

WPŁYW JAKOŚCI ŚWIATŁA, RODZAJU POŻYWKI I AUKSYN NA UKORZENIANIE *in vitro* PETUNII OGRODOWEJ (*Petunia hybrida*)

Maria Witomska, Karolina Ładyżyńska

Katedra Roślin Ozdobnych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wstęp

Proces ukorzenia roślin *in vitro* w dużej mierze decyduje o opłacalności mikrorozmnażania. Rośliny ukorzone *in vitro* muszą cechować się dobrze rozwiniętym systemem korzeniowym i częścią nadziemną wysokiej jakości, gdyż tylko taki materiał roślinny dobrze aklimatyzuje się w warunkach *in vivo*. Badania prowadzone nad różnymi gatunkami roślin wykazują wpływ jakości światła i jego współdziałanie z regulatorami wzrostu na morfogenezę [ECONOMOU, READ 1987; DĄBSKI, KOZAK 1997; MICHALCZUK, MICHALCZUK 2000, WITOMSKA, ŁADYŻYŃSKA 2001]. Czynnikiem stymulującym ukorzenie pędów może też być rodzaj pożywki [BOJARCZUK 1995].

Celem pracy było określenie wpływu jakości światła białego, rodzaju pożywki i auksyn na ukorzenie *in vitro* petunii ogrodowej z Grupy Ursynia, w ramach badań nad optymalizacją mikrorozmnażania tych roślin. Grupa Ursynia została wyhodowana w Katedrze Roślin Ozdobnych SGGW przez prof. H. Chmiela, odznacza się bujnym wzrostem, kaskadowym pokrojem i obfitym kwitnieniem [CHMIEL 2000].

Materiał i metody

Materiałem były wierzchołki pędów (długości 1,5 cm) klonu petunii ogrodowej 42F z Grupy Ursynia (*Petunia hybrida*) zregenerowane *in vitro* na zmodyfikowanej pożywce MS [MURASHIGE, SKOOG 1962] zawierającej kinetynę ($1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$), $0,03 \text{ mg IAA} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz $3300 \text{ mg NH}_4\text{NO}_3 \cdot \text{dm}^{-3}$, $112,5 \text{ mg Na}_2\text{EDTA} \cdot \text{dm}^{-3}$, $83 \text{ mg FeSO}_4 \cdot \text{dm}^{-3}$ i kazeinę ($1000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$). Pędy wykładano na pożywkę MS jw. zestaloną agarą ($8 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) lub na pożywkę płynną, którą nasączono perlit. Zastosowano trzy kombinacje ww. pożywek: bez auksyny, z $0,3 \text{ mg IAA} \cdot \text{dm}^{-3}$ i $0,3 \text{ mg IBA} \cdot \text{dm}^{-3}$. Kultury prowadzono w słoikach o pojemności 300 cm^3 (50 cm^3 pożywki agarowej lub 30 cm^3 pożywki płynnej na 75 cm^3 perlitu), na świetle białym fluorescencyjnym o gęstości strumienia fotosyntetycznych fotonów (PPFD) $12 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ i $46 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Przyjęto fotoperiod 16 godzin światła i 8 godzin ciemności oraz temperaturę 24°C .

Doświadczenie założono w układzie całkowicie losowym, w każdej kombinacji było 30 eksplantatów (6 powtórzeń po 5 pedów). Po 4 tygodniach oceniano jakość systemu korzeniowego wg czterostopniowej skali bonitacyjnej (1 – brak korzeni, 2 – od 1 do 9 korzeni o długości do 2 cm, 3 – od 10 do 15 korzeni o długości powyżej 2,1 cm, w tym minimum 5 o długości > 2,5 cm, 4 – powyżej 15 korzeni, w tym minimum 10 o długości 3,5 cm) i świeżą masę korzeni (g) – wyłącznie z pożywki stałej. Wyniki opracowano statystycznie metodą dwuczynnikowej analizy wariancji, a do porównania średnich użyto testu t-Duncana.

Wyniki

Natężenie napromienienia kwantowego, rodzaj pożywki i auksyny mają wpływ na jakość systemu korzeniowego petunii ogrodowej (tab. 1).

Tabela 1; Table 1

Wpływ jakości światła, rodzaju pożywki i auksyn (0,3 mg·dm⁻³) na ocenę bonitacyjną korzeni petunii *Petunia hybrida* (skala 1-4)

Effect of light quality, medium and auxins (0.3 mg·dm⁻³) on root evaluation (scale 1-4) in *Petunia hybrida*

Światło Light	Pożywka; Medium					
	stała; solid			płynna + perlit; liquid + perlite		
Natężenie napromienienia kwantowego Quantum irradiance	IAA	IBA	0	IAA	IBA	0
12 μmol·m ⁻² ·s ⁻¹	2,53 bc*	3,23 cf	2,26 ab	2,46 abc	2,03 a	2,73 cd
46 μmol·m ⁻² ·s ⁻¹	2,76 cd	3,60 f	2,73 cd	3,10 de	2,46 abc	2,86 cde

* – średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu t-Duncana (5 %); means followed by the same letter do not differ at 5% level of significance; Duncan's multiple range t-test

Najwyższą jakość korzeni (określoną średnią klasą bonitacyjną) uzyskano u roślin ukorzenianych na pożywce stałej w obecności IBA, niezależnie od natężenia napromienienia kwantowego: wszystkie rośliny ukorzeniły się, systemy korzeniowe były tu bardzo wyrównane, a korzenie grube, długie i białe. Przy natężeniu napromienienia kwantowego 12 μmol·m⁻²·s⁻¹ wytworzyło się więcej korzeni bocznych niż przy wyższym natężeniu światła. Najgorszą jakość systemu korzeniowego zanotowano na pożywce płynnej z perlitem w obecności IBA przy obu natężeniach napromienienia kwantowego oraz na świetle o niskim natężeniu napromienienia kwantowego na pożywce płynnej z perlitem w obecności IAA, a także na pożywce stałej bez auksyn (tab. 1).

Korzenie zróżnicowane na pożywce płynnej z perlitem, choć tworzyły zwarty system korzeniowy, były cieńsze i krótsze w stosunku do korzeni z pożywki stałej.

Natężenie napromienienia kwantowego miało wpływ na jakość systemu korzeniowego roślin ukorzenianych na pożywce stałej bez auksyn i na pożywce płynnej z perlitem w obecności IAA – w obu przypadkach przy niższym natężeniu napromienienia kwantowego system korzeniowy był gorszy (tab. 1).

Tabela 2; Table 2

Wpływ jakości światła i auksyn ($0,3 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) w pożywce stałej
na świeżą masę korzeni *Petunia hybrida*

Effect of light quality and auxins ($0,3 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) in solid medium on root fresh weight
of *Petunia hybrida*

Światło; Light	Świeża masa korzeni; Fresh root weight (g)		
Natężenie napromienienia kwantowego Quantum irradiance	IAA	IBA	0
$12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0,11 a*	0,27 b	0,09 a
$46 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0,08 a	0,27 b	0,07 a

* – objaśnienia jak w tabeli 1; explanations see Table 1

Natężenie napromienienia kwantowego nie miało wpływu na świeżą masę korzeni zróżnicowanych na pożywce stałej (tab. 2). Większą świeżą masę korzeni uzyskano na pożywce z IBA niż w obecności IAA i bez auksyn.

Dyskusja

Rodzaj pożywki oraz obecność i rodzaj egzogennej auksyny wpływają na ukorzczenie pędów petunii ogrodowej *in vitro*. Mniejszy wpływ na ukorzczenie ma natężenie napromienienia kwantowego.

Pożywka płynna z perlitem stwarza nieźle warunki do ukorzczenia petunii ogrodowej bez względu na obecność auksyn. W badaniach BOJARCZUK [1995] nad ukorzczeniem różanecznika najlepsze wyniki dało zastosowanie perlitu nasączonego pożywką płynną z $1 \text{ mg IBA}\cdot\text{dm}^{-3}$, w porównaniu z pożywką stałą i warunkami *in vivo*. Również nieopublikowane wyniki badań autorki potwierdzają przydatność perlitu z pożywką płynną dla ukorzczenia gipsówki, która na pożywce agarowej ukorzczenia się gorzej ze względu na złe warunki powietrzne. W badaniach problem stwarza jednak ocena liczby, a zwłaszcza masy korzeni, które wrastają w grudki perlitu, tworząc bryłę korzeniową. Przewagą takiego systemu ukorzczenia jest łatwość przenoszenia bryły korzeniowej do warunków *in vivo*, bez potrzeby opłukiwania substancji żelującej z korzeni, koniecznego po ukorzczeniu roślin na pożywkach stałych. Ponadto wyeliminowanie agaru jako najdroższego składnika pożywki stałej może znacznie obniżyć koszty mikrorozmnażania.

Najlepszy system korzeniowy wytworzyły pędy petunii ogrodowej na pożywce stałej w obecności $0,3 \text{ mg IBA}\cdot\text{dm}^{-3}$. Obecność tej auksyny w pożywce wpływała również bardzo korzystnie na ukorzczenie liliowca – $2,5 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ [LEMAŃSKA, GABRYSZEWSKA 2000] i *Plumbago zeylanica* $0,25 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ [SAXENA i in. 2000]. Korzenie skrzydłokwiatu różnicowały się najlepiej na pożywce zawierającej $5 \text{ mg IAA}\cdot\text{dm}^{-3}$ w świetle białym o natężeniu napromienienia kwantowego $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ [DĄBSKI, KOZAK 1997].

LUBOMSKI [1989] porównywał ukorzczenie *Hosta sieboldiana* na pożywce stałej, płynnej wytrząsanej oraz płynnej z mostkami z bibuły Whatman'a, do których dodano IAA, IBA lub NAA. Najwyższy procent ukorzczonej rośliny uzyskał na pożywce zestalonej agarem ($8 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) przy obecności $0,1 \text{ mg NAA}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Badania nad *Petunia inflanta* i *P. hybrida* wykazały, że $1 \text{ mg NAA}\cdot\text{dm}^{-3}$

dodany do pożywki korzystniej oddziaływał na formowanie korzeni, w przeciwieństwie do 1 mg IAA·dm⁻³ [RAO i in. 1973]. Nieopublikowane wyniki eksperymentu auterek wykazały jednak, że nawet niższe stężenie NAA (0,3 mg·dm⁻³) w pożywce stałej wpływało niekorzystnie zarówno na różnicowanie korzeni, jak i na ukorzenianie pędy petunii ogrodowej z Grupy Ursynia, niezależnie od natężenia napromienienia kwantowego.

Obecność 0,3 mg IBA·dm⁻³ w pożywce stałej wpływa najkorzystniej na jakość (liczbę i długość) oraz świeżą masę korzeni klonu petunii ogrodowej 42F bez względu na natężenie napromienienia kwantowego. Pożywka płynna z perlitem oraz IBA okazała się mniej korzystna dla ukorzeniania pędów petunii ogrodowej. U *Bambusa vulgaris* natomiast pożywka płynna z IBA (0,49 μmol) dała dobre efekty ukorzeniania, zwłaszcza gdy zmniejszono o połowę koncentrację soli w pożywce MS [ROUT, DAS 1997].

Spektrum i intensywność światła wpływały na ukorzenianie i wigor roślin ziemiaka na pożywkach bez auksyn [PENNAZIO, REDOLFI 1973]. Lepsze wyniki dawało ukorzenianie pędów przy natężeniu światła 4000 lx niż przy 2000 lx i zastosowaniu lamp fluorescencyjnych ze spektrum podobnym do światła dziennego, ale wzbogaconego o barwę czerwoną. Obecność 5 g agaru·dm⁻³ (w porównaniu z pożywką płynną) nie wpływała na liczbę ukorzenianych pędów, ale zmieniła wygląd korzeni. Ukorzenianie stymulowała obecność kwasu giberelinowego 0,1 mg GA₃·dm⁻³, szczególnie na pożywce agarowej.

Światło białe o natężeniu napromienienia kwantowego 12 μmol·m⁻²·s⁻¹ w porównaniu z innymi barwami światła korzystnie wpływało na jakość pędów i systemu korzeniowego petunii [WITOMSKA, ŁADYŻYŃSKA 2001]. Niniejsze badania wykazały, że natężenie napromienienia kwantowego 12 μmol·m⁻²·s⁻¹ lub 46 μmol·m⁻²·s⁻¹ nie ma wpływu na jakość systemu korzeniowego petunii na pożywce stałej w obecności IBA i IAA. Wyższe natężenie napromienienia kwantowego poprawia jakość systemu korzeniowego na pożywce stałej bez auksyn oraz na pożywce płynnej z perlitem w obecności IAA.

MICHAŁCZUK [2000] stwierdziła zróżnicowany wpływ jakości światła (barwy i natężenia napromienienia kwantowego) na ukorzenianie petunii w zależności od rodzaju eksplantatu. Światło białe o natężeniu napromienienia kwantowego 20 μmol·m⁻²·s⁻¹ lub 98 μmol·m⁻²·s⁻¹ nie wpływało na procent eksplantatów wytwarzających korzenie, niezależnie od rodzaju eksplantatu. Na liczbę korzeni zróżnicowanych przez eksplantat (na pożywce stałej bez auksyn) pozytywnie działało światło o natężeniu napromienienia kwantowego 98 μmol·m⁻²·s⁻¹ tylko w przypadku wierzchołków pędów. Światło o niższym natężeniu napromienienia kwantowego stymulowało natomiast długość oraz suchą masę korzeni u eksplantatów z wierzchołków pędów, a także liczbę korzeni, gdy eksplantatami były paki kątowe i podstawy pędu z kilkoma pąkami.

Biorąc pod uwagę wyniki niniejszej pracy byłoby celowym przeprowadzenie dalszych badań, porównujących zdolność do aklimatyzacji i wzrostu *in vivo* roślin petunii ogrodowej ukorzenionych na pożywce stałej i na pożywce płynnej z perlitem.

Wnioski

1. Najlepsze warunki do ukorzeniania pędów stwarza pożywka stała z 0,3 mg IBA·dm⁻³.

2. Natężenie napromienienia kwantowego nie ma wpływu na jakość systemu korzeniowego na pożywce stałej z auksynami.
3. Wyższe natężenie napromienienia kwantowego poprawia jakość systemu korzeniowego na pożywce stałej bez auksyn oraz na pożywce płynnej z perlitem w obecności IAA.

Literatura

- BOJARCZUK K. 1995. *Regeneracja wybranych gatunków i odmian różaneczników z sadzonek pędowych i z kultur in vitro*. Rozprawa habilitacyjna. Plantpress, Kraków: 112 ss.
- CHMIEL H. (red.) 2000. *Uprawa roślin ozdobnych*. PWRiL, Warszawa: 283.
- DĄBSKI M., KOZAK D. 1997. *Wpływ 2iP i IAA na regenerację pędów i korzeni Spathiphyllum cv. 'Svend Neilson' in vitro*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 449: 43–48.
- ECONOMOU A.S., READ P.E. 1987. *Light treatments to improve efficiency of in vitro propagation system*. Hort. Sci. 22: 751–754.
- LEMAŃSKA U., GABRYCZEWSKA E. 2000. *Rozmnażanie liliowca in vitro*. Zesz. Nauk. ISiK 7: 291–296.
- LUBOMSKI M. 1989. *Shoots multiplication and rooting of Hosta sieboldiana cv. Gold Standard using cultured shoot tips*. Acta Hort. 251: 223–228.
- MICHALCZUK B. 2000. *Wpływ jakości światła oraz eksplantatu na morfogenezę pędów petunii w kulturach in vitro*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 473: 177–184.
- MICHALCZUK B., MICHALCZUK L. 2000. *The effect of light quality on regeneration rate and plantlet development in transgenic petunia 'Revolution' (Surfinia Type)*. Acta Hort. 530: 397–401.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant. 15: 473–497.
- PENNAZIO S., REDOLFI P. 1973. *Factors affecting the culture in vitro of potato meristem tips*. Potato Res. 16: 20–29.
- RAO P.S., HANDRO W., HARADA H. 1973. *Hormonal control of differentiation of shoots, roots and embryos in leaf and stem cultures of Petunia inflata and Petunia hybrida*. Phys. Plant. 28: 458–463.
- ROUT G.R., DAS P. 1997. *In vitro plant regeneration via callogenesis and organogenesis in Bambusa vulgaris*. Biol. Plant. 39: 515–522.
- SAXENA C., SAMANTARAY S., ROUT G.R., DAS P. 2000. *Effect of auxins on in vitro rooting of Plumbago zeylanica: peroxidase activity as a marker for root induction*. Biol. Plant. 43: 121–124.
- WITOMSKA M., ŁADYŻYŃSKA K. 2001. *Wpływ jakości światła na ukorzenianie in vitro i jakość pędów petunii (Petunia hybrida Ursynia)*. Zesz. Nauk. AR w Krakowie 379: 193–197.

Słowa kluczowe: jakość światła, pożywka, auksyny, *Petunia hybrida* Grupa Ursynia, *in vitro*

Streszczenie

Badano wpływ natężenia napromienienia kwantowego światła białego ($12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ i $46 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), rodzaju pożywki (stała i płynna z perlitem), a także egzogennych auksyn na ukorzenianie *in vitro* pędów klonu petunii ogrodowej 42F. Wszystkie badane czynniki mają wpływ na rizogenezę. Najlepsze wyniki ukorzeniania pędów uzyskano na pożywce stałej z $0,3 \text{ mg IBA}\cdot\text{dm}^{-3}$. Natężenie napromienienia kwantowego nie ma wpływu na jakość systemu korzeniowego na pożywce stałej z auksynami. Wyższe natężenie napromienienia kwantowego poprawia jakość systemu korzeniowego petunii ogrodowej na pożywce stałej bez auksyn oraz na pożywce płynnej z perlitem w obecności IAA.

EFFECT OF LIGHT QUALITY, MEDIUM AND AUXINS ON RHIZOGENESIS *in vitro* OF *Petunia hybrida*

Maria Witomska, Karolina Ładyżyńska

Department of Ornamental Plants, Warsaw Agricultural University, Warszawa

Key words: light quality, medium, auxins, *Petunia hybrida* Ursynia Group, *in vitro*

Summary

Effect of white light quality ($12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ or $46 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), kind of medium (solid or liquid plus perlite) and exogenous auxins on rooting of *Petunia hybrida* (Ursynia Group, clone 42F) *in vitro* was investigated.

All the above factors affected rhizogenesis of petunia. The best shoot rooting occurred on the solid medium enriched with $0.3 \text{ mg IBA}\cdot\text{dm}^{-3}$. Light intensity showed no effect on the root system developed on solid medium at the presence of auxins. Higher quantum irradiance improved, however, root growth on the solid medium without auxins and on the liquid medium with perlite at the presence of IAA.

Dr Maria Witomska

Katedra Roślin Ozdobnych

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

ul. Nowoursynowska 166

02-787 WARSZAWA