

INDUKOWANIE MUTACJI I SEPARACJA CHIMER IN VITRO U GERBERY JAMESONA

Marek Jerzy, Małgorzata Zalewska, Alina Garczewska

Katedra Ogrodnictwa, Zakład Roślin Ozdobnych, Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy

WSTĘP

Rozmnażanie gerbery Jamesona in vitro, z eksplantatów zawierających merystemy [9], wykorzystuje się na szeroką skalę w produkcji sadzonek i hodowli zachowawczej odmian uprawnych tego gatunku. W hodowli mutacyjnej metoda ta ma ograniczone znaczenie [7,11]. Większe nadzieje wiąże się obecnie z możliwością rozmnażania gerbery z eksplantatów liściowych zdolnych do tworzenia pędów przybyszowych [4]. Eksplantaty takie dobrze tolerują względnie wysokie dawki promieniowania gamma i nie zamierają nawet po zastosowaniu dawki 25 Gy, tworząc – zależnie od odmiany, 1-4 pędów przybyszowych z jednego zdolnego do regeneracji ogonka liściowego [5].

U wielu gatunków roślin pędy przybyszowe tworzą się zwykle z jednej tylko komórki liścia [1,2,6], dając po napromienieniu początek nowym odmianom o jednolicie zmienionej barwie i kształcie kwiatów lub pokroju całej rośliny. Tworzenie się niepożądanych w hodowli chimer sektorialnych i meryklinalnych jest wówczas żadne bądź ograniczone do minimum.

U gerbery zjawisko to nie jest jeszcze poznane. Nie przeprowadzono bowiem jeszcze żadnych prac polegających na wykorzystaniu eksplantatów liściowych jako obiektów służących do napromieniania i wywoływania zmienności u gerbry. Hodowla radiomutacyjna gerbery opiera się obecnie na mało efektywnej technice napromieniania eksplantatów merystematycznych [10,11,12], której zastosowanie prowadzi jedynie do tworzenia się zmutowanych form o charakterze chimer.

Zasadniczym celem badań podjętych w tej pracy było wykazanie możliwości uzyskiwania mutantów gerbry nie będących chimerami.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczalną część pracy przeprowadzono w latach 1989-1992 w laboratorium, szklarni i tunelu foliowym Specjalistycznego Zakładu Ogrodniczego "Vitroflora" w Łochowie k. Bydgoszczy. Do badań przeznaczono 16 odmian gerbery uprawianych na kwiat cięty.

Indukowanie mutacji. Do napromieniania przeznaczono liście oderwane od roślin zregenerowanych wcześniej in vitro z wierzchołków wzrostu. Powierzchnia blaszek liściowych wynosiła 1,5-2,5 cm² a długość ogonków liściowych 3-4,5 cm. Działaniu promieniowania gamma, w dawkach wynoszących 5, 10, 15, 20 i 25 Gy, poddano

po 100 liści każdej odmiany. Moc pochłoniętej dawki promieni gamma wynosiła $1,92 \text{ Gy min}^{-1}$. Promieniowanie gamma pochodziło ze źródła Co^{60} typu Theratron 780, należącego do Oddziału Radioterapii Szpitala Wojewódzkiego w Bydgoszczy.

Napromienione liście umieszczono na pożywce Murashige'a i Skooga [8] zestawionej 8 g L^{-1} Bacto-agaru, zawierającej 3 mg L^{-1} benzyloaminopuryny (BA); 0,5 mg L^{-1} kwasu 3-indoliloctowego (IAA); 100 mg L^{-1} mioinozytolu; 0,4 mg L^{-1} chlorowodoru tiaminy i 10 g L^{-1} sacharozy.

Eksplantaty liściowe wykazujące zdolność do tworzenia pędów przybyszowych przenoszono po 5 tygodniach na pożywkę zawierającą 1 mg L^{-1} kinetyny w miejsce 3 mg L^{-1} BA. Wytworzone w ciągu 3 następných tygodni pędy przybyszowe długości 2-3 cm oddzielano od eksplantatów liściowych i przenoszono na pożywkę ukorzeniającą MS z solami mineralnymi zredukowanymi o połowę i uzupełnionej 1 mg L^{-1} kwasu 3-indolilomasłowego (IBA). Ukorzenianie pędów przybyszowych trwało 3 tygodnie.

Wszystkie etapy mikrorozmnażania roślin, trwające od stycznia do kwietnia 1989 r., przebiegały w temperaturze $24 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, przy 16 godzinnym dniu i natężeniu oświetlenia 2500 lx ($30 \text{ } \mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$). Źródłem światła były lampy jarzeniowe typu LF-Daylight o mocy 40 W. Odczyn pożywki (pH 5,6) ustalono przed jej sterylizacją.

Selekcja napromienionych roślin. Ukorzenione mikrosadzonki uprawiano od maja do lipca w szklarni-mnożarce a następnie do końca grudnia 1989 w ogrzewanym vegetacyjnie tunelu foliowym.

Obserwacje przeprowadzone w czasie kwitnienia pierwszego vegetatywnego pokolenia mutacyjnego roślin (vM_1) zmierzały do wyodrębnienia form o zmienionych cechach morfologicznych oraz określenia ich frekwencji.

Barwę kwiatostanów określano umownie i na podstawie katalogu RHSCC (1966) w stadium pełni rozkwitu koszyczka kwiatowego. Pełnię rozkwitu wyznaczał moment, w którym zaczynał się rozwijać w koszyczku drugi okólek kwiatów rurkowatych a z pylników obficie sypał się pyłek. Katalogową barwę kwiatów jęczyczkowatych oznaczono od ich strony wewnętrznej (*) i zewnętrznej (**, tabela 1).

Wśród roślin o zmienionej barwie kwiatostanów wyróżniono mutanty jednolite i niejednolite (chimery). Mutantami jednolitymi nazwano rośliny, u których barwa każdego z rozwiniętych kwiatostanów była całkowicie i jednakowo zmieniona. Do mutantów niejednolitych o charakterze chimer zaliczono wszystkie te rośliny, u których chociaż jeden z dwóch lub trzech rozkwitłych kwiatostanów był inaczej zabarwiony od pozostałych lub zmiana barwy nie objęła całej powierzchni jednego kwiatostanu lecz tylko większy lub mniejszy jego sektor.

Utrwalanie mutacji. W styczniu 1990 r. zmutowane rośliny przeniesiono do szklarni i przygotowano do izolacji wierzchołków wzrostu. Do rozmnożenia *in vitro* wybrano 8 roślin o jednolicie zmienionej barwie kwiatostanów (po jednej z każdej odmiany): mutantka odmiany 'Amber' o kwiatostanach różowych – uzyskanego po napromienieniu liści dawką 20 Gy, mutantka odmiany 'Kassandra' (fotografia 1) o kwiatostanach blad różowych z jasnym oczkiem (25 Gy), mutantka odmiany 'Lisa' (fotografia 2) z kwiatostanami o barwie złotej (5 Gy), mutantka odmiany 'Pascal'

o kwiatostanach pomarańczowych (15 Gy), mutanta odmiany 'Raisa' (fotografia 3) o kwiatostanach czerwonych (25 Gy), mutanta odmiany 'Salmrosa' o kwiatostanach cielistoróżowych (10 Gy), mutanta odmiany 'Sonia' o kwiatostanach lososiowych (15 Gy) i mutanta odmiany 'Victory' o kwiatostanach lawendowych (25 Gy).

Rośliny zregenerowano i namnożono metodą pąków bocznych, powszechnie stosowaną w laboratoryjnej produkcji mikrosadzonek gerbery. Namnażanie pędów i ich ukorzenianie zakończono z chwilą uzyskania 50 mikrosadzonek każdej ze zmutowanych roślin. Z doświadczenia wyeliminowano mutanty odmian 'Kassandra', 'Sonia' i 'Salmrosa' z powodu nieudanej izolacji wierzchołków wzrostu. Ukorzenione sadzonki pozostałych mutantów posadzono do szklarni i doprowadzono do kwitnienia. Obserwacje kwitnących roślin pokolenia vM_2 prowadzono od września 1990 r. do grudnia 1991 r.

Separacja chimer. Do rozmnożenia in vitro wybrano 6 roślin: z odmiany 'Amber' napromienionej dawką 15 Gy – chimerę z kwiatostanami o sektorach kremowo-żółtych (fotografia 4), z odmiany 'Lisa' (15 Gy) – chimerę z kwiatostanami o sektorach złoto zabarwionych, z odmiany 'Raisa' (20 Gy) – chimerę z dwoma kwiatostanami czerwonymi, z odmiany 'Salmrosa' (5 Gy) – chimerę z jaśniejszym sektorem w różowym kwiatostanie, z odmiany 'Sonia' (10 Gy) – chimerę z jaśniejszym sektorem w kwiatostanie ciemnoróżowym i z odmiany 'Victory' (20 Gy) – chimerę z kwiatostanami o barwie częściowo lub całkowicie zmienionej na fioletową.

Rośliny zregenerowano in vitro z wierzchołków wzrostu i namnożono metodą pąków bocznych, tak samo jak mutanty jednolite. W marcu 1991 r., z otrzymanych w ten sposób mikrosadzonek pobrano po 120 liści każdej odmiany. Przeznaczono je do regeneracji pędów przybyszowych metodą zastosowaną wcześniej przy indukowaniu mutacji. Zregenerowane z pędów przybyszowych rośliny (po 50 szt.) posadzono do szklarni w czerwcu 1991 a trzy miesiące później do ogrzewanego tunclu foliowego. Obserwacje pokolenia vM_2 chimer prowadzono do września 1992 r.

WYNIKI I DYSKUSJA

Pokolenie vM_1 . U ośmiu odmian gerbery zaobserwowano zmiany w zabarwieniu kwiatostanów (tabela 1). Wbrew oczekiwaniu, nie zaobserwowano żadnych zmian u odmian 'Chicago', 'Clivia' i 'Fleur' o kwiatostanach różowych oraz u odmian 'Santana' i 'Saskia' o kwiatostanach czerwonych. Odmiany o takim zabarwieniu kwiatów, bogate w różne barwniki, mutują bowiem dość często, w przeciwieństwie do odmian o kwiatostanach żółtych i białych, w których zawartość barwników jest ograniczona zaledwie do flawonów i flawonoli [3]. Można przypuszczać, że właśnie z tego względu nie zmieniła się barwa kwiatostanów u odmiany 'Marleen' (żółta) oraz u odmian 'Marie' (biała) i 'Snowball' (biała).

Rezultaty indukowania mutacji w ujęciu liczbowym przedstawiono w tabeli 2. U większości odmian frekwencja mutantów wzrastała ze wzrostem dawki napromienienia, natomiast frekwencja chimer w ogólnej liczbie kwitnących roślin była uzależniona od tego czynnika tylko u niektórych odmian. Największą frekwencję mutantów uzyskano u odmiany 'Amber' (2,2%), najniższą u odmiany 'Kassandra' (0,2%).

Tabela 1

Zmiany barwy kwiatostanów w pokoleniu vM_1 roślin zregenerowanych z napromienionych eksplantatów liściowych w zależności od odmiany i dawki promieni gamma
 Changes of inflorescence colour in the vM_1 generation of plants regenerated from irradiated leaf explants as influenced by cultivar and gamma ray dose

Dawka napromienienia Irradiation dose (Gy)	Barwa kwiatostanu umowna Colour of inflorescences descriptive	katalogowa catalogue number	
		*	**
A m b e r			
0	jasnoliliowa z białą obwódką	53D	4C
5	różowa	58B	3D
	różowa z jaśniejszym sektorem (1/4)	58B, 2D	3D, 2C
	niezmieniona	53D	4C
10	jasnoróżowa	52C	1C
	jasnoróżowa	52C	1C
15	jasnoliliowa z kremowożółtym sektorem (9/10)	53D, 4D	4C, 4C
	kremowożółta	4D	4C
	jasnoliliowa z kremowożółtym sektorem (1/2)	53D, 4D	4C, 4C
20	różowa	58C	4D
	różowa	58C	4D
	różowa	58C	4D
25	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z różowym sektorem (1/4)	53D, 58D	4C, 11B
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
	jasnoliliowa z żółtymi cętkami	53D	4C
K a s s a n d r a			
0	fioletoworóżowa z czarnym oczkiem	55A	55C
25	bladoróżowa z jasnym oczkiem	62B, 38A	62D
	bladoróżowa z jasnym oczkiem	62B, 38A	62D
	bladoróżowa z jasnym oczkiem	62B, 38A	62D
L i s a			
0	czerwona	44A	44C
5	złota	23A	13B
	złota	23A	13B
	złota	23A	13B
	czerwona ze złotym sektorem (1/20)	44A, 23A	44B, 13B

10	fioletowa	52A	50D
	fioletowa	52A	50D
	ciemnoczerwona	46B	44B
	ciemnoczerwona	46B	44B
	ciemnoczerwona	46B	44B
	pomarańczowa	33A	31A
	pomarańczowa	33A	31A
	niezmieniona	44A	44C
	pomarańczowa	33A	31B
	bordowa z pomarańczowym sektorem (1/3)	46A,40A	40D,33C
czerwona z czerwonoróżowym sektorem (1/2)	44B,50A	11B, 4B	
bordowa	46A	40D	
ciemnoczerwona	46B	44B	
ciemnoczerwona	46B	44B	
niezmieniona	44A	44C	
15	fioletowa	52A	50D
	fioletowa	52A	50D
	fioletowa	52A	50D
	czerwona ze złotym sektorem (2/3)	44B	33A
niezmieniona	44A	44C	
20	czerwona z złotym sektorem (1/10)	44A,17C	44C,17D
	jasnoczerwona	41A	11B
	jasnoczerwona	41A	11B
	jasnoczerwona	41A	11B
25	ciemnoczerwona	42A	41B
	ciemnoczerwona	42A	41B
	buraczkowa z jasnoczerwonym sektorem (1/2)	45A,41A	43C,40C
P a s c a l			
0	czerwona	45B	38A
15	pomarańczowa	44B	52A
	pomarańczowa	44B	52A
R a i s a			
0	fioletowoczerwona	53C	51C
20	czerwona	45B	51C
	czerwona	45B	51C
	niezmieniona	53C	51C
25	czerwona	45B	51C
	czerwona	45B	51C
S a l m r o s a			
0	łososiworóżowa	48C	4D
5	różowa z jaśniejszym sektorem (2/3)	47D,11D	38D, 1D
10	cielistoróżowa	50D	160C
	cielistoróżowa	50D	160C
	cielistoróżowa	50D	160C

15	łososioworóżowa z różowym sektorem (1/4)	48C,47D	4D, 38D
20	różowa	47D	38D
	różowa	47D	38D
	różowa	47D	38D
Sonia			
0	różowa	55B	2C
10	ciemnoróżowa z jaśniejszym sektorem (1/4)	58D,49C	2D, 3D
15	łososiowa	62A	1C
	łososiowa	62A	1C
Victory			
0	fioletoworóżowa	55A	1C
20	fioletoworóżowa z różowym sektorem (1/4)	55A,73B	1C,36D
	fioletoworóżowa z fiołkowym sektorem (3/4)	55A,66C	1C,62C
	fiołkowa	66C	62C
25	lawendowa	69B	62D
	lawendowa	69B	62D
	lawendowa	69B	62D

Z 35 mutantów otrzymanych z napromienionych in vitro eksplantatów liściowych ośmiu odmian gerbery, 16 mutantów okazało się chimerami. Pozostałe wykazywały cechy mutantów jednolitych. Jest to wynik obiecujący, wskazujący na trafność zastosowanej technologii indukowania mutacji u gerbery, zwłaszcza w zestawieniu z wynikami uzyskanymi przez Walthera i Sauer [11], którzy po napromienieniu in vitro mikrosadzonek zawierających merystemy, nie uzyskali ani jednego mutantu jednolitego.

Pokolenie vM_2 (Utrwalanie mutacji jednolitych). Rozmnożone z wyizolowanych wierzchołków wzrostu mutanty wytworzyły w okresie swego kwitnienia średnio po 15 kwiatostanów z jednej rośliny. Zmiany w zabarwieniu kwiatostanów zaobserwowane w pokoleniu vM_1 u mutantów odmian 'Lisa', 'Pascal' i 'Victory' powtórzyły się w pokoleniu vM_2 . Okazały się więc zmianami trwałymi.

U pięciu roślin czerwonego mutantu odmiany 'Raisa' zaobserwowano powrót do barwy wyjściowej – fioletowoczerwonej (3,3%) co oznacza, że zmiana barwy kwiatostanów w pokoleniu vM_1 miała w rzeczywistości charakter mutacji niejednolitej. Nie dostrzeżono jej wówczas jedynie dlatego, ponieważ obserwacje objęły zaledwie dwa kwiatostany zmutowanej rośliny. Były to wprawdzie kwiatostany całkowicie i jednakowo zmienione ale następne, w miarę rozkwitania, mogły tej zmiany wcale nie ujawnić.

Zupełnie nietrwala okazała się zmiana barwy kwiatostanów u odmiany 'Amber'. Żadna roślina nie ujawniła powtórnie cechy zmienionej w pokoleniu vM_1 . Fenotypowa zmiana barwy kwiatostanów mogła być więc wynikiem modyfikacji, uwarunkowanej zewnętrznie, bliżej nieokreślonym czynnikiem środowiska, a nie mutacji, która w tym przypadku miała niewątpliwie charakter pozorny.

Tabela 2

Liczba i frekwencja roślin o zmienionej barwie kwiatostanów w zależności od odmiany i dawki promieni gamma

Number and frequency of plants with the changed colour of inflorescences as influenced by cultivar and gamma ray dose

Odmiana	Dawka napromienienia	Liczba roślin kwitających	Liczba mutantów (w tym chimer)	Frekwencja mutantów (frekwencja chimer)
Cultivar	dose (Gy)	Number of flowering plants	Number of mutants (chimeras)	Mutant frequency (chimera frequency)
Amber	5	106	1 (1)	0,9 (0,9)
	10	93	1 (0)	1,1 (0,0)
	15	69	1 (1)	1,4 (1,4)
	20	30	1 (0)	3,3 (0,0)
	25	58	4 (1)	6,9 (1,7)
Razem	Total	356	8 (3)	2,2 (0,8)
Kassandra	5	117	0 (0)	0,0 (0,0)
	10	98	0 (0)	0,0 (0,0)
	15	81	0 (0)	0,0 (0,0)
	20	63	0 (0)	0,0 (0,0)
	25	48	1 (0)	2,1 (0,0)
Razem	Total	407	1 (0)	0,2 (0,0)
Lisa	5	180	2 (1)	1,1 (0,6)
	10	354	6 (3)	1,7 (0,8)
	15	130	2 (1)	1,5 (0,8)
	20	40	2 (1)	5,0 (2,5)
	25	40	2 (1)	5,0 (2,5)
Razem	Total	744	14 (7)	1,9 (0,9)
Pascal	5	96	0 (0)	0,0 (0,0)
	10	28	0 (0)	0,0 (0,0)
	15	18	1 (0)	5,6 (0,0)
	20	9	0 (0)	0,0 (0,0)
	25	1	0 (0)	0,0 (0,0)
Razem	Total	152	1 (0)	0,7 (0,0)
Raisa	5	231	0 (0)	0,0 (0,0)
	10	198	0 (0)	0,0 (0,0)
	15	176	0 (0)	0,0 (0,0)
	20	38	1 (1)	2,6 (2,6)
	25	14	1 (0)	7,1 (0,0)
Razem	Total	657	2 (1)	0,3 (0,2)
Salmrosa	5	135	1 (1)	0,7 (0,7)
	10	110	1 (0)	0,9 (0,0)
	15	90	1 (1)	1,1 (1,1)
	20	50	1 (0)	2,0 (0,0)
	25	30	0 (0)	0,0 (0,0)
Razem	Total	415	4 (2)	1,0 (0,5)

Sonia	5	82	0	(0)	0,0	(0,0)
	10	80	1	(1)	1,3	(1,3)
	15	34	1	(0)	2,9	(0,0)
	20	29	0	(0)	0,0	(0,0)
	25	7	0	(0)	0,0	(0,0)
Razem	Total	232	2	(1)	0,9	(0,4)
Victory	0	149	0	(0)	0,0	(0,0)
	10	80	0	(0)	0,0	(0,0)
	15	65	0	(0)	0,0	(0,0)
	20	62	2	(2)	3,2	(3,2)
	25	67	1	(0)	1,5	(0,0)
Razem	Total	423	3	(2)	0,7	(0,5)

Pokolenie vM_2 (Separacja chimer). Zmutowane niejednolicie rośliny o charakterze chimer, rozmnożone *in vitro* z pędów przybyszowych, wytworzyły w okresie swego kwitnienia średnio po 12 kwiatostanów.

Chimery odmian 'Salmrosa', 'Sonia' i 'Victory' tworzyły kwiatostany dwójakiego rodzaju. U jednych roślin były to kwiatostany o barwie typowej dla odmiany, u innych – o barwie zmutowanego w pokoleniu vM_1 sektora. Nastąpiła więc oczekiwana i pożądana w hodowli separacja chimer – na rośliny o jednakowej barwie wszystkich kwiatostanów, takiej jak u roślin kontrolnych, nie napromienionych, lub takiej jak u roślin będących mutantami jednolitymi. Można w związku z tym domniemywać, że zgodnie z teorią Broertjes'a [cyt. 2], pędy przybyszowe chimer, dające początek nowym roślinom, tworzyły się alternatywnie: z jednej niezmutowanej komórki eksplantatu liściowego albo z jednej komórki zmutowanej. Procentowy udział roślin o jednolicie zmienionej barwie kwiatostanów w pokoleniu vM_2 był u poszczególnych odmian zbliżony i wynosił odpowiednio: 54% ('Salmrosa'), 49% ('Sonia') i 47% ('Victory').

Wegetatywne dziedziczenie barwy kwiatostanów u chimery odmiany 'Raisa' przebiegało jednokierunkowo. Wszystkie rośliny pokolenia vM_2 tworzyły wyłącznie kwiatostany o barwie całkowicie zmienionej na czerwoną. Wynika z tego, że w regeneracji tych roślin *in vitro* nie uczestniczyły niezmutowane komórki eksplantatów liściowych.

Dziedziczenie barwy u jednolitych mutantów odmian 'Amber' i 'Lisa' przebiegało w sposób odmienny. U odmiany 'Amber' pojawiły się rośliny z wszystkimi kwiatostanami o jasnołilijowej barwie wyjściowej (84%) oraz chimery z większym lub mniejszym sektorem kwiatostanu o barwie kremowożółtej (16%). Nie było natomiast ani jednej rośliny z kwiatostanami o barwie całkowicie zmienionej na kremowożółtą. U odmiany 'Lisa' pojawiły się rośliny z wszystkimi kwiatostanami o czerwonej barwie wyjściowej (67%), rośliny z wszystkimi kwiatostanami o barwie jednolicie zmienionej na złotą (12%) i dwubarwne chimery, podobne do tych jakie obserwowano w pokoleniu vM_1 (21%). Oznacza to być może, że wbrew wspomnianej wyżej teorii Broertjes'a, w regeneracji pędów przybyszowych chimer uczestniczyły

przynajmniej dwie inicjalne komórki eksplantatu liściowego: zmutowana i niezmutowana, dając w efekcie organizm roślinny zbudowany z tkanek genetycznie niejednorodnych.

LITERATURA

1. Aartrijk J., van der Linde P.C.G., van Telgen H.J. (1990). Regeneration of adventitious buds in ornamental species. W: Integration of in vitro techniques in ornamental plant breeding. Proceedings of Eucarpia symposium, J. de Jong (Editor), Wageningen, 7-20.
2. Boertjes C., van Harten A.M. (1988). Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops. Elsevier, Amsterdam.
3. Harborne J.B. (1976). Function of flavonoids in plant. W: Chemistry and biochemistry of plant pigments. T.W. Goodwin (Editor), Acad. Press, London, 736-778.
4. Jerzy M., Lubomski M. (1991). Adventitious shoot formation on ex vitro derived leaf explants of *Gerbera jamesonii*. *Scientia Hort.* 47,115-124.
5. Jerzy M., Lubomski M. (1992). In vitro adventitious bud techniques for mutation breeding of *Gerbera jamesonii*. *Acta Hort.* 314,269-274.
6. Jerzy M., Zalewska M., Piszczek P. (1993). Somatic mutagenesis in *Chrysanthemum* induced in vitro by irradiation of leaf explants forming adventitious shoots. *Acta Hort.* (w druku).
7. Laneri U., Franconi R., Altavista P. (1990). Somatic mutagenesis of *Gerbera jamesonii* hybr.: irradiation and in vitro culture. *Acta Hort.* 280,395-402.
8. Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15,473-497.
9. Murashige T., Serpa M., Jones J.B. (1974). Clonal multiplication of *Gerbera* through tissue culture. *Hort. Science* 9,175-180.
10. Walther F., Sauer A. (1986). Analysis of radiosensitivity - a basic requirement for in vitro somatic mutagenesis. II. *Gerbera jamesonii*. In: Nuclear Techniques and In Vitro Culture for Plant Improvement. IAEA, Wiena, Aug. 1985,155-161.
11. Walther F., Sauer A. (1986). In vitro mutagenesis in *Gerbera jamesonii*. W: Genetic Manipulation in Plant Breeding. Proc. Symp. Eucarpia, Berlin, 1985. W. Horn, C.J. Jesen, W. Odenbach, O. Schieder (Editors), Walter de Gruyter Publ., Berlin, New York, 555-562.
12. Walther F., Sauer A. (1989). Effect of different intervals of X-ray split doses on shoot production of in vitro derived explants of *Gerbera jamesonii* Bolus. XII. Eucarpia Congress, Book of Poster Abstracts, Part II, 18-5.

STRESZCZENIE

Wykorzystanie liści ex vitro jako obiektów służących do napromieniania i indukowania zmienności u 16 odmian gerbery Jamesona, rozmnażanych z pąków przybyszowych, doprowadziło do uzyskania mutantów o jednolicie zmienionej barwie kwiatostanów, powtarzających nowo nabyte cechy w drugim pokoleniu roślin rozmnożonych wegetatywnie z wyizolowanych wierzchołków wzrostu. W pierwszym wegetatywnym pokoleniu mutacyjnym roślin poddanych działaniu różnych dawek promieniowania gamma (5-25 Gy) pojawiły się jednak również chimery. Ich udział był znaczny i stanowił bez mała połowę zmutowanych roślin. Ponowne rozmnożenie chimer z eksplantatów liściowych tworzących pędy przybyszowe zwiększyło wydatnie liczbę mutantów o jednolicie zmienionej barwie kwiatostanów w drugim wegetatywnym pokoleniu mutacyjnym.

IN VITRO INDUCTION OF MUTATION AND SEPARATION OF CHIMERAS IN *GERBERA JAMESONII*

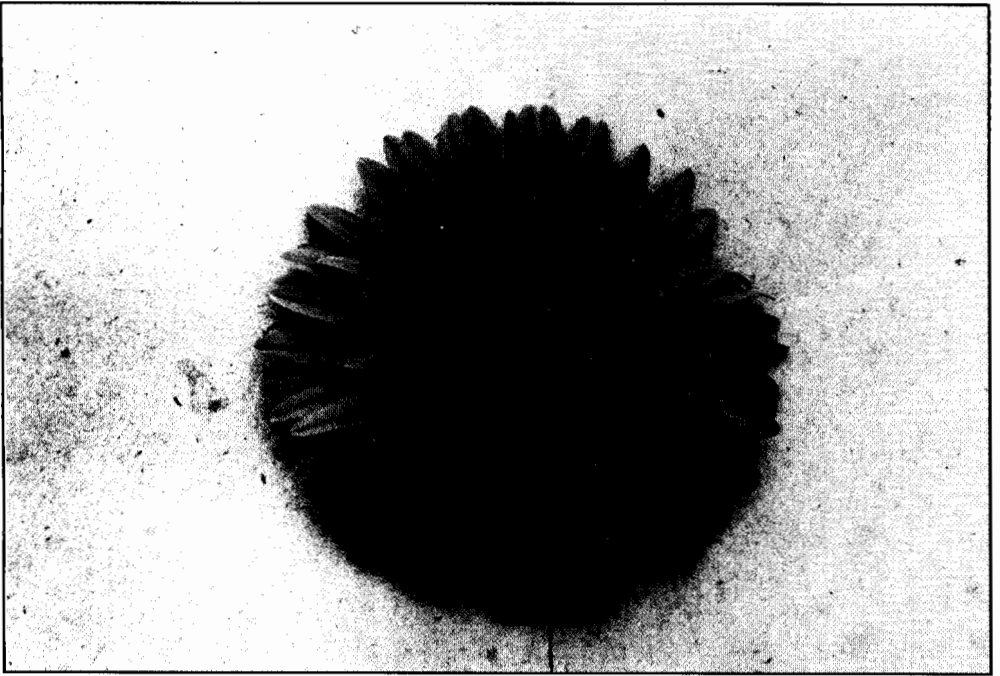
M. Jerzy, M. Zalewska, A. Garczewska

Department of Horticulture, Laboratory of Floriculture
University of Technology and Agriculture in Bydgoszcz

S u m m a r y

Using ex vitro leaves as objects to be irradiated and to induce variation in sixteen *Gerbera jamesonii* cultivars, reproduced from adventitious buds, resulted in obtaining the mutants which inflorescence colour was uniformly changed and which newly acquired traits recurred in the second generation of plants reproduced vegetatively from the isolated shoot tips. However, chimeras appeared among the vM_1 plants exposed to various doses of gamma rays (5-25 Gy) and they constituted almost half of the mutated plants. A further propagation of chimeras from leaf explants forming adventitious shoots significantly increased the number of solid mutants with uniformly changed inflorescence colour in the vM_2 generation.

Prof. dr hab. Marek Jerzy
Akademia Techniczno-Rolnicza
Katedra Ogrodnictwa, Zakład Roślin Ozdobnych
ul. Bernardyńska 6
85-029 Bydgoszcz



Fotografia 1. Odmiana 'Kassandra' u góry i jej różowy mutant z jasnym oczkiem (u dołu) uzyskany po napromienieniu liści ex vitro dawką 25 Gy.
Photography 1. Cultivar 'Kassandra' (top) and pink mutant with bright centre (bottom) obtained after irradiation of ex vitro leaves with dose of 25 Gy.

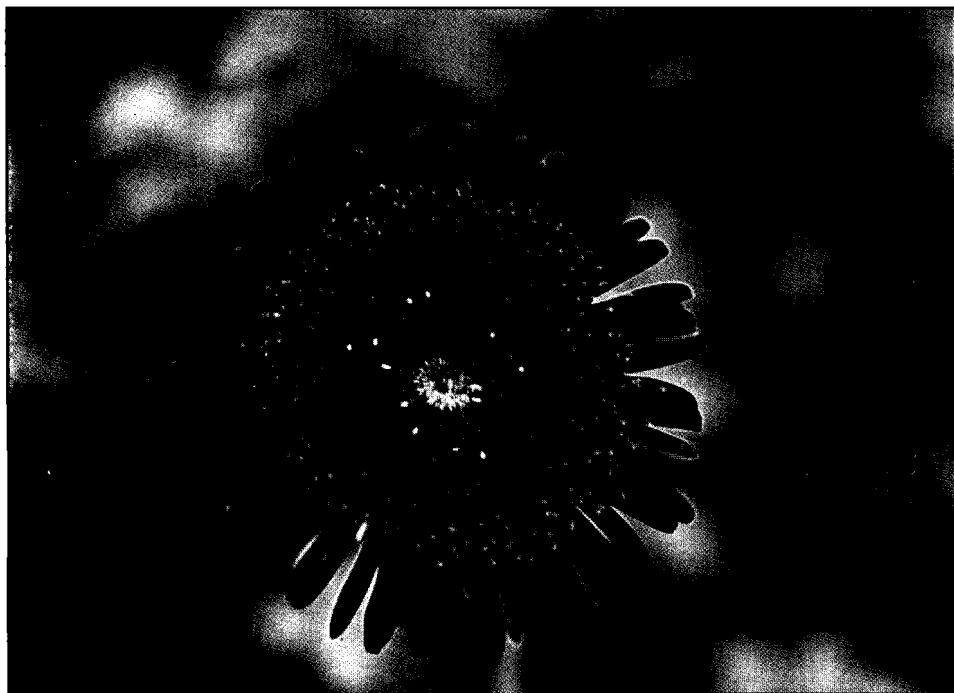




Fotografia 2. Odmiana 'Lisa' (u góry) i jej złotożółty mutant (u dołu) uzyskany po
napromienieniu liści ex vitro dawką 5 Gy.

Photography 2. Cultivar 'Lisa' (top) and golden yellow mutant (bottom) obtained after irradiation of
ex vitro leaves with dose of 5 Gy.





Fotografia 3. Odmiana 'Raisa' (u góry) i jej czerwony mutant – 'Red Raisa' (u dołu) uzyskany po napromienieniu liści ex vitro dawką 25 Gy.
Photography 3. Cultivar 'Raisa' (top) and red mutant – 'Red Raisa' (bottom) obtained after irradiation of ex vitro leaves with dose of 25 Gy.





Fotografia 4. Odmiana 'Amber' (u góry) i jej mutant – chimera (u dołu) uzyskany po napromienieniu liści ex vitro dawką 15 Gy.
Photography 4. Cultivar 'Amber' (top) and chimeric mutant (bottom) obtained after irradiation of ex vitro leaves with dose of 15 Gy.



Fotografia 5. Odmiana 'Red Nero' (z prawej) i jej mutant – 'Mini Nero' (z lewej)
Photography 5. Cultivar 'Red Nero' (right) and mutant – 'Mini Nero' (left)



Fotografia 6. Odmiana 'Mini Nero' traktowana Alarem i dwukrotnie uszczykiwana
Photography 6. Cultivar 'Mini Nero' treated with Alar and twice pinching

