

KRYSTYNA BOJARCZUK

Anatomiczne i fizjologiczne badania sadzonek lilaków (*Syringa vulgaris* L.) w trakcie ich zakorzenia*

1. WSTĘP

Fizjologia wzrostu i rozwoju korzeni przybyszowych u sadzonek, a zwłaszcza zagadnienie substancji wzrostowych, znajduje się dziś w centrum uwagi nie tylko fizjologów prowadzących badania podstawowe, lecz również wszystkich praktyków zainteresowanych produkcją roślinną.

Bardzo ważną rolę w procesie tworzenia się korzeni przybyszowych odgrywa regulacja hormonalna. Występowanie u roślin pewnych specyficznych hormonów — ryzokalin, warunkujących tworzenie korzeni sugerował już Went (1938). Intensywne badania nad substancjami wzrostowymi doprowadziły do odkrycia auksyn, które są niewątpliwie najważniejszymi substancjami regulującymi proces tworzenia się korzeni. Auksyny są głównie produkowane w liściach i pąkach sadzonki, skąd transportowane są polarnie — bazypetalnie do jej części podstawowej (Gorter i Veen, 1966; Galston i Davies, 1970). Poziom endogennej auksyny w sadzonkach jest głównym czynnikiem decydujący o ich zdolności do zakorzenia (Tizio i inni, 1963; Turecka ja i inni, 1966; Lee i inni, 1969). Dużą rolę w procesie tworzenia się korzeni przypisuje się także inhibitorom wzrostu, które hamują transport naturalnej i syntetycznej auksyny (Turecka ja i inni, 1966). Na podstawie licznych doświadczeń wykazano, że różnice w ukorzenianiu się sadzonek mogą być również spowodowane obecnością w sadzonkach pewnych czynników współdziałających z auksyną, czyli tzw. „kofaktorów auksyn” lub „kofaktorów ukorzenia” (Hess, 1964). Intensywne badania nad tymi związkami doprowadziły do wykrycia wielu substancji (np. indolu, fenoli, witamin), które same lub też z auksyną stymulowały tworzenie się korzeni przybyszowych. Mało znany jest jednak fizjologiczny aspekt działania tych substancji w procesie regeneracji korzeni. Konieczne są więc dalsze badania, któ-

* Praca jest częścią rozprawy doktorskiej wykonanej w Instytucie Dendrologii PAN w Kórniku. Promotor prof. dr hab. L. S. Janekiewicz.

re pozwoliłyby uzyskać informację o wpływie zewnętrznych i wewnętrznych czynników na procesy zachodzące podczas ukorzenia się sadzonek.

Sadzonki zielne wielu gatunków roślin, między innymi i lilaków, wykazują bardzo słabe zdolności do regeneracji korzeni. Przy opracowywaniu prostej i szybkiej metody produkcji lilaków z sadzonek należało się więc zapoznać z niektórymi właściwościami fizjologicznymi tych roślin. W związku z tym podjęto się zbadania pewnych anatomicznych i fizjologicznych zjawisk związanych z ukorzeniem się sadzonek lilaków, między innymi określenia zależności pomiędzy zdolnością sadzonek do zakorzenia się a zawartością w nich endogennych substancji korzeniotwórczych.

2. MATERIAŁ I METODY

W Instytucie Dendrologii PAN w Kórniku w latach 1971 - 1974 prowadzono doświadczenia nad ukorzeniem się sadzonek licznych ozdobnych odmian lilaka zwyczajnego. Materiał roślinny, który pozyskiwano z 12- i 20-letnich krzewów matecznych przeznaczano równolegle do doświadczeń szklarniowych i laboratoryjnych. Sadzonki wybierano losowo z całej przygotowanej partii materiału, która charakteryzowała się podobnym stopniem zdrewnienia i grubością sadzonek.

2.1. BADANIA ANATOMICZNE STOPNIA ZDREWNIEŃ SADZONEK

W pierwszym roku prowadzenia doświadczeń stosowano dwie metody badania stopnia zdrewnienia sadzonek: barwienie preparatów fluorogluconą z kwasem solnym oraz metodę światła spolaryzowanego. Ponieważ wyniki były podobne, a sadzonki dobrze reagowały na barwienie zdecydowano się na zastosowanie pierwszej metody. Preparaty do badań anatomicznych sporządzano ze skrawków pędów o jednakowej grubości, ciętych prostopadle do osi sadzonek 5 mm nad dolnym węzłem. Skrawki zalewano 1-procentowym roztworem fluoroglucony, do którego po 10 minutach dodawano 1 - 3 krople 50-procentowego kwasu solnego. Po wybarwieniu tkanki drewna na kolor czerwony skrawki sadzonek umieszczano w kropli gliceryny, na szkiełku podstawowym. Preparaty oglądano pod mikroskopem w powiększeniu 50 - 70-krotnym. Dla każdego preparatu przeprowadzono 5 pomiarów średnicy pierścienia drewna. Badania wykonano w trzech powtórzeniach, a wyniki poddano statystycznej analizie wariancji. Przedstawiono je w formie wykresów, na których wprowadzono oznaczenia literowe wskazujące na różnice pomiędzy poszczególnymi kombinacjami.

2.2. BIOTEST NA WYSTĘPOWANIE STYMULATORÓW I INHIBITORÓW ZAKORZENIANIA

Został on opracowany na podstawie metody Luckwilla (1955) oraz Hessa i innych (1968). Ma on na celu wykrycie w ekstraktach roślinnych (z sadzonek lilaków) substancji, które stymulują bądź też hamują ukorzenianie się rośliny testowej.

Kofaktorami ukorzeniania nazwano substancje roślinne, które z egzogenną auksyną (a niekiedy również same) powodują zwiększenie lub też zmniejszenie efektu zakorzenienia sadzonek fasoli (patrz także podrozdział 3.2).

a. Przygotowanie sadzonek do tekstu

Jako roślinę testową zastosowano sadzonki fasoli zwyczajnej *Phaseolus vulgaris* L., odmianę 'Saxa'.

Do plastikowych skrzyńeczek o wymiarach 20×20 cm wysiewano po 100 nasion fasoli. Jako podłoże do wysiewu zastosowano warstwę sterylizowanej ziemi kompostowej grubości 4 cm z ułożoną na niej warstwą perlitu grubości 3 cm. Skrzyńeczki z nasionami umieszczano w komorze fitotronu o temperaturze +25°C, wilgotności 85% i ciągłym 24-godzinnym świetle o natężeniu około 3000 luksów na m². W miarę potrzeby skrzyńeczki zraszano wodą destylowaną. Po około 6 dniach od momentu wysiewu, przed wykształceniem się pierwszego złożonego liścia, pozyskiwano sadzonki, które posiadały epikotyl oraz odcinek hipokotyli długości 3 cm. Do testu wybierano sadzonki możliwie wyrównane, bez liścieni i z jedną parą prostych liści.

b. Przygotowanie ekstraktu roślinnego

10 gramów świeżej masy roślinnej, na którą składały się sadzonki lilaka pocięte na drobne kawałki, zalewano 100 ml gorącej wody destylowanej, a następnie przeprowadzano trzykrotną ekstrakcję wodną. Po uzyskaniu 300 ml ekstraktu i zakwaszeniu go kwasem solnym do pH 2 ekstrakt trzykrotnie wytrząsano w czystym eterze. Otrzymany ekstrakt eterowy odparowywano na wyparce elektrycznej, a suchą pozostałość rozpuszczano w 4 ml alkoholu etylowego. Tak przygotowany ekstrakt roślinny przechowywano w lodówce (w zamrażalniku).

c. Technika wykonania biotestu

Otrzymany ekstrakt z sadzonek w ilości 3 ml (na 1 ml ekstraktu przypadało 2,5 g świeżej masy) наносono na bibułę chromatograficzną (Whatman nr 3). Na każdy z odcinków bibuły o szerokości 3 cm наносono 1 ml

ekstraktu. Chromatogram rozwijano wstępująco w ciemności w solwencie: izopropanol, amoniak, woda (w stosunku 10:1:1) w ciągu około 12 godzin, na 25 cm. Po wysuszeniu chromatogramy analizowano w świetle UV o długości 250 i 125 mm i zaznaczano poszczególne pasma rozdziału. Chromatogramy, składające się z trzech pasm rozdziału, dzielono wzdłuż środkowego pasma na 2 równe części i każdą z nich na dziesięć odcinków po 2,5 cm. Odcinki z jednej części chromatogramu umieszczano w słoiczkach i zalewano wodą destylowaną w ilości 50 ml, a odcinki z drugiej części — roztworem IAA o stężeniu 5 mg/l, w ilości również 50 ml. Jako kontrolę zastosowano bibułę z chromatogramu poniżej startu i umieszczono w słoiczkach z wodą destylowaną lub z roztworem IAA.

W każdym słoiku umieszczano od 5 do 10 sadzonek fasoli, które następnie przenoszono do komory fitotronu, w takie same warunki w jakich kiełkowały nasiona. Po 6 dniach przeprowadzano kontrolę wyników licząc na sadzonkach korzenie o długości powyżej 1 mm. Średnie wyniki otrzymane z dwóch powtórzeń przedstawiono na histogramach.

2.3. OZNACZANIE ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH W SADZONKACH

Próbki materiału roślinnego w ilości około 2g świeżej masy cięto na drobne kawałki i zalewano 100 mililitrami gorącej wody destylowanej. Po trzykrotnej ekstrakcji w łaźni wodnej ekstrakty rozcieńczano do 400 ml.

a. Oznaczenie sumy fenoli

Sumę fenoli oraz o-dwuhydroksyfenole oznaczano metodą Johnsona i Schaala (1957).

Do 0,5 ml wyciągu wodnego dodawano 7 ml wody destylowanej i 0,2 ml odczynnika Folina-Denisa. Po 2-3 minutach dodawano 2 ml 10% Na_2CO_3 i uzupełniono wodą do 10 ml. Po godzinie mierzono na spektrofotometrze Specol gęstość optyczną roztworów przy długości fali 660 nm. Krzywą standardową wykreślono stosując jako wzorzec kwasu kawowy.

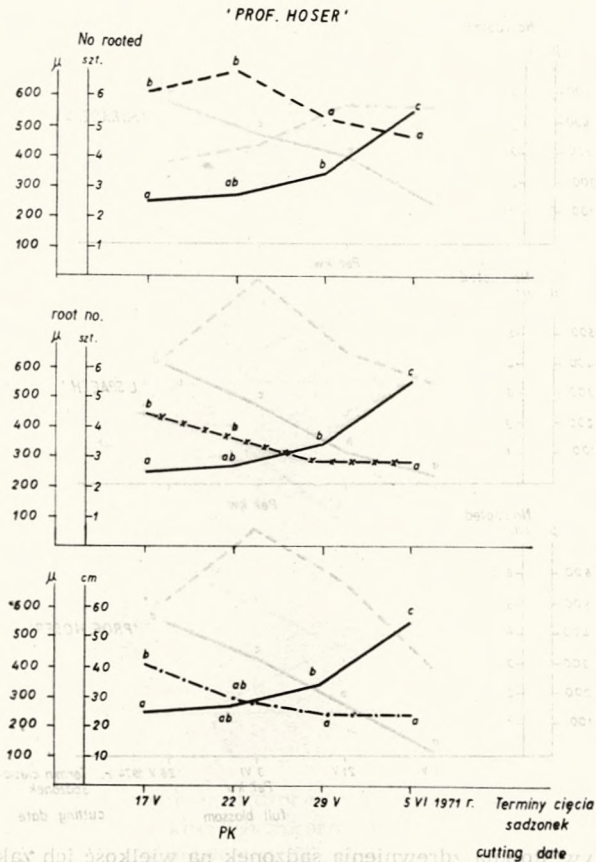
b. Oznaczenie o-dwuhydroksyfenoli

Do 3 ml wyciągu wodnego dodawano 1 ml 0,5 N kwasu solnego (HCl) oraz 1 ml odczynnika Arnowa (10 mg azotynu sodowego oraz 10 mg molibdenianu sodowego rozpuszczone w 100 ml wody destylowanej). Po dokładnym wymieszaniu zawartości próbówki dodawano 8 ml wody destylowanej i 2 ml 1 N NaOH. Po 2-3 minutach mierzono gęstość optyczną roztworów przy długości fali 515 nm. Jako roztwór standardowy stosowano kwas kawowy.

c. Oznaczenie monohydroksyfenoli

Monohydroksyfenole oddzielano od pozostałych związków przepuszczając ekstrakt wodny przez szklane kolumny o średnicy 1 cm, napełnione do wysokości 10 cm tlenkiem glinu o pH 9. Do 1 ml przesącza dodawano 7 ml wody destylowanej, a następnie odczynnikiem Folina-Denisa oznaczano zawartość monofenoli w taki sam sposób jak sumę fenoli. Krzywą standardową wykreślono stosując jako wzorzec kwas *p*-kumarowy.

Pomiary zawartości związków fenolowych w sadzonkach wykonano w dwóch powtórzeniach, a uzyskane wyniki przedstawiono w formie wykresów.



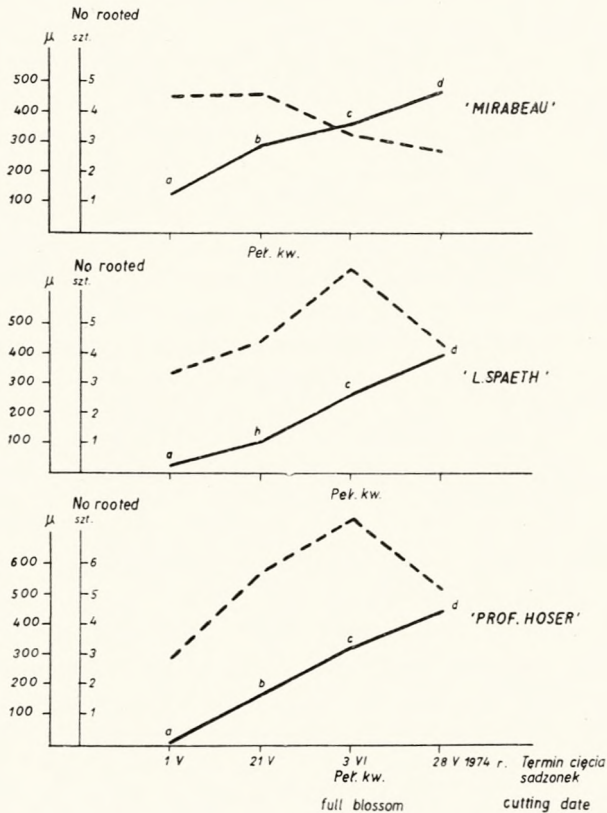
Ryc. 1. Wpływ stopnia zdrewnienia sadzonek na wielkość ich zakorzeniania ——— grubość słoja zdrewniałej części sadzonki, - - - - - liczba ukorzenionych sadzonek z 8 sztuk, x—x— liczba korzeni na sadzonkę (sztuk), ······ suma długości korzeni na sadzonkę (w cm), PK — pełnia kwitnienia krzewu. Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się między sobą statystycznie

Fig. 1. Relation between lignification of cuttings and their rootability ——— annual ring width in the lignified part of the cutting, - - - - - number of rooted cuttings out of 8, x—x— number of roots per cutting, ······ total root length per cutting, PK — full bloom. Values designated with the same letter do not differ significantly from each other

3. WYNIKI

3.1. BADANIA ANATOMICZNE STOPNIA ZDREWNIENIA SADZONEK LILAKÓW

W celu zbadania zależności pomiędzy ukorzeniem się sadzonek a ich zdrewnieniem przeprowadzono przed sadzonkowaniem pomiary grubości pierścienia zdrewniałej części sadzonek (w dalszej części pracy niekiedy zamiast określenia „grubość pierścienia drewna” używa się „zdrewnienie sadzonek”). Badania te miały również na celu znalezienie dodatkowego wskaźnika optymalnego terminu pozyskiwania sadzonek z rośliny matecznej. Na podstawie doświadczeń nad ukorzeniem się sadzonek lilaków



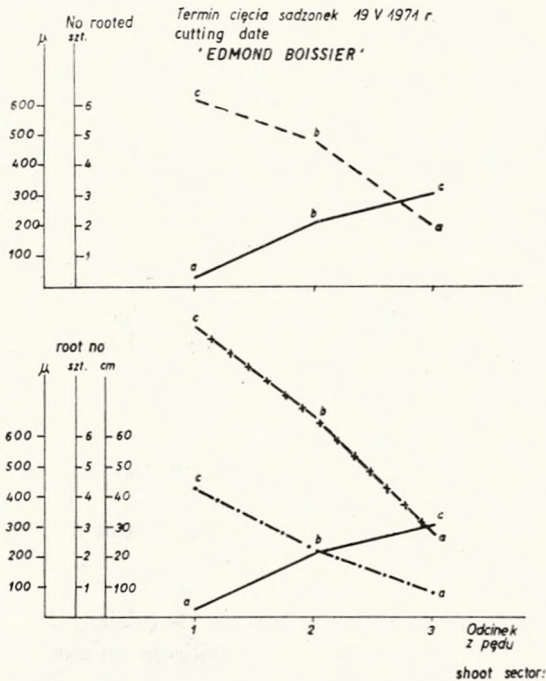
Ryc. 2. Wpływ stopnia zdrewnienia sadzonek na wielkość ich zakorzeniaenia
Objaśnienia jak w rycinie 1

Fig. 2. Relation between lignification of cuttings and their rootability
Explanation as in Figure 1

stwierdzono, że zdolność ich do ukorzeniaenia zależy od fazy rozwoju rośliny matecznej w momencie pozyskiwania z niej sadzonek. Sadzonki odmiany 'Prof. Hoser' najlepiej zakorzeniły się przy cięciu ich na początku oraz w pełni kwitnienia. W tym czasie grubość pierścienia drewna sadzo-

nek wynosiła od 247 do 269 μ . Sadzonki tej odmiany pozyskiwane w końcu maja (29 V) zakorzeniły się znacznie słabiej, mimo że stopień ich zdrewnienia statystycznie nie różnił się od zdrewnienia sadzonek ciętych we wcześniejszym terminie (ryc. 1).

Jak już wspomniano, najlepiej zakorzeniły się sadzonki pozyskiwane w czasie pełni kwitnienia roślin matecznych. Zdrewnienie sadzonek w tym okresie było jednak niejednakowe dla poszczególnych odmian i wynosiło dla odmiany 'Prof. Hoser' — 320 μ , 'Mirabeau' — 294 μ , 'L. Spaeth' — 255 μ (ryc. 2). Wynika stąd wniosek, że stopień zdrewnienia sadzonek pozyskiwanych w tej samej fazie rozwojowej roślin matecznych jest różny dla poszczególnych odmian. Najlepsze zakorzenie się sadzonek lilaków uzyskano pozyskując je z wierzchołkowej i podwierzchołkowej części tegorocznego przyrostu. Sadzonki z tych części pędów charakteryzowały się jedno-



Ryc. 3. Wpływ stopnia zdrewnienia sadzonek pozyskanych z jednego pędu na wielkość ich zakorzenia

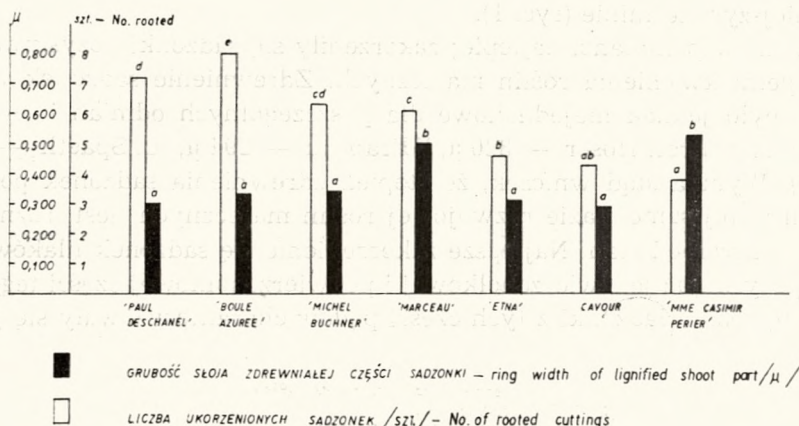
Pozostałe dane jak na rycinie 1

Fig. 3. Relation between lignification of cuttings from various parts of the shoot and their rootability

Other explanations as in Figure 1

częściej najmniejszym pierścieniem drewna (ryc. 3). Odmiany lilaka zwyczajnego odznaczają się dużą zmiennością w ukorzenianiu się sadzonek. Zaobserwowano pewną zależność między zdrewnieniem sadzonek poszczególnych odmian a zdolnością ich do zakorzenia. Odmiany 'Mme Casi-

mir Perier' oraz 'Marceau', które zakorzeniały się na ogół najslabiej posiadały jednocześnie najsilniej zdrewniałe sadzonki. Duże różnice w intensywności zakorzeniaenia stwierdzono także przy mnożeniu sadzonek o zbli-



Ryc. 4. Wpływ stopnia zdrewnienia sadzonek kilku odmian lilaków na wielkość ich zakorzeniaenia

Liczbę ukorzenionych sadzonek obliczono z 8 sztuk na poletku. Termin sadzonkowania: 4 VI 1971 r.

Fig. 4. Relation between lignification of cuttings from various cultivars and their rootability.

The number of rooted cuttings was calculated per 8 in a plot. Cutting date: 4 VI 1971

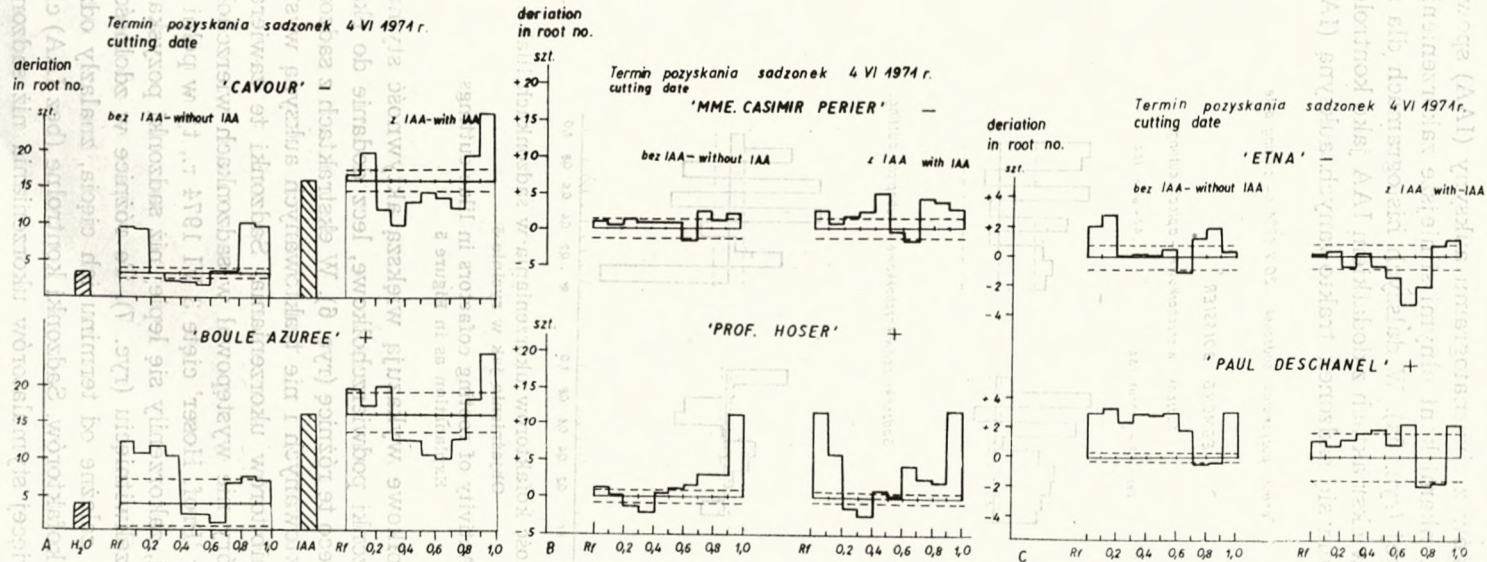
żonym stopniu zdrewnienia. Sadzonki odmiany 'Paul Deschanel' i 'Boule Azuree' zakorzeniły się w znacznie wyższym procencie i wytworzyły silniejszy system korzeniowy niż sadzonki pozostałych odmian o podobnym do nich stopniu zdrewnienia (ryc. 4).

3.2. BADANIA FIZJOLOGICZNE SADZONEK W TRAKCIE ICH UKORZENIANIA

Stymulatory i inhibitory zakorzeniaenia sadzonek badane za pomocą testów biologicznych

Występowanie stymulatorów i inhibitorów (objętych w dalszym tekście łączną nazwą kofaktorów ukorzeniaenia) badano za pomocą testu zakorzeniaenia hipokotylów fasoli (*Phaseolus vulgaris* L. 'Saxa'). Test ten, opisany w podrozdziale 2.2, opracowany został przez autorkę na podstawie testu Hessa (1968) z *Phaseolus aureus* Roxb. Przystosowany jednak został do innego gatunku fasoli, którego nasiona są łatwo dostępne w Polsce.

Sadzonki odmian dobrze zakorzeniaających się: 'Prof. Hoser' i 'Paul Deschanel' posiadały stosunkowo więcej stymulatorów zakorzeniaenia niż sadzonki odmian o słabych zdolnościach do regeneracji korzeni: 'Etna' i 'Mme Casimir Perier' (ryc. 5 b, c). Nie stwierdzono natomiast różnic w aktywności kofaktorów sadzonek odmian 'Cavour' i 'Boule Azuree', mimo że różnią się one znacznie zdolnością do zakorzeniaenia (ryc. 5a).



Ryc. 5. Aktywność kofaktorów ukorzenia w sadzonkach lilaków

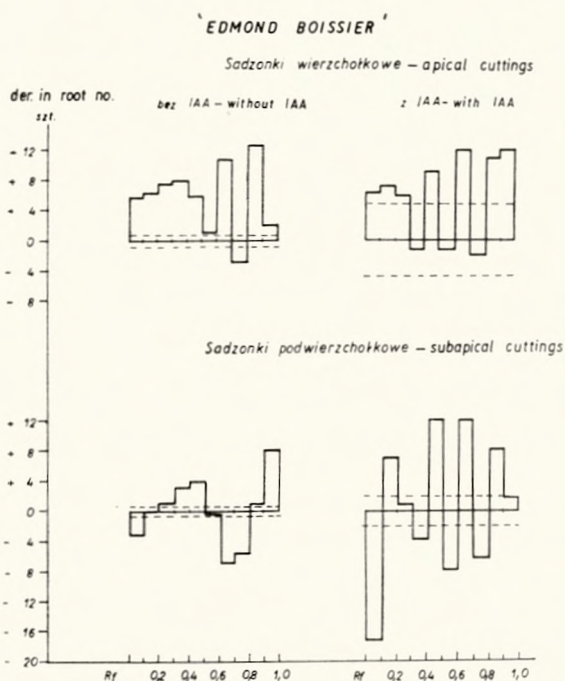
Aktywność mierzono wzrostem lub spadkiem liczby korzeni na sadzonkach rośliny testowej w stosunku do kontroli, którą stanowił wyciąg z chromatogramu poniżej startu. Odmiany o dużej zdolności do regeneracji korzeni oznaczono z prawej strony plusem (+), o małej minusem (-)

Ryc. 5. Aktywność kofaktorów ukorzenia w sadzonkach lilaków

Activity measured as the increase or decline in the number of roots (bean biotest) relative to those developing on the controls with chromatogram segments from below the origin. Cultivars of good rootability are marked + and those rooting poorly -

Dodanie do wyciągów z chromatogramu auksyny (IAA) spowodowało, w porównaniu z sadzonkami kontrolnymi silniejsze zakorzenienie się sadzonek rośliny testowej (ryc. 5a). W dalszych histogramach dla sadzonek fasoli ukorzenianych w ekstraktach z dodatkiem IAA jako kontrolę przyjęto poziom zakorzeniania się sadzonek traktowanych auksyną (IAA).

Termin pozyskania sadzonek 20 V 1974 r. - cutting date

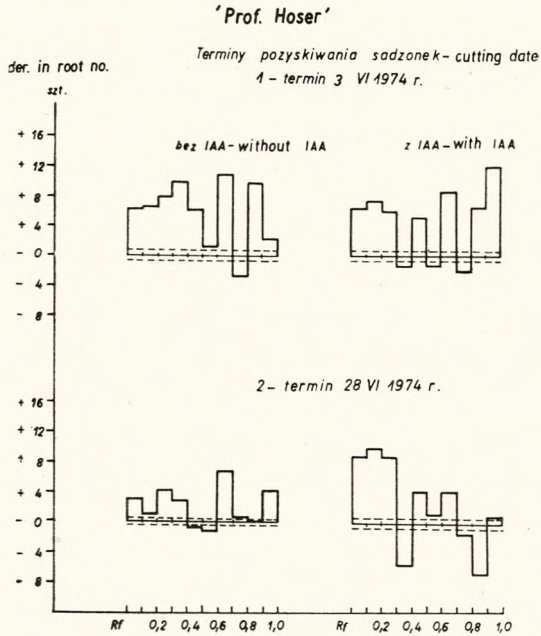


Ryc. 6. Aktywność kofaktorów ukorzeniania w sadzonkach lilaków
Objaśnienia jak w rycinie 5

Fig. 6. Activity of rooting cofactors in lilac cuttings
Explanation as in Figure 5

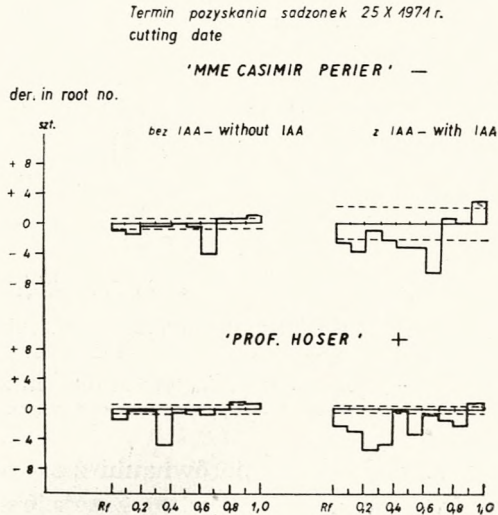
Sadzonki wierzchołkowe wykazują większą aktywność stymulatorów ukorzeniania niż sadzonki podwierzchołkowe, lecz dodanie do ekstraktów auksyny zmniejsza nieco tę różnicę (ryc. 6). W ekstraktach z sadzonek podwierzchołkowych traktowanych i nie traktowanych auksyną występowało stosunkowo dużo inhibitorów ukorzeniania. Sadzonki te zawierały silny inhibitor o Rf 01, który nie występował w sadzonkach wierzchołkowych.

Sadzonki odmiany 'Prof. Hoser' cięte 3 VI 1974 r., tj. w pełni kwitnienia rośliny matecznej, zakorzeniły się lepiej niż sadzonki pozyskane 28 VI 1974 r., tj. po jej przekwitnięciu (ryc. 7). Te różnice w zdolności do zakorzeniania sadzonek zależne od terminu ich cięcia, znalazły odzwierciedlenie w aktywności kofaktorów. Sadzonki kontrolne (bez IAA) cięte 3 VI posiadały znacznie więcej stymulatorów ukorzeniania niż sadzonki pozyskane w terminie późniejszym. Natomiast ekstrakty z sadzonek ciętych



Ryc. 7. Aktywność kofaktorów ukorzenienia w sadzonkach lilaków
Objaśnienia jak w rycinie 5

Fig. 7. Activity of rooting cofactors in lilac cuttings
Explanation as in Figure 5

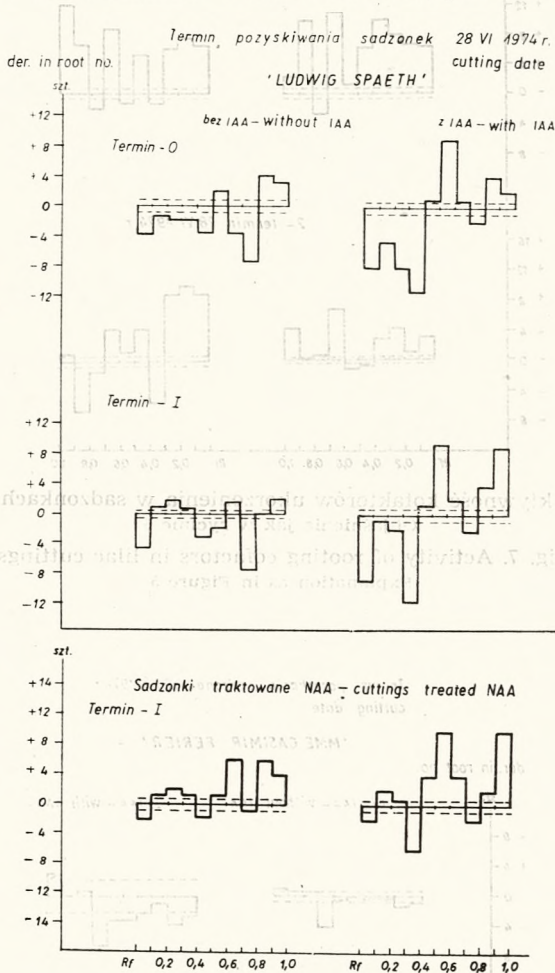


Ryc. 8. Aktywność kofaktorów ukorzenienia w sadzonkach pozyskanych w okresie spoczynku lilaków

Fig. 8. Activity of rooting cofactors in cuttings collected during the rest of lilac shrubs

28 VI i traktowane IAA wykazywały wyższą aktywność inhibitorów ukorzeniaenia niż ekstrakty z sadzonek pozyskanych 3 VI, przy czym inhibitory w tych terminach miały różne wartości R_f (ryc. 7).

W miarę rozwoju krzewu matecznego wzrasta w sadzonkach aktywność inhibitorów ukorzeniaenia. W sadzonkach ciętych w okresie spoczynku



Ryc. 9. Aktywność kofaktorów ukorzeniaenia w sadzonkach lilaków Termin 0 — moment zakładania doświadczeń, termin I — sadzonki po 4 tygodniach ukorzeniaenia

Fig. 9. Activity of rooting cofactors in lilac cuttings

Date 0 — onset of the experiment, date I — cuttings 4 weeks after rooting

roślin (październik) stwierdzono, w porównaniu z sadzonkami ciętymi w okresie wcześniejszym — w czerwcu (ryc. 5), znacznie silniejsze występowanie inhibitorów oraz prawie całkowity brak stymulatorów zakorzeniaenia (ryc. 8).

Nie stwierdzono wyraźnych zmian w zawartości kofaktorów w sadzonkach w trakcie ich ukorzeniaenia (ryc. 9). Zastosowanie auksyny (NAA w

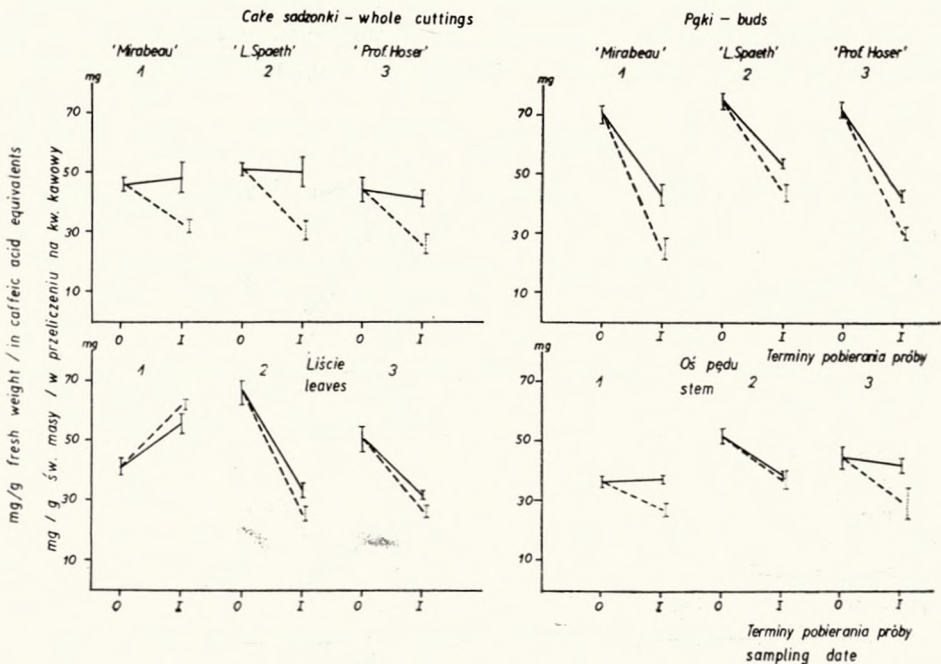
talku o stężeniu 0,2%) spowodowało po 4 tygodniach ukorzeniania, wbrew oczekiwaniu, tylko nieznaczny wzrost aktywności kofaktorów stymulujących ukorzenianie (ryc. 9).

Na podstawie wykonanych biotestów trudno jest wyodrębnić dla wszystkich badanych odmian lilaków i różnych typów sadzonek podobne stymulatory i inhibitory ukorzeniania. Najczęściej kofaktory hamujące ukorzenianie sadzonek występowały w środkowej części chromatogramu w R_f 04, 05, 06, a stymulujące — na starcie i froncie chromatogramu w R_f 0,1, 02, 03, 09, 10.

3.3. POZIOM ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH W SADZONKACH LILAKÓW

a. Suma fenoli

Ogólna zawartość związków fenolowych jest najwyższa w pąkach i liściach, a najmniejsza w pędach sadzonek (ryc. 10). U wszystkich trzech badanych odmian lilaków, po czterech tygodniach ukorzeniania, nie stwierdzono zmian w zawartości fenoli w całych sadzonkach nie traktowanych



Ryc. 10. Zawartość związków fenolowych (suma fenoli) w sadzonkach lilaków w momencie zakładania doświadczeń (termin 0) i 4 tygodnie po ukorzenieniu (termin I)
 — sadzonki kontrolne, --- sadzonki traktowane NAA 0,2%

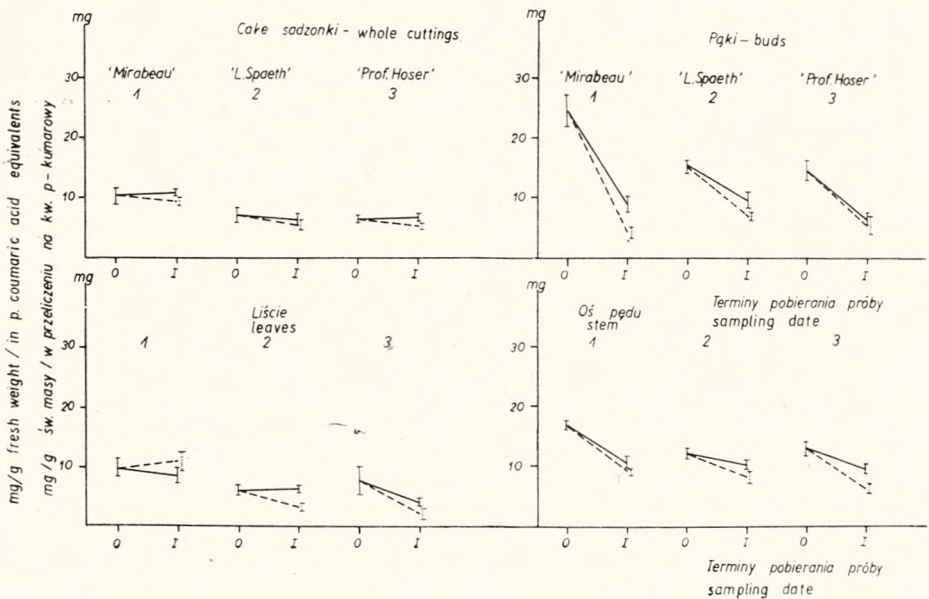
Fig. 10. Content of phenolic compounds (total phenols) in lilac cuttings at the onset of the experiment (date 0) and 4 weeks after rooting (date I)
 — control cuttings, --- cuttings treated with 0,2% NAA

auksyną. Pod wpływem działania NAA poziom fenoli w tych sadzonkach uległ jednak w tym czasie znacznemu obniżeniu.

Zawartość związków fenolowych w liściach odmian o dużych zdolnościach do regeneracji ('L. Spaeth' i 'Prof. Hoser') malała w trakcie ukorzenia sadzonek kontrolnych oraz traktowanych auksyną (NAA). W liściach sadzonek trudno ukorzeniającej się odmiany 'Mirabeau' stwierdzono natomiast znaczny wzrost zawartości fenoli, który nasilał się pod wpływem zastosowanej auksyny. W pąkach tej odmiany zawartość fenoli podczas ukorzenia się sadzonek malała, podobnie jak u odmian dobrze ukorzeniających się. Zawartość związków fenolowych w osiach pędów wykazywała u różnych odmian bardzo niejednolite zmiany — albo malała, albo pozostawała bez zmian. Traktowanie sadzonek auksyną powodowało na ogół spadek zawartości fenoli w liściach, pąkach i w osiach pędów (ryc. 10).

b. Zawartość monohydroksyfenoli (monofenoli)

Największą zawartość tych związków wykazują pąki i osie sadzonek. W całych sadzonkach traktowanych i nie traktowanych auksyną poziom monohydroksyfenoli nie ulegał zmianom w czasie ukorzenia. Sadzonki odmiany 'Mirabeau' posiadały w momencie sadzonkowania największą



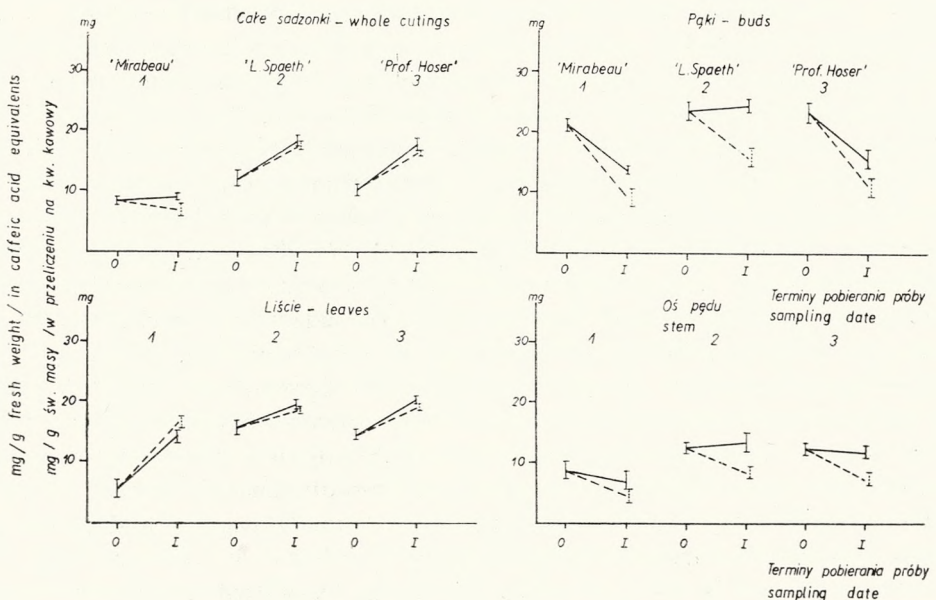
Ryc. 11. Zawartość w sadzonkach monohydroksyfenoli
Pozostałe objaśnienia jak na rycinie 10

Fig. 11. Content of monohydroxyphenols in lilac cuttings
Other explanations as in Figure 10

zawartość monofenoli we wszystkich częściach sadzonek (liściach, pąkach i pędach). W liściach tej odmiany stwierdzono wzrost monofenoli w sadzonkach traktowanych auksyną po 4 tygodniach ich ukorzenia. W pąkach i pędach odmiany 'Mirabeau' stwierdzono natomiast w trakcie ukorzenia spadek zawartości monohydroksyfenoli w sadzonkach kontrolnych i traktowanych NAA (ryc. 11). Sadzonki odmian 'L. Spaeth' i 'Prof. Hoser', charakteryzujące się większą zdolnością do regeneracji korzeni niż odmiana 'Mirabeau', odznaczały się niską zawartością monohydroksyfenoli w momencie ich pozyskiwania. W trakcie ukorzenia sadzonek tych odmian poziom monofenoli w pąkach i pędach bardzo silnie spadał, zwłaszcza po traktowaniu sadzonek auksyną (ryc. 11).

c. Zawartość orto-dwuhydroksyfenoli

Zawartość tych związków jest największa w pąkach i liściach, a nieco mniejsza w pędach sadzonek (ryc. 12). Sadzonki odmian 'L. Spaeth' i 'Prof. Hoser', charakteryzujące się większą zdolnością do zakorzenia, posiadały wyższą zawartość orto-dwuhydroksyfenoli niż sadzonki słabo zako-



Ryc. 12. Zawartość w sadzonkach orto-dwuhydroksyfenoli
Pozostałe objaśnienia jak na rycinie 10

Fig. 12. Content of ortho-dihydroxyphenols in lilac cuttings
Other explanations as in Figure 10

rzeniającej się odmiany 'Mirabeau'. W całych sadzonkach i liściach odmian 'L. Spaeth' i 'Prof. Hoser' silnie wzrastał poziom orto-dwuhydroksyfenoli w trakcie ukorzenia sadzonek kontrolnych i traktowanych auksyną. W

pąkach i pędach tych odmian zaznaczał się spadek orto-dwuhydroksyfenoli po czterech tygodniach ukorzenia sadzonek traktowanych NAA. W całych sadzonkach i liściach odmiany 'L. Spaeth' i 'Prof. Hoser' nie stwierdzono natomiast spadku orto-dwuhydroksyfenoli w trakcie ich ukorzenia.

W liściach odmiany 'Mirabeau' zaobserwowano w czasie ukorzenia wzrost zawartości orto-dwuhydroksyfenoli, szczególnie w sadzonkach traktowanych auksyną (NAA). W pąkach i pędach tej odmiany zaznacza się w tym okresie spadek orto-dwuhydroksyfenoli, zwłaszcza pod wpływem działania auksyny (ryc. 12). Zawartość związków fenolowych po czterech tygodniach ukorzenia sadzonek na ogół spadała, zwłaszcza po traktowaniu ich auksyną. Jedynie wzrost zawartości wszystkich związków fenolowych zaznaczał się w liściach odmiany 'Mirabeau' oraz orto-dwuhydroksyfenoli w całych sadzonkach i liściach odmian 'L. Spaeth' i 'Prof. Hoser' (ryc. 10 - 12).

4. Dyskusja

W trakcie badań nad ukorzeniem się sadzonek lilaków stwierdzono, że istnieje zależność między zdrewnieniem sadzonek a ich zakorzeniem. Wyłoniła się więc kwestia czy stopień zdrewnienia sadzonek może być wskaźnikiem optymalnego momentu sadzonkowania. Przeprowadzone badania anatomiczne wykazały jednak, że stopień zdrewnienia sadzonek w momencie kiedy wykazują one największą zdolność do tworzenia korzeni był różny dla poszczególnych odmian, a także zmieniał się u tej samej odmiany w poszczególnych latach (ryc. 1 i 2). Wynika stąd, że zdrewnienie pędów nie może być dobrym wskaźnikiem optymalnego momentu cięcia sadzonek. Duża zmienność zakorzenia się sadzonek pozyskiwanych w różnych terminach zależy przede wszystkim od fazy rozwojowej rośliny macecznej w danym sezonie wegetacyjnym. Czynnikiem decydującym o efektywności zakorzenia są prawdopodobnie endogenne substancje wzrostowe, a zdrewnienie sadzonek może być jedynie czynnikiem towarzyszącym zmianom zachodzącym w trakcie rozwoju pędów. W celu sprawdzenia tej hipotezy zbadano w sadzonkach lilaków zawartość endogennych stymulatorów i inhibitorów zakorzenia.

Stwierdzono, że na ogół sadzonki odmian łatwo zakorzeniających się odznaczają się wysoką aktywnością stymulatorów ukorzenia przy niskim poziomie inhibitorów (ryc. 5). Podobną zależność intensywności zakorzenia się sadzonek różnych gatunków i odmian od aktywności znajdujących się w nich stymulatorów i inhibitorów uzyskano dla sadzonek winorośli (Turckaja i inni, 1966; Tizio i inni, 1968), a także dla sadzonek jabłoni (Górecki, 1974), różaneczników (Lee i inni, 1969) i blusz-

czu (H e s s, 1961). Sadzonki cięte w okresie kwitnienia lilaków, kiedy wykazywały najwyższą zdolność do zakorzeniania, posiadały równocześnie dużą aktywność stymulatorów ukorzeniania (ryc. 5), natomiast pozyskiwane w terminach późniejszych, a zwłaszcza w okresie spoczynku wykazywały prawie całkowity brak stymulatorów zakorzeniania oraz bardzo silną aktywność inhibitorów (ryc. 7 i 8). Podobną jak w niniejszej pracy zależność aktywności kofaktorów od terminów cięcia sadzonek stwierdzili także dla sadzonek brzoskwini F a d l i inni (1967), a dla sadzonek wiśni T i z i o i inni (1968). Autorzy L i p e c k i i D e n n i s (1972) oraz G ó r e c k i (1974) nie potwierdzili jednak tej zależności dla sadzonek porzeczki czarnej i jabłoni. Badania przeprowadzone w trakcie ukorzeniania sadzonek traktowanych NAA nie wykazały wyraźnych różnic pomiędzy aktywnością kofaktorów w sadzonkach kontrolnych i traktowanych auksyną — NAA. Nie stwierdzono również zmian w poziomie kofaktorów w trakcie ukorzeniania się sadzonek (ryc. 9). Podobne rezultaty uzyskał G ó r e c k i (1974), który nie stwierdził wpływu IBA na aktywność kofaktorów w trakcie zakorzeniania się sadzonek jabłoni.

Liczne badania nad kofaktorami ukorzeniania doprowadziły do stwierdzenia, że najbardziej aktywnymi kofaktorami mogą być związki terpenowe i fenolowe, a zwłaszcza orto-dwuhydroksyfenole (H e s s, 1965, 1968). Związki te działają synergistycznie z IAA, ochraniając endogenną auksynę przed jej utlenianiem lub też mogą stymulować jej wytwarzanie (G o r t e r, 1962). Stwierdzenie to pozwala wysunąć hipotezę, że różnice w zdolności do regeneracji korzeni mogą być spowodowane różną zawartością fenoli w sadzonkach poszczególnych gatunków czy odmian. Zawartość fenoli w sadzonkach dwóch podkładek jabłoni badał G ó r e c k i (1974). Stwierdził on niższą zawartość monohydroksyfenoli w pędach sadzonek podkładki dobrze zakorzeniającej się (M 106) w porównaniu z zawartością tych związków w sadzonkach słabiej zakorzeniającej się podkładki (M 26). Autor ten nie stwierdził natomiast takiego kierunku zmian w poziomie orto-dwuhydroksyfenoli i w poziomie fenoli ogółem. R o y i współpracownicy (1972) stwierdzili, że sadzonki roślin o słabych zdolnościach do tworzenia korzeni przybyszowych zawierały specyficzne związki fenolowe (inhibitory zakorzeniania), w skład których najczęściej wchodził kwas salicylowy.

W niniejszej pracy badano w sadzonkach lilaków zawartość mono- i polihydroksyfenoli. Na podstawie tych badań można przypuszczać, że lepsze zakorzenianie się sadzonek odmian 'L. Spaeth' i 'Prof. Hoser' może być spowodowane wyższą zawartością w nich orto-dwuhydroksyfenoli oraz silnym wzrostem poziomu tych związków (w całych sadzonkach i liściach) w trakcie ich zakorzeniania (ryc. 12). Poza tym odmiany te charakteryzowały się niską zawartością monohydroksyfenoli, które jak wiadomo obniżają aktywność biologiczną auksyn. Spadek podczas ukorzeniania zawartości monohydroksyfenoli w pąkach, a zwłaszcza w pędach może być rów-

nież powodem łatwiejszego zakorzenia się sadzonek tych odmian (ryc. 11). U sadzonek odmiany 'Mirbeau', która wykazywała bardzo słabe zdolności do regeneracji korzeni, stwierdzono wyższą zawartość monohydroksyfenoli i mniejszą orto-dwuhydroksyfenoli, a więc odwrotnie niż u sadzonek odmian łatwo zakorzeniających się ('L. Spaeth' i 'Prof. Hoser') i zgodnie z właściwościami tych związków. Nie stwierdzono wyraźnego związku pomiędzy ogólną sumą fenoli w sadzonkach a różną zdolnością sadzonek do zakorzenia się. Prawdopodobnie jest to związane z tym, że obok związków aktywnych w procesie zakorzenia się na sumę fenoli w roślinie składają się liczne związki mono- i polifenolowe, które nie spełniają żadnej istotnej roli w procesie tworzenia korzeni albo też hamują zakorzenia się sadzonek. Interesujący jest fakt, że zawartość związków fenolowych w sadzonkach, zwłaszcza traktowanych NAA, spada w trakcie ich ukorzenia. Prawdopodobnie auksyny powodują wzrost aktywności procesów biochemicznych (np. oddychania), co prowadzi do szybkiego zużycia wielu związków chemicznych, między innymi i fenoli, a w konsekwencji do ogólnego spadku poziomu tych związków w sadzonkach.

Przedstawione powyżej badania fizjologiczne wykazały pewną zależność ukorzenia się sadzonek od aktywności endogennych stymulatorów i inhibitorów zakorzenia się, a w szczególności od zawartości związków fenolowych w sadzonkach. Nie wyjaśnione zostało jednak zagadnienie, czy różnice w aktywności kofaktorów ukorzenia się są wynikiem zmian poziomu tych substancji (czyli zmian ilościowych), czy też zmian ich składu chemicznego (czyli zmian jakościowych). Konieczne jest więc przeprowadzenie dalszych doświadczeń w celu identyfikacji endogennych stymulatorów i inhibitorów zakorzenia się. Przeprowadzone w tej pracy doświadczenia fizjologiczne mogą być podstawą do dalszych, szczegółowych badań nad mechanizmem tworzenia się korzeni przybyszowych u sadzonek lilaków, a także innych gatunków roślin.

STRESZCZENIE

W trakcie doświadczeń nad ukorzeniem się sadzonek lilaków prowadzono badania fizjologiczne w celu wyjaśnienia przyczyn różnic w ich zakorzeniu. Nie stwierdzono wyraźnego powiązania pomiędzy ukorzeniem się sadzonek a stopniem ich zdrewnienia.

Na podstawie przeprowadzonych testów biologicznych stwierdzono, że: a) po okresie kwitnienia i w czasie spoczynku lilaków maleje poziom stymulatorów, przy jednoczesnym wzroście poziomu inhibitorów ukorzenia się, b) intensywność zakorzenia się sadzonek poszczególnych odmian jest w dużym stopniu skorelowana z aktywnością znajdujących się w nich inhibitorów i stymulatorów ukorzenia się.

Traktowanie sadzonek kwasem alfa-naftylooctowym (NAA) spowodowało

wało na ogół zmniejszenie zawartości związków fenolowych w całych sadzonkach oraz w poszczególnych ich częściach (liściach, pędach i pąkach). Sadzonki odmian o dużych zdolnościach do regeneracji korzeni charakteryzowały się większą zawartością orto-dwuhydroksyfenoli, a mniejszą monohydroksyfenoli.

Instytut Dendrologii PAN
Kórnik k. Poznania

LITERATURA

1. Fadl M. S., Hartmann H. T. — 1967. Isolation, purification and characterization of an endogenous root-promoting factor obtained from basal section of pear, hardwood cuttings. *Plant Physiol.* 42: 541 - 549.
2. Galston A. W., Davies P. J. — 1970. Control mechanisms in plant development. Englewood Cliffs, New Jersey.
3. Gorter C. J. — 1962. Further experiments on auxin-synergists. *Physiol. Plant.* 15: 88 - 95.
4. Gorter C. J., Veen H. — 1966. Auxin transport in explants of *Coleus*. *Plant Physiol.* 41: 83 - 86.
5. Górecki R. — 1974. Wpływ różnych czynników na ukorzenianie i zdrowotność zdrewniałych oraz zielnych sadzonek wybranych podkładek jabłoni. Praca doktorska wyk. w Z. D. Fizjologii Roślin AR w Poznaniu.
6. Hess C. E. — 1961. The mung bean bioassay for the detection of root promoting substances. *Plant Physiol.* 36.
7. Hess C. E. — 1964. Naturally occurring substances which stimulate root initiation *Regul. Nat. de la Crois. Végétale, C.N.R.S., Paris:* 517 - 527.
8. Hess C. E. — 1965. Phenolic compounds as stimulators of root initiation. *Plant Physiol.* 40.
9. Hess C. E. — 1968. Rooting cofactor method. *Meth. of study plant hormone and growth-regul. subst. Agric. Handbook* 336: 76-77.
10. Johnson G., Schaal L. A. — 1957. Accumulation of phenolic substances and ascorbic acid in potato tuber tissue upon injury and their possible role in disease resistance. *Amer. Pot. Jour.* 34 (7): 200 - 209.
11. Lee Chong Il., McGuire J. J., Kitchin T. — 1969. The relationship between rooting cofactors of easy and difficult to root cuttings of three clones of *Rhododendron*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94(1): 45 - 48.
12. Lipecki J., Dennis F. G. — 1972. Growth inhibitors and rooting cofactors in relation to rooting response of softwood apple cuttings. *Hort Sci.* 7 (2): 136 - 138.
13. Luckwill L. C. — 1956. Two methods for the bioassay of auxin in the presence of growth inhibitors. *J. Hort. Sci.* 31: 89 - 98.
14. Roy B. N., Roychoudhury N., Bose T. K., Basu R. N. — 1972. Endogenous phenolic compounds as regulators of rooting cuttings. *Phyton, Argentina* 30 (1/2): 147 - 151.
15. Tizio R., Pons A. G., Trione S. C., Trippi V. S. — 1963. Estudios sobre enraizamiento en vid. III. Auxinas, inhibidores y la capacidad rizógena de las estacas. *Phyton* 20 (1): 1 - 12.
16. Tizio R., Moyano J. C., Morales H. — 1968. Inhibitor-like substances in vine cuttings and their possible relationship to the rooting process. *Fyton Argent.* 25 (2): 123 - 128.

17. Tureckaja R. Ch., Kefeli W. M., Kof E. K. — 1966, Rol 'prirodných regulátorov rosta v organoobrazovaní u čerenkov višňi i vinograda. Fizjol. Rast. 13: 29 - 36.
18. Went F. W. — 1938. Specific factors other than auxin affecting growth and root formation. Plant Physiol. 13: 55 - 80.

KRYSTYNA BOJARCZUK

Anatomical and physiological studies on lilac (Syringa vulgaris L.) cuttings during their rooting

S u m m a r y

Parallel with experiments on the rooting of lilac cuttings anatomical and physiological studies were conducted aimed at identifying differences in rootability. There was no clear relationship between rootability and degree of stem lignification identified under the microscope following a histochemical staining for lignin (fluoroglucine with HCL). The content of rooting promoters and inhibitors in extracts from cuttings were studied after paper chromatographic separation and biotest for rootability on hypocotyls of *Phaseolus vulgaris* var. "Saxa". On the basis of these tests it was found that; a) after blossoming and during dormancy of the mother lilac shrubs the level of promoters declines while that of rooting inhibitors increases, b) the rootability of various cultivars is to a large extent correlated with the activity of promoters and inhibitors found in them. The treatment of cuttings with α -naphthylacetic acid (NAA) has usually caused a reduction in the content of phenolic compounds in the whole cuttings as well as in various organs (leaves, stems, buds). Cuttings of varieties with high rootability were characterized by greater content of ortho-dihydroxyphenols and lower content of monohydroxyphenols.

КРЫСТИНА БОЯРЧУК

Анатомическое и физиологическое исследование черенков сирени (Syringa vulgaris L.) в период их укоренения

Р е з ю м е

Параллельно с опытами по укоренению черенков сирени проводились опыты касающиеся их анатомических и физиологических свойств. Не замечено четкой связи между процессом укоренения черенков и степенью их одревеснения, определенной под микроскопом с помощью микрохимической реакции на лигнин (флороглюцин с соляной кислотой). Содержание стимуляторов и ингибиторов укоренения в экстрагированных черенках исследовалось после их разделения при помощи метода хроматографии на бумаге, применяя для этой цели тест укоренения гипокотилей фасоли обыкновенной разновидности 'Saxa'. На основании проведенных тестов сделаны следующие выводы: а) после периода цветения и во время покоя у сирени уменьшается уровень стимуляторов при одновременном росте уровня ингибиторов укоренения; б) обработка черенков альфа-нафтилуксусной кислотой (NAA) вызывала изменение содержания фенольных соединений в целых черенках и в их различных частях (листьях, побегах, почках). Черенки разновидностей, обладающих большими способностями регенерировать корни, характеризовались повышенным содержанием орто-дигидроксифенолов и моногидрокси-фенолов.