

## WPLYW AUKSYN I WĘGLA AKTYWNEGO NA UKORZENIANIE GERBERY IN VITRO

*Piotr Szulc, Janina Rogozińska*

Katedra Fizjologii Roślin, Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy

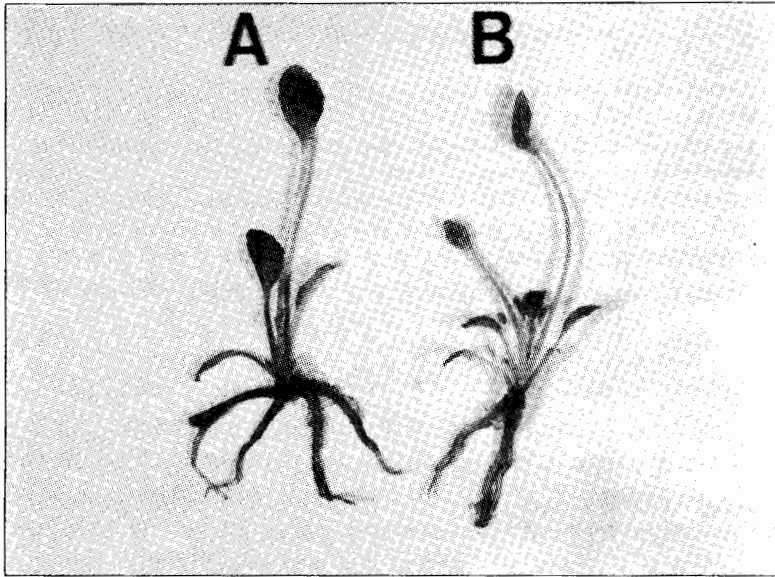
### WSTĘP

Indukcja ryzogenezы i stymulacja wzrostu korzeni w kulturach in vitro zależy od obecności auksyn w pożywce, przy czym procesy te mogą być modyfikowane przez dodanie węgla aktywnego [7]. Znane jest dodawanie węgla aktywnego (WA) do pożywek gdyż wywołuje on poza tym korzystny wpływ na kultury pylnikowe, somatyczną embriogenezę, kiełkowanie nasion i inne procesy [5]. WA ma istotny wpływ na wiele aspektów regeneracji in vitro, a efekty jego przypisywane były różnym czynnikom jak adsorpcji regulatorów wzrostu, zanieczyszczeń agarowych, związków toksycznych i fenoli produkowanych przez tkanki [4]. Ponadto wykazano, że katalizuje on hydrolizę sacharozy w czasie autoklawowania pożywki wpływając na jej skład [3]. Wielorakie właściwości WA skłoniły nas do przebadania możliwości wykorzystania tego związku w regulacji ukorzenia mikrosadzonek gerbery.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny stanowiły mikrosadzonki trzech odmian Gerbery jamesonii Bolus: 'Monaco', 'King' i 'Marleen' namnażane w warunkach in vitro. Stosowano pożywkę Murashige i Skoog'a [6] zawierającą kombinację auksyn lub kombinację auksyn z węglem aktywnym [IBA (kwas indolilo-3-maslowy) oraz IBA w kombinacji z IAA (kwas indolilo-3-octowy) lub NAA (kwas naftylo-1-octowy)]. Stężenie auksyn i węgla aktywnego podano na rysunku 1 i 2.

Każda kombinacja obejmowała 4 sloje zawierające po 15 mikrosadzonek ( $\Sigma = 60$ ) z których wybierano losowo 24, dla określenia wartości badanych parametrów. Mikrosadzonki inkubowano przez 21 dni w fitotronie, temp.  $22^{\circ}\text{C} \pm 3$ , fotoperiod 16h, natężenie światła 1500 lx. Źródło światła stanowiły świetlówki Philips'a TLD 36 W/33 produkcji holenderskiej. Określano liczbę i długość korzeni (które poddano statystycznej ocenie istotności wyników metodą analizy wariancji) oraz % ukorzenionych mikrosadzonek i świeżą masę korzeni.



Rysunek 1. Wpływ auksyn w kombinacji z węglem aktywnym na ukorzenianie mikrosadzonek gerbery cv. 'Marleen' w kulturach in vitro: A – 2.5 mg/l IBA + 0.2 mg/l IAA,  
B – 2.5 mg/l IBA + 0.2 mg/l IAA + 100 mg/l WA

Figure 1. The effect of auxins and activated charcoal on the rooting of microcuttings of gerbera cv. 'Marleen' in in vitro culture: A – 2.5 mg/l IBA + 0.2 mg/l IAA,  
B – 2.5 mg/l IBA + 0.2 mg/l IAA + 100 mg/l WA

## WYNIKI

Określono wpływ auksyn i ich kombinacji z węglem aktywnym dla optymalizacji mikrorozmnażania trzech odmian gerbery.

Liczba utworzonych na mikrosadzonkach korzeni była zależna od obecności auksyn i WA w pożywce (rysunek 1, 2A). U odmian 'Monaco' i 'King' nastąpiło znaczne zahamowanie ich powstawania w obecności WA. Obniżenie liczby korzeni występujące na pożywce zawierającej IBA w kombinacji z NAA było statystycznie istotne zwłaszcza w obecności WA. Liczba korzeni była wyższa przy wzrastających stężeniach IBA w kombinacji z IAA u cv. 'Monaco', nieco mniejsza u cv. 'King' a najmniejsza u cv. 'Marleen'. WA miał hamujący wpływ na liczbę korzeni u wszystkich badanych odmian.

Długość korzeni wynosiła u cv. 'Monaco' 20-40 mm, a WA znacznie stymulował ich wydłużanie (rysunek 2B). U cv. 'King' długość wynosiła ok. 20 mm przy czym stymulacja ich długości przez WA była nieznaczna. U cv. 'Marleen' korzenie nie przekraczały długości 20 mm i wpływu WA na ich wydłużanie nie stwierdzono. IBA w kombinacji z NAA miał wpływ stymulujący na długość korzeni wyłącznie u cv. 'Marleen' przy czym WA wywierał efekt hamujący. Wzrost korzeni hamowany był przez kombinację IBA + IAA u cvs. 'Monaco' i 'King' a stymulowany u cv.

'Marleen'. Tak więc dodanie WA wpływało korzystnie na wydłużanie korzeni zwłaszcza u cvs. 'Monaco' i 'King' a negatywnie u cv. 'Marleen', co udowodniono statystycznie (z wyjątkiem stężenia 1 mg/l IBA + 0.2 mg/l IAA).

Procent ukorzenionych mikrosadzonek na pożywce z IBA, jak i w kombinacji IBA + WA wynosił 80-100 u cvs. 'Monaco' i 'King' a nieco niższy był u cv. 'Marleen' (rysunek 2C). Dodanie NAA do pożywki zawierającej IBA nieznacznie hamowało ukorzenianie mikrosadzonek przy czym dodatek WA nie miał większego wpływu. Zastąpienie NAA przez IAA w kombinacji z IBA wywierało podobny wpływ.

Świeża masa korzeni u cvs. 'Monaco' i 'King' była obniżona pod wpływem WA w obecności IBA, przy czym u cv. 'Marleen' wpływ ten był dość zróżnicowany w zależności od stężenia auksyny (rysunek 2D). IBA w kombinacji z NAA stymulował przyrost świeżej masy u trzech badanych odmian przy czym hamujący wpływ WA był podobny jak w przypadku stosowania pożywki zawierającej tylko IBA. Przyrost świeżej masy korzeni stymulowany był przez kombinację IBA+IAA u wszystkich badanych odmian a obecność WA miała wpływ hamujący, u cv. 'Marleen' był on najmniejszy.

Przeprowadzone badania wykazały, że tworzenie korzeni u wszystkich odmian stymulowane było przez badane auksyny a świeża masa korzeni zwłaszcza u cvs. 'Monaco' i 'King'. Dodanie WA miało wpływ na badane parametry jednak ten wpływ był zróżnicowany w zależności od odmiany. Różnice międzyodmianowe w ryzogenezie mogą być prawdopodobnie spowodowane genetycznie uwarunkowanym poziomem endogennych hormonów. Stosując odpowiednie stężenia auksyn i węgla aktywnego można uzyskać mikrosadzonki gerberzy o określonej liczbie i długości korzeni, co ma znaczenie praktyczne.

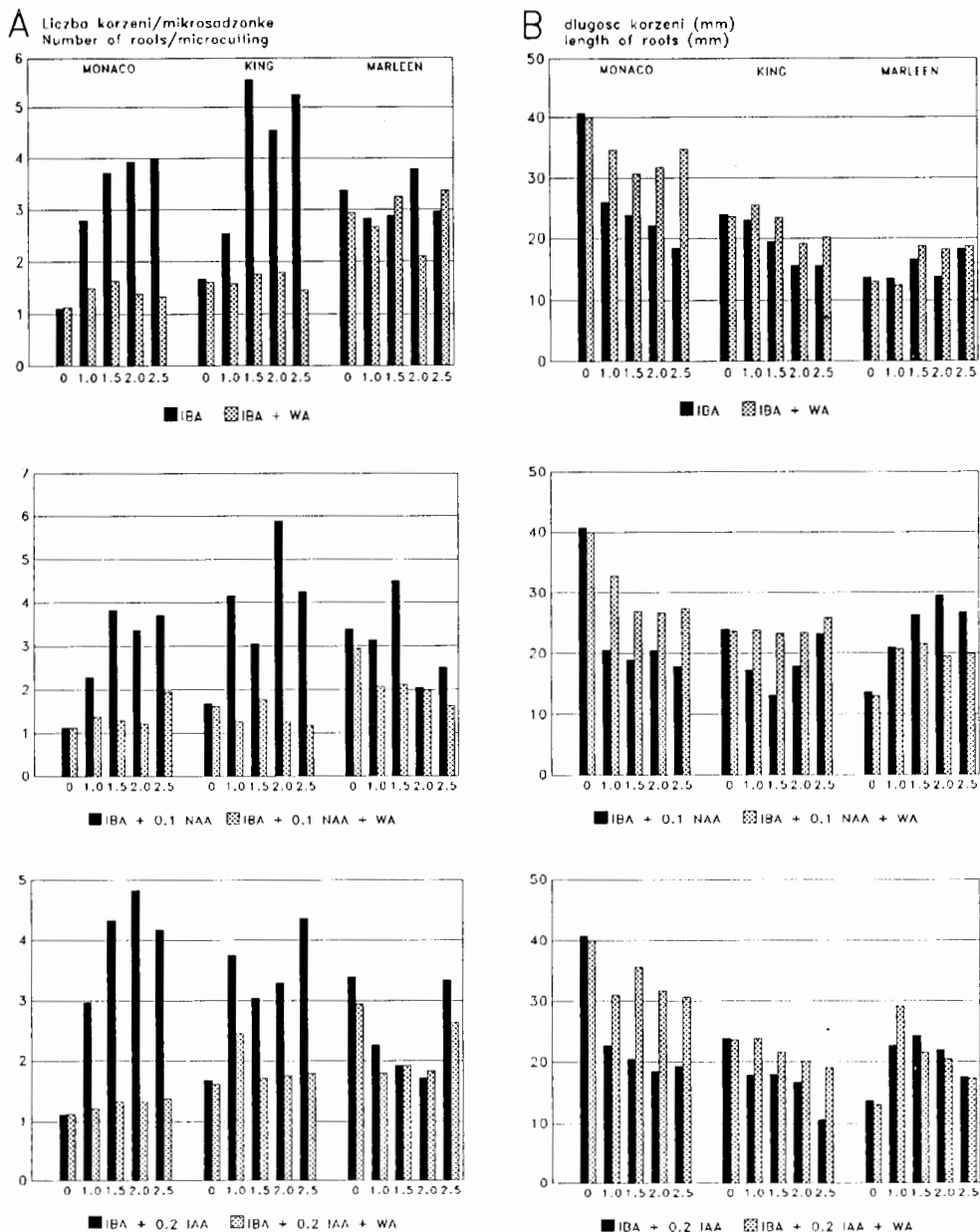
## DYSKUSJA

W badaniach nad mikrorozmnażaniem gatunku *Gerbera jamesonii* Bolus, Chien-Young Chu i in. [2] stwierdzili, że u cv. 'Super Giant Yellow' wzrost stężenia IAA powyżej 5 mg/l stymulował proces ukorzeniania mikrosadzonek.

Natomiast u cv. 'Cleopatra', auksyny (IAA, IBA, NAA) stymulowały proces ukorzeniania już przy stężeniu 0.1 mg/l. Wraz ze wzrostem ich stężenia (0.5-5.0 mg/l) obserwowano znaczne skrócenie długości korzeni, a zwiększenie ich liczby [1].

Wyniki przedstawione w niniejszej pracy wykazały, że ukorzenianie badanych mikrosadzonek było również zróżnicowane w zależności od odmiany, rodzaju pożywki (z WA i bez) i stężenia stosowanych auksyn (rysunek 2A-D). U cvs. 'Monaco' i 'King' podobnie jak u cv. 'Cleopatra' [1] długość korzeni zależała od obecności IBA i wraz ze wzrostem stężenia korzenie były coraz krótsze ale liczniejsz.

W zależności od stosowanej technologii uprawy gerberzy w warunkach *in vivo*, pożądane jest uzyskanie w warunkach *in vitro* mikrosadzonek o odpowiednim pokroju. Sadzonki o krótkich i grubych korzeniach przeznacza się do ręcznego sadzenia

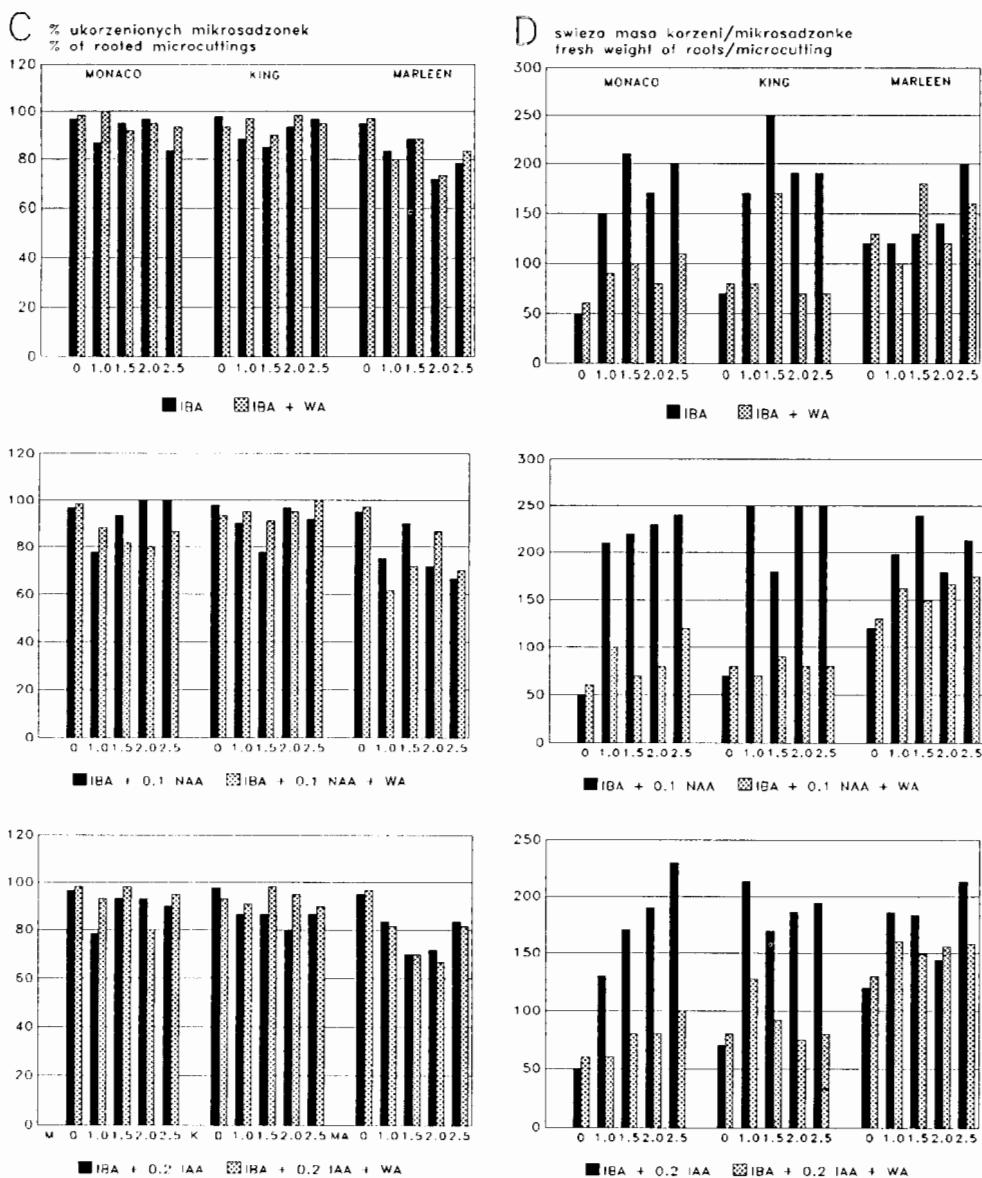


Rysunek 2. Wpływ auksyn i węgla aktywnego na ukorzenianie mikrosadzonek 3 odmian gerbery:  
A – liczba korzeni, B – długość korzeni

$NUR_{0,01}$  dla czynników wpływających na liczbę i długość korzeni [odmiana, rodzaj  
pożywki (+/- WA), stężenie auksyn] – wartości istotne

Figure 2. The effect of auxins and activated charcoal on the rootings of 3 gerbera cultivars:  
A – number of roots, B – length of roots

$LSD_{0,01}$  for the factors influencing on number and length of the roots [cultivars, kind  
of the medium (+/- WA), auxins concentration] – significant values



Rysunek 2. C – % uкорzenionych mikrosadzonek D – świeża masa korzeni  
 Figure 2. C – % of rooted microcuttings D – fresh weight of roots

w podłoże torfowe. Jak wykazano w przeprowadzonych doświadczeniach, IBA w kombinacji z NAA lub IAA wpływał na wytwarzanie krótszych a grubszych korzeni u dwu badanych odmian 'Monaco' i 'King'.

Do pożywek dla kultur *in vitro* dodaje się niekiedy węgiel aktywny który może być czynnikiem modyfikującym proces ukorzenia [7]. WA hamował tworzenie korzeni na siewkach *Anemone* oraz na pędach gruszy i brzoskwini a indukował ryzogenezę u cebuli [5,7].

Jak wykazano w niniejszej pracy dodanie WA do pożywki zawierającej IBA w kombinacji z NAA również wpływało na modyfikację procesu ukorzenia mikrosadzonek badanych odmian gerbery – redukcja liczby korzeni, ale były one dłuższe. Zjawisko to jest pożądane przy stosowaniu automatyzacji technologii sadzenia gerbery w wełnę mineralną. Podobny efekt uzyskano u cvs. 'Monaco' i 'King' dodając WA do kombinacji auksyn (IBA + IAA). Ponadto, w wyniku przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że dodanie WA do pożywki zawierającej różne auksyny powodowało obniżenie świeżej masy korzeni mikrosadzonek badanych odmian.

Przeprowadzone badania wskazują na możliwość modyfikacji procesu ukorzenia mikrosadzonek gerbery przez stosowanie pożywek zawierających różne kombinacje auksyn lub auksyn z węglem aktywnym.

#### PODZIĘKOWANIE

*Panu dr L. Cetnarowskiemu składamy podziękowanie za umożliwienie wykonania części doświadczalnej pracy w Laboratorium Kultur Tkankowych-Vitroflora w Łochowie k/Bydgoszczy.*

#### LITERATURA

1. Bong-Hee Han, Kee-Yoeup Paek, Choi-Joo Kyen. (1990). Micropropagation of gerbera (*Gerbera hybrida* Hort) through shoot tip culture *in vitro* and soil adjustment. Korean. J. Plant Tissue Culture, 17, 33-40.
2. Chien-Young Chu, Min-Chang Huang. (1983). *In vitro* formation of gerbera (*Gerbera hybrida* Hort) plantlets through excised scape culture. J. Japan Soc. Hort. Sci., 52, 2, 45-50.
3. Druart Ph., De Wulf O. (1993). Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving. Plant Cell Tissue Organ Cult., 32, 97-99.
4. Ebert A., Taylor F., Blake J. (1993). Changes of 6-benzyl-aminopurine and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. Plant Cell Tissue Organ Cult., 33, 157-162.
5. Mensuali-Sodi A., Panizza M., Serra G., Tognoni F. (1993). Involvement of activated charcoal in the modulation of abiotic and biotic ethylene levels in tissue cultures. Scientia Hort., 54, 49-58.
6. Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15, 473-497.
7. Wang Q. (1991). Factors affecting rooting of microcuttings of the pear rootstock BP 10030. Scientia Hort., 45, 209-213.

## STRESZCZENIE

Wykazano wpływ auksyn i ich kombinacji z węglem aktywnym na liczbę korzeni, długość, % ukorzenia mikrosadzonek i świeżą masę korzeni. Przedstawiono możliwość zarówno stymulacji ukorzenia, jak i hamowania tego procesu a więc adaptacji do technologii uprawy. Procesy te są uzależnione od odmiany, rodzaju pożywki (z WA i bez) oraz stężenia auksyn.

## THE EFFECT OF AUXINS AND ACTIVATED CHARCOAL ON THE ROOTING OF GERBERA IN VITRO

P. Szulc, J. Rogozińska

Department of Plant Physiology, University of Technology and Agriculture in Bydgoszcz

## S u m m a r y

The effect of auxins and their combinations with activated charcoal on the number of roots, their length, percentage of microcuttings rooting and root fresh weight was determined. The possibility of rooting stimulation and inhibition of this process and adaptation to the technology of cultivation were shown in this paper. These processes depend on the cultivar, kind of medium (+/- WA) and auxin concentration.

Prof. dr hab. Janina Rogozińska  
Katedra Fizjologii Roślin  
Akademia Techniczno-Rolnicza  
ul. Bernardyńska 6  
85-029 Bydgoszcz