

Nasiennictwo i odmianoznawstwo

WPŁYW WYBRANYCH SKŁADNIKÓW POŻYWKI NA PRODUKCJĘ MIKROBULW

inż. Danuta Sekrecka, mgr inż. Dorota Michałowska
IHAR-PIB, Pracownia Zasobów Genowych i Kultur in Vitro w Boninie
e-mail: sekrecka@ziemniak-bonin.pl

Mikrobulwy są to bulwy ziemniaka uzyskane w procesie mikrotuberyzacji w warunkach *in vitro*. Ich rozmiar nie przekracza na ogół średnicy 10 mm i 0,7 g masy. Do produkcji bulw stosuje się kulturę wyprowadzoną z jednowęzłowych fragmentów roślin, którą poddaje się działaniu chemicznych i fizycznych czynników indukujących tuberyzację. Najczęściej z rośliny otrzymuje się jedną lub niekiedy dwie mikrobulwy (fot. 1). Produkcja mikrobulw w kontrolowanym, zamkniętym środowisku daje możliwość zwiększenia zarówno ich liczebności, jak i rozmiaru poprzez zmianę pojedynczych lub kilku parametrów hodowli. Badania własne, a także dane literaturowe wskazują na ogromną rolę reakcji poszczególnych geno-

typów na czynniki indukujące tuberyzację (reakcje odmianowo specyficzne).

Do czynników istotnych podczas tuberyzacji *in vitro* można zaliczyć m.in. poziom sacharozy, obecność regulatorów wzrostu, zawartość i formę azotu, temperaturę inkubacji oraz światło. Sacharoza stanowi źródło energii, a jej optymalne stężenie w pożywce wynosi 8%. Stężenie cukru wpływa również na końcowy rozmiar bulwek, który jest największy przy 8% sacharozy, natomiast przy 4, 6 czy 12% – mniejszy (Xu 1998). Jednocześnie sacharoza indukuje tuberyzację *in vitro* niezależnie od obecności w pożywce regulatorów wzrostu (Struik 1999).

Regulatory wzrostu nie są niezbędne do formowania bulwek w szkle. Ich obecność

wpływa stymulująco lub hamująco na tuberyzację, np. giberelina hamuje, a kwas jasmonowy (Saniewski 1997) i cytokiny stymulują ten proces. Wpływ cytokinin na tworzenie się bulwek u ziemniaka został opisany w 1969 r. przez Palmera i Smitha. Stwierdzono, że najbardziej efektywna była kinetyna w stężeniu 2,5 mg/l, natomiast benzyladenina w stężeniu 25 mg/l inicjowała tuberyzację jedynie u 40% izolowanych stolonów. Aplikacja 2,5 mg/l BAP (benzylaminopuryny) stymulowała tuberyzację w większym stopniu u roślin utrzymywanych w warunkach dnia krótkiego niż długiego (Hussey 1984). Dodawanie do pożywek pojedynczych regulatorów wzrostu umożliwia lepszą ocenę ich efektów.

Mimo że hormony roślinne są badane od dziesięcioleci, interakcje zachodzące między nimi nie są do końca wyjaśnione. Zhang (2005) zastosował kilka kombinacji tych związków i stwierdził, że BAP odgrywa kluczową rolę w tuberyzacji. Po użyciu wyłącznie IAA (kwas indolilo-3-octowy) w celu wywołania tuberyzacji nie otrzymywano ani jednej mikrobulwki, natomiast użycie kombinacji IAA + GA + BAP i IAA + BAP przy wysokim stężeniu IAA skutkowało wyraźnym wzrostem średnicy oraz świeżej masy mikrobulwek.



Fot. 1. Mikrobulwy w 3. miesiącu wzrostu roślin *in vitro*

Materiał i metody

W latach 2010-2012 oceniano mikrotuberyzację 6 odmian ziemniaka: Ametyst, Jutrzenka, Etola, Michalina, Gawin i Gustaw. Do indukcji procesu tuberyzacji zastosowano pożywkę Murashige-Skooga (1962) z wyższą koncentracją sacharozy (8%) oraz inhibi-

tory wzrostu: benzylaminopurynę (BAP), kinetynę, węgiel aktywowany i kwas jasmonowy (tab. 1).

Tabela 1

Inhibitory wzrostu zastosowane w pożywkach

Nr pożywki	Inhibitor wzrostu
1	kontrola
2	kinetyna 3,5 mg/l
3	BAP 2 mg/l
4	węgiel aktywny 2 g/l
5	kwas jasmonowy 2 mg/l
6	kwas jasmonowy 4 mg/l

Rośliny *in vitro* prowadzono w kontrolowanych warunkach: przez 3 tygodnie były utrzymywane w fitotronie w temperaturze 20°C przy oświetleniu ok. 3000 luksów, z zachowaniem dobowego cyklu dzień/noc (16/8 godz.), a po tym czasie pojemniki z dobrze ukorzenionymi i rozwiniętymi kulturami *in vitro* zostały przeniesione do ciemnego pomieszczenia (temp. 18-20°C) na 9 tygodni (fot. 2).



Fot. 2. Plon mikrobulw w zależności od zastosowanej pożywki

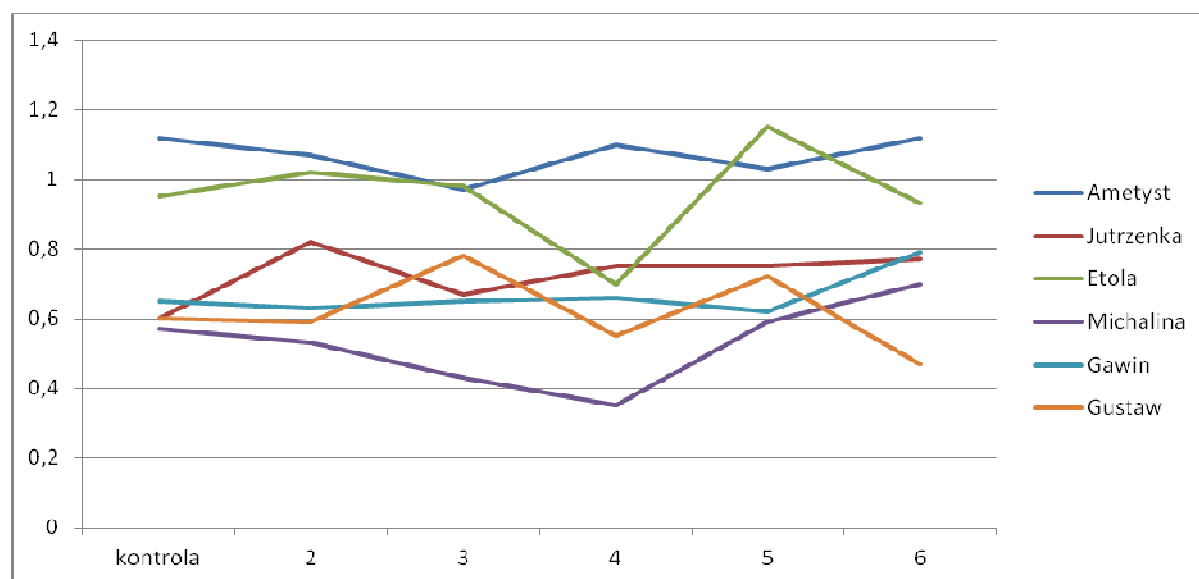
Wyniki

Wykonano 6 serii namnażania kultur i oceniono ponad 2000 roślin *in vitro* każdej odmiany. Wyniki zostały przeanalizowane statystycznie. Stwierdzono istotne różnice tylko pomiędzy odmianami, natomiast zastosowane inhibitory wzrostu nie miały istotnego wpływu na współczynnik rozmnażania. Najwyższy współczynnik uzyskano u odmian Ametyst i Etola (fot. 3 i 4), pozostałe odmiany plonowały na podobnym, niskim poziomie (tab. 2, rys. 1).

Tabela 2

Współczynnik rozmnażania w zależności od zastosowanych inhibitorów wzrostu (średnia z 6 powtórzeń). Bonin 2010-2011

Pożywka	Ametyst	Jutrzenka	Etola	Michalina	Gawin	Gustaw
1 (kontrola)	1,12	0,60	0,95	0,57	0,65	0,60
2	1,07	0,82	1,02	0,53	0,63	0,59
3	0,97	0,67	0,98	0,43	0,65	0,78
4	1,10	0,75	0,70	0,35	0,66	0,55
5	1,03	0,75	1,15	0,59	0,62	0,72
6	1,12	0,77	0,93	0,70	0,79	0,47
Zakres	0,97-1,12	0,60-0,82	0,70-1,15	0,35-0,70	0,62-0,79	0,47-0,78



Rys. 1. Współczynnik rozmnażania 6 odmian poddanych mikrotuberyzacji w zależności od zastosowanych inhibitorów wzrostu (patrz tab. 1)



Fot. 3. Mikrobulwy odmian Etola i Michalina na tle sadzeniaka z hodowli tradycyjnej



Fot. 4. Mikrobulwy odmian Ametyst i Jutrzenka na tle sadzeniaka z hodowli tradycyjnej

Trudno opracować jednolity schemat produkcji mikrobulw dla wszystkich genotypów ziemniaka. Poszukiwaniom bezhormonalnych systemów mikrorozmnażania do tej pory poświęcono stosunkowo mało uwagi,

prawdopodobnie dlatego, że proces ten byłby powolny i nieefektywny. Jednak starania zmierzające do opracowania systemów mikrorozmnażania bez dodatku hormonów są wskazane, gdyż systemy takie umożli-

wiąją produkcję bez późniejszych problemów związanych z zakłóconą równowagą hormonalną i mogą być użyteczne komercyjnie.

Podsumowanie

1. Odmiana Ametyst miała najwyższy z wszystkich badanych odmian współczynnik rozmnażania niezależnie od zastosowanego inhibitora wzrostu.

2. Etola pozytywnie zareagowała na pożywkę nr 5, z niższą dawką kwasu jasmonowego, a jednocześnie odnotowano spadek plonu przy zastosowaniu węgla aktywowanego.

3. Michalina i Gawin plonowały na bardzo niskim poziomie niezależnie od zastosowanej pożywki.

4. Odmiana Gustaw wydała wyższy plon mikrobulw na pożywkę z mniejszą dawką kwasu jasmonowego.

5. Kinetyna i węgiel aktywowany nie miały większego wpływu na współczynnik rozmnażania ocenianych odmian.

6. Niektóre odmiany (np. Michalina, Gawin, Gustaw) wymagają modyfikacji pożywki,

aby w produkcji nasiennej osiągnąć współczynnik rozmnożenia na poziomie 1.

Literatura

- Hussey G., Stacey N. J. 1984.** Factors Affecting the Formation of *in vitro* Tubers of Potato (*Solanum tuberosum* L.). – Ann. Bot. 53: 565-578;
- Murashige T., Skoog F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures – Phys. Plant. 15: 473-497;
- Palmer C. E., Smith O. E. 1969.** Cytokinins and Tuber Initiation in Potato *Solanum tuberosum* L. – Nature 221, 18: 279-280;
- Saniewski M. 1997.** Kwas jasmonowy I związki pokrewne. [W:] Regulatory wzrostu i rozwoju roślin. Pr. zbior. pod red. L. S. Jankiewicza. T. 1. PWN Warszawa: 95-102;
- Struik P. C., Wiersema S. G. 1999.** Production of pre-basic seed. [In:] Seed Potato Technology. Wageningen Pers.: 173-216;
- Xu X., Lammeren A. van, Vermeer E., Vreugdenhil D. 1998.** The role of gibberellin, abscisic acid and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. – Phys. Plant 117: 575-584;
- Zang Z., Zhou W., Li H. 2005.** The role of GA, IAA i BAP in the regulation of *in vitro* shoot growth and microtuberization in potato. – Acta Phys. Plant. 27: 3B: 363-369