

## WPLYW SKŁADU HORMONALNEGO POŻYWKI NA NAMNAŻANIE CHRYZANTEMY (*Dendranthema grandiflora* TZVELEV) Z GRUPY GARDEN MUMS

Danuta Kulpa, Danuta Rzepka-Plevneš, Jadwiga Kurek, Dorota Gacek

Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Akademia Rolnicza w Szczecinie

### Wstęp

W ostatnich latach, obok chryzantem uprawianych na kwiat cięty – form wielokwiatowych i gałązkowych, coraz większą popularność wśród konsumentów zdobywają odmiany gruntowe – z grupy Garden Mums [JERZY 1998]. W literaturze przedmiotu jak dotąd jest niewiele danych na temat możliwości ich rozmnażania w kulturach *in vitro*. Wydaje się, że opracowanie dla tej grupy chryzantem metody regeneracji w kulturach *in vitro* jest potrzebą chwili.

Z badań niektórych autorów wynika, że osiągnięcie najwyższego współczynnika mnożenia w przypadku chryzantem jest możliwe na pożywkach zawierających cytokininę i auksynę w postaci 6-benzyloaminopuryny (BAP) i kwasu indolilo-3-octowego (IAA) [FURUYA 1999]. Nie ma jednak wśród nich zgodności, co do optymalnego składu pożywki [ROUT, DAS 1997; FUJII, SHIMIZU 1999; OLIVEIRA-PAIVA i in. 1999].

Powyższe przesłanki skłoniły autorów do określenia wpływu składu hormonalnego pożywki ze szczególnym uwzględnieniem cytokininy BAP i auksyny IAA na współczynnik mnożenia, jak również wskazania optymalnego składu pożywki do rozmnażania w kulturach *in vitro* odmiany 'Brigitte'.

### Materiał i metody badań

Badania przeprowadzono w latach 2000–2001 w Laboratorium Kultur Tkankowych (Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych) Akademii Rolniczej w Szczecinie. Materiałem badawczym była odmiana chryzantemy – 'Brigitte', o żółtych kwiatostanach. Eksplantatami były jednowęzłowe odcinki roślin o długości do 1 cm. Pobierano je z fragmentów roślin matecznych odkażanych poprzez płukanie przez 15 min w wodzie destylowanej, a następnie zanurzenie w 70% alkoholu etylowym na 30 s oraz moczenie przez 15 min w 3,5% roztworze podchlorynu sodu (NaOCl).

Eksplantaty wykładano na pożywkę sporządzoną na bazie pożywki MS [MURASHIGE, SKOOG 1962] i uzupełnioną 0,02 mg NAA·dm<sup>-3</sup> i kinetyną (2 mg·dm<sup>-3</sup>).

Zainicjowane do wzrostu eksplantaty wykładano na 16 typów pożywek, za-

wierających makro- i mikroelementy pożywki MS, z różną koncentracją BAP i IAA (odpowiednio od 0,5 do 2 mg·dm<sup>-3</sup> i od 0,2 do 2 mg·dm<sup>-3</sup>) oraz na pożywkę JERZEGO i LUBOMSKIEGO [1989], zawierającą IAA (2,0 mg·dm<sup>-3</sup>) i BAP (0,6 mg·dm<sup>-3</sup>). Kontrolą w doświadczeniu były rośliny chryzantemy odmiany 'Brigitte', rosnące na pożywece MS bez regulatorów wzrostu (tab. 1).

Każdą pożywkę reprezentowało 30 eksplantatów, umieszczonych w fitotronie o temperaturze 24 ± 1°C, długości dnia 16 godz. i natężeniu światła 40 PAR (μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>).

Po 6 tygodniach od założenia kultury przeprowadzono pomiary biometryczne roślin, określając ich wysokość (cm), liczbę pędów uzyskanych z jednego pędu inicjalnego, liczbę liści na roślinie, długość (cm) i liczbę korzeni wykształconych przez roślinę oraz ich masę (g).

Doświadczenie założono w układzie całkowicie losowym. Istotność różnic określono przy pomocy analizy wariancji i testu Tukeya, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Grupy jednorodnie pomiędzy badanymi kombinacjami oznaczono w tabeli 1 kolejnymi literami alfabetu.

## Wyniki

Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że skład pożywki miał istotny wpływ na kształtowanie się cech morfologicznych otrzymanych roślin chryzantemy. Wyjątek stanowiła szerokość liścia.

Skład pożywek użytych w doświadczeniu w niewielkim stopniu wpływał na liczbę roślin, która wahała się od 1,17 do 2,22 z eksplantatu. Najmniej zainicjowanych do wzrostu roślin otrzymano, gdy namnażano je na pożywkach: kontrolnej i zawierającej dość wysokie stężenie IAA (2 mg·dm<sup>-3</sup>), przy jednoczesnym braku cytokininy BAP (pożywka 13).

Najwyższe rośliny otrzymano na pożywkach zawierających IAA w ilości: 0,2 mg·dm<sup>-3</sup> (8,06 cm) oraz 1 mg·dm<sup>-3</sup> (8,05 cm), najniższe zaś – na pożywkach z BAP, w ilości 1 i 2 mg·dm<sup>-3</sup> w połączeniu z IAA (2 mg·dm<sup>-3</sup>). Ich wysokość wynosiła odpowiednio 4,23 i 4,15 cm (tab. 1). Dodatek substancji wzrostowych nie zwiększał wysokości roślin, które były podobne do kontroli (7,6 cm), gdy łączna dawka BAP i IAA nie przekraczała 2 mg·dm<sup>-3</sup>, lub były niższe, gdy dawka hormonów przekraczała 2 mg·dm<sup>-3</sup>.

Liczba liści wahała się od 20,6 (pożywka z BAP 1 mg·dm<sup>-3</sup> i IAA 0,2 mg·dm<sup>-3</sup>) do 12,9 (pożywka z IAA 2 mg·dm<sup>-3</sup>), a ich szerokość – średnio 1,33 cm i mieściła się w granicach od 1,01 do 1,91 cm i nie zależała od składu pożywki.

Otrzymane w poszczególnych kombinacjach doświadczenia rośliny chryzantemy różniły się istotnie pod względem liczby i długości wykształconych korzeni. Najliczniejsze korzenie (od 2,50 do 3,17) wykształciły rośliny rosnące na pożywkach zawierających wyłącznie IAA (odpowiednio 2 i 1 mg·dm<sup>-3</sup>) oraz na pożywece kontrolnej, bez regulatorów wzrostu. Rośliny rosnące na wymienionych pożywkach należały również do grupy c najdłuższych korzeniach (11,37 i 10,37 cm)

Omawiane rośliny chryzantemy różniły się istotnie pod względem masy wykształconych wieloroślinek. Cecha ta kształtowała się średnio dla wszystkich kombinacji na poziomie 1,32 g. Najwyższe wartości tej cechy (1,58 g) stwierdzono w przypadku pożywki z dodatkiem IAA (0,2 mg·dm<sup>-3</sup>) i bez BAP (0 mg·dm<sup>-3</sup>). Wraz ze wzrostem stężenia IAA, a także w przypadku braku tej auksyny w pożywece masa roślin malała osiągając wartość 0,85 g w pożywece nr 13.

Tabela 1; Table 1

Średnie wartości (x) cech morfologicznych chryzantemy 'Brigitte' rozmnażanej na pożywkach MS o różnym składzie regulatorów wzrostu na tle kontroli – bez regulatorów wzrostu

Mean values (x) of morphological traits for 'Brigitte' cultivar propagated on MS media of different growth regulator composition in comparison to control – hormone free medium

Pożywka nr; Medium number	Skład hormonalny pożywki; Hormonal composition of media (mg·dm <sup>-3</sup> )		Wysokość rośliny Plant height (cm)		Liczba liści Leaf number		Szerokość liści Width of leaf (cm)		Liczba roślin Plant number		Masa rośliny Plant weight (g)		Długość korzeni Root length (cm)		Liczba korzeni Root number	
	BAP	IAA														
1 kontrola control	0	0	7,61	a-c	13,11	g	1,54	a	1,22	c	1,11	a-d	10,88	a	3,17	a
2	0,5	0	7,14	bc	16,59	d	1,41	a	1,82	ab	1,26	a-d	3,21	b	1,53	c
3	1	0	6,46	c	17,67	c	1,35	a	1,61	ab	1,54	ab	1,37	c	0,83	de
4	2	0	6,48	cd	19,33	b	1,93	a	1,78	ab	1,41	a-c	0,68	c	0,50	e
5	0	0,2	8,06	a	13,83	g	1,54	a	2,22	a	1,58	a	5,76	b	3,17	a
6	0,5	0,2	7,47	a-d	17,89	c	1,31	a	2,17	ab	1,50	a-c	2,20	c	1,50	cd
7	1	0,2	6,72	cd	20,61	a	1,29	a	1,39	bc	1,54	ab	3,06	b	1,61	c
8	2	0,2	5,76	ef	15,83	e	1,28	a	1,94	a-c	1,50	a-c	3,82	b	2,67	ab
9	0	1	8,05	ab	13,28	g	1,49	a	1,39	a-c	1,10	a-d	10,37	a	2,50	ab
10	0,5	1	7,21	a-d	14,82	ef	1,22	a	1,65	a-c	1,52	a-c	2,09	c	1,41	cd
11	1	1	5,14	fg	15,81	e	1,16	a	1,81	a-c	1,55	a	1,54	c	1,56	c
12	2	1	5,09	fg	15,67	e	1,01	a	1,73	a-c	1,46	a-c	1,07	c	1,07	de
13	0	2	7,02	b-d	12,94	g	1,32	a	1,17	c	0,85	d	11,37	a	2,50	ab
14	0,5	2	5,23	g	14,00	fg	1,25	a	1,29	a-c	1,00	cd	1,23	c	0,81	de
15	1	2	4,23	g	13,56	g	1,11	a	1,39	a-c	1,03	b-d	1,95	c	1,06	c-e
16	2	2	4,18	g	17,50	c	1,04	a	1,69	a-c	1,03	b-d	0,73	c	0,63	e
17*	0,06 BAP	2,0 NAA	6,89	b-e	17,92	c	1,39	a	1,57	a-c	1,50	a-c	6,13	b	2,38	b
18**	0,02 kinet.	2,0 NAA	4,62	f	13,18	g	1,26	a	1,24	c	1,30	a-c	3,42	b	1,71	c

\* – pożywka wg JERZEGO i LUBOMSKIEGO [1989]; medium according to JERZY and LUBOMSKI [1989]

\*\* – pożywka stosowana do mikrorozmnażania chryzantemy w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych AR w Szczecinie [RZEPKA-PLEVNEŠ i in. 1997]; medium used for chrysanthemum micropropagation at the Department of Plant Breeding, Szczecin Agricultural University [RZEPKA-PLEVNEŠ et al. 1997]

## Dyskusja

Genetyczne uwarunkowanie zdolności roślin do namnażania w kulturach *in vitro* jest mało poznane [RAKOCZY-TROJANOWSKA 1999]. Jednak wpływ genotypu na przebieg mikrorozmnażania jest wyraźny w każdym doświadczeniu poświęconym temu zjawisku. Z badań niektórych autorów [ROEST, BOKELMAN 1973, 1975; NEERUSOOD i in. 1999] wynika, że najwyższy współczynnik proliferacji i dobrze wykształcone pędy boczne można otrzymać u tego gatunku roślin na pożywkach z dodatkiem auksyny NAA (2 mg·dm<sup>-3</sup>) i cytokininy BAP (2 mg·dm<sup>-3</sup>). W badaniach własnych najczęściej dobrze rozwiniętych pędów bocznych otrzymano na pożywkach zawierających także BAP i równocześnie auksynę IAA, zamiast NAA. Największe liczby roślin z eksplantatu otrzymano, gdy BAP zastosowano w stężeniu 0–1 mg·dm<sup>-3</sup>, a IAA w stężeniu 0,2–1 mg·dm<sup>-3</sup>. Wyżej wymienione kombinacje pożywek okazały się w przypadku namnażania chryzantemy 'Brigitte' podobnie działające jak standardowa pożywka JERZEGO i LUBOMSKIEGO [1989].

Etapami krytycznymi dla wielu gatunków roślin w procesie mikrorozmnażania są ukorzenianie i adaptacja do warunków *in vivo* [ORLIKOWSKA 1997; ZENKTELER 2001]. Odmiany chryzantemy różnią się pod tym względem znacznie. Większość autorów zajmujących się tego typu badaniami poleca do ukorzeniania chryzantemy pożywkę z dodatkiem niewielkiej ilości jednej z auksyn lub też obniżonego poziomu obu stosowanych do ukorzeniania chryzantemy hormonów. W przypadku niniejszych badań najlepiej ukorzenione rośliny otrzymano na pożywkach z auksyną IAA oraz w grupie kontrolnej bez regulatorów wzrostu.

## Wnioski

1. Stwierdzone w przypadku mikrorozmnażania roślin odmiany 'Brigitte' z grupy chryzantem gruntowych – Garden Mums wysokie parametry współczynnika proliferacji i wielkości pędów można osiągnąć na pożywkach z dodatkiem BAP (0–1 mg·dm<sup>-3</sup>) i IAA (0,2–1 mg·dm<sup>-3</sup>).
2. U badanych roślin chryzantemy 'Brigitte' najdłuższe korzenie otrzymano stosując pożywkę MS, bez regulatorów wzrostu lub też z dodatkiem auksyny IAA w ilości 1 lub 2 mg·dm<sup>-3</sup>.

## Literatura

- FURUYA H. 1999. *Development of rapid mass propagation of chrysanthemum by shoot tip culture for superior mother plants cv. 'Shuho-no-Chikara'. Mass propagation by multiple shoots.* Biul. Hiroshima Prefec. Agric. Res. Cen. 67: 31–39.
- FUJII Y., SHIMIZU K. 1999. *Regeneration of plants from achenes and petals of Chrysanthemum coccineum.* Plant Cell Rep. 8: 625–627.
- JERZY M. 1998. *Chryzantemy w ogrodzie. Garden Mums – nowa grupa wczesnych odmian gruntowych.* Wiadomości Chryzantemowe 22: 9–12.
- JERZY M., LUBOMSKI M. 1989. *Rozmnażanie złocieni in vitro.* Ogrodnictwo 5–6: 25–27.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.* Physiol. Plant. 15: 473–497

- NEERU-SOOD, SARISTAVA R.K., GOSAL S.S., SOOD N. 1999. *In vitro* chemical treatments facilitate survival of micropropagated plants ex vitro. *Crop Improvement* 26(1): 28–33.
- OLIVEIRA-PAIVA P.D., PASQUAL M., PAIVA R., DE OLIVEIRA-PAIVA P.D. 1999. *Effect of agar concentrations and pH levels on in vitro propagation of Chrysanthemum*. *Revista. Ceres*. 264: 141–148.
- ORLIKOWSKA 1997. *Regulatory roślinne w kulturach in vitro*, W: *Roślinne regulatory wzrostu i rozwoju roślin*. Red. J. Jankowiak, PWN, W-wa: 219–242.
- RAKOCZY-TROJANOWSKA 1999. *Charakterystyka zmienności somaklonalnej trzech linii wsobnych żyta ozimego (Secale cereale L.)*. Wyd. 1, Warszawa, Fundacja "Rozwój SGGW": 17–25.
- ROEST S., BOKELMAN G.S. 1973. *Vegetative propagation of Chrysanthemum cinariaefolium Ram. in vitro*. *Sci. Hort.* 1: 12–122.
- ROEST S., BOKELMAN G.S. 1975. *Vegetative propagation of Chrysanthemum cinariaefolium Ram. in vitro*. *Sci. Hort.* 3: 317–330.
- ROUT G.R., DAS P. 1997. *Recent trends in the biotechnology of Chrysanthemum: critical review*. *Sci. Hortic.* 69: 239–257
- ZENKTELER E. 2001. *Materiał rozmnożeniowy o wysokiej jakości*, w: *Biotechnologia roślin*. Red. S. Malepszy. PWN, W-wa: 273–290.

**Słowa kluczowe:** chryzantemy, Garden Mums, *in vitro*, IAA, BAP

### Streszczenie

W badaniach określono wpływ składu hormonalnego pożywki na inicjację i namnażanie roślin chryzantemy z grupy Garden Mums, odmiany 'Brigitte'.

Zainicjowane do wzrostu eksplantaty namnażano na pożywkach MS o różnym poziomie regulatorów wzrostu – 6-benzyloaminopuryny (BAP) i kwasu indolilo-3-octowego (IAA), odpowiednio od 0,5 do 2 mg·dm<sup>-3</sup> i 0,2 do 2 mg·dm<sup>-3</sup>. Do badań włączono opracowaną dla chryzantemy pożywkę Jerzego i Lubomskiego (1989) zawierającą IAA (2 mg·dm<sup>-3</sup>) i BAP (0,6 mg·dm<sup>-3</sup>) oraz kontrolę – MS bez regulatorów wzrostu.

Badania wykazały, że w przypadku odmiany chryzantemy gruntowej 'Brigitte' największy współczynnik proliferacji i najlepiej wykształcone pędy boczne otrzymano na pożywce MS z dodatkiem BAP (0–1 mg·dm<sup>-3</sup>) i IAA (0,2–1 mg·dm<sup>-3</sup>), największy przyrost korzeni na pożywce MS bez hormonów wzrostu lub z niewielką ilością auksyn.

### EFFECT OF HORMONAL COMPOSITION OF THE MEDIA ON PROLIFERATION OF CHRYSANTHEMUM (*Dendranthema grandiflora* TZVELEV) FROM GARDEN MUMS' GROUP

Danuta Kulpa, Danuta Rzepka-Plevneš, Jadwiga Kurek, Dorota Gacek  
Department of Horticulture Plant Breeding, Agricultural University, Szczecin

**Key words:** chrysanthemum, Garden Mums, *in vitro*, IAA, BAP

### Summary

The studies aimed at determining the effects of hormonal composition of the medium on initiation and proliferation of 'Brigitte' cultivar belonging to Garden Mums chrysanthemum.

Initiated explants were propagated on MS media containing different level of growth regulators – 0.5–2 mg BAP·dm<sup>-3</sup> and 0.2–2 mg IAA·dm<sup>-3</sup>, respectively.

The medium developed for chrysanthemum by Jerzy and Lubomski (1989, 1996) containing 2 mg IAA·dm<sup>-3</sup> and 0.6 mg BAP·dm<sup>-3</sup>, as well as the control (MS) without growth regulators were also included in studies.

The results indicated that the highest proliferation coefficient and best-formed lateral shoots were obtained on MS medium supplemented with 0–1 mg BAP·dm<sup>-3</sup> and 0.2–1 mg IAA·dm<sup>-3</sup>, while the greatest root growth on MS medium without growth hormones or with a very small amount of auxins.

Dr inż. Danuta **Kulpa**  
Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych  
Akademia Rolnicza  
ul. Janosika 8  
71-424 SZCZECIN  
e-mail: [dkulpa@ns.rektor.ar.szczecin.pl](mailto:dkulpa@ns.rektor.ar.szczecin.pl)