

WPLYW AUKSYN, ETYLENU I ESTRU METYLOWEGO KWASU JASMONOWEGO NA FORMOWANIE CEBUL W KULTURACH PĘDÓW TULIPANA *in vitro*¹

Małgorzata Podwyszyńska

Zakład Fizjologii i Morfogenezy Roślin Ozdobnych,
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach

Wstęp

Wysoka zdolność do formowania cebul jest cechą, która warunkuje efektywność mikrorozmnażania danego genotypu tulipana. W znanych metodach cebule rozwijają się z pędów, które zregenerowały na eksplantacie inicjalnym – fragmencie pędu kwiatowego [RICE i in. 1983; LE NARD i in. 1987], łuskach [NISHIUCHI 1980] i zalążni [BACH, PIK 2005]. Uzyskano także formowanie się cebul bezpośrednio na fragmentach pędu kwiatowego. Proces taki miał miejsce, gdy w etapie inicjalnym stosowano ester metylowy kwasu jasmonowego (MeJA) [KUIPERS, LANGENS-GERRITS 1997]. W nowej metodzie, którą opracowano dla potrzeb hodowli twórczej i zachowawczej, cebule tworzą się w kulturach pędów rozmnażanych cyklicznie [PODWYSZYŃSKA, MARASEK 2003]. Niezależnie od metody, kluczowymi czynnikami indukującymi rozwój cebul tulipana *in vitro* jest podniesienie poziomu sacharozy w pożywce do 6–7%, około 3-miesięczne traktowanie pędów niską temperaturą 5°C i zaprzestanie stosowania cytokiny. We wcześniejszych badaniach wykazano, że odmiany bardzo różniły się zdolnością do tworzenia cebul [PODWYSZYŃSKA 2001, 2005]. Spośród wszystkich badanych genotypów zdolność ta u 'Blue Parrot' była najniższa i początkowo wynosiła 10–40%. Następnie poprzez zastosowanie szeregu zabiegów, takich jak wydłużenie okresu traktowania niską temperaturą z 12 do 14 tygodni, wzbogacenie pożywki do formowania cebul w węgiel aktywny, traktowanie retardantami wzrostu i auksyną przed chłodzeniem, zwiększono efektywność formowania cebul do 100% [PODWYSZYŃSKA, ROSS 2003]. Jednak uzyskane cebule w większości były pozbawione tuniki lub okryte nią tylko częściowo, a łuski cebul nieforemne i otwarte. Takie cebule były narażone na wysychanie i nie nadawały się do uprawy *ex vitro*. Ponadto przeprowadzone ostatnio badania wykazały, że poziom endogennego kwasu indolilo-3-octowego (IAA) w pędach tulipana *in vitro* jest bardzo niski we wszystkich fazach mikrorozmnażania, przy czym u 'Blue Parrot' niższy niż u 'Prominence' –

¹ Badania dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji, Projekt Nr PBZ-MIN-007/P04/2003.

odmiany o wysokiej zdolności tworzenia cebul (Podwyszyńska i in., dane niepublikowane). Tymczasem uważa się, że proces formowania cebul *in vitro* stymulowany jest między innymi przez auksyny, głównie kwas α -naftalenoctowy (NAA) [NIIMI, ONOZAWA 1979; VAN AARTRIJK, BLOM-BARNHOORN 1981]. Do czynników odgrywających rolę w tym procesie zalicza się także etylen [TAEB, ALDERSON 1990; KELLER 1993] oraz kwas jasmonowy (JA) i jego pochodne, w tym MeJA [SANNIEWSKI, PUCHALSKI 1987; RAVNIKAR i in. 1993; KODA 1997; SANTOS, SALEMA 2000]. W związku z powyższymi informacjami przeprowadzono badania, w których pędy przeznaczone do chłodzenia umieszczano na pożywkach z dodatkiem NAA 2, 4 i 6 mg·dm⁻³ (Podwyszyńska i in., dane niepublikowane). Pędy traktowano też MeJA (25, 50 i 100 μ l·dm⁻³) po 3 tygodniach od zakończenia chłodzenia [PODWYSZYŃSKA, ROSS 2003]. Jednak zabiegi te nie wpłynęły istotnie na poprawę efektywności formowania cebul czy ich jakości.

Celem obecnie prowadzonych badań jest zwiększenie efektywności formowania i jakości cebul w kulturach pędów *in vitro* poprzez traktowanie auksyną, etylenem i MeJA w innych, niż dotychczas badano, fazach powstawania cebul, a mianowicie w ostatnim etapie ich formowania – w fazie nabrzmiewania podstaw pędów, czyli po 4–8 tygodniach po zakończeniu chłodzenia.

Material i metody

Do badań użyto kultury pędów tulipana 'Blue Parrot' odmiany, która w kulturach *in vitro* formuje cebule niskiej jakości. Jest to odmiana z grupy tulipanów papuzich. W warunkach naturalnych charakteryzuje się wysokim współczynnikiem rozmnażania, wykazując jednocześnie tendencję do drobnienia cebul.

Badano wpływ prekursora etylenu, kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboxylowego (ACC), kwasu 2-chloroetylofosfonowego (CEPA, Ethrel 480 SL, Rhone-Poulenc Agrochemie, France) – jako źródła etylenu, kwasu indolilo-3-octowego (IAA) i estru metylowego kwasu jasmonowego (MeJA) na formowanie cebul *in vitro*.

W doświadczeniach wykorzystano pędy mnożone na standardowej pożywce zawierającej tidiazuron (TDZ) [PODWYSZYŃSKA, MARASEK 2003]. Pędy przygotowywano do etapu tworzenia cebul wg wcześniej opracowanej procedury [PODWYSZYŃSKA 2005]. Tak więc ostatni cykl namnożeniowy wydłużano do 14 tyg. dodając w 8 tyg. pożywkę płynną bez regulatorów wzrostu. Następnie kępki pędów dzielono na mniejsze i umieszczano je (po 20 pędów) w słoikach o pojemności 330 ml, zawierających po 60 ml pożywki do formowania cebul. Kultury pędów chłodzono przez 14 tyg. w 5°C w celu indukowania procesu tuberyzacji. Po chłodzeniu pędy formowały cebule w 16-godz. fotoperiodzie w temperaturze 23°C przez 16 tygodni.

Celem pierwszego etapu badań było ustalenie zakresu stężeń ACC i CEPA oraz terminu ich stosowania. Związki te dodawano do kultur pędów w postaci roztworów wodnych (1,5–6 ml) jednorazowo po 4 tygodniach lub dwukrotnie po 4 i 8 tygodniach od zakończenia chłodzenia. Stężenie badanych związków w pożywce agarowej wynosiło 1, 10 lub 100 mg·dm⁻³ dla ACC oraz 1 i 10 mg·dm⁻³ dla CEPA.

W dalszych badaniach IAA (2,5; 5 i 10 mgv), CEPA (5, 10 i 20 mg·dm⁻³) oraz MeJA (25 i 50 μ l·dm⁻³) dodawano do kultur pędów oddzielnie lub łącznie

(IAA 5 mg·dm⁻³ z CEPA 5 mg·dm⁻³ i/lub MeJA 25 μl·dm⁻³ oraz CEPA 5 mg·dm⁻³ z MeJA 25 μl·dm⁻³). Dodawano je w postaci roztworów wodnych jw. po 8 tyg. od zakończenia chłodzenia. W jednym z traktowań CEPA (5 mg·dm⁻³) stosowano dwukrotnie po 4 i 8 tygodniach. Kontrolę stanowiły pędy nietraktowane po chłodzeniu żadnym z ww. związków.

W każdej kombinacji było po 4–5 powtórzeń, z których każde stanowił słoik z 20 pędami. Obserwacje wykonywano po 16 tyg. od zakończenia chłodzenia. Dotyczyły one całkowitej liczby cebul i liczby cebul prawidłowo uformowanych, uzyskanych z jednego słoika oraz średniej masy cebuli prawidłowo uformowanej. Cebule prawidłowo uformowane to takie, które nadawały się do ukorzenia *ex vitro* (okryte przynajmniej częściowo tuniką, o zwartej łusce). Przy interpretacji wyników posługiwano się terminem „efektywność formowania cebul”, który oznacza procent cebul prawidłowo uformowanych w stosunku do liczby formujących je pędów. Wyniki poddawano analizie wariancji. Przy danych dotyczących liczby cebul stosowano transformację pierwiastkową $y = \sqrt{x} + \sqrt{x + 1}$. Średnie porównywano za pomocą testu Duncana.

Wyniki i dyskusja

Wykazano, że ACC i CEPA użyte jednokrotnie (po 4 tygodniach od zakończenia chłodzenia) w niższych stężeniach nie wpływały istotnie na liczbę i masę cebul (tab. 1). Natomiast, gdy stosowano je w najwyższym stężeniu uzyskano najmniej cebul, w tym także prawidłowo uformowanych. W części doświadczenia, w którym ACC i CEPA stosowano w stężeniu 1 mg·dm⁻³ raz lub dwukrotnie wykazano, że dwukrotne traktowanie (w 4 i 8 tyg. po chłodzeniu) istotnie zwiększyło, w odniesieniu do kontroli, liczbę uzyskanych cebul, w tym prawidłowo uformowanych (rys. 1). Przy dwukrotnym traktowaniu CEPA zwiększono efektywność formowania cebul z 7,5% (kontrola) do 42,5%.

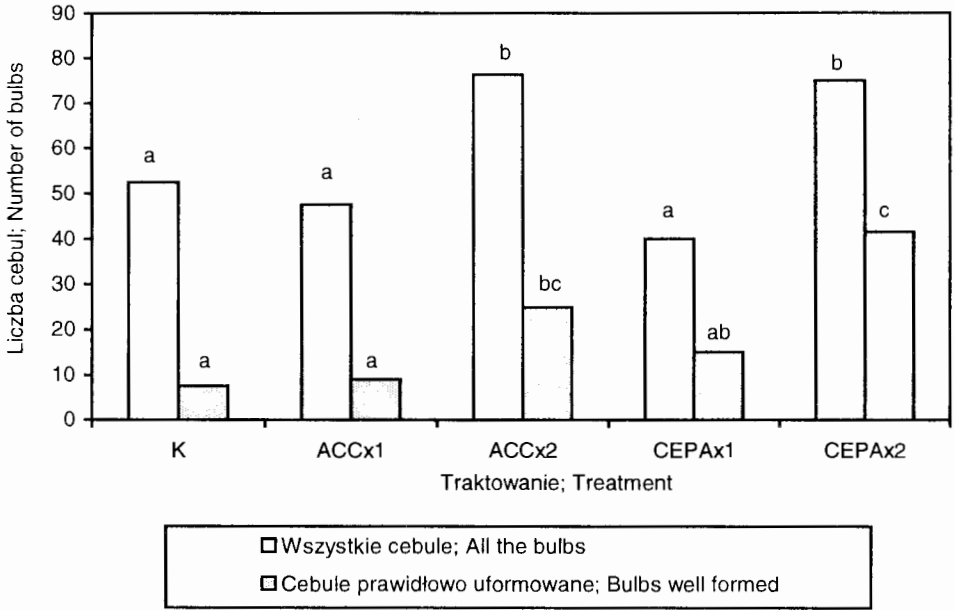
Tabela 1; Table 1

Wpływ ACC i CEPA dodanych do pożywki po 4 tygodniach od zakończenia chłodzenia pędów na formowanie cebul tulipana 'Blue Parrot' *in vitro*

Effect of ACC and CEPA added to the bulbing medium 4 weeks after cooling of shoots on bulb formation of tulip 'Blue Parrot' *in vitro*

Związek Chemical (mg·dm ⁻³)	Całkowita liczba cebul/100 pędów; Total number of bulbs/100 shoots	Liczba cebul prawidłowo uformowanych/100 pędów No. of well formed bulbs/100 shoots	Średnia masa cebuli Mean bulb weight (mg)
Kontrola; Control	81,0 bc	55,0 b	255,5 ab
ACC 1	85,0 c	56,0 b	222,8 a
ACC 10	72,5 abc	43,5 ab	226,8 a
ACC 100	63,5 ab	35,0 a	205,5 a
CEPA 1	87,0 c	43,0 ab	201,0 a
CEPA 10	61,0 a	39,0 a	316,0 b
F emp	3,48*	3,31*	3,26*

Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie istotności $\alpha = 0,05$; Means marked with the same letter do not differ significantly at the significance level of $\alpha = 0,05$



Średnie dotyczące te samej klasy cebul oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie istotności $\alpha = 0,05$; Means concerning the same bulb class marked with the same letter do not differ significantly at the significance level of $\alpha = 0.05$

$F_{emp} = 9,48^{**}$ dla całkowitej liczby cebul; for the total number of bulbs

$F_{emp} = 13,69^{**}$ dla liczby cebul prawidłowo uformowanych; for the total number of bulbs well formed

Rys. 1. Wpływ ACC i CEPA w stężeniu $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ dodanych do pożywki po zakończeniu chłodzenia pędów, jednokrotnie – po 4 tyg. (ACCx1 i CEPAx1) oraz dwukrotnie, po 4 i 8 tyg. (ACCx2 i CEPAx2) na liczbę cebul tulipana 'Blue Parrot' *in vitro* wytworzona przez 100 pędów

Fig. 1. Effect of ACC and CEPA at the concentration of $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ added to the bulbing medium (after cooling of shoots): once, after 4 weeks (ACCx1 and CEPAx1) and twice, after 4 and 8 weeks (ACCx2 and CEPAx2), on the number of bulbs formed by 100 shoots of tulip 'Blue Parrot' *in vitro*

W kolejnych badaniach wykazano, że CEPA użyty po 8 tygodniach od zakończenia chłodzenia w stężeniach $5\text{--}20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ nie wpływał istotnie na liczbę i masę cebul (tab. 2). Natomiast IAA oraz MeJA stymulowały formowanie cebul (tab. 2). W kulturach pędów traktowanych IAA (5 i $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) notowano nawet większą liczbę cebul od liczby tworzących je pędów. Przy stężeniu $2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ 49% pędów wytworzyło prawidłowo uformowane cebule, podczas gdy w kontroli tylko 20%. Najwięcej cebul przydatnych do ukorzeniania uzyskano pod wpływem MeJA w stężeniu 25 i $50 \mu\text{l} \cdot \text{dm}^{-3}$, odpowiednio 55,5% i 61,0%. Stosowanie MeJA łącznie z IAA i/lub CEPA dały słabszy efekt niż zastosowanie jedynie MeJA – liczba prawidłowo uformowanych cebul wynosiła 8,5–10,8 na 20 formujących je pędów. Z kolei w kombinacjach IAA z CEPA i dwukrotnym użyciu CEPA liczba cebul prawidłowo uformowanych (4,3–5,5) była porównywalna z kontrolą (5 cebul prawidłowo uformowanych).

Tabela 2; Table 2

Wpływ regulatorów wzrostu dodawanych do pożywki po 8 tyg. od zakończenia chłodzenia pędów na formowanie cebul tulipana 'Blue Parrot' *in vitro*

Effect of growth regulators added to the bulbing medium after 8 weeks since the end of cooling shoots on bulb formation of tulip 'Blue Parrot' *in vitro*

Regulatory wzrostu, stężenie; Growth regulators (mg·dm ⁻³) (MeJA w; per μl·dm ⁻³)	Całkowita liczba cebul/100 pędów; Total number of bulbs/100 shoots	Liczba cebul prawidłowo uformowanych/100 pędów Number of bulbs well formed/100 shoots	Średnia masa cebuli Mean bulb weight (mg)	
Kontrola; Control	60,5 a	25,0 ab	191,3 a	
IAA	2,5	101,0 ab	187,0 a	
	5	119,5 b	170,0 a	
	10	99,5 ab	176,0 a	
	5	67,5 a	29,5 abc	255,8 a
CEPA	10	83,5 ab	33,5 abc	147,0 a
	20	87,5 a	23,0 a	123,3 a
	25	87,5 ab	55,5 de	163,3 a
MeJA	50	94,5 ab	61,0 e	194,8 a
	F cmp	2,03*	4,68**	1,69 r.n.

Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie istotności $\alpha = 0,05$; Means marked with the same letter do not differ significantly at the significance level of $\alpha = 0,05$

* istotna różnica pomiędzy średnimi na poziomie istotności $\alpha = 0,05$; significant difference between the means at the significance level $\alpha = 0,05$

** istotna różnica pomiędzy średnimi na poziomie istotności $\alpha = 0,01$; significant difference between the means at the significance level $\alpha = 0,01$

r.n. różnice nieistotne; differences not significant

Cebule w zależności od traktowania znacznie się różniły jakością. Najwyższą charakteryzowały się cebule wytworzone pod wpływem samego MeJA. Były całkowicie pokryte tuniką, ich szyjki były wąskie, a łuska całkowicie zamknięta (fot. 1). Natomiast cebule formujące się w obecności IAA lub CEPA, nawet te, które uznano za prawidłowo uformowane, były lekko wydłużone, częściowo pokryte tuniką, z łuską lekko rozchylną (szersza szyjka niż u traktowanych MeJA). Takie cebule obserwowano niezależnie od tego czy IAA lub CEPA stosowano oddzielnie, czy w kombinacjach z pozostałymi związkami. Pod wpływem IAA lub CEPA cebule były gorszej jakości niż w kontroli. Wyniki wskazują, że etylen raczej nie odgrywa kluczowej roli w formowaniu cebul u tulipana, a egzogenna auksyna jest najbardziej potrzebna w etapie poprzedzającym rozwój cebul w czasie, gdy pędy przed chłodzeniem wchodzą w spoczynek [PODWYSZYŃSKA 2005].

Podobne wyniki do uzyskanych w niniejszej pracy notowano w badaniach dotyczących kultur pędów *Narcissus triandrus* L., gdzie stosowano JA i NAA [SANTOS, SALEMA 2000]. Najliczniejsze i najlepiej uformowane cebule uzyskano w obecności samego JA. Natomiast w obecności NAA cebule były wydłużone i było ich znacznie mniej. Z kolei w kulturach pędowych *Allium sativum* L. największą liczbę cebul uzyskano na pożywce zawierającej łącznie 10 μmol JA·dm⁻³ i 0,1 mg NAA·dm⁻³ [KIM i in. 2003]. W celu poznania mechanizmu działania jasmonianów prowadzono badania anatomiczne formujących się organów spichrzowych w pędach poddanych działaniu tych związków. U *Gloriosa rothschildiana* O'BRIEN MeJA powodował wzrost liczby i średnicy naczyń w tworzącej się tkance przewodzącej [WERYSZKO-CHMIELEWSKA, KOZAK 2002]. U ziemniaka związek ten



Fot. 1. Formowanie cebul w kulturach pędów *in vitro* tulipana 'Blue Parrot' po 16 tygodniach od zakończenia chłodzenia, w zależności od traktowania: a) kontrola, b) 5 mg·dm⁻³ IAA, c) 5 mg·dm⁻³ CEPA, d) 5 mg·dm⁻³ MeJA

Photo 2. Bulb formation in the *in vitro* shoot cultures of tulip 'Blue Parrot' in 16th week after cooling, depending on the treatment: a) control, b) 5 mg·dm⁻³ IAA, c) 5 mg·dm⁻³ CEPA, d) 5 mg·dm⁻³ MeJA

stymulował formowanie się bulw na wierzchołkach stolonów poprzez silne oddziaływanie na rozwój merystemu: zwiększał rozmiary komórek merystematycznych, powodował zmniejszenie długości zawiązków liści i wcześniejsze tworzenie tkanki przewodzącej [CENZANO i in. 2003]. Działanie jasmonianów w formowaniu organów spichrzowych ziemniaka, *Dioscorea batatas* DECNE., *Helianthus tuberosus* L., *Allium sativum* L. i *Allium cepa* L. zostało szeroko omówione przez KOŃA [1997]. Autor wykazał, że JA i MeJA indukują powstawanie ww. organów poprzez rozrywanie mikrotubuli w cytoplaźmie. Powoduje to reorientację wzrostu komórek. Szybko powiększają one swoje rozmiary, a kierunek ich wzrostu zmienia się na prostopadły do osi pędu. Ponadto NOJRI i in. [1992], analizując poziom endogennych JA i MeJA u *Allium cepa*, wykazali, że związki te pojawiają się w tkankach dopiero w fazie nabrzmiewania pochwy liściowej formującej cebule. Ma to miejsce w 4. tygodniu od zastosowania długiego dnia, który u tego gatunku indukuje tworzenie cebul.

Z powyższych danych wynika, że u tulipana, podobnie jak u innych ww. gatunków, jasmoniany odgrywają istotną rolę w formowaniu cebul. Wydaje się, że

termin traktowania egzogennym MeJA, podobnie jak auksyną, w przypadku tulipana musi być ustalony eksperymentalnie. Zastosowanie MeJA w stężeniu 25–50 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ w 3. tygodniu po zakończeniu chłodzenia nie miało wpływu na proces formowania cebul [PODWYSZYŃSKA, ROSS 2003]. Natomiast, jak wykazały niniejsze badania, użycie MeJA w 8. tygodniu, w fazie grubienia podstawy liścia, wyraźnie stymulowało tworzenie cebul.

Wyniki niniejszej pracy posłużą do optymalizacji mikrorozmnażania kilku polskich klonów hodowlanych, charakteryzujących się niskimi zdolnościami do formowania cebul.

Literatura

- BACH A., PTAK A. 2005. *Induction and growth of tulip 'Apeldoorn' bulblets from embryo cultures in liquid media*, w: *Liquid systems for in vitro plant propagation*. Hvoslef-Eide A.K., Preil W. (red.). Springer, The Netherlands: 359–364.
- CENZANO A., VIGLIOCCO A., KRAUS T., ABDALA G. 2003. *Exogenously applied jasmonic acid induces changes in apical meristem morphology of potato stolons*. *Ann. Bot.* 19: 915–919.
- KELLER E.R.J. 1993. *Sucrose, cytokinin, and ethylene influence formation of in vitro bulblets in onion and leek*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 40: 113–120.
- KIM E.K., HAHN E.J., MURTHY H.N., PEAK K.Y. 2003. *High frequency of shoot multiplication and bulblet formation of garlic in liquid cultures*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 73: 231–236.
- KODA Y. 1997. *Possible involvement of jasmonates in various morphogenic events*. *Physiol. Plant.* 100: 639–646.
- KUIJPERS A.M., LANGENS-GERRITS M. 1997. *Propagation of tulip in vitro*. *Acta Hort.* 430: 321–324.
- LE NARD M., DUCOMMUN C., WEBER G., DORION N., BIGOT C. 1987. *Observations sur la multiplication in vitro de la tulipe (Tulipa gesneriana L.) à partir de hampes florales prélevées chez des bulbes en cours de conservation*. *Agronomie* 7: 321–329.
- NIIMI Y., ONOZAWA T. 1979. *In vitro bulblet formation from leaf segments of lilies especially Lilium rubellum Baker*. *Scientia Hort.* 11: 379–389.
- NISHIUCHI Y. 1980. *Studies on vegetative propagation of tulip. 4. Regeneration of bulblets in bulb scale segments cultured in vitro*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 49: 235–239.
- NOJIRI H., YAMANE H., SETO H., YAMAGUCHI I., MUROFUSHI N., YOSHIHARA T., SHIBAOKA H. 1992. *Qualitative and quantitative analysis of endogenous jasmonic acid in bulbing and non-bulbing onion plants*. *Plant Cell Physiol.* 33: 1225–1231.
- PODWYSZYŃSKA M. 2001. *Effect of carbohydrates on shoot multiplication and bulb formation of tulip in vitro*. *Roczn. AR w Poznaniu, Ogródnictwo* 33: 119–126.
- PODWYSZYŃSKA M. 2005. *Improvement of bulb formation in micropropagated tulips by treatment with NAA and paclobutrazol or ancymidol*. *Acta Hort.* (w druku).
- PODWYSZYŃSKA M., MARASEK A. 2003. *Effect of thidiazuron and paclobutrazol on regeneration potential of tulip flower stalk explants in vitro and subsequent shoot multiplication*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 72: 181–190.

- PODWYSZYŃSKA M., ROSS H. 2003. *Formation of tulips bulbs in vitro*. Acta Hort. 616: 413–417.
- RAVNIKAR M., ŽEL J., PLAPER I., ŠPACAPAN A. 1993. *Jasmonic acid stimulates shoot and bulb formation of garlic in vitro*. J. Plant Growth Regul. 12: 73–77.
- RICE R.D., ALDERSON P.G., WRIGHT N.A. 1983. *Induction of bulbing of tulip shoots in vitro*. Scientia Hort. 20: 377–390.
- SANIEWSKI M., PUCHALSKI J. 1987. *The effect of methyl jasmonate and abscisic acid on differentiation of benzyladenine-induced bulblets in Muscari bulbs*. Biol. Plant. 29: 63–65.
- SANTOS I., SALEMA R. 2000. *Promotion by jasmonic acid of bulb formation in shoot cultures of Narcissus triandrus L.* Plant Growth Regul. 30: 133–138.
- TAEB A.G., ALDERSON P.G. 1990. *Shoot production and bulbing of tulip in vitro related to ethylene*. J. Hort. Sci. 65: 199–204.
- VAN AARTRIJK J., BLOM-BARNHOORN G.J. 1981. *Growth regulator requirements for adventitious regeneration from Lilium bulb-scale tissue in vitro, in relation to duration of bulb storage and cultivar*. Scientia Hort. 14: 193–197.
- WERYSZKO-CHMIELEWSKA E., KOZAK D. 2002. *Anatomical changes in Gloriosa rothschildiana O'Brien stems induced by JA-Me and ABA*. Acta Hort. 570: 430–570.

Słowa kluczowe: *Tulipa gesneriana* L., mikrorozmnażanie, formowanie cebul, IAA, ACC, CEPA, MeJA

Streszczenie

Metodę mikrorozmnażania tulipana opracowano dla potrzeb hodowli tworzącej i zachowawczej. Celem prezentowanych badań było zwiększenie efektywności formowania i jakości cebul w kulturach pędów *in vitro*. W badaniach wykorzystano pędy odmiany 'Blue Parrot', która w warunkach *in vitro* formuje cebule niskiej jakości. Badano wpływ kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksyowego (ACC), kwasu 2-chloroetylo-fosfonowego, CEPA), kwasu indolilo-3-octowego (IAA) oraz estru metylowego kwasu jasmonowego (MeJA) na liczbę i masę uzyskanych cebul *in vitro* oraz efektywność formowania cebul (procent pędów formujących cebule wysokiej jakości nadających się do ukorzeniania). Związki te dodawano oddzielnie lub łącznie do kultur pędów rosnących na zestalonych pożywkach agarowych po 4 (CEPA) lub 8 tygodniach (wszystkie związki) od zakończenia 14-tygodniowego chłodzenia (niska temperatura indukuje proces tuberyzacji). Wykazano, że IAA oraz MeJA istotnie stymulowały formowanie cebul. W kontroli efektywność procesu formowania cebul wynosiła 20%. W kulturach pędów traktowanych IAA notowano nawet większą liczbę wszystkich cebul od liczby tworzących je pędów, jednakże tylko 49% pędów wytworzyło cebule wysokiej jakości (przy stężeniu IAA 2,5 mg·dm⁻³). Najwięcej takich wartościowych cebul wytworzyły pędy traktowane samym MeJA w stężeniu 25 i 50 μl·dm⁻³, odpowiednio 55,5% i 61,0%. Spośród traktowań ACC i CEPA, dwukrotnie zastosowanie CEPA w stężeniu 1 mg·dm⁻³ poprawiło efektywność formowania cebul z 7,5% (kontrola) do 42,5%. Cebule najwyższej jakości (okryte tuniką i z wąską szyjką) notowano w obecności samego MeJA.

EFFECT OF ETHYLENE, AUXIN AND METHYL JASMONATE ON BULB FORMATION *in vitro* IN TULIP SHOOT CULTURES

Małgorzata Podwyszyńska

Department of Physiology and Morphology of Ornamental Plants,
Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice

Key words: *Tulipa gesneriana*, micropropagation, bulb formation, ACC, CEPA, IAA, MeJA

Summary

The tulip micropropagation method was developed for breeding purposes. The aim of the presented study was to improve the efficiency of bulb formation *in vitro*. High ability for bulb formation is essential for successful micropropagation of the given genotype. *In vitro* shoot cultures of the cultivar difficult-to-form bulb 'Blue Parrot' were used for the experiment. The effect of 1-aminocyclo-1-carboxylic acid (ACC), 2-chloroethylphosphonic acid (CEPA), 3-indoleacetic acid (IAA) and methyl jasmonate (MeJA) on bulb formation was studied. These chemicals were added separately or in combinations to the shoot cultures in the 4th (CEPA) or 8th week (all of the growth regulators) after cooling (low temperature treatment induces bulb formation). The results showed that IAA and MeJA significantly stimulated bulb formation. In control, 20.0% bulbing efficiency (percent of the well formed bulbs in relation to the number of shoots designed for bulbing) was noted. In cultures treated with IAA at 5 or 10 mg·dm⁻³, the total number of bulbs was even higher than the number of shoots designed for bulbing but the bulbing efficiency was 49.0% whereas in the treatments of MeJA at 25 and 50 μl·dm⁻³, such efficiency was 55.5% and 61.0%, respectively. CEPA applied twice at the concentration of 1 mg·dm⁻³ improved bulbing efficiency from 7.5% to 42.5%. Bulbs of the best quality were noted in the presence of MeJA when it was used alone.

Dr Małgorzata **Podwyszyńska**
Pracownia Kultur Tkankowych Roślin Ozdobnych
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa
ul. Pomologiczna 18
96-100 SKIERNIEWICE
e-mail: mpodwysz@insad.pl