

ZJAWISKO TOPOFIZY *in vitro* W ASPEKTCIE WYDAJNOŚCI MATECZNIKA CHRYZANTEM *in vivo*

Małgorzata Zalewska, Natalia Miler, Mirosława Brzezińska

Pracownia Biotechnologii, Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych,
Akademia Techniczno-Rolnicza im. J.J. Śniadeckich w Bydgoszczy

Wstęp

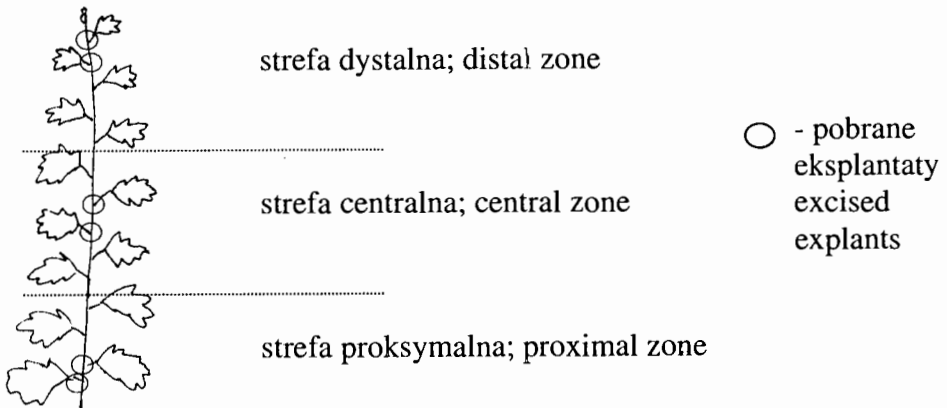
Zjawisko topofizy jest definiowane jako niejednoczesne osiągnięcie fazy dojrzałości przez pędy w roślin polikarpicznych – pędy położone wyżej szybciej wchodzi w fazę generatywną, natomiast położone niżej na roślinie dłużej zachowują cechy młodociane [KOPCEWICZ, LEWAK 2002]. Położenie pąków ma także wpływ na zdolność do ukorzeniania i siłę wzrostu pędów z nich wyrosłych [EVERS 1987]. Podobne zależności można zaobserwować u roślin rosnących w kulturach *in vitro*, gdzie zdolność do regeneracji lub siła wzrostu zależą od topofizycznej pozycji izolowanego eksplantatu na roślinie wyjściowej [PIERIK 1987]. Zjawisko topofizy może powodować niejednorodność materiału pochodzącego z kultur *in vitro*, co ma duże znaczenie dla gatunków rozmnażanych wegetatywnie. Obecnie coraz częściej zakłada się mateczniki chryzantem, bazując na roślinach pochodzących z kultur *in vitro*, gdyż jest to materiał rozmnożeniowy wysokiej jakości i dostępny przez cały rok, co jest szczególnie istotne w przypadku uprawy sterowanej [JERZY 2000]. Ważne jest, aby charakteryzował się wyrównaną produktywnością.

Celem doświadczenia była odpowiedź na pytanie: czy na wydajność *in vivo* roślin matecznych chryzantem pochodzących z kultur *in vitro* ma wpływ topofizyczna pozycja pąka na mikrosadzonce wyjściowej służącej dalej do rozmnażania metodą jednowęzłowych fragmentów pędu?

Materiał i metody

W doświadczeniu wykorzystano trzy odmiany chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* /РАМАТ./ КИТАМ.) 'Lady Amber', 'Lady Bronze' oraz 'Lady Orange'. Materiał wyjściowy stanowiły pędy chryzantem o 12–15 liściach namnażane *in vitro* metodą jednowęzłowych fragmentów pędu. Pędy wyjściowe podzielono na trzy strefy (rys. 1): dystalną, centralną i proksymalną. Z każdej strefy pobierano po dwa jednowęzłowe fragmenty pędu: ze strefy dystalnej (górnej) – dwa węzły położone najbliżej pąka wierzchołkowego, ze strefy centralnej (środkowej) – dwa środkowe węzły i ze strefy proksymalnej (dolnej) – dwa dolne, prawidłowo wykształcone węzły. Od wyizolowanych eksplantatów odcinano

blaszkę liściową pozostawiając 0,5 cm ogonka liściowego. Jednowęzłowy fragment pędu składał się więc z górnego i dolnego odcinka międzywęzła, pąka bocznego i części ogonka liściowego. Tak przygotowane eksplantaty wykładano na pożywkę MS [MURASHIGE, SKOOG 1962], ze zwiększoną o połowę zawartością żelaza i chlorku wapnia, bez regulatorów wzrostu, zawierającą 3% sacharozy, zestaloną agarą 0,8% o pH wynoszącym 5,8 (przed autoklawowaniem). Kultury *in vitro* prowadzono w fitotronie, w temperaturze $24 \pm 2^\circ\text{C}$, przy 16 godz. fotoperiodzie, w świetle dziennym emitowanym przez lampy Philips TLD 36W/54, przy natężeniu napromienienia kwantowego wynoszącym $34 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Przez 10 tygodni trwał wzrost pędów z pąków bocznych eksplantatów. Następnie wierzchołek pędu z pięcioma liśćmi odcinano i pasażowano na pożywkę MS z dodatkiem $2,0 \text{ mg IAA}\cdot\text{dm}^{-3}$ w celu regeneracji korzeni. Po 4 tygodniach ukorzenione mikrosadzonki mierzono, a następnie przez 3 tygodnie prowadzono ich aklimatyzację do warunków *in vivo* w szklarni, używając podłoża chryzantemowego firmy Hollas (Pasłek) z domieszką perlitu (30%). W trakcie aklimatyzacji uszczknięto wierzchołki wzrostu mikrosadzonek, aby zapoczątkować ich rozkrzewianie. 21 czerwca zaaklimatyzowane rośliny sadzono na miejsce stałe w szklarni, w podłożu chryzantemowym, w rozstawie $15 \times 15 \text{ cm}$. Uprawę chryzantemem prowadzono do 13 września w warunkach naturalnego fotoperiodu, traktując rośliny jak matczynik, z którego pobierano co tydzień sadzonki o długości 4–5 cm.



Rys. 1. Schemat podziału rośliny na strefy i położenie pobranych eksplantatów
Fig. 1. Scheme of plantlet division into zones and excised explants positions

Doświadczenie założono w układzie losowanych bloków, dla dwóch czynników (odmiana i strefa pobrania jednowęzłowego eksplantatu), w pięciu powtórzeniach, po pięć roślin w każdym. Wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji i testu Tukeya przy $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Strefa izolacji eksplantatu wyjściowego, a więc położenie na pędzie węzła z pąkiem bocznym, miała wpływ na długość otrzymanej z niego mikrosadzonki

(tab. 1). Najkrótsze okazały się rośliny wywodzące się z pąków położonych w strefie dystalnej, natomiast mikrosadzonki wyrosłe z pąków z części centralnej i proksymalnej nie różniły się długością w obrębie każdej odmiany. Podobną zależność wykazał DE RUITER [1996] dla chryzantemy odmiany 'Cassa' rozmnażanej *in vivo* za pomocą sadzonek jednowęzłowych – sadzonki utworzone z pąków z górnych części pędu były krótsze niż sadzonki utworzone z pąków dolnych. U daglezji (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO) inicjowano kulturę *in vitro* z pąków pochodzących z różnych pozycji topofizycznych na dwuletnim drzewie [EVERS 1984]. Największą siłą wzrostu charakteryzowały się pędy wyrosłe *in vitro* z pąków bocznych położonych w strefie proksymalnej. Doświadczenia *in vivo* przeprowadzone dla róży (*Rosa hybrida* L.) 'Ruidriko' wykazały, że pąki pochodzące ze strefy dystalnej są bardziej aktywne, szybciej podejmują wzrost i szybciej osiągają fazę generatywną, ale pędy z nich powstałe są krótsze w porównaniu z pędami ze strefy proksymalnej [LE BRIS i in. 1998].

Tabela 1; Table 1

Długość (cm) ukorzenionych mikrosadzonek chryzantem
w zależności od odmiany i strefy pobrania jednowęzłowego eksplantatu *in vitro*
Length (cm) of rooted chrysanthemum microcuttings depending
on cultivar and the zone of single node explant isolated *in vitro*

Strefa izolacji eksplantatu Zone of explant isolation (B)	Odmiana; Cultivar (A)			Średnia Mean
	Lady Amber	Lady Bronze	Lady Orange	
Dystalna; Distal	2,78	3,18	1,94	2,64
Centralna; Central	3,56	5,22	5,11	4,63
Proksymalna; Proximal	3,48	4,77	5,05	4,43
Średnia; Mean	3,27	4,39	4,04	–
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	A = 0,562	B = 0,562	B/A = 0,974	A/B = 0,974

W części *in vitro* doświadczenia ujawniła się także zmienność odmianowa. Bez względu na strefę izolacji eksplantatów najkrótsze były mikrosadzonki 'Lady Amber'. Wśród roślin uzyskanych z węzłów ze strefy dystalnej najkrótsze były mikrosadzonki 'Lady Orange'. Z pąków umiejscowionych w strefie centralnej i proksymalnej najdłuższe mikrosadzonki wyrosły u odmian 'Lady Bronze' i 'Lady Orange'.

Jak podaje JERZY [2000] wydajność roślin matecznych jest zależna od odmiany, co znalazło potwierdzenie w niniejszym doświadczeniu. Niezależnie od topofizycznej pozycji pąka, z którego powstała mikrosadzonka dająca początek matecznikowi, największą produktywnością cechowała się odmiana 'Lady Bronze' a najmniejszą 'Lady Amber'. Na pewną zależność między wydajnością rośliny matecznej a długością mikrosadzonki, z której powstała, może wskazywać fakt, że zarówno najkrótszymi mikrosadzonkami, jak i najmniej wydajnymi matecznikami charakteryzowała się odmiana 'Lady Amber'.

Niezależnie od odmiany na wydajność roślin matecznych nie miała wpływu strefa, z której pobierano eksplantaty jednowęzłowe (tab. 2).

W miarę rozrastania się rośliny matecznej pobierano nie tylko pędy wyrastające z kątów liści, ale także pędy odziomkowe tworzące się u nasady łodygi.

Można przypuszczać, że wraz ze wzrostem rośliny zanika w niej „pamięć” o planie rozwoju, którego była częścią w roślinie wyjściowej, z której powstała na drodze rozmnażania wegetatywnego [EVERS 1987]. Z punktu widzenia producenta, jest to zjawisko korzystne, gdyż gwarantuje jednorodność mateczników pod względem wydajności.

Tabela 2; Table 2

Liczba sadzonek chryzantem uzyskanych w ciągu 12 tygodni eksploatacji z jednej rośliny matecznej *in vivo*, w zależności od odmiany i strefy pobrania jednowęzłowego eksplantatu *in vitro*

The amount of chrysanthemum cuttings obtained *in vivo* during 12 weeks of exploitation from one stock-plant, depending on cultivar and the zone of single node explant isolated *in vitro*

Strefa izolacji eksplantatu Zone of explant isolation (B)	Odmiana; Cultivar (A)			Średnia Mean
	Lady Amber	Lady Bronze	Lady Orange	
Dystalna; Distal	11,8	15,1	11,8	12,9
Centralna; Central	9,1	14,9	12,8	12,2
Proksymalna; Proximal	10,2	14,5	14,6	13,1
Średnia; Mean	10,4	14,8	13,1	
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	A = 1,69	B = r.n.; n.s.	B/A = r.n.; n.s.	A/B = r.n.; n.s.

r.n.; n.s. różnice nieistotne; not significant differences

Wnioski

1. Pędy chryzantem powstałe *in vitro* z pąków znajdujących się w strefie dystalnej mikrosadzonki wyjściowej były krótsze niż pędy wyrosłe z pąków z niżej położonych stref – centralnej i proksymalnej.
2. Wydajność *in vivo* roślin matecznych pochodzących z kultur *in vitro* nie zależała od topofizycznej pozycji pąka na mikrosadzonce wyjściowej rozmnażanej metodą jednowęzłowych fragmentów pędu, zależała natomiast od odmiany.

Literatura

- DE RUITER H.A. 1996. *Development of chrysanthemum cuttings: the influence of age and position of the axillary buds*. Ann. of Bot. 77: 99–104.
- EVERS P.W. 1984. *Growth and morphogenesis of shoot initials of Douglas fir, Pseudotsuga menziesii (MIRB.) FRANCO, in vitro*. Diss. Agric. Univ. Wageningen.
- EVERS P.W. 1987. *Correlation within the tree*, w: *Cell and Tissue Culture in Forestry*. J.M. Bonga, D.J. Durzan (Eds). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht: 218–229.

- JERZY M. 2000. *Chryzantemy*, w: *Odmiany i uprawa*. PWRiL Warszawa: 226 ss.
- KOPCEWICZ J., LEWAK S. 2002. *Fizjologia roślin*. Wydawn. Nauk. PWN Warszawa: 806 ss.
- LE BRIS M., CHAMPEROUX A., BEAREZ P., LE PAGE-DEGIVRY M.T. 1998. *Basipetal gradient of axillary bud inhibition along a rose (Rosa hybrida L.). Stem: growth potential of primary buds and their two most basal secondary buds as affected by position and age*. Ann. of Bot. 81: 301–309.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture*. Physiol. Plant. 15: 473–497.
- PIERIK R.L.M. 1987. *In vitro culture of higher plants*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht: 110–111.

Słowa kluczowe: chryzantema, topofiza, *in vitro*, *in vivo*, wydajność matecznika

Streszczenie

Chryzantemy trzech odmian rozmnażano *in vitro* metodą jednowęzłowych fragmentów pędu z eksplantatów izolowanych z trzech różnych stref pędu wyjściowego: dystalnej, centralnej i proksymalnej. Otrzymane pędy ukorzeniano *in vitro*, aklimatyzowano do warunków *in vivo*, a następnie uprawiano w szklarni jako rośliny mateczne, pobierając sadzonki przez 12 tygodni i określając ich wydajność. Po części doświadczenia *in vitro* mikrosadzonki mierzono. Najkrótsze były mikrosadzonki uzyskane z pąków ze strefy dystalnej. Spośród badanych odmian rośliny 'Lady Amber' były krótsze niż 'Lady Bronze' i 'Lady Orange'. Pozycja topofizyczna eksplantatu jednowęzłowego *in vitro* nie wpływała na wydajność roślin matecznych *in vivo*. Największą produktywnością charakteryzowały się mateczniki 'Lady Bronze' a najmniejszą 'Lady Amber'.

TOPOPHYSIS *in vitro* IN AN ASPECT OF CHRYSANTHEMUM STOCK-PLANT EFFICIENCY *in vivo*

Małgorzata Zalewska, Natalia Miler, Mirosława Brzezińska
Laboratory of Biotechnology,
Department of Ornamental Plants and Vegetable Crops,
University of Technology and Agriculture, Bydgoszcz

Key words: chrysanthemum, topophysis, *in vitro*, *in vivo*, stock-plant efficiency

Summary

Three cultivars of chrysanthemum were propagated *in vitro* with single-node method using explants isolated from three different zones of shoots: distal, central and proximal. Plantlets obtained from those explants were rooted *in vitro*,

acclimatized and cultured in greenhouse as stock-plants, cuttings were taken weekly for 12 weeks. After *in vitro* part of experiment microcuttings were measured. Plants derived from buds from a distal zone and from 'Lady Amber' were the shortest. Topophysical position of single-node explants did not affect the efficiency of stock-plants. The efficiency was cultivar dependent: the highest was for 'Lady Bronze' and the lowest for 'Lady Amber'.

Prof. dr hab. Małgorzata **Zalewska**
Pracownia Biotechnologii
Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych
Akademia Techniczno-Rolnicza im. J.J. Śniadeckich
ul. Bernardyńska 6
85-029 BYDGOSZCZ
e-mail: zalewska@atr.bydgoszcz.pl