

WOJCIECH GIL, JACEK ZAKRZEWSKI

## Wpływ chemizacji podłoża na przejawy polarności fizjologicznej w ukorzenianiu pędów topoli *Populus x canadensis* 'Robusta' Aktywność wzrostowa pąków i rozwój kalusa

The Influence of Substrate Chemization on Physiological Polarity Symptoms at Rooting of *Populus canadensis* 'Robusta' Poplar Shoots. Bud Growth Activity and Callus Development

### Wstęp

**R**egeneracja odcinków pędu prowadząca do odtworzenia nowej rośliny, obejmuje zarówno procesy tworzenia się korzeni przybyszowych jak i rozwój systemu pędowego oraz powstawanie tkanki przyrannej (kalusa) na powierzchni przecięcia. Tkanka przyrana — kalus, wytwarza się z komórek kambialnych, komórek tkanek korowych, a nawet komórek rdzenia. W niniejszym doświadczeniu badano wpływ związków chemicznych w podłożu na regenerację korzeni, liści i kalusa na ukorzenianych odcinkach pędu. W pierwszej części opracowania wyników badań (9) skoncentrowano się na wpływie związków chemicznych na regenerację systemu korzeniowego, w obecnej natomiast oceniano wpływ chemizacji podłoża na aktywność wzrostową pąków i tworzenie się kalusa.

### Materiał i metodyka badań

Materiał i metodyka badań zostały wyczerpująco omówione w pierwszej części pracy (9). Badania przeprowadzono w sezonie wegetacyjnym 1991 roku, w szklarni na terenie Arboretum LZD w Rogowie, w warunkach symulowanej chemizacji podłoża glebowego. Zastosowano następujące kombinacje: dodanie kwasu siarkowego  $H_2SO_4$  w stężeniu 0,1M, alkalizacja wodorotlenkiem wapnia  $Ca(OH)_2$  w stężeniu 0,1M, nawożenie azotanem amonu  $NH_4NO_3$  w dwóch stężeniach: 0,1 i 0,01M, dodanie chlorku wapnia  $CaCl_2$  w stężeniu 0,1M i próba kontrolna z  $H_2O$ . Do badań wykorzystano odcinki pędu topoli *Populus x canadensis* 'Robusta' o różnej długości 4, 8, 16 i 32 cm, posadzone do podłoża końcem

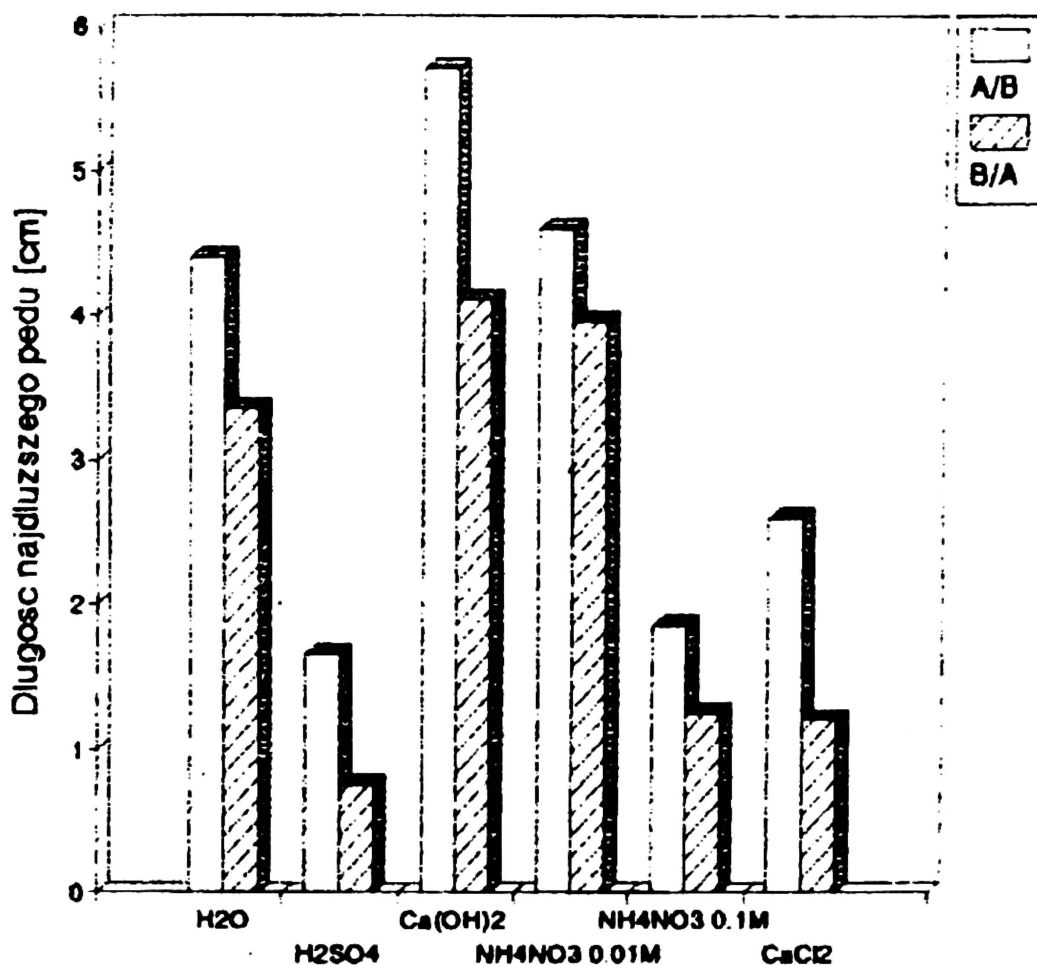
bazalnym lub końcem apikalnym. Założono też wariant z dostarczaną do końca apikalnego auksyną (IAA). Doświadczenie założono 25.04.91 r. Oceniając aktywność pąków w części nadziemnej po 28 dniach ukorzenia opisywano: liczbę rozwijających się pąków, długość pędu najlepiej rozwiniętego oraz liczbę i stopień rozwoju liści na tym pędzie.

Do określenia stopnia rozwoju liści zastosowano 6-stopniową skalę:

- 0 — brak widocznych oznak inicjacji wzrostu,
- 1 — rozchylenie się łusek wewnętrznych,
- 2 — ukazanie się zawiązków liściowych,
- 3 — ukazanie się liści bez widocznych ogonków liściowych,
- 4 — ogonki liściowe widoczne, blaszki zwinięte,
- 5 — blaszki liściowe rozwinięte dobrze.

Opisywano też kalus tworzący się na końcach zrzezów (górnym i dolnym). Stopień rozwoju kalusa określano według następującej skali:

- 0 — brak kalusa,
- 1 — kalus występuje częściowo na obrzeżu,
- 2 — kalus występuje na obrzeżu, częściowo na powierzchni ściana,
- 3 — kalus pokrywa cienką warstwą całą powierzchnię ściana,
- 4 — warstwa kalusa jest wypiętrzona ku górze i na zewnątrz.



RYC. 1. Wpływ chemizacji podłoża na długość najdłuższego pędu na odcinkach pędu *Populus x canadensis* 'Robusta' o długości 16 cm po 28 dniach ukorzenia w pozycji normalnej (A/B) i odwróconej (B/A). Średnie z 10 odcinków pędu

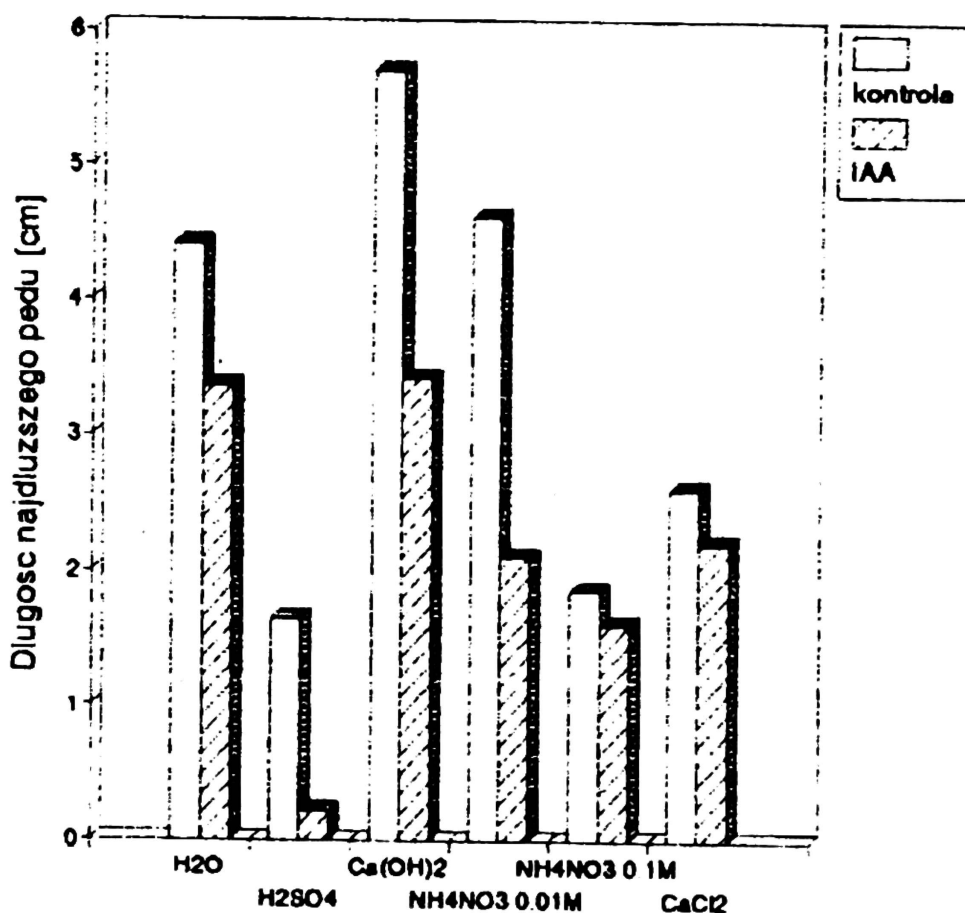
Dla otrzymanych wyników obliczano błąd standardowy i współczynnik polarności równy stosunkowi wartości cechy opisywanej na pędzie rosnącym końcem bazalnym w podłożu, do analogicznej cechy na pędzie rosnącym końcem apikalnym w podłożu.

## Wyniki badań

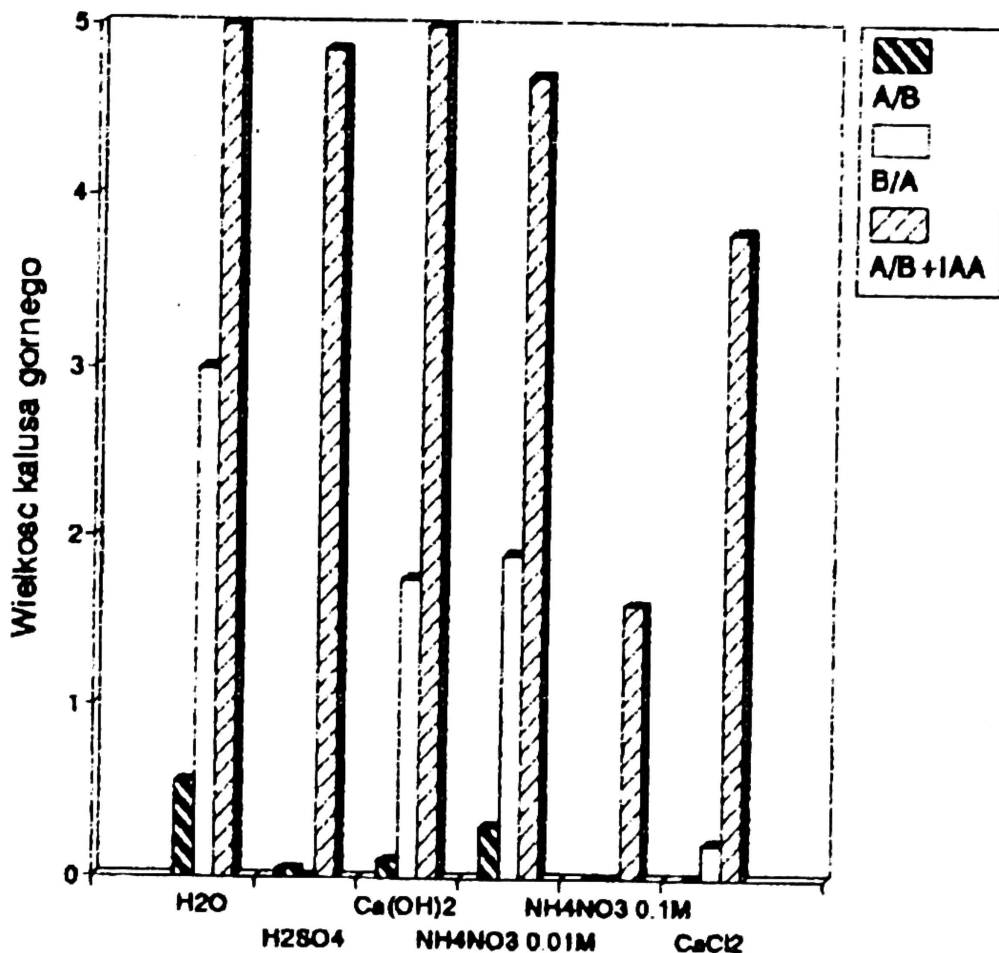
Wykresy sporządzono na podstawie reprezentatywnych wyników ukorzenia 16-centymetrowych zrzewów.

### Aktywność wzrostowa pąków

Zrzesy dłuższe miały większą liczbę pąków bocznych. Liczba ta była zależna od liczby węzłów. Dłuższe pędy boczne tworzyły się na dłuższych zrzewach i na zrzewach rosnących końcem bazalnym w podłożu. Najdłuższe pędy boczne wykształciły zrzesy kontrolne i zrzesy z kombinacji z wodorotlenkiem wapnia i azotanem azotu w mniejszym stężeniu, rosnące w pozycji normalnej i odwróconej. Gorzej rozwijały się pąki w pozostałych kombinacjach, na zrzewach rosnących w obu pozycjach (ryc. 1). Odcinki pędu z kombinacji z kwasem siarkowym i z azotanem amonu w większym stężeniu miały najkrótsze pędy boczne i najmniej najgorzej wykształconych liści. Najwięcej liści rozwijały pąki zrzewów z kombinacji z  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  w stężeniu 0,01M i z  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Pod wpływem auksyny zrzesy wytwarzały krótsze pędy boczne, a zrzesy w zakwaszonym podłożu obumierały (ryc. 2).



RYC. 2. Wpływ dostarczania IAA do końca apikalnego na długość najdłuższego pędu na odcinkach pędu *Populus x canadensis* 'Robusta' o długości 16 cm po 28 dniach ukorzenia w warunkach chemizacji podłoża. Średnie z 10 odcinków pędu



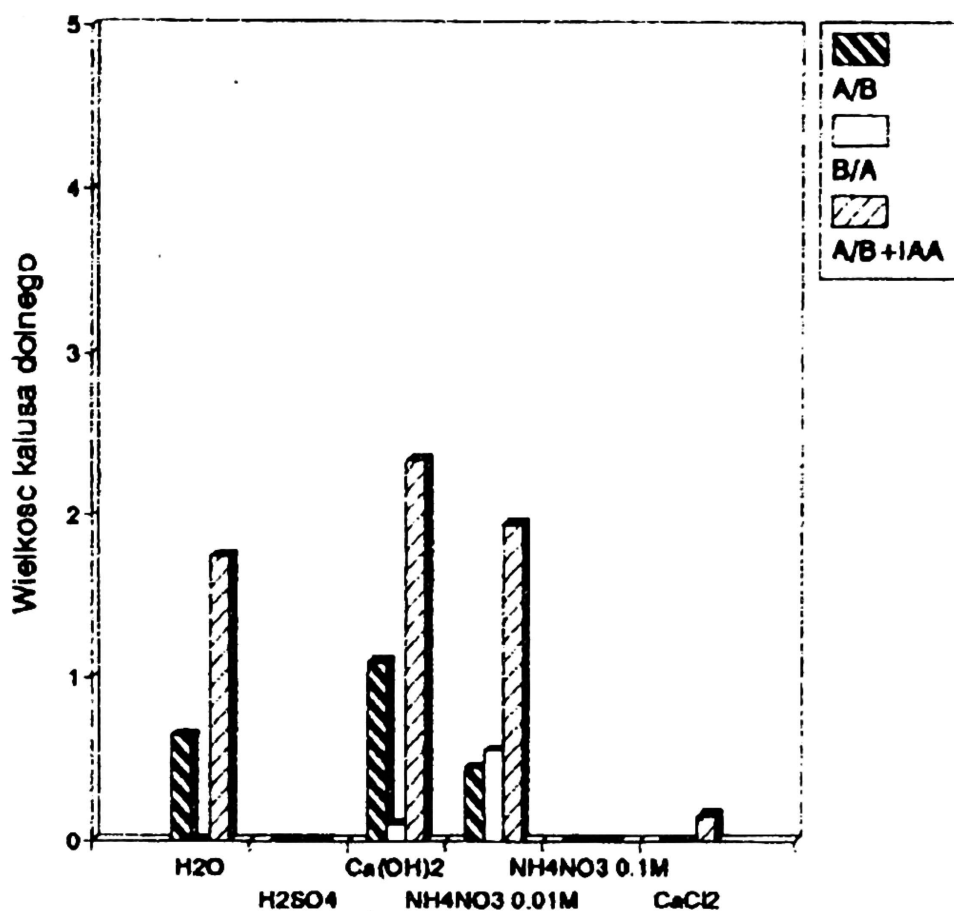
RYC. 3. Wpływ chemizacji podłoża na wielkość kalusa górnego na odcinkach pędu *Populus x canadensis* 'Robusta' o długości 16 cm po 28 dniach ukorzeniania w pozycji normalnej (A/B) i odwróconej (B/A) oraz z dostarczaną apikalnie auksyną. Średnie z 10 odcinków pędu

### Kalus górny

Kalus rozwijał się głównie na końcu fizjologicznie dolnym, a więc większy kalus górny obserwowano na zrzeczach posadzonych końcem apikalnym w podłożu. Zrzesy rosnące w podłożu z kwasem siarkowym nie wytwarzały kalusa górnego (albo w minimalnym stopniu), a w kombinacji z chlorkiem wapnia i azotanem amonu w stężeniu 0,1M zrzesy rosnące w pozycji odwróconej wytworzyły niewielki kalus. Największy kalus górny obserwowano na zrzeczach rosnących końcem apikalnym w podłożu z dodatkiem wodorotlenku wapnia, 0,01M azotanu amonu i w kontroli. Również w tych kombinacjach regularnie tworzyły kalus górny zrzesy rosnące w pozycji normalnej. Po potraktowaniu zrzeczów IAA największy kalus rozwinęły zrzesy kontrolne i zrzesy w kombinacjach z H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub> i NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> w stężeniu 0,01M. Wytworzony pod wpływem auksyny kalus górny był też znacznie większy od kalusa górnego na zrzeczach rosnących w pozycji odwróconej (ryc. 3).

### Kalus dolny

Większy kalus dolny wytwarzał się na zrzeczach rosnących w pozycji normalnej. Stymulujący wpływ na rozwój kalusa dolnego miały: wodorotlenek wapnia i azotan amonu w stężeniu 0,01M, również u zrzeczów rosnących w pozycji odwróconej. Zrzesy rosnące w kombinacjach z kwasem siarkowym i 0,1M azotanem amonu nie wytwarzały w ogóle



RYC. 4. Wpływ chemizacji podłoża na wielkość kalusa dolnego na odcinkach pędu *Populus x canadensis* 'Robusta' o długości 16 cm po 28 dniach ukorzeniania w pozycji normalnej (A/B) i odwróconej (B/A) oraz z dostarczaną apikalnie auksyną. Średnie z 10 odcinków pędu

kalusa dolnego, a w kombinacji z chlorkiem wapnia kalus powstał tylko na 32 cm odcinkach pędu. Po dodaniu auksyny zrzesy wytworzyły większy kalus dolny chociaż wpływ związków chemicznych nie został zmieniony (ryc. 4).

## Dyskusja

Transport auksyny w roślinie jest nierozzerwalnie związany z polarnością pędu. Podlega on istotnym zmianom w wyniku zmian środowiska życia roślin. W niniejszej pracy badano wpływ związków chemicznych na przejawy polarności w procesie regeneracji pąków i tworzenia się kalusa.

Istotny wpływ na aktywność wzrostową pąków i tworzenie się kalusa miały: długość ukorzenianych odcinków pędu i stosowana egzogennie auksyna. Zrzesy posadzone końcem bazalnym do podłoża rozwijały dłuższe pędy i nieco więcej liści niż zrzesy posadzone w pozycji odwróconej. Stwierdzono, że kalus górny był większy u zrzesów posadzonych końcem apikalnym w podłożu, a dolny — u zrzesów rosnących końcem bazalnym w podłożu. Większy kalus powstaje zwykle na bazalnym końcu zrzesu, nawet gdy fragment pędu odwrócimy o 180°C (6, 7, 8). Jednocześnie kalus górny na zrzesach rosnących w pozycji odwróconej był na ogół większy od kalusa dolnego na zrzesach rosnących w pozycji normalnej, w tej samej kombinacji.

Dłuższe zrzesy rozwijały więcej pąków oraz dłuższe i lepiej ulistnione pędy boczne. Odcinki pędu o dł. 4 cm miały na ogół znacznie mniejsze wartości opisywanych cech niż zrzesy pozostałych długości. Odcinki pędu traktowane auksyną wykazywały mniejszą aktywność rozwojową pąków. Jest to zgodne z poglądem, że auksyna ma hamujący wpływ na rozwój części nadziemnej (5, 8, 10). Stwierdzono, że wpływ hormonów na tworzenie się pąków i korzeni można zmodyfikować przez np. źródła azotu (8). W opisywanym doświadczeniu azotan amonu w obu stężeniach nie zmienił istotnie hamującą aktywność pąków wpływu auksyny.

Odcinki pędu traktowane auksyną tworzyły większy kalus. Fakt, że auksyna naniesiona na górny koniec fragmentu łodygi pobudza wytwarzanie kalusa znajduje potwierdzenie w wielu źródłach (3, 4, 5, 8, 10). Wpływ związków chemicznych na aktywność wzrostową pąków był podobny do ich wpływu na tworzenie się kalusa. Stymulujące było działanie wodorotlenku wapnia i azotanu amonu w niższym stężeniu, a hamujące — kwasu siarkowego, 0,1 M azotanu amonu i chlorku wapnia. Fakt, że niskie pH wpływa hamująco na tworzenie się kalusa, potwierdzają badania Cormacka i Lemaya (1,2) na topoli balsamicznej. Zauważyli oni, że zdolność regeneracji korzeni i tworzenia kalusa wzrasta ze wzrostem pH (testowano pH od 6,0 do 11,0). Nie wystąpił wyraźny związek pomiędzy długością ukorzenianego odcinka pędu a stopniem rozwoju kalusa.

## Wnioski

Na podstawie obserwacji wpływu polutantów na polarność fizjologiczną i aktywność wzrostową pąków i tworzenie się kalusa u odcinków pędów *Populus x canadensis* 'Robusta', o zróżnicowanej długości, można stwierdzić, że:

- Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy długością ukorzenianego odcinka pędu a liczbą rozwijających się pąków, długością najdłuższego pędu bocznego i liczbą rozwijających się na najdłuższym pędzie liści bez względu na zawartość substancji chemicznej w podłożu. Korelacja ta uwidocznia się najlepiej na dłuższych odcinkach pędu.
- Zrzesy posadzone w pozycji normalnej (końcem bazalnym do podłoża) mają na ogół lepiej rozwinięte pędy boczne niż zrzesy z tych samych wariantów długości rosnące w pozycji odwróconej, co świadczy o fizjologicznej polarności pędów. Większy kalus powstaje na fizjologicznie dolnych końcach zrzesów, bez względu na ich położenie, co jest również przejawem spolaryzowania pędu.
- Stwierdzono hamujący wpływ 0,1M azotanu amonu, kwasu siarkowego i chlorku wapnia na aktywność wzrostową pąków i tworzenie się kalusa. Szczególnie niekorzystna jest obecność w podłożu kwasu siarkowego i azotanu amonu.
- Stymulujący wpływ na aktywność wzrostową pąków i tworzenie się kalusa mają: azotan amonu w stężeniu 0,01M i wodorotlenek wapnia. Zrzesy rosnące końcem bazalnym w podłożu z dodatkiem tych substancji rozwijają najdłuższe pędy boczne i wytwarzają kalus również na końcach fizjologicznie górnych.



- Dostarczenie auksyny do apikalnego końca odcinka pędu powoduje zahamowanie rozwoju pąków, tym niemniej wpływ podłoża na badane procesy jest podobny jak w kombinacjach bez auksyny. Dodanie auksyny do apikalnego końca pędu wpływa natomiast stymulująco na tworzenie się kalusa przy końcu bazalnym, co potwierdzałoby sugestię, że efekty te związane są z mechanizmem polarnego transportu auksyny.

## Literatura

1. **Cormack R.G.H.:** The effect of calcium ions and pH on the development of callus tissue on stem cuttings of balsam poplar. *Canad. Jour. Bot.* 1965, 43: 75–83.
2. **Cormack R.G.H. i Lemay P.L.:** A further study of callus tissue development on stem cuttings of balsam poplar. *Canad. Jour. Bot.* 1966, 44: 47–50.
3. **Hrynkiewicz-Sudnik J., Sękawski B., Wilczkiewicz H.:** Rozmnażanie drzew i krzewów liściastych. PWN Warszawa 1987.
4. **Hrynkiewicz-Sudnik J., Sękawski B., Wilczkiewicz H.:** Rozmnażanie drzew i krzewów nagozalążkowych. PWN, Warszawa 1991.
5. **Jankiewicz L.S.:** Fizjologia roślin sadowniczych. PWN. Warszawa 1984.
6. **Jarvis B.C.:** Adventitious root formation with respect to auxin distribution — w: *Physiology and biochemistry of auxin in plants.* Ed. Kutacek M., Bandurski S.R., Krekule J., Academia Praha 1988.
7. **Klimontowicz J.:** Wpływ sezonu na proces ukorzenia odcinków pędów jawora *Acer pseudoplatanus* L. Praca magisterska KBL SGGW, Warszawa 1992.
8. **Wareng P.F., Philips I.D.J.:** Wzrost i różnicowanie się roślin. PWN. Warszawa 1985.
9. **Zakrzewski J., Gil W.:** Wpływ chemizacji podłoża na przejawy polarności fizjologicznej w ukorzeniu pędów topoli *Populus x canadensis* 'Robusta' (Inicjacja i rozwój systemu korzeniowego). Warszawa 1994. Maszynopis.
10. **Zurzycki J.:** Fizjologia roślin. Warszawa 1977.

Z Katedry Botaniki Leśnej SGGW

## Summary

The impact of the presence of chemical compounds in the substrate on regeneration of leaves and callus of rooted cuttings of *Populus x canadensis* 'Robusta' poplar shoots was investigated in greenhouse conditions. The following compounds were used: 0.1M sulphur acid, 0.1M calcium hydroxide, 0.1M calcium chloride, and ammonium nitrate at 0.1M and 0.1M concentrations.

It has been found that a positive correlation existed between the length of rooted shoot sector and bud growth activity. The cuttings planted with their basal end down to the substrate

have got lateral shoots developed better than the cuttings planted in reverse position. Greater callus arose on physiologically lower ends of cuttings, that phenomenon being an evidence of shoot polarization.

A stimulating impact of calcium hydroxide occurred at 0.1M concentration, and for ammonium nitrate — at 0.01M concentration, as concerned callus development and bud growth activity, while a hampering impact was observed in the case of ammonium nitrate, sulphur acid, and calcium chloride at 0.1M concentrations. An addition of the auxine on the apical end of a cutting caused a bud development inhibition, but stimulated callus development, while it did not change the impact of used chemical compounds on the processes mentioned.