodzących z dawnego pleromu. Jednakże w wypadkach, gdy wpływ zranienia był słabszy, przy płytszym przecięciu, ustalenie się nowego wzoru rozwojowego było związane jedynie z przesunięciem się poszczególnych stref histogenetycznych o jedno piętro w kierunku szczytu tak, że komórki inicjalne dawnego pleromu funkcjonowały jako peryblem, a komórki peryblemu odpowiednio jako komórki inicjalne czepka. W tym przypadku jedynie piętro pleromu różnicuje się z komórek „nieinicjalnych”.

Przekroje podłużne z wierzchołków, nacinanych podłużnie przez środek na wysokość piętra pleromu włącznie, wykazują, że czepek zostaje całkowicie zniszczony (Tabl. VI, 1). Wszystkie komórki szczytowej części merystemu zostają pobudzone do przyspieszonego rozwoju i hipertrofii. Nowe c. tw. wyodrębnia się w głębszych partiach pleromu ponad nacięciem w wyniku typowej regeneracji poprzecznej i w sposób dla niej opisany. Fot. 1 (Tabl. VI) wykazuje, że proces ten również przechodzi przez etap różnicowania się stref prowizorycznych i pola merystematycznego. Ta znaczna czułość tkanek merystematycznych na zranienie, przejawiająca się w utracie zdolności twórczych komórek dawnego centrum twórczego i jego pierwszych pochodnych, w wystarczającej mierze tłumaczy uzyskanie jedynie 50% korzeni rozwidlonych po uprzednim nacięciu części osiowej na głębokość mniej więcej pół wysokości czepka.

Centralne przekroje podłużne z korzeni nacinanych podłużnie na głębokość pół wysokości czepka w głąb pleromu po 44 i 56 godzinach hodowli wykazują, że nowe c. tw. może się tworzyć w różnych miejscach w stosunku do dawnego. Może się ono zakładać w partiach wierzchołka ponad nacięciem podobnie jak w przypadkach regeneracji poprzecznej (Tabl. VI, fot. 1). Często początkowo wytwarzają się dwa c. tw. (po jednym w połówce) poniżej szczytowego poziomu cięcia, ale potem jedno z nich uzyskuje przewagę rozwojową, drugie ulega „przeróżnicowaniu” i przekształceniu w tkanki stałe. Jeden wypadek wskazywał na możliwość ponownego częściowego zrastania się uprzednio rozdzielonych połówek strefy merystematycznej i wyodrębniania się nowego c. tw. w strefie zrosniętej. Wreszcie w przypadkach, gdy cięcie uszkodziło jedną połówkę bardziej niż drugą, rozwój c. tw. następuje jedynie w mniej uszkodzonej połówce. Połówka zniszczona zostanie stopniowo odrzucona, podobnie jak komórki czepka.

Wymienione 4 możliwości zachowania się naciętego głębiej wierzchołka składają się na 50% korzeni pojedynczych.

Korzenie rozwidlone rozwijają się jedynie wówczas, gdy nowe c. tw. założą się poniżej szczytu zranienia i na mniej więcej równym poziomie (Tabl. VI, 2 i ryc. 3). Rozwój takich korzeni jest poprzedzony wzmożonymi podziałami tangencjalnymi na całej długości wzdłuż powierzchni rany. Podziały te tworzą poziome szeregi kompleksów komórkowych, będących pochodnymi poszczególnych słupów (Tabl. VI, 3).

Szeregi te, początkowe równoległe, ulegają wraz ze wzrostem korzenia naruszeniu i układ przybiera charakter bardzo nieregularny, kallusowy, jaki opisał P r a n t l. W wyniku tych podziałów następuje niejako odtwarzanie usuniętej masy wierzchołka. Początkowo wszystkie nowo-wytworzone komórki wzdłuż powierzchni rany mają charakter mniej więcej jednorodny. Jednakże wkrótce, po 44 godzinach, w pozornie nieróżnicowanej masie komórkowej wyodrębniają się wszystkie ważniejsze elementy strukturalne. A więc, dzięki większemu nagromadzeniu się tangencjalnych podziałów komórek na pewnej głębokości wzdłuż rany, wyodrębniają się dwie strefy: wewnętrzna, wałec środkowy oraz strefa zewnętrzna — kora pierwotna (Tabl. VI, 4). Pasma zagęszczonych podziałów komórkowych — to terytorium różnicowania się bądź endodermy, bądź też perycyklu. Komórki różnicującej się kory pierwotnej ulegają wcześniej nieznacznej wakuolizacji. Granica zewnętrzna kory wytwarza się przez wysycenie przestrzeni międzykomórkowych w powierzchniowych partiach rany, pod którą zewnętrzne komórki przybierają cechy protodermy. Na terytorium walca środkowego w tym samym czasie, w pozornie bezładnym układzie komórkowym o gęstszej protoplazmie, wyodrębniają się komórki macierzyste centralnego metaksylemu. Poszczególne nowo tworzące się granice stref biegną dosyć nieregularnie w kierunku ku szczytowi i zakrzywiają się zbieżnie do zaawansowanego już w rozwoju nowego c. tw., które powstaje wewnątrz uprzednio wyodrębnionego pola merystematycznego. Nowe c. tw. różnicuje się najczęściej na granicy nienaruszonej kory pierwotnej i walca środkowego, jednakże może się wyodrębniać wyłącznie w zregenerowanym walcu środkowym. Poziom wyodrębniania się c. tw., jak już wspomniano, może być różny. Zależy on w wysokiej mierze od stopnia uszkodzenia tkanek i może się zbliżać do poziomu dawnej granicy czepka. Nie stwierdzono jednak nigdy przypadku, aby nowe c. tw. powstawało z komórek inicjalnych poszczególnych pięter dawnego c. tw. lub z ich komórek siostrzanych (Tabl. VI, fot. 4 i 5). Łączność pomiędzy poszczególnymi słupami dawnego merystemu po stronie nienaruszonej z różnicującym się nowym c. tw. realizuje się dzięki odpowiednio nachylonym podziałom komórkowym w poszczególnych słupach. Wskutek tego linie biegnące równoległe w dalszych

odległościach, zakrzywiają się poprzez te słupy i łączą się z częściowo już wyodrębnionymi w tym czasie strefami histogenetycznymi po stronie zranienia. Jednakże, niezależnie od miejsca inicjacji nowego c. tw., układ komórkowy po stronie nienaruszonej jest zawsze bardziej regularny niż po stronie uszkodzonej. Jest faktem oczywistym, że z biegiem czasu układ ten powróci do stanu sprzed operacji szybciej niż mocno początkowo zakłócony układ po stronie zranionej. Dlatego wnioski C l o w e s a (1954)

Ryc. 3. Schemat regeneracji wierzchołka korzenia naciętego podłużnie. Linia kreskową zaznaczono prowizoryczne granice między wyodrębniającymi się strefami pierwotnymi, linią kropkowaną — pole merystematyczne; k — prowizoryczna kora pierwotna; w — prowizoryczny wałek środkowy; c — prowizoryczny czepek; d — protoderma; p — perycykl; m — centralny słup metaksylemu (por. tabl. VI. 2). Schema der Regeneration einer längs gespaltenen Wurzelspitze. Die unterbrochenen Linien zeigen die provisorischen Grenzen zwischen den sich absondernden Primärzonen, die punktierten — das meristematische Feld; k — provisorische primäre Rinde; w — provisorischer Zentralzylinder; c — provisorische Wurzelhaube; d — Protodermis; p — Pericykl; m — zentr. Metaxylem (vergl. Taf. VI, 2).

o właściwościach promerystemu uważać należy za niedostatecznie uzasadnione (cięcia drugiej i trzeciej klasy jego klasyfikacji dają identyczny efekt, co cięcia podłużne).

Opisany powyżej sposób regeneracji c. tw. może zachodzić w obu półówkach rozszczepionego korzenia. Jednakże ma to miejsce tylko wtedy, gdy płaszczyzna przecięcia nie odchyła się zbyt od osi. W przeciwnym bowiem wypadku, gdy odszczepiona została tylko część peryblemu lub nawet cały peryblem z przyległą do niego zniszczoną częścią pleromu, nowe c. tw. nie regeneruje. Ostatecznie taki odszczepiony podłużnie fragment merystemu przekształca się w całości w zróżnicowane komórki stałe od razu albo po okresie dość intensywnych podziałów stycznych od strony rany.

Jednoczesne wyodrębnianie się prowizorycznych stref peryblemu i pleromu wzdłuż całej powierzchni rany wskazuje na to, że podłużna regeneracja ma również charakter wybitnie całościowy podobnie jak i regeneracja poprzeczna.

Taki wybitnie całościowy charakter przebiegu regeneracji przejawia się ze szczególną wyrazistością na seriach przekrojów poprzecznych. Przekroje poprzeczne (Tabl. VI, fot. 6) z wierzchołków, uprzednio naciętych podłużnie, po 44 godzinach hodowli wykazują, że wyróżnicowywanie się zarówno stref prowizorycznych, jak również do pewnego stopnia odtwarzanie się kształtu w regenerujących połówkach nie jest w widocznym stopniu zależne od płaszczyzny zranienia. W wytworzonych w początkowym okresie regeneracji kompleksach komórkowych, mniej więcej prostopadłych do powierzchni cięcia (rezultat reakcji przyrannych), w następnym okresie na terytorium walca środkowego i wewnętrznych pokładów kory pierwotnej zachodzą dalsze podziały komórkowe w takich płaszczyznach, że odtwarzającemu się układowi strukturalnemu od samego początku nadają właściwe mu kształty kolistę. Rozmieszczenie natężenia podziałów komórkowych jest charakterystyczne. Największe ich zagęszczenie występuje w strefie przyszłej endodermy i perycyklu. W procesie odtwórczym nowego centrum największy udział bierze cała połówka walca środkowego i wewnętrzne pokłady kory pierwotnej. Zewnętrzne, najczęściej trzy, pokłady kory pierwotnej przyjmują stopniowo charakter i funkcje czepka. Ulegają one zwykle wyodrębnieniu od regenerującej części wierzchołka przez wysycenie przestrzeni międzykomórkowych. Odrzucenie zewnętrznych pokładów dawnej kory jest związane z odtwarzaniem kształtu wierzchołka korzenia. Proces ten rozpoczyna się stosunkowo późno (co najmniej po 30 godzinach hodowli).

Powyżej strefy, w której normalnie zachodzi odtwarzanie centrum twórczego oraz stref pierwotnych walca środkowego i kory pierwotnej, aktywność procesów regeneracyjnych jest mniejsza. Osłabienie procesów regeneracyjnych w tej części przejawia się głównie w zmniejszonej ilości podziałów komórkowych w partiach przyrannych oraz w mniej charakterystycznie wyrażonych podziałach komórkowych, wyodrębniających strefy prowizoryczne. Dlatego w partiach bardziej odległych od szczytu, mniej więcej na wysokości zasięgu cięcia podłużnego, pomimo szeregu podziałów tangencjalnych i wytworzenia wydłużonych kompleksów komórkowych, nie ma ostrej granicy między walcem środkowym z różnicującymi się już w nim elementami przewodzącymi a częścią odpowiadającą korze pierwotnej, za której odpowiednik można uważać komórki bardziej sparenchymatyzowane wzdłuż płaszczyzny cięcia.

W tym miejscu nasuwa się spostrzeżenie, że podczas odtwarzania się usuniętej połowy wierzchołka, w szczególności podczas odtwarzania usuniętych połówek stref histogenetycznych, nie obserwuje się na żadnym odcinku regenerującego podłużnie wierzchołka terytoriów, wykazujących jakieś szczególniejsze cechy merystemu, jakie obserwował S i m o n. Według niego taki merystem wytwarzałyby się w obu partiach przyran-

nych perycyklu. Miał on odgrywać istotną rolę w odbudowie usuniętych pratkaneek. Działalność jego miała być szczególnie dostrzegalna w partiach bardziej odległych od szczytu wierzchołka, analogicznie jak w przypadku regeneracji poprzecznej. Jednakże, według moich obserwacji, przebieg zmian strukturalnych również podczas regeneracji podłużnej nie wskazuje na jakąkolwiek bliżej określoną rolę perycyklu w tym procesie. Proces odtwarzania poszczególnych stref pierwotnych ma od samego początku charakter całościowy. Nie jest on w żadnym wypadku w widoczny sposób związany z jakimkolwiek pokładem pierwotnym.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Badania moje nad przebiegiem regeneracji merystemu wierzchołkowego w korzeniach *Hordeum vulgare* dekapitowanych lub podłużnie rozczepionych w różnych odległościach od szczytu wykazują, że odtworzenie nowego centrum twórczego i charakterystycznego dla gatunku układu strukturalnego merystemu jest zawsze wynikiem identycznych, podstawowych procesów.

Procesy te najłatwiej jest uchwycić i zanalizować w przebiegu regeneracji poprzecznej, po dekapitacji usuwającej cały czepek lub czepek z przyległą do niego bezpośrednio częścią merystemu.

Na wierzchołku korzenia zdekapitowanego poprzecznie zranienie nie wpływa w widoczny sposób w początkowym okresie rozwoju regeneratu na rozmieszczenie mitoz i kierunek podziałów.

W ciągu szesnastu godzin hodowli, na powierzchni zranienia wytwarza się nabłonek izolujący, mający charakter prowizorycznej osłony obnażonego merystemu. Nabłonek ten powstaje ze zniszczonych i obumarłych komórek, przy najprawdopodobniej czynnym udziale przyległych żywych komórek.

Zmiany w danym układzie komórkowym w pierwszym okresie regeneracji są pozornie nieistotne i przypadkowe. Jednakże od samego początku prowadzą one stopniowo do wyodrębnienia w szczytowej części merystemu stref, odpowiadających usuniętym strefom histogenetycznym, tj. walcowi środkowemu, korze pierwotnej i czepkowi. Ponieważ strefy te mają charakter tymczasowy, uważam je za prowizoryczne strefy histogenetyczne. Wytwarzanie tych stref przebiega powoli i jest dostrzegalne już po szesnastu godzinach, a trwa mniej więcej do pięćdziesięciu godzin hodowli.

Wyodrębnianie stref prowizorycznych zapoczątkowuje „fala“ intensywniejszych podziałów komórkowych przebiegająca po łuku wklęsłym od strony szczytowej, odcinająca w ten sposób obszar szczytowy od głębszych partii korzenia. Następnie druga fala podziałów komórkowych, wypukła ku szczytowi, przebiegająca w odciętym przed chwilą obszarze

szczytowym, oddziela partie powierzchniowe od zamkniętych w ten sposób partii wewnętrznych o zarysach elipsy. Odcięty obszar powierzchniowy przybiera cechy prowizorycznego czepka. Wreszcie trzecia fala podziałów komórkowych na przedłużeniu nieuszkodzonej granicy peryblemplerom w kierunku do środka szczytowego obszaru odtwarza pozostałe strefy, tj. prowizoryczną korę pierwotną i walec środkowy.

Granice między strefami prowizorycznymi są niezależne od pokrewieństwa między komórkami.

Wyróżnicowanie stref prowizorycznych jest ściśle sprzężone z jednoczesnym wyodrębnianiem się charakterystycznego terytorium o zarysach elipsy, które nazwałem polem merystematycznym.

W środku pola merystematycznego wyróżnicuje się później centrum twórcze merystemu. Położenie pola merystematycznego wyznacza zatem miejsce i kierunek rozwoju centrum twórczego oraz udział pratkaneek strefy merystematycznej w tworzeniu nowego centrum twórczego.

Środek pola merystematycznego pokrywa się zwykle z osią podłużną korzenia. Może się jednak bardzo często przesunąć do granicy pleromperyblem. Przesunięcie pola merystematycznego jest związane z przesunięciem prowizorycznych stref histogenetycznych.

Dalszym etapem regeneracji jest wyróżnicowanie się właściwych, zastępczych stref prowizorycznych.

Różnicowanie się granic histogenetycznych nie przebiega, jak sądzono, od „zdrowych“ części pratkaneek stopniowo w kierunku szczytowym, ale odbywa się szybko, mniej więcej równocześnie na całej przestrzeni blastematycznej. Podczas tych procesów przejawia się charakterystyczna i nawiązująca do normalnej ontogenezy kolejność. Mianowicie jako pierwsza, po mniej więcej 50 godzinach, wyodrębnia się granica czepka.

Zregenerowane po mniej więcej 70 godzinach strefy histogenetyczne różnią się jeszcze bardzo od podobnych w korzeniach kontrolnych.

Całkowite odtworzenie charakterystycznego dla gatunku układu strukturalnego ustala się stopniowo po 8 do 10 dniach hodowli.

Podczas regeneracji korzenia zdekapitowanego w okolicy granicy czepka nie obserwowano żadnych zmian w pokładzie komórek perycyklu, które wskazywałyby na szczególnie aktywną lub induktywną rolę perycyklu w inicjacji nowego c. tw., przypisywaną temu pokładowi przez P r a n t l a i S i m o n a. Większe nasilenie podziałów komórkowych występowało jedynie w najbardziej wewnętrznych pokładach kory pierwotnej, w szczególności w endodermie. Podziały takie nie wykazywały żadnego znaczenia induktywnego w procesie regeneracji nowego c. tw.

Regeneracja wierzchołka korzenia, zdekapitowanego w dalszych odległościach od granicy czepka, przebiega zasadniczo w identyczny sposób jak w wypadkach dekapitacji w pobliżu czepka, poprzez fazę wyodrębniania

się prowizorycznych stref histogenetycznych i pola merystematycznego, chociaż pole merystematyczne, a zatem nowe centrum twórcze, zakłada się częściej na granicy kory pierwotnej i walca środkowego. W przebiegu inicjacji nowego centrum twórczego nie stwierdzono również i w tych przypadkach żadnych bliżej określonych zmian w perycyklu, które by upoważniały do traktowania go jako szczególnie czynnego pokładu.

Nie ma przeto żadnych podstaw do rozróżniania regeneracji bezpośredniej i regeneracji pośredniej (parcjalnej), wbrew dotychczasowym poglądom.

Regeneracja korzeni samorzutnie rozwidlonych daje się wyjaśnić bez szczególnego udziału perycyklu, można je uważać jako szczególny przypadek regeneracji podłużnej.

Usunięcie połowy czepka lub odpowiednio płytkie podłużne rozszczepienie czepka pociąga za sobą również zupełną reorganizację centrum twórczego. Nowe c. tw. zakłada się wyżej, na terenie dawnego peryblemu i pleromu lub wyłącznie na terenie pleromu.

W regeneracji korzeni naciętych podłużnie na szczególniejszą uwagę zasługuje fakt, że po nacięciu sięgającym najwyżej piętra pleromu włączenie nie uzyskuje się korzeni rozwidlonych. Nowe centrum twórcze zawsze regeneruje ponad takim płytkim nacięciem.

W przebiegu regeneracji wierzchołków korzeni głębiej rozszczepionych wyróżnić należy dwa procesy obejmujące prawie cały obszar połówki korzenia: odtworzenie brakujących połówek oraz reorganizację merystemu wierzchołkowego, prowadzącą do powstawania nowego centrum twórczego i odtworzenia typowego układu strukturalnego merystemu.

Pozostała część dawnego centrum twórczego nie odgrywa szczególnej roli w dobudowywaniu brakującej połówki, nie zapoczątkowuje również nowego centrum twórczego.

Nowe centrum twórcze nie składa się z dwóch części: dawnej i nowej, jak sądził C l o w e s. Odtwarzane jest zawsze jako całość, powyżej dawnego, w osiowej części korzenia.

W regeneracji podłużnej odbudowa nowego centrum twórczego ma identyczny charakter jak w regeneracji poprzecznej.

Korzeń *Hordeum vulgare* pozbawiony przez dekapitację merystemu wierzchołkowego regeneruje zatem nowy, „zastępczy“ merystem wierzchołkowy. Budowa zregenerowanego merystemu oraz budowa komórkowa całego wierzchołka korzenia, zgodnie z wnioskami P r a n t l a i S i m o n a, jest identyczna z budową wierzchołka korzenia kontrolnego. Do całkowitego odtworzenia struktury wierzchołka potrzeba jednakże znacznie dłuższego czasu, niż sądzono dotychczas. Okres ten dla dekapitowanych korzeni *Hordeum* wynosi około ośmiu dni.

W dekapitowanych korzeniach *Brassica oleifera* odtwarzanie dawnej struktury merystemu wierzchołkowego po ośmiu dniach hodowli jeszcze nie było zakończone.

Zdolność do regeneracji merystemu wierzchołkowego wykazuje obszar szczytowy korzenia do granicy strefy wydłużania. W odległościach krytycznych obserwuje się jedynie falę wzmożonych podziałów i przejście w fazę różnicowania. Na całej przestrzeni zdolnej do regeneracji proces zdaje się przebiegać według jednego typu.

Proces regeneracji rozpoczyna się od pierwszych chwil zranienia i przebiega stopniowo w sposób ciągły. Procesowi temu towarzyszą odpowiednie i widoczne zmiany w strukturze komórkowej. Każdy etap rozwoju regeneratu znajduje swoje odbicie w odpowiednim układzie komórkowym lub w odpowiednich cechach cytologicznych. Zmiany w układzie komórkowym rozpoczynają się wcześniej. Nie ma w początkowym okresie regeneracji dłuższej przerwy w zmianach struktury komórkowej, a następnie gwałtownych przemian, prowadzących do regeneracji nowego wierzchołka, jak sądził S i m o n.

W procesie regeneracji dekapitowanych korzeni *Hordeum* można wyodrębnić trzy jakościowo różne fazy:

1. Faza procesów doraźnych — polega na możliwie wczesnym odizolowaniu odkrytego ciała od otoczenia przez wytworzenie prowizorycznego nabłonka oraz na przywróceniu naruszonej równowagi w układzie fizycznym. Procesy doraźne kończą się po upływie około 16 godzin od operacji.
2. Faza procesów wstępnych lub odróżnicowania — istotą jej jest odróżnicowanie się pozostałych wyspecjalizowanych pratkaneek. Za przejawy odróżnicowania można by uważać zmiany w szybkości (przyspieszenie) wzrostu korzenia, pojawienie się podziałów przypadkowych i początek wyodrębniania się prowizorycznych stref pierwotnych. Procesy są zakończone po 30 godzinach od operacji.
3. Faza procesów różnicowania — polega na zasadniczej reorganizacji strukturalnej, na odtworzeniu nowych stref histogenetycznych i nowego centrum twórczego merystemu, oraz na odbudowaniu charakterystycznego dla gatunku układu strukturalnego wierzchołka korzenia. W tej ostatniej fazie z łatwością można wyróżnić dwa okresy:
 - a) Okres, w którym odbywają się zasadnicze procesy reorganizacji, odtworzenie prowizorycznych a następnie właściwych zastępczych stref histogenetycznych oraz sprzężone z tymi procesami wytworzenie pola merystematycznego i nowego centrum twórczego. Przemiany te są zakończone po 70 godzinach.

TABELA II

TABELA III

TABELA IV

TABELA V

TABELA VI

TABLICA I — TAFEL I

Fot. 1. Centralny przekrój podłużny bezpośrednio po utrwaleniu (objaśnienie w tekście)
Medianer Längsschnitt unmittelbar nach der Fixierung (näher im Text).

Fot. 2. Centr. przekr. podł. po 16 godz. hodowli (obj. w tekście).
Medianer Längsschnitt nach 16 Stunden Kultur (Näheres im Text).

Fot. 3. Centr. przekr. podł. po 16 godz.: strzałka wskazuje jedną ze ścian ustawiających się według nowych antyklin (dalsze obj. w tekście).
Medianer Längsschnitt nach 16 Stunden. Der Pfeil zeigt eine der Wände, die sich nach den neuen Antyklinen aufstellen (Näher im Text).

Fot. 4. Centr. przekr. podł. po 29 godz. (obj. w tekście oraz pod rysunkiem 1).
Medianer Längsschnitt nach 29 Stunden (näher im Text und unter der Zeichnung 1).

Fot. 5. Centr. przekr. podł. po 44 godz.: zauważ pole merystematyczne, ograniczone ciemniejszym pasmem i zagęszczonymi podziałami komórkowymi.
Medianer Längsschnitt nach 44 Stunden: beachte das meristematische Feld, das ein dunklerer Streifen und eine Anhäufung von Zellteilungen umrahmen.

Fot. 6. Przekr. poprz. przez wierzchołek korzenia kontrolnego w dalszej odległości od szczytu
Querschnitt durch die Kontrollwurzelspitze in weiterer Entfernung vom Gipfel.

TABLICA II — TAFEL II

Centralny przekrój podłużny

Fot. 1 i 2 po 66 godz.; fot. 3 po 70 godz.; fot. 4 po 5 dniach; fot. 5 po 8 dniach hodowli; fot. 6 wierzchołek korzenia kontrolnego utrwalonego po 8 dniach hodowli (wszystkie objaśnienia w tekście).

Mediane Längsschnitte

Fot. 1 und 2 nach 66 Stunden; Fot. 3 nach 70 Stunden; Fot. 4 nach 5 Tagen; Fot. 5 nach 8 Tagen Kultur; Fot. 6 Kontrollwurzelspitze nach 8 Tagen fixiert (alle Erklärungen im Text).

TABLICA III — TAFEL III

Przekroje poprz. przez wierzchołki regenerujących korzeni dekapitowanych w odległości równej 1,5 wysokości czepka od jego granicy po 66 godz. hodowli.
Querschnitt durch regenerierte Wurzelspitzen, die in der Entfernung 1,5 der Höhe der Wurzelhaube von ihrer Grenze dekapitiert wurden nach 66 Stunden Kultur.

Fot. 1—4. Przekr. poprz. z różnej wysokości tego samego regeneratu: zwróć uwagę na udział komórek oraz całościowy charakter regeneracji przejawiający się już na poziomie wyodrębniania się nowego centrum twórczego (fot. 1).

Querschnitte in verschiedener Höhe desselben Regenerats. Beachte den Anteil der Zellen und den ganzheitlichen Charakter der Regeneration, der sich schon in der Höhe, in der sich das Bildungszentrum absondert, erkennen lässt.

Fot. 5. Centr. przekr. podł. korzenia dekapitowanego w odległości 1,5 wysokości czepka od jego granicy po 66 godz. (dokładniejsze objaśnienia w tekście oraz pod rys. 2).

Medianer Längsschnitt der in der Entfernung 1,5 der Höhe der Wurzelhaube dekapitierten Wurzel (Näheres im Text und unter Abb. 2)

TABLICA IV — TAFEL IV

Fot. 1 i 2, 3 i 4. Po dwa przekr. poprz. z regeneratu dekapitowanego uprzednio w odległości równej wysokości czepka po 56 godz. hodowli, przedstawiające przypadki regeneracji korzeni samorzutnie rozwidlonych. Strzałki wskazują miejsca, w których nastąpiło dodatkowo wtórne uszkodzenie, będące istotną przyczyną regeneracji korzeni o dwu wierzchołkach.

Jeżeli dwa Querschnitte eines in der Entfernung gleich der Höhe der Wurzelhaube dekapitierten Regenerats nach 56 Stunden Kultur, die die Fälle der Regeneration von spontan gegabelten Wurzeln darstellen. Pfeile zeigen die Stellen in denen eine zusätzliche, sekundäre Beschädigung eintrat, die der wesentliche Grund zur Regeneration gegabelter Wurzeln ist.

TABLICA V — TAFEL V

Przekr. poprz. z różnej wysokości tego samego korzenia samorzutnie rozwidlonego po 6-ciu dniach hodowli.

Querschnitte in verschiedener Höhe derselben spontan gegabelten Wurzel nach 6 Tagen Kultur.

Fot. 4. Strzałka wskazuje ślady uszkodzenia wtórnego.
Der Pfeil zeigt die Spuren der sekundären Beschädigung.

TABLICA VI — TAFEL VI

Wszystkie fotografie z regeneratów uprzednio nacinanych podłużnie.
Alle Fot. längs gespaltener Regenerate.

Fot. 1. Centr. przekr. podł. po 44 godz. hodowli korzenia naciętego na głębokość komórek inicjalnych pieromu. Zauważ wyodrębnianie się stref prowizorycznych oraz pola merystematycznego (dalsze obj. w tekście).

Medianer Längsschnitt nach 44 Stunden Kultur durch eine Wurzel die bis zu den Initialzellen des Pleroms gespalten wurde. Beachte die Absonderung der provisorischen Zonen und des meristematischen Feldes (näher im Text).

Fot. 2. Centr. przekr. podł. wierzchołka korzenia naciętego na głębokość 0,5 wysokości czepka po 41 godz. hodowli (powiększenie 102 ×, objaśnienie pod ryc. 3).

Medianer Längsschnitt einer Wurzelspitze nach einer Spaltung, die bis zur 0,5 der Höhe der Wurzelhaube reichte, nach 41 Stunden Kultur (die Vergrößerung beträgt 102 ×, Erklärungen unter der Abbildung 3).

Fot. 3. Centr. przekr. podł. przez jedną z regenerujących połówek wierzchołka korzenia nacinanego na głębokość 0,5 wysokości czepka od jego granicy po 41 godz. hodowli (obj. w tekście).

Medianer Längsschnitt durch eine der regenerierenden Hälften der Wurzelspitze nach Spaltung die bis zur 0,5 der Höhe der Wurzelhaube von ihrer Grenze reichte, nach 41 Stunden Kultur (Erklärungen im Text).

Fot. 4. Centr. przekr. podł. przez jedną z regenerujących połówek po 66 godz. hodowli: g — prowizoryczna granica między kora pierwotną (k) i walcem środkowym (w), (pc) dawna granica czepka.

Medianer Längsschnitt durch eine der regenerierenden Hälften nach 66 Stunden Kultur: g — provisorische Grenze zwischen der primären Rinde (k) und dem Zentralzylinder (w), (pc) ehemalige Grenze der Wurzelhaube.

Fot. 5. Centr. przekr. podł. po 66 godz. hodowli, układ komórek w różnicującym się nowym centrum twórczym (powiększenie 337 ×).

Medianer Längsschnitt nach 66 Stunden Kultur, die Zellenanordnung im entstehenden Bildungszentrum (Vergrößerung 337 ×).

Fot. 6. Przekr. poprz. przez jedną z regenerujących połówek po 66 godz. hodowli, zwrócić uwagę na całościowy charakter wyodrębniania się stref pierwotnych.

Querschnitt durch eine der regenerierenden Hälften nach 66 Stunden Kultur, beachte den ganzheitlichen Charakter der Absonderung der Primärzonen.

- b) Okres końcowy polegający na stopniowym ustalaniu się równowagi w działalności i porządku twórczym merystemu. Okres stabilizacji trwa długo. Dopiero po upływie około 10 dni dochodzi do całkowitego przywrócenia dawnego układu strukturalnego.

Wyodrębnione przeze mnie fazy pokrywają się całkowicie z podziałem ustalonym dla typowej regeneracji u zwierząt (D e m b o w s k i 1954), nie pokrywają się natomiast z podziałem S i m o n a.

Proces regeneracji układu strukturalnego ma charakter całościowy, tj. poszczególne obrazy w układzie strukturalnym w każdym etapie regeneracji wyodrębniają się na całym regenerującym obszarze od razu w całości, bez dostrzegalnego związku z partiami „nienaruszonymi“.

W procesie różnicowania się poszczególnych stref histogenetycznych uderza wyraźna kolejność nawiązująca do normalnej ontogenezy.

Czas trwania poszczególnych faz, jak również czas trwania całości procesu regeneracyjnego, wymaga jeszcze specjalnych obserwacji, wydaje się jednak, iż nie zależy on ani od rodzaju, ani od odległości cięcia względem granicy czepka.

Panu profesorowi dr Henrykowi Teleżyńskiemu pragnę wyrazić serdeczną wdzięczność za cenne rady i pomoc w pracy.

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Wrocławskiego

(Wpłynęło dn. 7.V.1956 r.)

ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

In den Forschungen über das Wachstum und die Entwicklung der Wurzel widmet man weiterhin viel Aufmerksamkeit der Zahl der Initialzellen, ihrer Verschiedenheit und Entwicklungsdauer oder auch der Gestalt des Meristems, und schliesslich dem Entwicklungsmechanismus.

Die Entwicklungsforschungen sind fast ausschliesslich auf die Analyse der Zellenstruktur der Wurzelspitze während der normalen Entwicklung beschränkt. Erst neuerdings erschienen die Arbeiten von B r u m f i e l d und C l o w e s, die experimentelle Methoden anwandten.

Diese Arbeit ist der erste Teil einer umfassenderen, die als Ganzes einen Versuch darstellt, den Regenerationsverlauf und zugleich die Wurzelspitze-reaktion auf einige äussere Reize in den Entwicklungsforschungen und spezifischen Eigenschaften des Wurzelmeristems anzuwenden.

Es zeigte sich, dass die Kenntnisse über den Regenerationsverlauf der Wurzelspitze sehr mangelhaft sind und hauptsächlich vor fünfzig Jahren erreicht wurden. Die Ergebnisse wurden erzielt mit, zum Teil, ungeeignetem Material und unzureichenden Methoden. Die Beschreibungen und Schlussfolgerungen über den Regenerationsverlauf erfordern eine Revision mit exakteren Methoden und geeigneterem experimentellem Material.

Die Aufgabe dieser Arbeit ist, den Regenerationsverlauf der Wurzelspitze möglichst genau in verschiedenen Operationsverhältnissen zu analysieren.

Meine Beobachtungen über den Regenerationsverlauf des Apikalmeristems bei dekapitierten oder längs gespaltenen Wurzeln von *Hordeum vulgare* in verschiedenen Entfernungen vom Wurzelspitzen beweisen, dass der Wiederaufbau des neuen Bildungszentrums und der für die Art charakteristischen Strukturanordnung des Meristems immer die Folge der gleichen grundsätzlichen Prozesse sind.

Diese Prozesse sind am leichtesten zu erfassen und zu analysieren während des Verlaufs der Querregeneration nach Entfernung der ganzen Wurzelhaube oder der Wurzelhaube mit dem unmittelbar an sie grenzenden Teil des Meristems.

Die Verwundung einer quer dekapitierten Wurzelspitze beeinflusst auffälligerweise in den ersten Zeiten der Regeneratenentwicklung nicht die Mitosenverteilung und die Teilungsrichtungen.

In der Zeit bis zu 16 Stunden einer Regeneratenkultur entwickelt sich auf der Wundfläche ein isolierendes Häutchen, das eine provisorische Hülle für das entblösste Meristem darstellt (Taf. I, 2). Dieses Häutchen ist ein Produkt abgestorbener Zellen, bei höchstwahrscheinlich aktivierender Teilnahme der anliegenden, lebenden Körpermasse der Wurzel.

Die Veränderungen im ehemaligen Zellennetz scheinen in der ersten Zeit der Regeneration unbedeutend und zufällig. Jedoch schon vom Anfang an, führen sie schrittweise im apikalen Teil des Meristems zur Absonderung von Zonen, die den entfernten histogenetischen Zonen, dem Zentralzylinder, der primären Rinde und der Wurzelhaube entsprechen. Weil diese Zonen sich durch Vorläufigkeit charakterisieren, bezeichne ich sie als provisorische histogenetische Zonen. Die Entwicklung dieser Zonen geht langsam vor sich, lässt sich schon nach 16 Stunden erkennen und dauert ungefähr bis 50 Stunden Kultur (Taf. I, 4—5 und Abb. 1).

Die Absonderung provisorischer Zonen leitet eine Welle von intensiven Zellteilungen ein, die in Gestalt eines Bogens verläuft, welcher konvex der Spitze zu ein Apikalterritorium von den inneren Teilen der Wurzel abschneidet (Taf. I, 3). Die zweite Welle von Zellteilungen konvex der Spitze zu verläuft im abgetrennten Apikalterritorium und trennt die an die Oberfläche grenzenden Teile von den auf diese Art eingeschlossenen inneren ellipsenförmigen Teilen. Der abgetrennte an die Oberfläche grenzende Teil nimmt die Eigenschaften einer provisorischen Wurzelhaube an. Die dritte Welle von Zellteilungen schliesslich, welche die Verlängerung der unbeschädigten Grenze von Periblem und Plerom darstellt, die nach der Mitte des Apikalterritoriums verläuft, initiiert die restlichen Zonen d. i. die provisorische primäre Rinde und den Zentralzylinder.

Die Grenzen zwischen den provisorischen Zonen sind unabhängig vom Verwandtschaftsgrad der Zellen unter sich.

Die Absonderung der provisorischen Zonen steht im engen Verhältnis mit der gleichzeitigen Absonderung eines charakteristischen Territoriums in Gestalt einer Ellipse, welches ich „meristematisches Feld“ genannt habe (Taf. I, 3—4).

In der Mitte des „meristematischen Feldes“ differenziert sich später das Bildungszentrum des Meristems. Die Lage des „meristematischen Feldes“ bestimmt also die Stelle und Entwicklungsrichtung des Bildungszentrums und den Anteil der Primärgewebe der meristematischen Zone am Aufbau des neuen Bildungszentrums.

Die Mitte des meristematischen Feldes deckt sich im allgemeinen mit der Längsachse der Wurzel, kann sich aber auch sehr oft bis zur Grenze Plerom-Periblem verschieben.

Die Verschiebung des meristematischen Feldes hängt mit der Verschiebung der provisorischen histogenetischen Zonen zusammen.

Im weiteren Verlauf der Regeneration kommt es zur Absonderung der eigentlichen histogenetischen Grenzen (Taf. II, 1—2—3).

Die Differenzierung der histogenetischen Grenzen verläuft nicht, wie man glaubte, schrittweise von den gesunden Teilen der Primärgewebe der Spitze zu, sondern verläuft schnell ungefähr gleichzeitig auf der ganzen blastematischen Fläche.

Die regenerierten, ungefähr nach 70 Stunden histogenetischen Zonen unterscheiden sich noch sehr von den gleichen in den Kontrollwurzeln (Taf. II, 3).

Die vollkommene Entwicklung der für die Art charakteristischen Strukturanordnung stabilisiert sich stufenweise in der Zeit von 8 bis 10 Tagen Kultur (Taf. II, 5).

Während der Regeneration einer in der Gegend der Wurzelhaubengrenze dekapitierten Wurzel konnte man bei der Entstehung des neuen Bildungszentrums in der Anordnung der Zellen des Pericykl keine Veränderungen beobachten, die auf eine besonders aktive und induzierende Rolle desselben, wie *P r a n t l* und *S i m o n* sie ihm zuschrieb, hindeuteten. Anhäufungen von Längs- und Querteilungen traten nur in den innersten Schichten der inneren Rinde und vor allem in der Endodermis auf. Solche Teilungen wiesen auf keine induktive Bedeutung des Pericykl in der Regeneration des neuen Bildungszentrums.

Die Regeneration der Wurzelspitze nach Dekapitierung in weiteren Entfernungen von der Wurzelhaubengrenze verläuft in grossen Zügen in der gleichen Art wie nach Dekapitation in der Nähe der Wurzelhaube durch die Phase der Absonderung von provisorischen, histogenetischen Zonen und des meristematischen Feldes, wenn auch das meristematische Feld und mit ihm das neue Bildungszentrum sich öfter an der Grenze der primären Rinde und des Zentralzylinders differenziert. Im Verlauf der Initiation des neuen Bildungszentrums konnte man auch in diesen Fällen keine näher bestimmte Rolle des Pericykl beobachten, die ihn als eine besonders induktive Schicht im Regenerationsvorgang bezeichnen lassen würde (Taf. III).

Es gibt deshalb keinen Grund zur Unterscheidung der direkten und partialen Regeneration trotz der bisherigen Ansichten.

Die Regeneration von spontan entstehenden gegabelten Wurzeln lässt sich auch ohne besonderen Anteil des Pericykl erklären, und zwar kann man sie als Sonderfall der Längsregeneration ansehen (Taf. IV und V).

Nach Entfernung einer Hälfte der Wurzelhaube oder nach einer entsprechend flachen Längsspaltung folgt gleichfalls eine völlige Reorganisation des Bildungszentrums. Das neue Bildungszentrum entsteht höher

im Gebiet des ehemaligen Periblems und Pleroms oder ausschliesslich im Territorium des Pleroms.

In der Regeneration der gespaltenen Wurzeln von besonderem Interesse ist die Tatsache, dass nach Längsspaltung die höchstens bis zum Plerom reicht, niemals gegabelte Wurzeln entstanden. Das neue Bildungszentrum regenerierte immer über so einer flachen Spaltung (Taf. IV, 1).

Im Regenerationsverlauf tiefer gespaltenen Wurzelspitzen kann man zwei Prozesse unterscheiden, denen eine Zellumbildung auf der ganzen Fläche der Wurzelhälfte vorausgeht: der Wiederaufbau der fehlenden Hälften und die Reorganisation des Apikalmeristems, welche zur Entwicklung des neuen Bildungszentrums und zum Wiederaufbau der typischen Strukturanordnung des Meristems führen (Taf. VI, 2—6).

Der zurückgebliebene Teil des ehemaligen Bildungszentrums spielt keine besondere Rolle im Aufbau der fehlenden Hälfte, auch initiiert er nicht das neue Bildungszentrum.

Das neue Bildungszentrum setzt sich nicht, wie Clowes vermutete, aus zwei Teilen zusammen— aus dem alten und dem neuen. Es wird immer als Ganzes aufgebaut oberhalb des ehemaligen, in der Körpermasse der Wurzel.

Der Wiederaufbau des neuen Bildungszentrums besitzt in der Längsregeneration denselben Charakter wie in der Querregeneration.

Die Wurzel von *Hordeum vulgare*, die durch Dekapitierung ihres Wurzelmeristems beraubt wurde, regeneriert also ein neues „Ersatzwurzelmeristem“. Der Bau des regenerierten Meristems sowie der Zellenbau der ganzen Wurzelspitze, in Übereinstimmung mit Prantl und Simon, ist identisch mit dem Bau der Kontrollwurzelspitze. Zum völligen Aufbau der Wurzelspitzenstruktur ist jedoch mehr Zeit nötig als man bisher meinte. Für dekapitierte Wurzeln von *Hordeum vulgare* beträgt sie ungefähr acht Tage. Bei der Wurzel *Brassica oleifera* war der Aufbau der früheren Struktur des Wurzelmeristems sogar nach acht Tagen Kultur noch nicht vollständig.

Regenerationsfähigkeit zeigt der ganze apikale Teil der Wurzel bis zur Grenze der Streckungszone. In kritischen Entfernungen kann man nur eine Welle intensiver Teilungen und einen Übergang zur Phase der Differentionsprozesse beobachten. Im ganzen regenerationsfähigen Bereich scheint der Regenerationsprozess nach einem einheitlichen Typus abzu-
laufen.

Der Regenerationsprozess beginnt mit den ersten Momenten der Verwundung und verläuft gleichmässig, ununterbrochen. Diesen Prozess begleiten entsprechende, sichtbare Veränderungen in der Zellenstruktur. Jede einzelne Entwicklungsetappe des Regenerats findet ihren Abdruck in der entsprechenden Zellenanordnung oder in entsprechenden zytologischen Einzelheiten. Veränderungen in der Zellenanordnung fangen zeitig an letzteren voraus. Es gibt im Anfangsstadium der Regeneration keine längere Pause in den Veränderungen der Zellenstruktur und darauffolgende gewaltsame Veränderungen, welche zur Regeneration der neuen Wurzelspitze führen, wie Simon meinte.

Im Regenerationsprozess dekapitierter Wurzeln von *Hordeum* kann man drei quantitativ verschiedene Phasen unterscheiden:

1) Die Phase der „Nothilfe“ — dieser Prozess beruht auf möglich frühzeitiger Isolierung des aufgedeckten Körpers von der Umgebung durch Ausbildung einer provisorischen Membran und auf der Zurückversetzung des gestörten Gleichgewichtes in den physikalischen Verhältnissen in den früheren Stand. Diese Prozesse enden ungefähr 16 Stunden nach der Operation.

2) Die Phase der Einleitungs- oder Umbildungsprozesse. Das Wesentliche dieser Prozesse ist die Umbildung der noch verbliebenen spezialisierten Primärgewebe. Als Anzeichen der Umbildung konnte man die Veränderungen in der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzel, das Auftreten zufälliger Teilungen und den Anfang der Absonderung von provisorischen Primärzonen bezeichnen. Diese Prozesse enden 30 Stunden nach der Operation.

3) Phase der Differentiationsprozesse — diese beruht auf grundsätzlicher Strukturreorganisation, auf der Entstehung neuer histogenetischer Zonen und eines neuen Bildungszentrums des Meristems, sowie auf dem Wiederaufbau der für die Art charakteristischen Strukturanordnung der Wurzelspitze. In dieser letzten Phase kann man mit Leichtigkeit zwei Stadien unterscheiden:

a) Stadium in dem sich die grundsätzlichen Reorganisationsprozesse des Wiederaufbaus zunächst der provisorischen und nachher der eigentlichen histogenetischen Ersatzzonen, und mit diesen Prozessen gekoppelt die Ausbildung des meristematischen Feldes und des neuen Bildungszentrums abspielen. Diese Veränderungen sind nach 70 Stunden beendet.

b) Die Endphase — die auf schrittweiser Befestigung des Gleichgewichts in der Tätigkeit und in der Bildungsanordnung des Meristems beruht. Die Stabilisation dauert lange. Erst ungefähr nach zehn Tagen kommt es zur völligen Wiederherstellung der ehemaligen Strukturanordnung.

Die durch mich angeführten Phasen stimmen völlig mit den Phasen der typischen Regeneration bei den Tieren überein (D e m b o w s k i 1954) und nicht mit den Phasen die S i m o n darstellte.

Der Regenerationsprozess der Strukturanordnung hat gänzheitlichen Charakter d. h. die einzelnen Gebilde in der Strukturanordnung jeder Regenerationsetappe sondern sich auf dem ganzen regenerierenden Gebiet gleichzeitig, im Ganzen ab, ohne irgendeinen sichtbaren Zusammenhang mit den unbeschädigten Teilen der Wurzel.

Im Regenerationsprozess der einzelnen histogenetischen Zonen fällt die deutlich sichtbare Reihenfolge desselben, die an die normale Ontogenese anknüpft, auf.

Die Dauer der einzelnen Phasen sowie die Dauer des ganzen Regenerationsprozesses bedarf noch genauerer Untersuchungen. Es scheint jedoch, dass sie von der Art und von der Entfernung des Schnittes von der Wurzelhaubengrenze unabhängig ist.

Dem Herrn Profesor Dr. H e n r y k T e l e z y ń s k i spreche ich innig herzlichen Dank für die wertvollen Ratschläge und Hilfe bei dieser Arbeit aus.

LITERATURA

- Brumfield d. R. T., 1943, Cell-lineage studies in root meristems by means of chromosome rearrangements induced by X-rays, Amer. J. Bot. 30. p. 101.
- Cloves T. A. L., 1950, Root apical meristems of *Fagus silvatica*, New Phytol. 49. p. 248.
- Cloves T. A. L., 1954, The promeristem and the minimal constructional centre in grass root apices, New Phytol. 53. p. 108.
- Ciesielski T., 1872, Untersuchungen über Abwärtskrümmung der Wurzel, Beitr. zur Biol. d. Pflanz. 1 (2).
- Dembowski J., 1954, Zagadnienie regeneracji w świecie zwierzęcym w aspekcie porównawczym. Zagadnienia regeneracji, Mat. Ses. Probl. Wydz. II PAN. Warszawa.
- Gautheret R., 1935, Recherches sur la culture des tissus végétaux, Paris.
- Guttenberg H., 1947, Studien über die Entwicklung des Wurzelvegetationspunktes der Dicotyledonen, Planta 35. p. 360.
- Guttenberg H., Heydel H. R. u. Pankow, 1954a, Embriologische Studien an Monokotyledonen I. Flora 141, p. 298.
- Guttenberg H., Heydel H. R. u. Pankow 1954b, Embriologische Studien an Monokotyledonen II, Flora 144, p. 476.
- Guttenberg H., Burgermeister J., u. Brossel H. J., 1955, Studien über die Entwicklung des Wurzelvegetationspunktes der Dicotyledonen II. Planta 46, p. 179.
- Krenke N. P., 1950, Regeneracija Rastenij, Moskwa-Leningrad.
- Lopriore G., 1896, Über die Regeneration gespaltener Wurzeln, Nova Acta d. Leopoldin. Academ. 66. p. 211.
- Nemec B., 1905, Über Regenerationserscheinungen an angeschnittenen Wurzelspitzen. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesel. 23. p. 113.
- Prantl K., 1874, Untersuchungen über die Regeneration des Vegetationspunktes an Angiospermenwurzeln. Arbeit. d. Bot. Inst. in Würzburg. 1. p. 546.
- Sachs 1874, Wachstum der Haupt- und Nebenwurzeln. Arbeit. d. Bot. Inst. in Würzburg, 1 p. 434.
- Simon S., 1904, Untersuchungen über die Regeneration der Wurzelspitze, Jahrb. f. Wiss. Bot. 40. p. 103.