

METOD KULTURE U SUZNOM SOKU

U botaničkom laboratoriju Poljoprivredno-šumarskog fakulteta u Sarajevu vršeno je gajenje jedne više autotrofne vrste u suznom soku druge vrste. Nije mi poznato da je ovakav metod kulture jedne biljke u stranom suznom soku već negde primenjivan. Ovakav metod samo je tehnički analogan metodu vodene kulture, a pruža, kako mi izgleda, šire mogućnosti primene u ispitivanju raznih fizioloških pojava.

Kao što je poznato, suzni sok izlučivan u proleće posle povrede biljke sadrži pored anorganskih i znatne količine organskih supstanca. Uzeto uopšte, suzni sok je uglavnom voda, koja u proleće sadrži različite šećere (glikozu, fruktozu, saharozu), organske kiseline (jabučnu, ćilibarsku, vinsku), belančevine i aminokiseline, zatim enzime (amilazu, katalazu, peroksidazu) i tragove mineralnih soli (Po_4 , K, Ma, Ca, Mg, Fe, Al, So_4 , Cl, NO_2 , NO_3 , SiO_3); sve je to očividno materijal za izgradnju novih listova. Suzni sok izlučivan u leto sadrži kod većine biljaka samo izvesne mineralne soli i sasvim neznatne tragove šećera, bez ikakvih enzima. Ova razlika u sastavu između proletnjeg i letnjeg soka stoji, sasvim verovatno, u vezi sa proletnjim mobilisanjem rezervnih materija, koje se sa suznim sokom penju do pupoljaka.

Kako suzni sok sadrži uvek šećere u raznim koncentracijama, razumljivo je da on pretstavlja podesnu podlogu za razne bakterije, kvasce i druge gljive (*Endomyces*, *Mucor*). Tako, između ostalih procesa, u suznom soku previre šećer u alkohol, kojim se opijaju razni insekti kad u proleće slete na rane drveća. Upravo mikroflora, čije je razvijanje u suznom soku vrlo teško sprečiti bez njegove bitne promene, i čini najveću teškoću u eksperimentalnoj primeni suznog soka. O prisustvu te mikroflоре mora se uvek voditi računa pri ogledima kulture viših zelenih biljaka u suznom soku.

U našem ogledu stavili smo odvojeno u proletnji suzni sok breze i vinove loze semenke graha da kličaju. Sve su semenke uspešno kličale. Posle odstranjenja kotiledona produženo je sa gajenjem svake biljčice napose u soku u kome je izvršeno njeno kličanje. Već posle nekoliko dana primećeno je zaostajanje svih biljčica gajenih u brezovom suznom soku, za razliku od onih gajenih u suznom soku vinove loze, koje su se razvijale uspešno. Uskoro su sve biljčice u suznom soku breze dosta naglo uginule. Biljke u suznom soku vinove loze održale su se, naprotiv, preko mesec dana, sve dok se kultura nije morala prekinuti zbog nesternosti i nestašice soka. Isto tako dugo održala se jedna biljka koja je kličala u suznom soku vinove loze, a docnije prenesena u 50% smesu jednog i drugog soka.

Rezultat ovog ogleda otkriva nesumnjivo izvesnu »otrovnost« brezovog suznog soka za mladu biljčicu graha, dok se suzni sok vinove loze

pokazao kao podesna podloga. Bližom analizom sokova i proučavanjem razlaganja materija njihovom mikroflorom saznao bi se svakako uzrok ovom različnom ponašanju. Između ostalih mogućih objašnjenja neuspaha kulture graha u brezovom soku ubedljivo bi bilo i objašnjenje antagonizmom iona. To bi značilo da brezov sok za klicu graha pretstavlja na ovaj ili onaj način fiziološki neuravnotežen rastvor usled nestašice ili nepovoljnog odnosa ovih ili onih iona u njemu. Uzgred budi rečeno da su Porthajm i Samec utvrdili štetan uticaj nepovoljnog odnosa kationa Ca i Mg na klicu graha metodom vodene kulture. — Tumačenje neuspjeha kulture graha u suznom soku breze i uspeha te kulture u suznom soku vinove loze manjom filogenetskom srodnošću između graha i breze, nego iznad graha i vinove loze, bilo bi sasvim hipotetično.

Međutim, ovom saopštenju nije cilj da objasni suprotan rezultat opisanog ogleada, nego da ukaže na kulturu u suznom soku kao na nov metod koji, verovatno, može da bude primenjen u fiziološkim ispitivanjima. Suzni sok u poređenju sa kojim god od rastvora upotrebljivanih u vodenim kulturama pretstavlja nesravnjeno složeniju podlogu, uz to podlogu biološkog porekla, čiji sastojci dolaze neposredno iz metabolizma. Razumljivo je da samim tim postavljanje ogleada sa kulturom u suznom soku i interpretacija rezultata tih ogleada ne može da polazi sa mehaničkih pozicija. Zbog svega toga smatram da bi metod kulture u suznom soku mogao s uspehom da bude primenjen prvenstveno u fiziološkom ispitivanju biljnog metabolizma: primanja, asimilacije i uloge raznih materija u biljnom organizmu, a napose u ispitivanju mogućnosti ishrane viših autotrofnih biljaka organskim materijama. Nadalje, metod kulture u suznom soku mogao bi se, verovatno, s uspehom primeniti i u određivanju filogenetskih odnosa. Pored toga, čini mi se, da bi ovaj metod modifikovan na odgovarajući način mogao, možda, da posluži i za vegetativnu hibridizaciju između srodnijih oblika. Pri tome bi sam suzni sok vršio ulogu koju vrši podloga prilikom kalemljenja, a za kalem bi se mogle uzeti proklijale semenke vrsta ili varieteta više ili manje srodnih sa podlogom. Time bi se u stvari upotrebili kalemi vrlo velike, gotovo maksimalne plastičnosti. Otstranjenjem kotiledona ili endosperma sa ovakvih kalem-klica obezbedio bi se potpun uticaj podloge preko njenog suznog soka. Samo se po sebi razume da bi eventualni uspeh vegetativne hibridizacije pomoću metoda kulture u suznom soku zavisio u prvom redu od izbora podesnih partnera. Mislim da bi ovaj metod proširio mogućnosti takvog izbora.

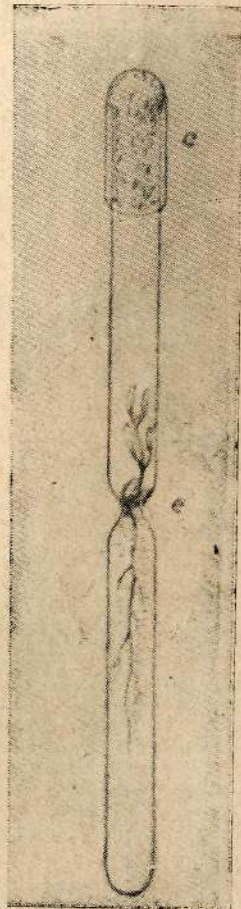
U svim ogledima metodom kulture u suznom soku bilo bi potrebno održavati suzni sok u sterilnom stanju bez njegove bitne promene, a za to konstrukcijom podesnih »fistula« omogućiti njegovo obnavljanje za celo vreme ogleada.

Za održavanje aseptičnog stanja kultura viših biljaka u organskim hranjivim podlogama primenjuje se ista tehnika kao u bakteriologiji. U autoklavu sterilise se staklarija i hranjiva podloga, a semenke se s potrebnom oprežnošću drže 1—2 minuta u 1% rastvoru sublimata, ili duže u rastvoru vodonikovog peroksida. Upotrebljavaju se različiti pribori. Ovde prikazujemo

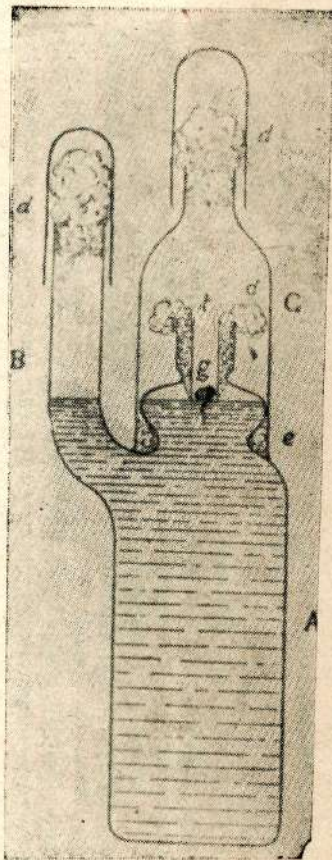
nekoliko takvih pribora, kako su opisani u Kursu botanike II od Boniea, di Sablona i Serigelija (O. Bonnier, L. du Sablon et R. Cerighelli, Cours de botanique II). Sl. 1 pokazuje Molijarov (M. Molliard) pribor. To je cev koja je u sredini sužena, da bi se tu stavila semenka za klijanje. Donji deo cevi ispunjen je hranjivom tečnošću, u kojoj se razvija koren, a gornji otvor cevi zapušen je tamponom vate. Sl. 2 pokazuje Kombov (R. Combes) pribor, koji omogućuje obnavljanje hranjivog rastvora kroz bočnu cev i razvitak biljke u slobodnoj atmosferi. Time je postignuta prednost kulture u prirodnim uslovima, gdje je vlažnost atmosfere manja i razmena gasova lakša nego u Molijarovom priboru. Sl. 3 pokazuje Mazeov (R. Mazé) pribor. Boca od 6 l, koja omogućuje razvitak biljaka veličine kukuruza, snabdevena je bočnom cev, kroz koju se može obnavljati hranjivi rastvor. Otvor boce i bočne cevi zapušeni su tamponom vate i obavijeni hartijom za filtriranje. Sl. 4 pokazuje pribor Ž. Lorana (J. Laurant), koji omogućuje pored sterilnosti i evidenciju apsorpcije organskih materija.

Sl. 1

Cev koja služi za aseptičnu kulturu viših biljaka (Po Molijaru). Cev je sužena od e, gde se stavlja semenka za razvitak u hranjivom rastvoru, koji ispunjava donji deo cevi. Gornji kraj zatvoren je tamponom vate i staklenom kapom e.



Sl. 2

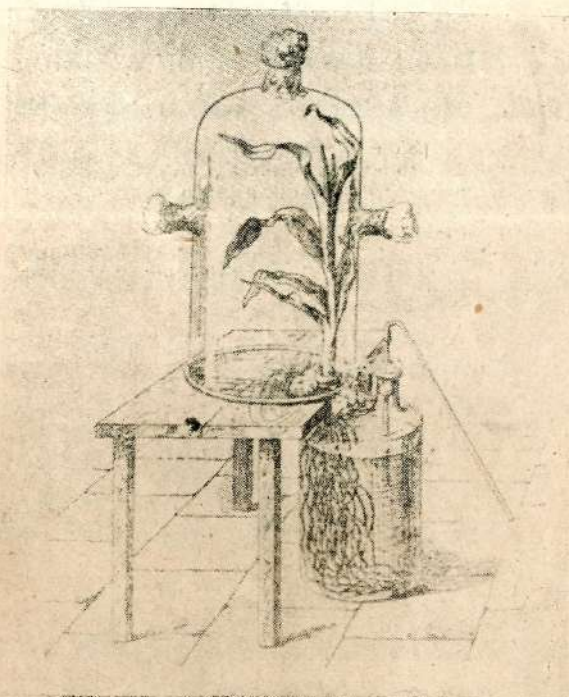


Pribor koji služi za esepitičnu kulturu biljaka, omogućujući razvitak izdanka u slobodnoj atmosferi (po R. Kombu). **A**, boca napunjena hranjivom tečnošću i snabdevena bočnom cev **B** za obnavljanje tečnosti. U grliću boce **A** nalazi se cevčica **t**, fiksirana u svom položaju vatom **d**. Ova cevčica leži svojim donjim krajem na gazi rastresitog tkiva, označenoj na slici tačkasto. Ova gaza je fiksirana za grlić boce vatom **d**. Grlić boce je pokriven malim staklenim zvonom **C**, učvršćenim na boci vatom, koja čvrsto ispunjava suženi deo **e**. Zvono **C** i bočna cev **B** zatvoreni su na svom slobodnom kraju tamponom vate **d**, pokrivenim staklenom kapom.

U početku izdanak se razvije u atmosferi zvona **C**. Kada izdanak naraste do izvesne mere, zvono se digno, zatim cevčica **t**; vata **d** se snažno zbije u izdanak, koji se tada može da razvija u slobodnoj atmosferi.



Sl. 3 — Mazeov pribor. Boca od 6 l napunjena je hranjivom tečnošću i snabdevena bočnom cev za obnavljanje tečnosti. Biljka je fiksirana u suženom delu boce jakim tamponom vate, koji se ne vidi na slici, jer je obavijen hartijom za filtriranje. Na isti način zatvorena je bočna cev.



Sl. 4

Loranov pribor za gajenje viših biljaka u sterilnoj podlozi i za evidenciju apsorpcije organskih materija. Koreni se razvijaju u hranjivoj tečnosti, koja je prethodno sterilizovana. Izdatak se razvija u atmosferi zvona koje ga pokriva. Zvono je takođe prethodno sterilizovano, što osigurava, zahvaljujući otvorima zapašenim tamponima vate, potpunu aseptičnost unutarne atmosfere. Pipetom ili pomoću bočne cevi uzima se s vremena na vreme nekoliko kapi hranjive tečnosti u cilju proveravanja njene sterilnosti i određivanja količine organskih materija koje je apsorbovala gajena biljka.

V. Gligić

DIE PFLANZENKULTUR IM BLUTUNGSSAFTE

(Zusammenfassung)

Die Kultur der Bohnenkeimlinge nach dem Entfernen ihrer Kotyledonen im Blutungssafte der Birke und der Weinrebe zeigte ein entgegengesetztes Ergebniss. Der Birkenstoff erwies sich als ungeeignete und der Blutungssafte der Weinrebe als geeignete Unterlage für die Ernährung der Bohnenpflanzen.

Autor betrachtet die Kultur einer höheren autotrophen Pflanze im fremden sterilen Blutungssafte überhaupt als eine neue und vielversprechende Methode für die pflanzenphysiologische Untersuchungen. Unter anderem könnte diese Methode vielleicht auch für das Erlangen der vegetativen Hybriden verwendet werden. Der Blutungssafte selbst möchte in einem solchen Experimente als die Unterlage und die gekeimten Samen der mit der Unterlage mehr oder weniger verwandten und geeigneten Arten oder Varietäten als Propfen wirken. Damit wären die Propfen von sehr grosser, beinahe maximaler Plastizität verwendet. Das Entfernen der Kotyledonen oder des Endosperms möchte die Wirkung des Blutungssaftes auf solche Propfkeimlinge verisichern.

LITERATURA

G. Bonnier, L. du Sablon et R. Cerighelli, Cours de botanique II.

Dietrich K., Über Kultur von Embryonen ausserhalb des Samens, Flora 1924, N. F. 16.

Esenbeck E. und Suessenguth K., Über die aseptische Kultur pflanzlicher Embryonen, zugleich ein Beitrag zum Nachweis der Enzymabscheidung, Arch. f. experim. Zellforschung, 1925, 1.

Kavina K., Fysiologie rostlin, 1947.

Portheim L. und Samec M., Über die Verbreitung der unentbehrlichen anorganischen Nährstoffe in den Keimlingen von *Phaseolus vulgaris*, Flora 1908, 99.
