

## WPLYW AUKSYN NA UKORZENIANIE MIKROSADZONEK I ADAPTACJĘ ROŚLIN *Nematanthus × hybridus* 'TROPICANA'

### CZĘŚĆ I

#### W KULTURZE *in vitro*

Alicja Świstowska, Danuta Kozak

Katedra Roślin Ozdobnych, Akademia Rolnicza w Lublinie

### Wstęp

*Nematanthus × hybridus* 'Tropicana' (*Gesneriaceae*) pochodzi z Brazylii. W stanie naturalnym jego łodygi płożą się lub zwieszają. Grube, ciemnozielone, błyszczące liście osadzone są na pędach naprzeciwlegle. Kwiaty wyrastają w pachwinach liści. *Nematanthus* rozmnaża się przez sadzonki wierzchołkowe i pędowe. W okresie od stycznia do maja w mieszaninie torfu i piasku w temperaturze 20–22°C sadzonki ukorzeniają się po 4–5 tygodniach. Zastosowanie metody rozmnażania *in vitro* w produkcji masowej pozwala na otrzymanie dużej liczby wolnych od chorób i szkodników roślin, o bardzo wyrównanym wzroście, w krótkim okresie czasu.

Pędy w kulturach *in vitro* ukorzeniają się w wyniku działania auksyny, która stymuluje powstawanie merystemów korzeni przybyszowych. KUKUŁCZANKA [1975] wykazała, że auksyny IAA (kwas indolilo-3-octowy) oraz NAA (kwas naftylo-1-octowy) w stężeniach 0,5; 1,0; 2,0 mg·dm<sup>-3</sup> wywarły znaczny wpływ na regenerację korzeni *Caladium hortulanum*. JOHANSON [1978] umieszczał wierzchołki pędów *Episcia cupreata* na pożywce MS z dodatkiem IAA lub NAA w stężeniach od 0,1 do 1,0 mg·dm<sup>-3</sup>. Na pożywce uzupełnionej IAA pędy nie ukorzeniały się, natomiast pod wpływem NAA korzenie tworzyły się w ciągu tygodnia. PODWYSZYŃSKA [1992a, 1992b] podaje, że pędy *Aglaonema* można ukorzenieć w ciągu 4–5 tygodni w obecności IBA (kwas indolilo-3-masłowy) w ilości 10,0 mg·dm<sup>-3</sup>. CHANG [1985] do ukorzenia *Saintpaulia* zaleca NAA w stężeniu 0,005–0,5 mg·dm<sup>-3</sup>. Natomiast CHEN i in. [1987] otrzymali dobrze ukorzone rośliny *Saintpaulia* po przeniesieniu pędów na pożywkę zawierającą 0,05–0,2 mg NAA·dm<sup>-3</sup> oraz kinetyna (KIN) 0,05–0,2 mg·dm<sup>-3</sup>.

Celem przeprowadzonej pracy było ustalenie optymalnej auksyny i jej stężenia do ukorzenia *in vitro* pędów *Nematanthus × hybridus* 'Tropicana'.

## Materiał i metody

Do doświadczenia pobrano pędy *Nematanthus × hybridus* z ustabilizowanej kultury *in vitro*. Pędy wykładano na pożywkę zawierającą makro- i mikroelementy według MURASHIGE i SKOOGA [1962] wzbogaconą o NaFeEDTA ( $40,3 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $170,0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), mezoinozytol ( $100,0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), tiaminę ( $0,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), pirydoksynę ( $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), glicynę ( $2,0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) i sacharozę ( $30,0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). Do pożywki dodano auksyny: IAA, IBA lub NAA w stężeniu: 5,0; 10,0; 20,0 lub  $40,0 \mu\text{M} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Kontrolę stanowiła pożywka bez auksyn. Całość doświadczenia obejmowała 15 kolb Erlenmeyera. W każdej kolbie umieszczono 15 pędów o średniej długości – 15,7 mm i średniej świeżej masie – 29,9 mg. Powtórzenie stanowił jeden pęd. Doświadczenie przeprowadzono w 3 seriach. Ogółem w doświadczeniu wykorzystano 675 pędów.

Kolby ustawiono w fitotronie w warunkach 16-godzinnego fotoperiodu i temperaturze  $22^\circ\text{C}$  w dzień i  $20^\circ\text{C}$  w nocy. Natężenie napromieniowania kwantowego wynosiło  $35 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  na poziomie kultur. Po 21 dniach ukorzenia pędów doświadczenie zakończono. Oceniono następujące cechy: liczbę korzeni (szt.), długość korzeni (mm), świeżą masę korzeni (mg), długość pędu głównego (mm).

Dane uzyskane z pomiarów każdej cechy poddano analizie statystycznej. Zastosowano metodę dwuczynnikowej analizy wariancji dla danych ortogonalnych. Istotność różnic między średnimi stwierdzono przy pomocy wielokrotnych przedziałów Tukey'a, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . W tabelach 1–4 przedstawiono wartości średnie uzyskane w trzech terminach doświadczenia.

## Wyniki

Korzenie powstawały na pędach rosnących na wszystkich badanych pożywkach. Zastosowane auksyny wpłynęły korzystnie na rizogenezę (tab. 1). Najwięcej korzeni uzyskano pod wpływem  $20,0$  i  $40,0 \mu\text{M}$  IBA  $\cdot \text{dm}^{-3}$  (10,23 szt. i 11,60 szt.) oraz przy dodatku do pożywki  $10,0 \mu\text{M}$  IAA  $\cdot \text{dm}^{-3}$  (11,32 szt.). Najmniejszą liczbę korzeni wytworzyły pędy rosnące w kombinacji kontrolnej oraz w obecności  $40,0 \mu\text{M}$  IAA  $\cdot \text{dm}^{-3}$  lub  $40,0 \mu\text{M}$  NAA  $\cdot \text{dm}^{-3}$ .

Tabela 1; Table 1

Wpływ auksyn na ukorzenie pędów (szt.) *Nematanthus × hybridus* 'Tropicana'

The effect of auxin on root regeneration by shoots *Nematanthus × hybridus* 'Tropicana'

Auksyna Auxin	Stężenie auksyny ( $\mu\text{M} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) Concentration of auxin ( $\mu\text{M} \cdot \text{dm}^{-3}$ )					Średnia Mean
	0	5	10	20	40	
IAA	4,21	7,90	11,32	9,01	5,21	7,53
IBA	4,21	8,31	9,10	10,23	11,60	8,69
NAA	4,21	7,93	6,54	9,33	6,03	6,81
Srednia; Mean	4,21	8,05	8,99	9,52	7,61	7,68
NIR; LSD (p = 0,05)						
Auksyna; Auxin			0,53			
Stężenie; Concentration			0,79			
Auksyna x stężenie; Auxin x concentration			1,72			

Stwierdzono istotny wpływ rodzaju auksyny oraz jej stężenia na długość korzeni (tab. 2). Najkorzystniejszy wpływ na wzrost wydłużeniowy korzeni wywierał NAA w stężeniach 5,0 i 10,0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  oraz IAA w stężeniu 10,0 i 40,0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Zaobserwowano, że NAA w ilości 20,0 i 40,0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  silnie hamował wzrost elongacyjny korzeni.

Tabela 2; Table 2

Długość korzeni *Nematanthus*  $\times$  *hybridus* 'Tropicana' (mm)  
w zależności od rodzaju i stężenia auksyny

Length of *Nematanthus*  $\times$  *hybridus* 'Tropicana' roots (mm)  
in relation to the type and concentration of auxin

Auksyna Auxin	Stężenie auksyny ( $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) Concentration of auxin ( $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ )					Średnia Mean
	0	5	10	20	40	
IAA	6,20	5,22	7,24	6,34	7,30	6,46
IBA	6,20	5,24	4,65	5,34	6,93	5,67
NAA	6,20	8,21	7,81	3,62	1,88	5,54
Srednia; Mean	6,20	6,22	6,57	5,10	5,37	5,89
NIR; LSD (p = 0,05)						
Auksyna; Auxin						0,32
Stężenie; Concentration						0,48
Auksyna x stężenie; Auxin x concentration						1,03

Auksyny wpłynęły stymulująco na przyrost świeżej masy korzeni badanych roślin (tab. 3). Największą świeżą masą charakteryzowały się korzenie powstające w obecności 5,0 i 20,0  $\mu\text{M}$  NAA  $\cdot\text{dm}^{-3}$  oraz na pożywce uzupełnionej 40,0  $\mu\text{M}$  IBA  $\cdot\text{dm}^{-3}$ . Korzenie uzyskane na pożywce kontrolnej osiągnęły najmniejszą świeżą masę (1,07 mg).

Obserwowano regenerację tkanki kalusowej u podstawy pędów. Kalus powstawał pod wpływem NAA zastosowanego we wszystkich badanych stężeniach.

Tabela 3; Table 3

Świeża masa korzeni *Nematanthus*  $\times$  *hybridus* 'Tropicana' (mg)  
w zależności od rodzaju i stężenia auksyny

Fresh weight of *Nematanthus*  $\times$  *hybridus* 'Tropicana' roots (mg)  
in relation to the type and concentration of auxin

Auksyna Auxin	Stężenie auksyny ( $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) Concentration of auxin ( $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ )					Średnia Mean
	0	5	10	20	40	
IAA	1,07	3,00	5,99	3,57	2,15	3,16
IBA	1,07	3,12	3,66	6,59	16,27	6,14
NAA	1,07	19,17	11,19	18,84	1,72	10,40
Srednia; Mean	1,07	8,43	6,95	9,67	6,72	6,57
NIR; LSD (p = 0,05)						
Auksyna; Auxin						0,88
Stężenie; Concentration						1,32
Auksyna x stężenie; Auxin x concentration						2,87

Obserwowano wpływ auksyn na wzrost pędu głównego (tab. 4). Największą długością charakteryzowały się pędy uzyskane na pożywce z dodatkiem  $10,0 \mu\text{M}$  IAA·dm<sup>-3</sup> (20,90 mm) oraz w obecności  $20,0\text{--}40,0 \mu\text{M}$  IBA·dm<sup>-3</sup> (20,28 mm i 21,30 mm). NAA w ilości  $40,0 \mu\text{M}$ ·dm<sup>-3</sup> wykazywał silny hamujący wpływ na wydłużanie pędów (16,77 mm).

Tabela 4; Table 4

Długość pędu głównego *Nematanthus hyb.* 'Tropicana' (mm)  
w zależności od rodzaju i stężenia auksyny

Main shoot length of *Nematanthus hyb.* 'Tropicana' (mm)  
in relation to the type and concentration of auxin

Auksyna Auxin	Stężenie auksyny ( $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) Concentration of auxin ( $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ )					Średnia Mean
	0	5	10	20	40	
IAA	17,52	19,91	20,90	19,63	17,81	19,15
IBA	17,52	18,09	19,83	20,28	21,30	19,40
NAA	17,52	18,99	18,11	18,12	16,77	17,90
Srednia; Mean	17,52	19,00	19,61	19,34	18,62	18,82
NIR; LSD ( $p = 0,05$ ) Auksyna; Auxin Stężenie; Concentration Auksyna x stężenie; Auxin x concentration						
						0,62
						0,94
						2,04

## Dyskusja

Wyniki otrzymane w przeprowadzonych doświadczeniach potwierdzają stymulujący wpływ auksyn na powstawanie korzeni przybyszowych na pędach. Najlepszą z zastosowanych auksyn okazał się kwas indolilo-3-masłowy (IBA). Wraz ze wzrostem stężenia tego związku rosła liczba i świeża masa korzeni, osiągając wartość najwyższą (11,60 szt. i 16,27 mg) przy  $40,0 \mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  tego związku. Podobnie DAŃSKI [2002] w swoich badaniach stwierdził, że wzrost stężenia IBA w pożywce (od  $2,5$  do  $20,0 \mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) wpłynął na zwiększenie liczby korzeni kolumnnej.

NAA wpłynął na powstanie korzeni o średnio największej świeżej masie (10,40 mg). Jednocześnie wzrost stężenia NAA ograniczył przyrost korzeni na długość. Stwierdzono, że pod wpływem NAA we wszystkich zastosowanych stężeniach, na pędach powstał kalus.

Auksyna o silnym działaniu, jaką jest NAA poprzez wywołanie nadmiernej podziałów komórkowych, wpłynęła na powstanie grubych, taśmowatych korzeni pokrytych tkanką kalusową. Według ALDERSONA i in. [1987] korzenie *Prunus tenella* 'Firehill', które powstały na pożywce z dodatkiem NAA były pogrubione i pokryte kalusem. Korzenie pochodzące z pożywki kontrolnej lub z dodatkiem IBA – były cienkie i normalne. HAUZIŃSKA [1975] stwierdziła, że wzrost stężenia NAA w pożywce nie przyspiesza ukorzeniania pędów goździków i chryzantem, ale wywołuje powstawanie kalusa u podstawy pędu. Rozwój tkanki kalusowej uniemożliwia regenerację korzeni, a także utrudnia pobieranie soli mineralnych z pożywki, a to doprowadza do zasychania pędów. Ta sama autorka [HAUZIŃSKA 1976] podaje, że auksyny wpływają korzystnie na tworzenie korzeni u *Anthurium cultorum*. Regenerujące pąki pędowe wytwarzały długie i silne korzenie. Wyższe

stężenia NAA wpływały na powstawanie korzeni i kalusa u podstawy pędu. Przy bardzo wysokich stężeniach wzrost korzeni i całej rośliny był zahamowany.

### Wnioski

1. Auksyny: IAA, IBA i NAA w stężeniach: 5,0; 10,0; 20,0 i 40,0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  wpływają na ukorzenianie pędów oraz na cechy morfologiczne części nadziemnej *Nematanthus hyb. 'Tropicana'* w warunkach kultur sterylnych.
2. Kwas indolilo-3-masłowy (IBA) w stężeniach 10,0–40,0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  wpłynął na powstanie największej liczby korzeni przybyszowych o średniej długości i masie.
3. Kwas naftylo-1-octowy (NAA) spowodował silny przyrost świeżej masy korzeni, a jednocześnie stymulował rozwój tkanki kalusowej.
4. Pożywka MS [1962] z dodatkiem 20,0–40,0  $\mu\text{M}$  IBA  $\cdot\text{dm}^{-3}$  wpłynęła najkorzystniej na ukorzenianie oraz rozwój części nadziemnej mikrosadzonek *nematantusa* odm. 'Tropicana'.

### Literatura

- ALDERSON P.G., HARBOUR M.A., PATIENCE P.A. 1987. *Micropropagation of Prunus tenebrosa cv. Firehill*. Acta Hort. 212: 463–468.
- CIANG J.S. 1985. *In vitro propagation of Saintpaulia ionantha Wendl.* Plant Physiology Communications (Zhiwu Senglixue Tongxun) 5: 34–36, za Hort. Abstracts 1987, 3, 2024.
- CHEN Y.C., LU X.H., LI H.Z. 1987. *The effect of some growth regulators on pathways of morphogenesis in a somatic culture of Saintpaulia ionantha*. Acta Hort. Sinica 14(1): 57–61.
- DĄBSKI M. 2002. *Badania nad ukorzenianiem mikrosadzonek wybranych gatunków roślin ozdobnych*. Rozpr. Nauk. AR w Lublinie 262.
- HAUZIŃSKA E. 1975. *Mikrorozmnażanie in vitro goździków i chryzantem*. Ogrodnictwo 5: 171–174.
- HAUZIŃSKA E. 1976. *Kultury in vitro jedną z metod rozmnażania wegetatywnego Anthurium cultorum Lind.* Ogrodnictwo 9: 242–244.
- JOHANSON B.B. 1978. *In vitro propagation of Episcia cupreata*. HortScience 13(5): 596.
- KUKUŁCZANKA K. 1975. *Sterowana regeneracja Anthurium andreanum i Caladium hortulanum in vitro*. Ogrodnictwo 5: 138–140.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture*. Physiol. Plant. 15: 473–497.
- PODWYSZYŃSKA M. 1992a. *Mikrorozmnażanie aglaonemy*. Ogrodnictwo 2: 27–28.
- PODWYSZYŃSKA M. 1992b. *In vitro propagation of Aglaonema sp.* Folia Hort. IV/1: 105–114.

**Słowa kluczowe:** auksyny, ukorzenianie pędów *in vitro*, *Nematanthus* × *hybridus* 'Tropicana'

### Streszczenie

Badano wpływ IAA, IBA i NAA w stężeniach: 5,0; 10,0; 20,0 i 40,0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  na ukorzenianie pędów *Nematanthus* × *hybridus* 'Tropicana' *in vitro*. Kombinację kontrolną stanowiła pożywka podstawowa bez auksyn. Zastosowano pożywkę MURASHIGE i SKOOGA [1962]. Auksyny wpływały istotnie na liczbę, wzrost wydłużeniowy oraz świeżą masę korzeni. Najlepszą rizogenezę (10,23–11,60 szt.) obserwowano na pożywkach zawierających 20,0–40,0  $\mu\text{M}$  IBA·dm<sup>-3</sup> lub 10,0  $\mu\text{M}$  IAA·dm<sup>-3</sup>. Korzenie o największej długości i świeżej masie uzyskano w obecności 5,0  $\mu\text{M}$  NAA·dm<sup>-3</sup> (8,21 mm i 19,17 mg). Auksyna ta wpłynęła również na powstawanie tkanki kalusowej u podstawy pędów. Najlepszy wzrost mikrosadzonek obserwowano na pożywce zawierającej 40,0  $\mu\text{M}$  IBA·dm<sup>-3</sup>.

## THE INFLUENCE OF AUXINS ON THE ROOTING OF MICROCUTTINGS AND ACCLIMATIZATION OF PLANTS OF *Nematanthus* × *hybridus* 'TROPICANA'

### PART I

#### *In vitro* CULTURE

Alicja Świstowska, Danuta Kozak

Department of Ornamental Plants, Agricultural University, Lublin

**Key words:** auxin, rooting *in vitro*, *Nematanthus* × *hybridus* 'Tropicana'

### Summary

The effect of IAA, IBA and NAA at the concentrations: of 5.0, 10.0, 20.0 and 40.0  $\mu\text{M}\cdot\text{dm}^{-3}$  on the rooting of *Nematanthus* × *hybridus* 'Tropicana' shoots was investigated. Shoots incubated on the medium without auxins were the control. Murashige and Skoog medium was used in the experiment. The significant influence of auxins on the number, elongation and fresh weight of roots was observed. The best formation of roots (10.23–11.60) was obtained on the media containing 20.0–40.0  $\mu\text{M}$  IBA·dm<sup>-3</sup> or 10.0  $\mu\text{M}$  IAA·dm<sup>-3</sup>. On the medium with 5.0  $\mu\text{M}$  NAA·dm<sup>-3</sup> the roots were characterized by the biggest length (8.21 mm) and fresh weight (19.17 mg). This auxin caused regeneration of callus at the base of the shoots. The best growth of microcuttings was achieved on the medium supplemented with 40.0  $\mu\text{M}$  IBA·dm<sup>-3</sup>.

Dr Alicja Świstowska  
Katedra Roślin Ozdobnych  
Akademia Rolnicza  
ul. Leszczyńskiego 58  
20-068 LUBLIN  
e-mail: dkozak@autograf.pl