



## Wykorzystanie *meta*-topoliny w procesie wzrostu i rozwoju pędów *Pelargonium x hortorum in vitro*

Agnieszka Wojtania, Eleonora Gabryszewska  
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, Skierniewice

### Effect of *meta*-topolin on the growth and development of *Pelargonium x hortorum* shoots *in vitro*

#### Summary

The influence of BAP (0.1; 0.5 mg l<sup>-1</sup>) and *meta*-topolin (mT) (0.2; 1.0 mg l<sup>-1</sup>) added alone or together with IBA (0.02 mg l<sup>-1</sup>), on the growth and development of shoot tips and axillary buds of *P. x hortorum* 'Bargalais' isolated in April and July was compared. The explants taken in April had higher regeneration ability. Both cytokinin stimulated growth of buds, but shoots of good quality (without deformation and vitrification symptoms) were noted on the medium supplemented with mT (0.4 mg l<sup>-1</sup>). Application of mT (1.0 mg l<sup>-1</sup>) in the multiplication stage resulted in better shoots quality as well as more effective shoots formation (4.8-7.1, depending on subculture) compared to BAP. The observation of 4 subsequent subcultures after initiation of cultures showed that the quality of shoots *P. x hortorum* grown in the presence of BAP decreased with time.

#### Key words:

*Meta*-topolin, *Pelargonium*, organogenesis.

#### Adres do korespondencji

Agnieszka Wojtania,  
Instytut Sadownictwa  
i Kwiaciarnictwa,  
ul. Waryńskiego 14,  
96-100 Skierniewice.

## 1. Wstęp

W związku z występowaniem na pelargonii wielu chorób powodowanych przez wirusy (1) i bakterie, a głównie *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* (2) od wielu lat istnieje duże zainteresowanie rozmnażaniem pelargonii *in vitro* z przeznaczeniem na superelitarnie mateczniki, będące źródłem sadzonek do produkcji towarowej.

Rozwój metod rozmnażania pelargonii *in vitro* następował powoli ze względu na specyficzne wymagania poszczególnych gatunków i odmian co do składu mineralnego i organicznego pożywki oraz regulatorów wzrostu. Mimo że uzyskano regenerację pędów z różnych eksplantatów inicjalnych na drodze organogenezy i embriogenezy somatycznej (3-12), zastosowanie technik *in vitro* w masowej produkcji jest nadal ograniczone ze względu na niską przeżywalność eksplantatów inicjalnych, słaby ich rozwój, ograniczoną liczbę tworzących się pędów kątowych oraz gwałtowny spadek zdolności regeneracyjnych zaindukowanych kultur (13).

Celem badań była optymalizacja warunków wzrostu i rozwoju pąków wierzchołkowych i kątowych *P. x hortorum* 'Bargpalais' poprzez zastosowanie *meta*-topoliny (mT), mało znanej pochodnej benzyloadeniny (BAP), której korzystne działanie obserwowano w kulturach *Spathiphyllum* sp. (14), *Magnolia* i *Coccoloba* (15) podczas ukorzeniania i aklimatyzacji pędów oraz pelargonii w procesie długotrwałego mnożenia pędów (16).

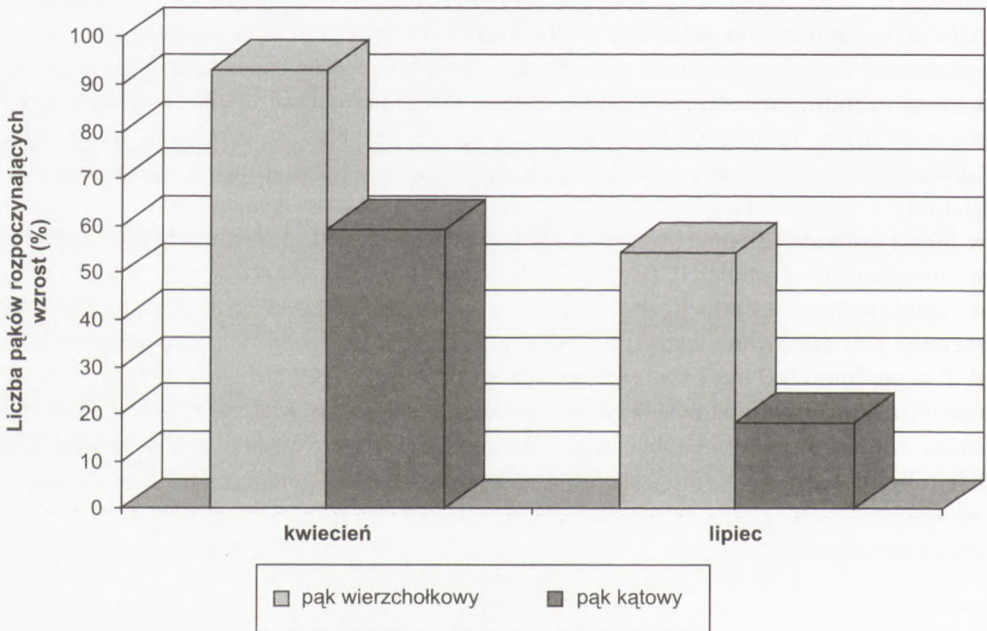
## 2. Materiał i metody

Materiałem doświadczalnym były pąki wierzchołkowe i kątowe *Pelargonium x hortorum* 'Bargpalais' pochodzące z roślin rosnących w szklarni. Eksplantaty pobierano w kwietniu i lipcu. Pąki z fragmentem pędu sterylizowano w 3% roztworze chlorku amonu T przez 20 minut i płukano w sterylnej wodzie. Po wysuszeniu wyizolowane pąki przenoszono na pożywkę Murashige i Skooga (17) zawierającą regulatory wzrostu: BAP (0,2 mg l<sup>-1</sup>) lub *meta*-topolin (0,4 mg l<sup>-1</sup>) bądź cytokininy w połączeniu z kwasem indolomasłowym (IBA) (0,02 mg l<sup>-1</sup>). Zastosowanie dwukrotnie wyższego stężenia mT w stosunku do BAP wynika z różnej aktywności wymienionych regulatorów wzrostu obserwowanej u innych genotypów (14,15). Kontrolę stanowiły eksplantaty rosnące na pożywce bez regulatorów wzrostu. Eksplantaty umieszczano w 50 ml kolbach Erlenmeyera, na pożywce agarowej o pH 5,6. Kultury prowadzono w fitotronie w warunkach 16-godzinnego oświetlenia i temperaturze 23-25°C. Po 4 tygodniach określono liczbę eksplantatów regenerujących oraz ich rozwój. Następnie zaindukowane pędy przenoszono na pożywkę namnażającą uzupełnioną BAP w stężeniu 0,5 mg l<sup>-1</sup> lub mT w stężeniu 1,0 mg l<sup>-1</sup>. Optymalne stężenia cytokinin określono na podstawie wyników wcześniejszego doświadczenia (16). Pędy pasażowano co 3 tygodnie. Obserwacje dotyczące liczby i długości pędów oraz liczby liści obejmowały 4 kolejne pasaży. Wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji. Do oceny istotności różnic między średnimi użyto testu t-Duncana przy poziomie 5%.

### 3. Wyniki i dyskusja

Z danych literaturowych wynika, że u wielu genotypów pelargonii obserwowano zwykle regenerację pośrednią, z udziałem tkanki kalusowej (8,18-20). W badaniach własnych zainicjowanie kultur *P. x hortorum* 'Bargpalais' uzyskano natomiast poprzez wzrost i rozwój pąków wierzchołkowych i kątowych. Efektywność tego procesu w dużym stopniu zależała od terminu izolacji. Zdecydowanie wyższym potencjałem regeneracyjnym odznaczały się eksplantaty pobierane w kwietniu (rys. 1, tab. 1). Podobne wyniki uzyskali Corneanu i Corneanu (21) u *P. zonale* i *P. grandiflorum*, którzy izolowali pąki w marcu, kwietniu i grudniu. Słabszy wzrost pąków pobieranych w lipcu, a głównie pąków kątowych był przede wszystkim związany z intensywnie tworzącymi się substancjami fenolowymi, które prowadziły do zamierania eksplantatów. W przypadku izolacji w kwietniu, w doświadczeniu nie obserwowano istotnych różnic we wzroście i rozwoju pąków kątowych i wierzchołkowych. Wśród pąków izolowanych w lipcu lepszy rozwój wykazywały pąki wierzchołkowe, które u pelargonii uważane są za najbardziej aktywne w procesie organogenezy i równocześnie stanowią najlepsze źródło eksplantatów w przypadku uwalniania roślin od chorób bakteryjnych i wirusowych (20,21).

Największy wpływ na zainicjowanie kultur *P. x hortorum* 'Bargpalais' i dalszy ich rozwój miały jednak regulatory wzrostu. Eksplantaty inicjalne rosnące na pożywce



Rys. 1. Efektywność etapu inicjalnego kultur *Pelargonium x hortorum* 'Bargpalais' w zależności od stosowanych eksplantatów inicjalnych i terminu izolacji.



Fot. 1. Pąki (A – kątowy, B – wierzchołkowy) po 4 tygodniach wzrostu na pożywce inicjalnej uzupełnionej różnymi regulatorami wzrostu, kolejno od lewej: kontrola (bez regulatorów wzrostu), BAP, BAP+IBA, mT, mT+IBA.

kontrolnej, bez regulatorów wzrostu, uaktywniały się sporadycznie. Natomiast w obecności zarówno BAP ( $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ ), jak i mT ( $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ ), pąki wierzchołkowe i kątowe rozpoczynały wzrost, rozwijając się zazwyczaj w pojedynczą roślinę (tab. 1). W porównaniu z BAP, zastosowanie mT w stadium inicjalnym korzystnie wpłynęło na jakość pędów (bez deformacji i szklistości) i pozwoliło na ograniczenie tworzenia tkanki kalusowej u podstawy pędów (fot. 1). Zastosowanie mT łącznie z IBA ( $0,02 \text{ mg l}^{-1}$ ) wpłynęło stymulująco na rozwój pąków bocznych w kulturach wierzchołków pędu, jak również na wzrost pąków kątowych pobieranych w lipcu, które nie wykazywały zdolności regeneracyjnych w obecności samej mT oraz na pożywce z BAP lub BAP+IBA (tab. 1).

Tabela 1

Wpływ regulatorów wzrostu ( $\text{mg l}^{-1}$ ) i terminu izolacji na wzrost i rozwój pąków wierzchołkowych (A) i kątowych (B) *P. x hortorum* po 4-tygodniowym okresie inkubacji na pożywce inicjalnej

Regulator wzrostu	Izolacja – kwiecień			Izolacja – lipiec		
	liczba pędów/eksplantat	długość pędów (mm)	liczba liści	liczba pędów/eksplantat	długość pędów (mm)	liczba liści
1	2	3	4	5	6	7
kontrola	A	1,0(pąk)	–	1,0(pąk)	–	–
	B	1,0(pąk)	–	z*	–	–

1	2	3	4	5	6	7	
0,2 BA	A	1,0	21,7	5,7	1,5	11,3	1,7
	B	1,0	15,0	5,0	1,0 (pąk)	—	—
0,2 BAP +0,02 IBA	A	1,0	27,3	5,3	—	—	—
	B	1,0	8,7	3,0	z	—	—
0,4 mT	A	1,0	35,0	8,5	2,5	11,4	4,2
	B	1,0	29,7	6,5	z	—	—
0,4 mT +0,02 IBA	A	2,3	24,0	4,0	1,7	14,6	3,8
	B	1,0	23,3	8,3	1,0	15,0	4,0

\* z – eksplantaty zamarłe

Korzystny wpływ topoliny był również obserwowany w etapie namnażania pędów. W porównaniu z BAP, cytokinina ta stymulowała bardziej intensywne powstawanie pędów bocznych (w zależności od pasażu 4,8-7,1) (tab. 2). Ponadto pędy rosnące w obecności mT odznaczały się wysoką jakością (intensywnie zielone, o wyrównanym wroście w zespole namnożonych pędów, posiadające małe, dobrze wykształcone blaszki liściowe). Korzystny wpływ topoliny na jakość tworzących się pędów obserwowała również Podwyszyńska i in. (15) w kulturach magnolii, aktinidii i kokoloby. Wieloroślinki pelargonii rosnące na pożywce z BAP cechował zdecydowanie dłuższy pęd główny posiadający duże blaszki liściowe oraz skrócone pędy tworzące się u podstawy pędu głównego, które często wykazywały objawy szklistości. Jakość kultur rosnących na pożywce z BAP obniżała się wraz z kolejnym pasażem, czego nie stwierdzono w przypadku zastosowania topoliny.

Tabela 2

Wpływ BAP ( $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ ) i mT ( $1,0 \text{ mg l}^{-1}$ ) na namnażanie, wzrost i rozwój pędów *P. x hortorum* przenoszonych na świeżą pożywkę w cyklu 3-tygodniowym w kolejnych pasażach (I – IV)

Liczba pasaży	Regulator wzrostu	Współczynnik namnażania pędów	Długość pędów (mm)	Liczba liści na pędzie
I pasaż	mT	5,3 bc	18,9 a	5,7 c
	BAP	3,7 ab	19,8 a	4,3 b
II pasaż	mT	7,1 c	18,5 a	4,6 b
	BAP	2,6 ab	25,8 b	3,4 a
III pasaż	mT	5,2 bc	23,7 ab	4,8 b
	BAP	3,5 ab	21,8 ab	4,2 b
IV pasaż	mT	4,8 a-c	19,0 a	4,5 b
	BAP	2,2 a	25,3 b	4,5 b

W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano wysoką aktywność *meta*-topoliny w kulturach *P. x hortorum* 'Bargpałais' zarówno podczas inicjacji wzrostu jak i późniejszego namnażania pędów. Zainicjowanie kultur bez udziału tkanki kaluso-

wej, jak również uzyskanie wysokiego współczynnika rozmnażania pędów, które nie wykazywały objawów starzenia pozwoliło uniknąć głównych problemów występujących podczas rozmnażania pelargonii *in vitro*. Jednakże w związku ze specyficznymi wymaganiami poszczególnych genotypów co do składu pożywki przedstawione warunki regeneracji powinny być opracowane dla innych gatunków i odmian.

## Literatura

1. Kamińska M., (1997), *Ochrona pelargonii*, red. Orlikowski L., 19-24, Plantpress, Kraków.
2. Orlikowski L., (1997), *Ochrona pelargonii*, red. Orlikowski L., 25-42, Plantpress, Kraków.
3. Cassells A. C., Carney B. F., (1987), *Acta Hort.*, 212, 419-424.
4. Doyle B. M., Lawton D. K., Cassells A. C., (2000), *Acta Hort.*, 530, 225-230.
5. Gill R., Gerrath J. M., Saxena P. K., (1992), *Can. J. Bot.*, 71, 408-413.
6. Murch S. J., KrishnaRaj S., Saxena P. K., (1997), *Physiol. Plant.*, 101, 183-191.
7. Murthy B. N. S., Singh R. P., Saxena P. K., (1996), *Plant Cell Rep.*, 15, 423-426.
8. Reuther G., (1983), *Acta Hort.*, 131, 311-319.
9. Reuther G., (1988), *Acta Hort.*, 226, 647-654.
10. Robichon M. P., Renou J. P., Jalouzot R., (1997), *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 49, 209-212.
11. Stefaniak B., Zenktelek M., (1982), *Acta Soc. Bot. Pol.*, 51, 167-172.
12. Theiler R., (1977), *Acta Hort.*, 78, 403-412.
13. Desilets H., Desjardins Y., Belanger R. R., (1993), *Can. J. Plant Sci.*, 73, 871-878.
14. Werbrouck S. P. O., Strnad M., van Onckelen H. A., Debergh P. C., (1996), *Physiol. Plant.*, 98, 291-297.
15. Podwyszyńska M., Wojtania A., Gabryszewska E., (2000), *Zeszyty Naukowe ISK* 7,173-180.
16. Wojtania A., Gabryszewska E., (2001), *Acta Soc. Bot. Pol.*, 70, 203-207.
17. Murashige T., Skoog F., (1962), *Physiol. Plant.*, 15, 473-497.
18. Cassells A. C., (1979), *Physiol. Plant.*, 46, 159-164.
19. Hammerschlag F. A., (1978), *HortScience*, 13, 153-154.
20. Horn W., (1988), *Acta Hort.*, 226, 54-58.
21. Corneanu M., Corneanu G. C., (1991), *Acta Hort.*, 289, 101-102.