



Wpływ 2,4-D, NAA i pikloramu na indukcję kalusa i somatyczną embriogenezę u szparagów ozdobnych

Ewa Kępczyńska¹, Sylwia Zielińska¹, Jan Kępczyński²

¹Zakład Biotechnologii, ²Zakład Fizjologii Roślin, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński, Szczecin

The effects of 2,4-D, NAA and picloram on callus induction and somatic embryogenesis in ornamental asparagus

Summary

In this study we examined the effect of 2,4-D, NAA and picloram at 1.5, 3.0 and 4.5 mg/l in MS medium on callus induction and somatic embryogenesis in *Asparagus densiflorus* cv. *Sprengeri* and *Asparagus plumosus*. The callus formation of both shoot tips and nodal explants from *A. densiflorus* after 8 weeks of culture on MS medium supplemented with NAA and picloram (1.5, 3.0 mg/l) was observed. However, callus on medium containing 2,4-D was occasionally induced. On medium supplemented with picloram shoot tip explants of *Asparagus plumosus* showed callus inducing capacity. After four weeks of callus culture on hormone-free medium the globular embryos were achieved. On callus induced NAA organogenesis was observed.

Key words:

ornamental asparagus, auxins, callus growth, somatic embryogenesis.

Adres do korespondencji

Ewa Kępczyńska,
Zakład Biotechnologii,
Wydział Nauk
Przyrodniczych,
Uniwersytet Szczeciński,
ul. Wąska 13,
71-415 Szczecin.

biotechnologia

2 (53) 170–173 2001

1. Wstęp

Szparag jest często wykorzystywanym gatunkiem w badaniach nad somatyczną embriogenezą. Większość prac dotyczy jednak szparaga jadalnego *Asparagus officinalis* L. (1). W literaturze jest niewiele doniesień dotyczących indukcji kalusa szparagów ozdobnych, cieszących się dużą popularnością dekoracyjną jako

tzw. „zieleni cięta”. Zajmowano się przede wszystkim *Asparagus densiflorus* Jesson odm. Myriocladus (3) oraz odm. Sprengeri i odm. Meyeri (4,5) w celu poprawienia wydajności i jakości mikrorozmnażania. W kulturach kalusa *A. densiflorus* odm. Myriocladus zaobserwowano struktury zarodkopodobne (3).

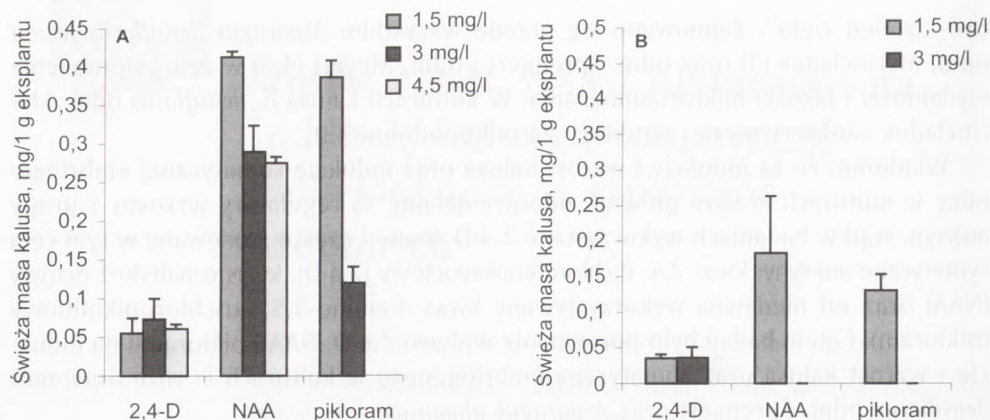
Wiadomo, że za indukcję i wzrost kalusa oraz indukcję somatycznej embriogenezy w kulturach *in vitro* głównie odpowiedzialne są regulatory wzrostu z grupy auksyn, stąd w badaniach wykorzystane 2,4-D znane i często stosowane w tym celu syntetyczne auksyny: kwas 2,4- dichlorofenoksyoctowy (2,4-D), kwas α -naftylo-1-octowy (NAA) oraz od niedawna wykorzystywany kwas 4-amino-3,5,6-trichloropikolinowy (pikloram). Celem badań było porównanie wpływu 2,4-D, NAA i pikloramu na indukcję i wzrost kalusa oraz somatyczną embriogenezę w kulturach *in vitro* *Asparagus densiflorus* odm. Sprengeri oraz *Asparagus plumosus*.

2. Materiał i metody

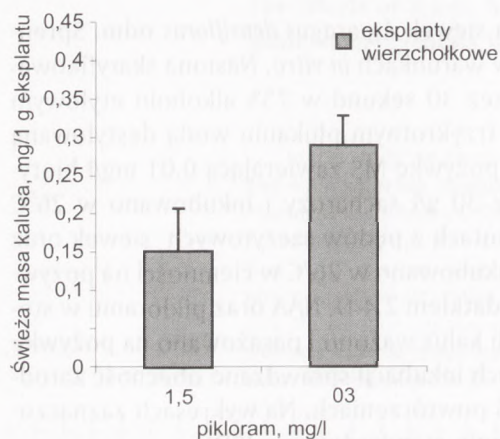
Eksplanty pobierano z 6-tygodniowych siewek *Asparagus densiflorus* odm. Sprengeri oraz *Asparagus plumosus* uzyskanych w warunkach *in vitro*. Nasiona skaryfikowano papierem ściernym, sterylizowano przez 30 sekund w 75% alkoholu etylowym i 5 minut w 0,2% chlorku rtęci $HgCl_2$. Po trzykrotnym płukaniu wodą destylowaną wykładano je w warunkach sterylnych na pożywkę MS zawierającą 0,01 mg/l biotyliny, 1,0 mg/l NAA, 1,0 mg/l kinetyny oraz 30 g/l sacharozy i inkubowano w 26°C w ciemności. Kalus indukowano na eksplantach z pędów szczytowych siewek oraz z fragmentów pędów z węzłem. Kultury inkubowano w 26°C w ciemności na pożywce wg Murashige i Skooga tzw. MS(2) z dodatkiem 2,4-D, NAA oraz pikloramu w stężeniach 1,5; 3,0 i 4,5 mg/l. Po 8 tygodniach kalus ważono i pasażowano na pożywkę MS pozbawioną hormonów. Po 4 tygodniach inkubacji sprawdzano obecność zarodków. Każde doświadczenie wykonano w 5 powtórzeniach. Na wykresach zaznaczono odcinkiem pionowym wartość odchylenia standardowego (SD).

3. Wyniki

Tworzenie kalusa obserwowano na eksplantach z pędów wierzchołkowych oraz z fragmentów pędów z węzłem z siewek *Asparagus densiflorus* odm. Sprengeri po 8 tygodniach inkubacji na pożywce MS zawierającej NAA i pikloram w stężeniach 1,5; 3,0 oraz 4,5 mg/l (rys. 1). Kalus był również indukowany w niewielkim stopniu na pożywce zawierającej 2,4-D. Na pożywce bez hormonu kalus nie tworzył się. Bardziej podatne na odróżnicowanie okazały się eksplanty pobierane z wierzchołków pędów. Eksplanty te z siewek *Asparagus plumosus* tworzyły kalus tylko na pożywce z pikloramem (rys. 2).



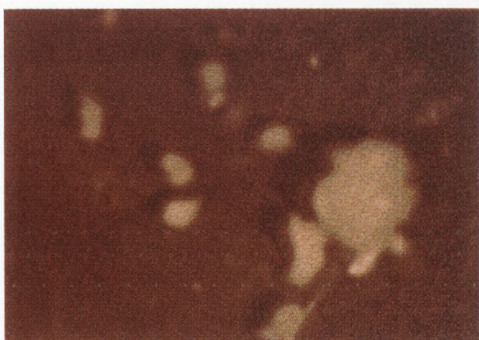
Rys. 1. Wpływ 2,4-D, NAA i pikloramu na indukcję kalusa z eksplantatów wierzchołkowych (A) i fragmentów pędów z węzłem (B) *Asparagus densiflorus* odm. Sprengeri.



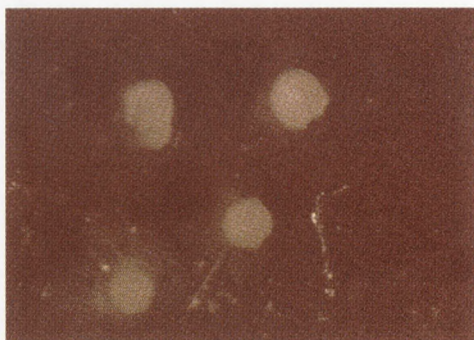
Rys. 2. Wpływ pikloramu na indukcję kalusa u *Asparagus plumosus*.

Proces somatycznej embriogenezy szparagów ozdobnych można wywołać inkubując kalus na pożywce MS nie zawierającej hormonów. Po 4 tygodniach inkubacji kalusa otrzymano stadium globularne zarodków zarówno u *A. densiflorus* odm. Sprengeri jak i *A. plumosus*. Somatyczna embriogeneza została zaindukowana u *A. densiflorus* odm. Sprengeri przez 3,0 i 4,5 mg/l 2,4-D (fot. 1A, B), 4,5 mg/l NAA (fot. 1C) lub 3,0 mg/l pikloramu (fot. 1D), natomiast u *A. plumosus* przez pikloram w stężeniu 1,5 mg/l (fot. 2A) i 3,0 mg/l (fot. 2B). Kalus indukowany przez NAA dodatkowo wytwarzał pędy i korzenie.

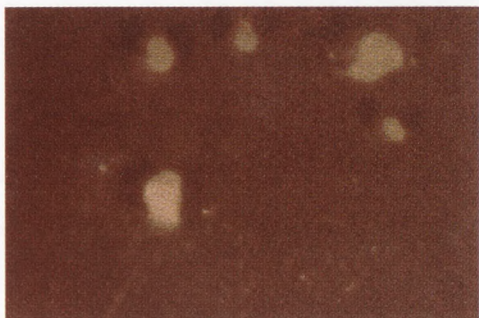
A



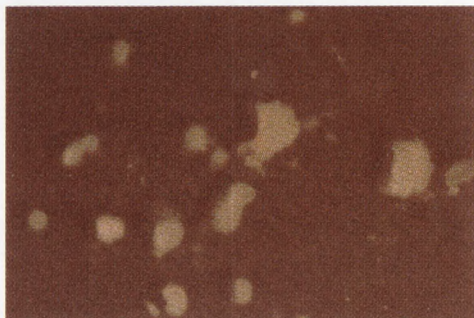
B



C

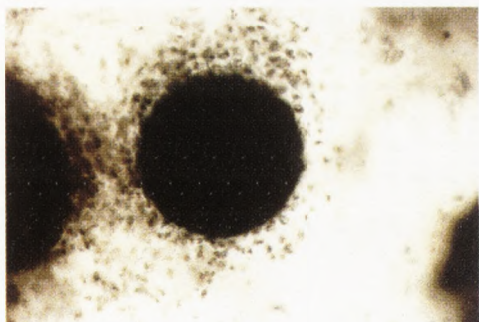


D

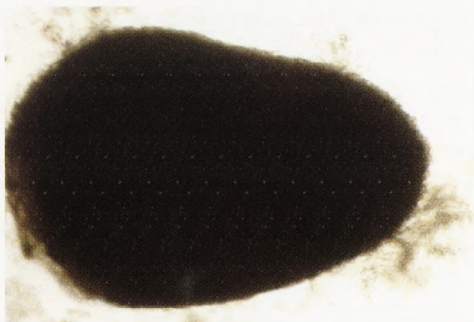


Fot. 1. Somaticzne zarodki otrzymane w kulturach kalusa zaindukowanych na eksplantach wierzchołkowych *A. densiflorus* na pożywce A – 3,0 mg/l 2,4-D, B – 4,5 mg/l 2,4-D, C – 4,5 mg/l NAA, D – 3,0 mg/l pikloram.

A



B



Fot. 2. Somaticzne zarodki otrzymane w kulturach kalusa zaindukowanych na eksplantach wierzchołkowych *A. plumosus* na pożywce A – 1,5 mg/l pikloram, B – 3,0 mg/l pikloram.



4. Wnioski

1. Wysoką aktywnością w indukcji i wzroście kalusa *A. densiflorus* odm. Sprengeri charakteryzowały się NAA i pikloram. Natomiast 2,4-D wykazywał znacznie mniejszy wpływ.

2. Powstawanie kalusa na eksplantach *A. plumosus* miało miejsce jedynie w obecności pikloramu.

3. Somatyczną embriogenezę u *A. densiflorus* odm. Sprengeri można zaindukować na pożywce zawierającej NAA, pikloram lub 2,4-D, natomiast u *A. plumosus* jedynie na pożywce zawierającej pikloram.

Literatura

1. Glapś T., Krzyżanowska D., Górecka K., (1994), Prace Ogrodu Botanicznego PAN, 5/6, 439-443.
2. Murashige T., Skoog F., (1962), Physiologia Plantarum 15, 473-479.
3. Pindel A., (1995), Folia Horticulturae, 7/2, 83-91.
4. Pindel A., Pindel Z., (1992), Zeszyty Naukowe AR, Kraków, Ogrodnictwo, z. 20, 267, 47-55.
5. Pindel A., Pindel Z., (1995), Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, t. 2, 101-106.