

JACEK ZAKRZEWSKI, WOJCIECH GIL

Wpływ chemizacji podłoża na przejawy polarności fizjologicznej w ukorzenianiu pędów topoli *Populus x canadensis* "Robusta". Inicjacja i rozwój korzeni przybyszowych

The Influence of Substrate Chemization on Physiological Polarity Symptoms at Rooting of *Populus canadensis* 'Robusta' Poplar Shoots.
Initiation and Development of Adventitious Roots

Wstęp

Rośliny wyższe mają wyraźnie zaznaczoną oś podłużną, która zróżnicowana jest na dwie odmienne funkcjonalnie i strukturalnie części — pęd i korzeń. To zjawisko biegunowości uwidacznia się zarówno w różnicach morfologicznych, jak i fizjologicznych. Według Wareinga i Philipasa (12) do najważniejszych różnic należą: polarny transport auksyn oraz biegunowa regeneracja pąków i korzeni, odpowiednio w górnym i dolnym końcu zrzesu pędowego lub korzeniowego. Odwrócenie zrzesów o 180° nie zmienia tej tendencji. Sądzi się, że biegunowość tkanek łodygi i korzenia jest stanem dosyć trwałym i trudno odwracalnym, zachowywanym nawet w okresie spoczynku komórki i jest odbiciem spolaryzowania poszczególnych komórek.

W roślinie auksyna jest produkowana przez pąki, rosnące pędy i liście i transportowana polarnie do korzeni, wywołując tworzenie zawiązków korzeni w komórkach kalusa lub tkanek dolnej strefy pędu. Taki transport bazypetalny auksyn zachodzi we wszystkich organach pędu wegetatywnego. Zjawisko to opisano w wielu doświadczeniach na krótkich segmentach koleoptyli owsa (4,13). Dostępność znakowanej auksyny pozwoliła na bardziej precyzyjne badania, które dowiodły, że transport hormonu nie ma charakteru wyłącznie biegunowego, gdyż auksyna niekiedy przemieszcza się zarówno w kierunku akropetalnym jak i bazypetalnym (12), jednak szybkość transportu akropetalnego jest dużo mniejsza: 0,1 do 0,2 cm × h⁻¹ przy 0,5 do 1,5 cm × h⁻¹ dla transportu bazypetalnego. Doświadczenia na segmentach hypokotyli słonecznika (*Heliathus annuus*) dowiodły, że polarność transportu (stosunek transportu bazypetalnego do akropetalnego) wzrasta wraz z długością badanego

odcinka (12). Sugeruje to, że niewielki biegunowy transport auksyny ma miejsce w każdej komórce, oraz że kiedy auksyna przemieszcza się wzdłuż organu przez zgrupowanie komórek, zachodzi amplifikacja poszczególnych niewielkich wartości polarności transportu. Wpływ długości odcinków pędu na tworzenie się korzeni przybyszowych stwierdzono w doświadczeniach na grochu (11) i na topoli (15). Czynniki środowiskowe, takie jak: światło, temperatura, wilgotność podłoża i powietrza, dostęp tlenu, wartość czynnika pH, obecność środków chemicznych, w podłożu i in., modułują poziom, ruch i rozmieszczenie hormonów w roślinie, a w następstwie mogą istotnie wpływać na procesy fizjologiczne im podlegające, w tym również na rizogenezę, na przykład podwyższenie temperatury z 18°C do 25°C wzmagą transport bazypetalny i nie ma większego wpływu na akropetalne przemieszczanie się auksyny (16).

Na ukorzenie się sadzonek mają wpływ substancje chemiczne zawarte w glebie oraz w atmosferze. Efekt ukorzenia zależy w dużej mierze od rodzaju substancji przyjmowanych przez rośliny mateczne i pędy z nich pobrane (2,9). Rosnące zanieczyszczenie środowiska życia drzew może więc powodować zmiany w regulacji morfogenezy roślin.

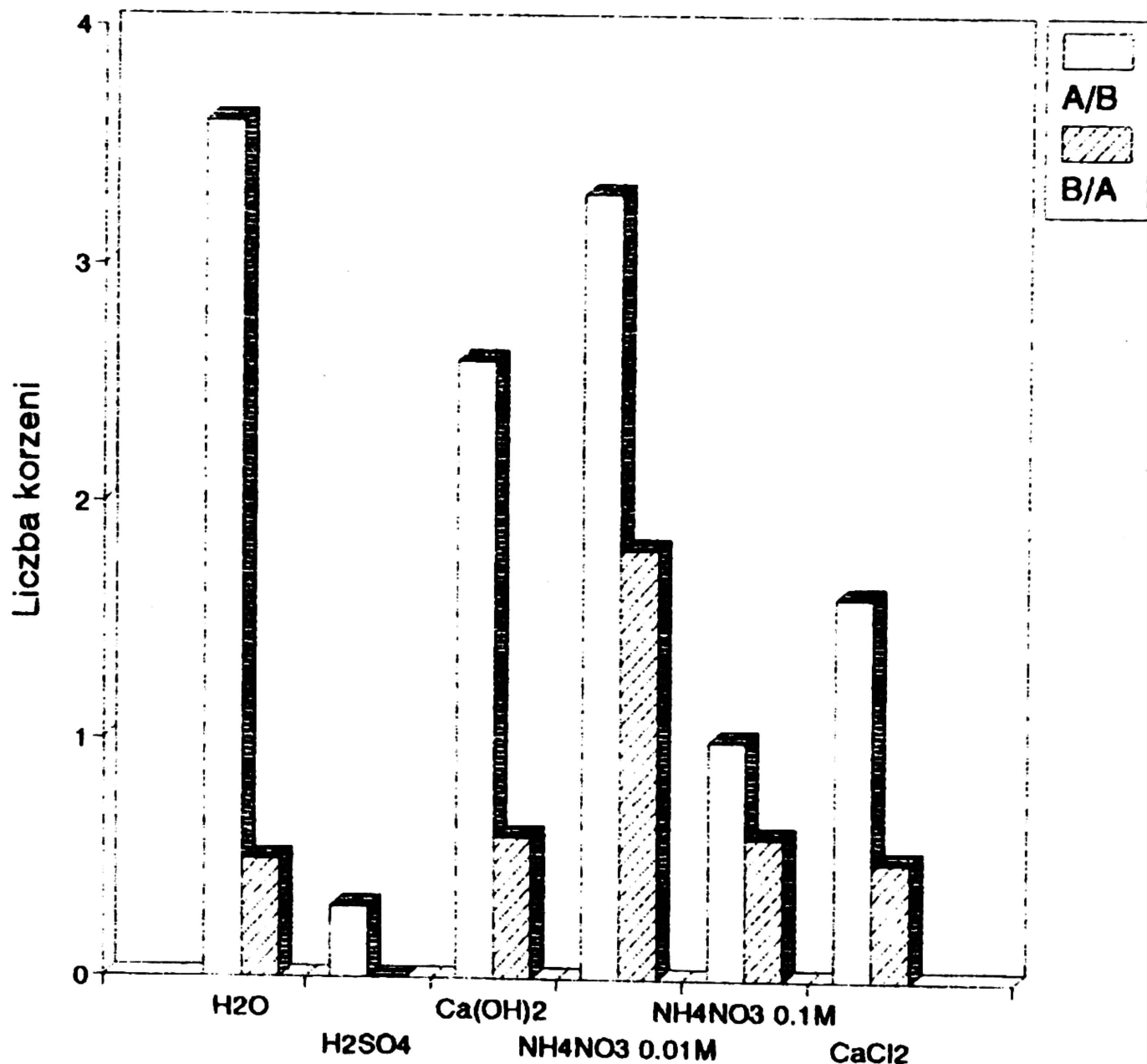
Zakres tolerancji i możliwości przystosowania się drzew leśnych do postępującej antropopresji są wciąż mało poznane. Wzrost oddziaływania przemysłu i urbanizacji na lasy, stwarza konieczność podejmowania wysiłków w kierunku poznania mechanizmów działania szkodliwych substancji. Może to w niedalekiej przyszłości warunkować przeżywanie poszczególnych gatunków drzew i stanowić podstawę do otrzymania genotypów o dużej tolerancji na zanieczyszczenia. Innym sposobem wykorzystania wyników tych doświadczeń może być stworzenie nowej metody bioindykacji — przy użyciu gatunku o dobrze znanych reakcjach na polutanty.

Materiał i metodyka badań

Badania przeprowadzono w 1991 roku w szklarni na terenie Arboretum Leśnego Zakładu Doświadczalnego w Rogowie, w warunkach symulowanej chemizacji podłoża glebowego w następujących kombinacjach: zasiarczenie kwasem siarkowym H_2SO_4 , alkalizacja wodorotlenkiem wapnia $Ca(OH)_2$, nawożenie azotanem amonu NH_4NO_3 , dodanie chlorku wapnia $CaCl_2$ i próba kontrolna H_2O . Do badań wykorzystano *Populus x canadensis* 'Robusta' — odmianę łatwo regenerującą system korzeniowy i stanowiącą tym samym dobry materiał do doświadczeń. Pędy topoli pozyskiwane były w szkółce zadrzewieniowej w Wągrach koło Koluszek przed rozpoczęciem sezonu wegetacyjnego i przechowywane do rozpoczęcia doświadczeń w chłodnej piwnicy. Z każdego pędu odcięto część wierzchołkową i bazalną, a środkową część pędów, ok. 1 cm grubości i z równomiernie rozmieszczonymi węzłami, podzielono na zrzesy w czterech wariantach długości: 4, 8, 16 i 32 cm.

Do przygotowania podłoża użyto sterylne go piasku różnoziarnistego z niewielką domieszką części spławialnych. Piasek umieszczono w podłużnych plastikowych skrzynkach o wymiarach 45x30 cm. Na 6 części wysuszonego piasku dodawano 1 część (w stosunku objętościowym) wody lub roztworu wymienionych substancji w stężeniach:

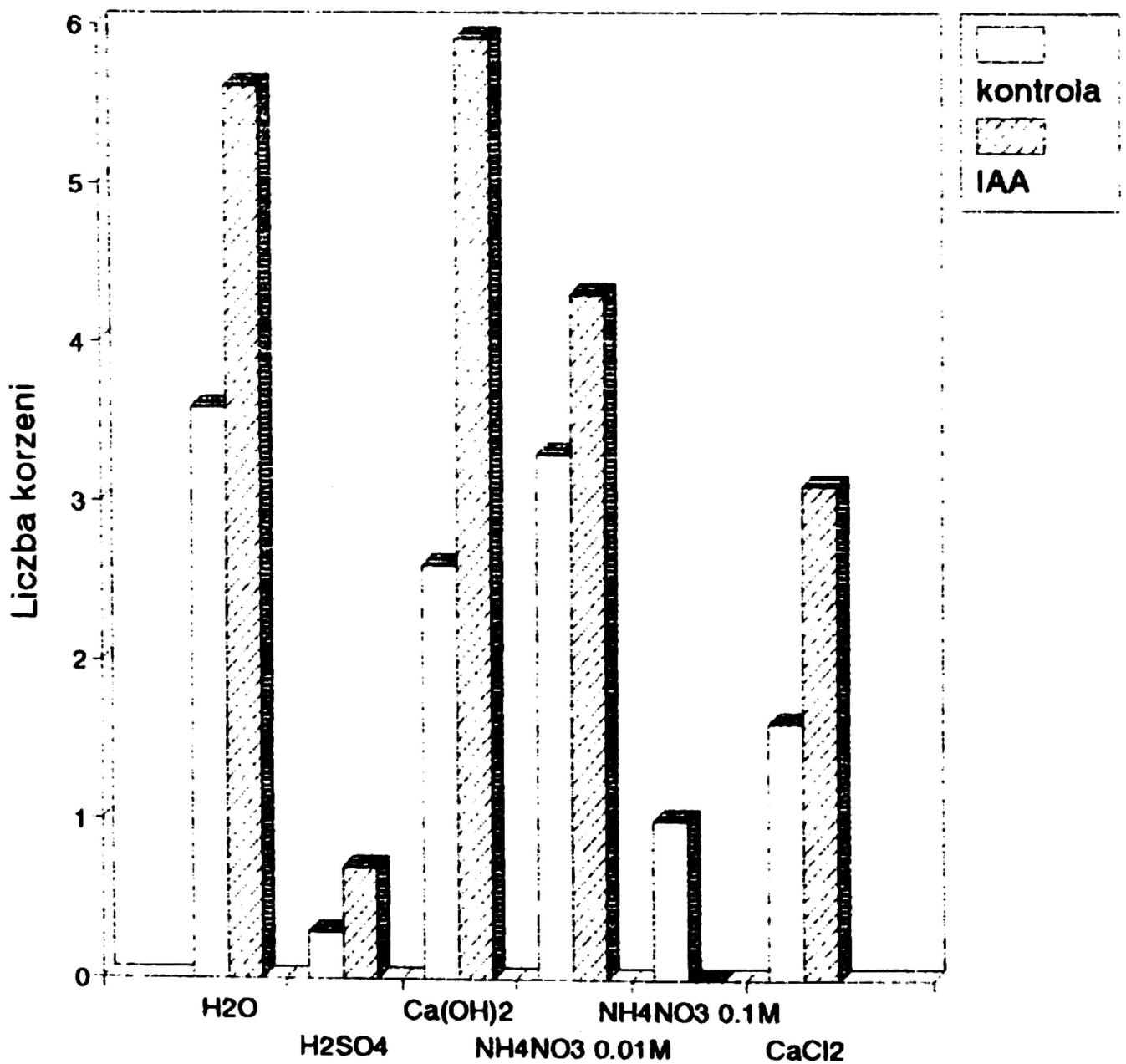
- a) H_2SO_4 — 0,1M
- b) $Ca(OH)_2$ — 0,1M



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

- c) NH₄NO₃ — 0,1 i 0,01M
d) CaCl₂ — 0,1M

Doświadczenie założono 25 kwietnia. Zrzesy sadzone były w przygotowanych skrzynkach z wilgotnym piaskiem na głębokość 4 cm (najkrótsze nie wystawały ponad powierzchnię podłoża). W każdej kombinacji sadzono 10 zrzesów końcem bazalnym do piasku i 10 końcem apikalnym. Otrzymane w ten sposób wyniki posłużyły do obliczenia współczynnika polarności "I" (miary spolaryzowania odcinka pędu) równego stosunkowi wartości cechy opisywanej na pędzie posadzonym końcem bazalnym do podłoża do analogicznej cechy na pędzie posadzonym odwrotnie. Jednocześnie dla każdej substancji założono doświadczenie z auksyną (IAA) — 10 zrzesów o długości 16 cm posadzonych do podłoża końcem bazalnym z przyłożoną auksyną na końcu apikalnym. W celu zabezpieczenia



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

auksyny przed zbyt szybkim rozłożeniem się pod wpływem światła i ewentualnym zmyciem podczas podlewania końce pędów przykrywano folią aluminiową. Łącznie wysadzono 540 zrzesów (6 kombinacji x 4 długości x 20 powtórzeń + 6 kombinacji x 10 powtórzeń z IAA). Tak przygotowane skrzynki umieszczone były na podgrzewanym od dołu parapecie, osłonięte od góry folią plastikową w celu utrzymania wysokiej wilgotności (70–80%) i rozproszonego światła o zmniejszonej częstotliwości. Temperatura pod folią utrzymywała się w granicach 20°C. Zrzesy zraszane były regularnie co 2–3 dni.

Po 28 dniach ukorzenia zrzesy wyjmowano z podłoża i opisywano. Obliczano sumaryczną liczbę korzeni i liczbę korzeni w trzech przedziałach długości: 0–0,5 cm, 0,6–5 cm i powyżej 5 cm (wzrost korzeni). Opisywano również ogólną zdrowotność zrzesów. Dla otrzymanych wyników obliczono błąd standardowy.

Wyniki badań

Wykresy i tabele sporządzono na podstawie reprezentatywnych wyników ukorzenia 16 centymetrowych zrzezów.

Liczba korzeni

Najmniej korzeni tworzyły zrzezy z kombinacji z H_2SO_4 i z 0,1M NH_4NO_3 . Na tych zrzezach korzenie zamierały najczęściej. Hamujący wpływ na tworzenie się korzeni miał również chlorek wapnia. Najwięcej korzeni tworzyło się w kontroli i w kombinacjach z wodorotlenkiem wapnia i azotanem amonu w niższym stężeniu (ryc. 1).

Więcej korzeni powstawało na zrzezach dłuższych i na zrzezach rosnących końcem bazalnym w podłożu. Największe różnice między liczbą korzeni na zrzezach rosnących w pozycji normalnej a liczbą korzeni na zrzezach rosnących w pozycji odwróconej wystąpiły w kombinacji z chlorkiem wapnia, nieco mniejsze w kombinacjach z wodorotlenkiem wapnia i azotanem amonu w mniejszym stężeniu. Spolaryzowanie wzrastało z długością pędu.

16 centymetrowe zrzezy traktowane auksyną rozwijały na ogół więcej korzeni niż zrzezy bez dostarczanej auksyny. Najwięcej korzeni powstało w kontroli oraz w kombinacjach z $Ca(OH)_2$ i NH_4NO_3 w stężeniu 0,01M. Zrzezy w kombinacji z H_2SO_4 wytwarzały pod wpływem auksyny mało korzeni, a w kombinacji z NH_4NO_3 — obumierały (ryc. 2).

Wzrost korzeni (tab.)

Korzenie długie rozwinęły się na zrzezach rosnących w kontroli i w kombinacjach z $Ca(OH)_2$ i z NH_4NO_3 w niższym stężeniu oraz wyjątkowo na zrzezach o długości 32 cm rosnących w podłożu z $CaCl_2$. Więcej korzeni długich wytworzyło się na zrzezach dłuższych i na zrzezach rosnących końcem bazalnym w podłożu. Zrzezy posadzone w podłożu z kwasem siarkowym wytwarzały tylko korzenie krótkie, a w kombinacji z azotanem amonu w stężeniu 0,1M rozwijały korzenie średnie tylko zrzezy 16 i 32 centymetrowe. Odcinki pędu traktowane auksyną tworzyły korzenie długie tylko w kombinacjach z 0,1M

TABELA

Procentowy udział korzeni krótkich (do 0,5 cm), średnich (0,6–5 cm) i długich (powyżej 5 cm) utworzonych na odcinkach pędu *Populus x canadensis* "Robusta" o długości 16 cm po 28 dniach ukorzenia w pozycji normalnej (A/B) i odwróconej (B/A), w warunkach chemizacji podłoża. Średnie z 10 odcinków pędu

Substancja	Liczba korzeni o		Liczba korzeni o		Liczba korzeni o	
	długości <0,5 cm (%)		długości 0,6–5 cm (%)		długości >5 cm (%)	
	A/B	B/A	A/B	B/A	A/B	B/A
H_2O	8	60	22	20	70	20
H_2SO_4	100	0	0	0	0	0
$Ca(OH)_2$	8	33	31	33	61	34
NH_4NO_3 0.01M	9	17	55	61	36	22
NH_4NO_3 0.1M	80	100	20	0	0	0
$CaCl_2$	75	100	25	0	0	0

NH₄NO₃, z Ca(OH)₂ oraz w kontroli (odpowiednio 43%, 56% i 70%). Korzenie dorastały tu do 15 cm długości. Na wzrost korzeni w pozostałych kombinacjach auksyna miała niewielki wpływ, jedynie na zrzeczach w kombinacji z 0,1M azotanem amonu wzrost korzeni został zahamowany.

Dyskusja

Polarność rośliny spełnia istotną rolę w procesie tworzenia się korzeni przybyszowych na odcinkach pędów. Ważnym elementem tego mechanizmu jest auksyna tworząca się w wierzchołkach wzrostu pędu i transportowana polarnie w dół, do fizjologicznego końca odcinka pędu. Transport ten, a więc system polarności pędu, podlega istotnym zmianom w wyniku zanieczyszczenia środowiska życia drzew. Ukorzeniając zrzezy *Populus x canadensis* 'Robusta' o różnej długości, w glebie skażonej chemicznie takimi związkami, jak: kwas siarkowy, wodorotlenek wapnia, chlorek wapnia w stężeniu 0,1M oraz azotan amonu w dwóch koncentracjach: 0,1M i 0,01M, próbowano zbadać wpływ tych czynników na polarność pędu i sam mechanizm rizogenezy. Na wyniki badań miały też istotny wpływ: długość ukorzenionych pędów i stosowana egzogenne auksyna. Spolaryzowanie odcinków pędu w procesie rizogenezy u *Populus x canadensis* 'Robusta' przejawia się większą zdolnością do tworzenia korzeni podstawy pędu niż jego części apikalnych. Zrzezy rosnące w pozycji normalnej ukorzeniały się lepiej. Wytwarzały one więcej korzeni o większym z reguły tempie wzrostu wydłużeniowego. Spolaryzowanie pędu wzrastało ze wzrostem długości odcinka pędu. Jest to zgodne z wynikami wcześniejszych badań (15). W badaniach potwierdzona została dodatnia korelacja pomiędzy długością pędu a liczbą tworzących się korzeni. Dłuższe zrzezy wytwarzały większą liczbę korzeni długich. Podobną zależność stwierdzili: Veierskov (11), Janson (7), Buraczyk (3), Wodzicki i in. (14), Wodzicki, Zakrzewski (15) i Klimontowicz (8). Według Jankiewicza (6) sadzonki dłuższe ukorzeniają się lepiej dlatego, że mają większą ilość substancji pokarmowych i stymulatorów ukorzenia.

W omawianych doświadczeniach zrzezy traktowane auksyną, dostarczaną do apikalnego końca zrzezu, ukorzeniały się lepiej. Stymulujący wpływ auksyny na tworzenie się i wzrost korzeni stwierdzili wcześniej: Wodzicki, Zakrzewski (15), Klimontowicz (8). Można przypuszczać, że uprzywilejowanym kierunkiem przekazu informacji przez auksynę jest kierunek ku fizjologicznej podstawie pędu. Efekt ten jest niezależny od siły grawitacji.

Substancje chemiczne mogą wpływać na aktywny transport auksyny lub skutki tego transportu. Wpływ ten przejawia się zmianą w ekspresji polarności fizjologicznej ukorzenianego zrzezu. Badania wpływu chemizacji podłoża na ukorzenia pędów *Populus x canadensis* 'Robusta' wykonywano w Katedrze Botaniki Leśnej SGGW w Warszawie. Stwierdzono, że wodorotlenek wapnia, kwas siarkowy i azotan amonu w stężeniu 0.01M nie wpływały istotnie na ukorzenia zrzezów, a w stężeniu 1M kwas siarkowy i azotan amonu hamowały ukorzenia. Wodorotlenek wapnia w tej kombinacji nie hamował rizogenezy. Wszystkie badane substancje w koncentracji 0.1M powodowały hamowanie tworzenia się korzeni na pędach najcieńszych, przynajmniej w okresie pierwszego tygodnia. Najwcześniej zahamowanie wzrostu wystąpiło przy zastosowaniu azotanu amonu. Kwas siarkowy stymulował również wzrost wydłużeniowy korzeni (15).

Istnieją liczne prace badające wpływ pierwiastków chemicznych na przebieg procesu ukorzenia (1,2,5,10). Wszystkie wskazują m.in. na pozytywną rolę azotu i wapnia w procesie rizogenezy, o ile występują one w dawkach nawożeniowych.

W obecnej pracy stwierdzono negatywny wpływ azotanu amonu i kwasu siarkowego w stężeniach 0,1M na ukorzenie zrzezów. Zrzezy w tych kombinacjach wytwarzały najmniej korzeni i tempo wzrostu wydłużeniowego tych korzeni było mniejsze niż u zrzezów kontrolnych. Chlorek wapnia w stężeniu 0,1M miał hamujący wpływ na wzrost i inicjację korzeni przede wszystkim na zrzezach rosnących w pozycji odwróconej. Stymulująco na ukorzenie zrzezów wpłynęły: wodorotlenek wapnia i 0,01M azotan amonu. Jednocześnie, w niektórych przypadkach, podobnie jak chlorek wapnia, związki te zwiększały fizjologiczną polarność odcinków pędu, co wskazywałoby na ich wpływ na akropetalny transport auksyny.

Wnioski

Na podstawie wyników obserwacji wpływu polutantów na polarność fizjologiczną i regenerację systemu korzeniowego u odcinków pędów *Populus x canadensis 'Robusta'*, o zróżnicowanej długości, można stwierdzić, że:

- Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy długością ukorzanego odcinka pędu a liczbą i długością korzeni bez względu na zawartość substancji chemicznej w podłożu.
- Zrzezy posadzone w pozycji normalnej (końcem bazalnym do podłoża) mają lepiej rozwinięty system korzeniowy niż zrzezy z tych samych wariantów długości rosnące w pozycji odwróconej, co świadczy o fizjologicznej polarności pędów.
- Stwierdzono dodatnią zależność między długością odcinków pędu a fizjologiczną polarnością pędu związaną z procesem rizogenezy. Badane substancje miały wpływ na wielkość współczynnika polarności. Zaznaczał się on w największym stopniu w kombinacji z chlorkiem wapnia, w mniejszym stopniu w kombinacjach z wodorotlenkiem wapnia i azotanem amonu w stężeniu 0,01M, a w najmniejszym — w kombinacjach z kwasem siarkowym i azotanem amonu w stężeniu 0,1M. Przepuszczalnie związane jest to z zakłóceniem polarnego transportu auksyny.
- Kwas siarkowy i 0,1M azotan amonu miały negatywny wpływ na liczbę powstających korzeni i tempo ich wzrostu. Niekorzystny wpływ chlorku wapnia zaznaczył się w mniejszym stopniu.
- Stymulujący wpływ na ukorzenie zrzezów mają: azotan amonu w stężeniu 0,01M i wodorotlenek wapnia. Zrzezy rosnące końcem bazalnym w podłożu z dodatkiem tych substancji ukorzeniają się dobrze i nie są tak podatne na infekcje grzybowe, jak zrzezy w pozostałych kombinacjach.
- Dostarczenie auksyny do apikalnego końca odcinka pędu powoduje zwiększenie liczby korzeni tworzących się przy końcu bazalnym, tym niemniej wpływ podłoża na badane procesy jest podobny jak w kombinacjach bez auksyny.

Literatura

1. **Blazich F.A., Wright R.D.:** Non-mobilization of nutrients during rooting of *Ilex crenata* Thumb.cv.convexa stem cuttings. Hort. Science 1979, 14: 242
2. **Blazich F.A.:** Mineral nutrition and adventitious rooting — w: Adventitious root formation in cuttings (edytorzy: Davis T., Haissing B.E., Sankhla N.), 61–69, 1988.
3. **Buraczyk W.:** Badania metodyczne nad indukowaną rizogenezą w pędach *Pinus silvestris* L. i *Quercus robur* L. Praca magisterska KBL SGGW. Warszawa 1988.
4. **Goldsmith M.H.M.** The polar transport of auxins. Ann. Rev. Plant.Physiol., 28: 438–478. 1977.
5. **Haun J.R., Cornell P.W.:** Rooting response of geranium (*Pelargonium hortorum*, Bailey var. Ricard) cuttings as influenced by nitrogen, phosphorus and potassium nutrition of the stock plant. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. 1951, 58: 317–323
6. **Jankiewicz L.S.:** Fizjologia roślin sadowniczych. PWN. Warszawa 1984.
7. **Janson L.:** Wegetatywne rozmnażanie drzew i krzewów. PWRiL 1987.
8. **Klimontowicz J.:** Wpływ sezonu na proces ukorzenia odcinków pędów jawora *Acer pseudoplatanus* L. Praca magisterska KBL SGGW, Warszawa 1992.
9. **Moe S., Anderson A.S.:** Stock plant environment and subsequent adventitious rooting — w: Adventitious root formation in cuttings (ed. Davis T., Haissing B.E., Sankhla N.), 214–234, 1988.
10. **Pearce H.L.:** The effect of nutrition and phytohormones on the rooting of vine cuttings. Ann. Bot. 1943, 7: 123–132.
11. **Veierskov B.:** A relationship between length of basis and adventitious root formation in pea cuttings. Physiol. Plant. 1978, 42: 146–150
12. **Wareing P.F., Philips I.D.J.:** Wzrost i różnicowanie się roślin. PWN. Warszawa 1985.
13. **Went F.W., Thimann K.V.:** Phytohormones. MacMillan Co., NY, USA 1937.
14. **Wodzicki T.J., Zajączkowski S., Witkowska-Żuk L., Zakrzewski J.:** Wpływ antropresji na aktywność merystemów drzew leśnych. Sprawozdanie z III etapu badań. SGGW. Warszawa 1989.
15. **Wodzicki T.J., Zakrzewski J.:** Fizjologiczny mechanizm indukowanej rizogenezy u roślin drzewiastych ze szczególnym uwzględnieniem roli polarności rośliny i fitohormonów. Sprawozdanie końcowe 1986–1990. SGGW. Warszawa 1990.
16. **Zurzycki J.:** Fizjologia roślin. Warszawa 1977.

Z Katedry Botaniki Leśnej SGGW

Summary

Investigational results concerning the impact of sulphur acid, calcium hydroxide, calcium chloride at 0.1M concentrations, and ammonium nitrate at 0.1M and 0.01M concentrations, being present in sand substrate, on regeneration of adventitious roots in *Populus x canadensis* 'Robusta' poplar cuttings at greenhouse conditions were presented in the report. It was found that a positive correlation between the length of rooted shoot sector and the number and length of roots occurred, without dependence on the content of chemical substance in the substrate.

Shoot sectors put to the substrate with their basal end downward rooted better, and that fact evidenced the physiological polarity of the shoots. That effect was strengthened by calcium chloride, while by carbon hydroxide and ammonium nitrate only at a lesser extent and their lower concentrations.

A stimulating impact of 0.01M ammonium nitrate and 0.1M calcium hydroxide on regeneration of roots of poplar shoot cuttings was found, while an inhibiting impact was observed when calcium chloride, sulphur acid, and ammonium nitrate at 0.1M concentrations were used.