



Mikrorozmnażanie podkładek wegetatywnych czereśni

Ewa Dziedzic, Monika Małodobry

Katedra Sadownictwa i Pszczelnictwa, Akademia Rolnicza, Kraków

Micropropagation of sweet cherry rootstocks

Summary

The sweet cherry rootstocks Gisela 5, Weiroot 10, Damil, Edabriz, Maxma, PHL 84 were propagated and rooted by tissue culture. The micropropagation was carried out on MS medium (Murashige and Skoog, 7) with modification. Medium A – full strength MS with addition of 0,5 mg/l BA and 0,1 mg/l IBA, medium B – half strength of MS nitro-elements with addition of 2,0 mg/l BA and 0,1 mg/l IBA. Two-steps rooting was carried out on WPM medium (Lloyd and McCown, 8), induction of roots on WPM medium with addition of 2,0 mg/l IBA and 5,0 mg/l IAA, after 9-10 days shoots were transferred onto WPM medium without hormones. The highest multiplication coefficient was obtained for Weiroot 10. Gisela 5 was proved to be the most susceptible to vitrification. The best rooting was calculated for Gisela 5-94,7%, at mean length of root – 3,2 cm.

Key words:

rootstocks, micropropagation, sweet cherry.

1. Wstęp

Rosnące zainteresowanie konsumentów owocami czereśni wysokiej jakości zmusza hodowców i producentów do poszukiwania coraz to nowych, ulepszonych metod uprawy drzew tego gatunku. Jednym ze sposobów intensyfikacji upraw czereśni może być wprowadzenie do produkcji szkółkarskiej wegetatywnych, słabo rosnących podkładek, które wpływają na przyspieszenie wchodzenia w owocowanie oraz wysoką plenność drzew. Wprawdzie istnieją już pierwsze opracowania dotyczące przydatności nowych, słabo rosnących podkładek wegetatywnych do upraw

Adres do korespondencji

Ewa Dziedzic,
Katedra Sadownictwa
i Pszczelnictwa,
Akademia Rolnicza,
al. 29 Listopada 54,
31-425 Kraków;
e-mail:
ewa@ogr.ar.krakow.pl

biotechnologia

2 (65) 206–211 2004

sadowniczych (1-6), jednak ich wprowadzenie na szeroką skalę wymaga dalszych badań. Ponieważ większość tych podkładek bardzo słabo rozmnaża się metodami tradycyjnymi dlatego szansę otrzymania dużej ilości zdrowego materiału daje metoda kultur tkankowych.

Przedstawione w tym opracowaniu wyniki dotyczą namnażania i ukorzenia sześciu słabo rosnących podkładek wegetatywnych czereśni w warunkach kultur sterylnych.

2. Materiał i metody badań

W doświadczeniu badano reakcję następujących podkładek wegetatywnych: Gisela 5, Weiroot 10, Damil, Edabriz, Maxma, PHL 84. Do namnażania pędów zastosowano dwie pożywki: Murashige i Skoog (7) z dodatkiem 0,5 mg/l BA i 0,1 mg/l IBA (pożywka A) i pożywkę MS zawierającą o 50% mniej składników azotowych w stosunku do Murashige i Skoog (7) oraz 2,0 mg/l BA i 0,1 mg/l IBA (pożywka B). Pożywki zawierały 3% dodatek sacharozy i były zestalane agarą Becton Dickinson (0,7%). W trakcie namnażania pędów pasażowanie wykonywano co trzy tygodnie w szklanych kolbach, o pojemności 100 ml. W kombinacji było 5 kolb, w każdej 5 sztuk pędów. Ukorzenie pędów przeprowadzono dwustopniowo. W celu inicjacji korzeni pędy podkładek umieszczano na 9-10 dni na pożywce WPM (8), z dodatkiem 5,0 mg/l IAA oraz 2,0 mg/l IBA, sacharozy (3%) i agaru (0,7%), po upływie tego czasu pędy przenoszono na pożywkę WPM bez substancji wzrostowych. Do ukorzenia pędów używano szklane kolby o pojemności 200 ml. W kombinacji było 5 kolb, w każdej 15 sztuk pędów. Kultury umieszczano w fitotronie (dzień/noc 16/8 godz., temp. 25-23°C, przy natężeniu oświetlenia 110 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$).

Wykonano obliczenia współczynników namnażania pędów, udział pędów krótkich (<1,5 cm), udział pędów długich (>1,5 cm) oraz udział pędów szklanych w ogólnej liczbie otrzymanych pędów. Obliczono procent ukorzenionych pędów, liczbę i długość korzeni, wysokość roślin oraz liczbę liści. Uzyskane wyniki poddano obliczeniom statystycznym, a przy porządkowaniu danych posłużono się testem Duncana, przy poziomie prawdopodobieństwa $\alpha = 0,05$.

3. Wyniki i dyskusja

Stwierdzono istotną zależność liczby pędów kątowych od podkładki oraz typu pożywki. Dla poszczególnych podkładek jak również pożywek uzyskano różne współczynniki namnażania pędów (tab. 1).

Najlepszym namnożeniem cechowały się podkładki Weiroot 10 i Gisela 5, natomiast najmniej pędów otrzymano w przypadku podkładki Damil (tab. 1). Współczynnik namnożenia pędów podkładek był większy na pożywce B, która zawierała 2,0 mg/l BA.

Tabela 1

Średnia liczba pędów podkładek wegetatywnych czereśni oraz współczynnik namnożenia, w zależności od podkładki oraz pożywki (średnia dla 1 kolby z 5 pasaży)

Podkładka/pożywka	Średnia liczba namnożonych pędów*	Współczynnik namnożenia
w zależności od podkładki		
Weiroot 10	60,7 c	1:2,4 c
Gisela 5	57,8 bc	1:2,3 bc
Maxma	49,1 ab	1:2,0 ab
PHL 84	47,8 ab	1:1,9 ab
Edabriz	46,7 ab	1:1,9 ab
Damil	40,6 a	1: 1,6 a
w zależności od pożywki		
pożywka A	42,8 a	1: 1,7 a
pożywka B	58,1 b	1: 2,3 b

* Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$

W trakcie namnażania pędów większości podkładek na uwzględnionych pożywkach otrzymywano większy procent pędów krótkich (tab. 2). Największą liczbę pędów krótkich (100%) uzyskano dla podkładki Maxma, natomiast najmniejszą (87%) dla podkładki PHL 84.

Tabela 2

Ogólna liczba pędów oraz udział krótkich i długich pędów podkładek wegetatywnych czereśni w zależności od zastosowanej pożywki (z 25 eksplantatów wyjściowych po 5 pasażach)

Podkładka	Pożywka	Ogólna liczba otrzymanych pędów	Pędy krótkie (%)	Pędy długie (%)
Maxma	A	226	86	14
	B	265	100	0
Edabriz	A	181	97	7
	B	286	99	1
Damil	A	177	74	26
	B	229	94	3
Gisela 5	A	234	46	54
	B	344	96	4
Weiroot 10	A	268	90	10
	B	339	89	11
PHL 84	A	197	66	34
	B	281	87	13

Wielu autorów prowadziło badania dotyczące namnażania pędów słabo rosnących podkładek czereśni metodą kultur sterylnych. Ružić i in. (9) uzyskali na pożywce MS wysoki współczynnik namnożenia pędów Giseli 5 wynoszący 1:3,3. Autorzy ci udowodnili, że tak dobre namnożenie i silny wzrost pędów zależy od prawidłowego pobierania azotu i fosforu z pożywki. Do namnażania podkładek z serii MxM (*Prunus avium* x *Prunus mahaleb*) stosowane były również pożywki innych autorów (10) o bardzo zróżnicowanej zawartości cytokininy BA od 0,2 do 6,0 mg/l. Dla podkładki Damil i Edabriz stosowano mikroelementy wg Nitscha i witaminy wg Jacquita (11). W innych badaniach (12) przy zastosowaniu 2,0 mg/l BA w pożywce zróżnicowane współczynniki namnożenia pędów uzyskano dla podkładek Damil i Edabriz (dla drugiej podkładki odnotowano lepsze namnożenie). Erbenova i in. (13) na pożywce MS z dodatkiem 1,5 mg/l BA uzyskali największe namnożenie dla PHL 84.

W badaniach prowadzonych przez Al-Sabbagh i in. (14) zadowolające namnożenie podkładki Maxma uzyskano na pożywce MS z dodatkiem BA w stężeniu 1,0 mg/l oraz IBA – 0,1 mg/l. Według tych autorów kinetyna okazała się mniej efektywna w namnażaniu pędów.

Zastosowane w badaniach stężenie BA wynoszące 2,0 mg/l wpłynęło na znaczne zwiększenie współczynnika namnażania, ale jednocześnie wzrósł procent pędów szklitych.

Tabela 3

Procent pędów szklitych dla poszczególnych podkładek w zależności od pożywki

Podkładka	Pędy szklite (%)	
	Pożywka A	Pożywka B
Gisela 5	0	20,9
PHL 84	0	13,9
Weiroot 10	0	13,6
Maxma	0	11,9
Edabriz	0	0
Damil	0	0

W namnażaniu uwzględnionych podkładek na pożywce A (pełny skład MS oraz 0,5 mg/l BA i 0,1 mg/l IBA) nie stwierdzono pędów szklitych (tab. 3) Natomiast w przypadku zastosowania pożywki B (pożywka MS zawierająca o 50% mniej składników azotowych w stosunku do Murashige i Skoog (7) oraz 2,0 mg/l BA i 0,1 mg/l IBA) największy procent (20,9%) pędów szklitych wykazano dla podkładki Gisela 5, a podkładki Edabriz oraz Damil na tej samej pożywce nie miały pędów szklitych.

Szklistość pędów może być również spowodowana zastosowaniem zbyt niskiego stężenia lub nieodpowiedniego agaru. Ružić i Cerović (15) udowodnili wpływ tych czynników na szklistość, liczbę i długość pędów Giseli 5. Również Buzkan i in.

(11) wskazują na tendencję podkładki Gisela 5 do szklenia się pędów. Na podstawie dotychczas nie opublikowanych doświadczeń własnych można stwierdzić, że na występowanie szklistości pędów Giseli 5 ma wpływ wysoka temperatura i zbyt silne natężenie światła w trakcie namnażania.

Tabela 4

Procent ukorzenionych pędów 6 wegetatywnych podkładek czereśni, liczba oraz długość korzeni, wysokość 1 rośliny i liczba liści przypadająca na 1 roślinę

Podkładka	Ukorzenie pędów (%)	Średnia liczba korzeni/pęd	Średnia długość jednego korzenia (cm)	Średnia wysokość roślin (cm)	Średnia liczba liści/roślinę
Gisela 5	94,7ns	8,4 ns	3,2 a*	1,5 b	9,1 c
Edabriz	91,8 ns	4,8 ns	3,9 a	2,6 c	8,5 bc
Maxma	87,6 ns	9,5 ns	5,4 ab	1,3 b	7,2 b
Damil	87,4 ns	8,3 ns	6,6 b	0,8 a	9,9 c
Weiroot 10	87,3 ns	4,6 ns	4,0 a	1,8 c	6,2 a
PHL 84	85,0 ns	9,1 ns	6,1 ab	1,7 ab	7,2 b

* Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Ukorzenianie pędów uzyskanych w trakcie namnożenia wykonano opierając się na pożywce Woody Plant Medium. Z danych zawartych w tabeli 4 wynika, że pędy wszystkich podkładek ukorzeniły się w bardzo wysokim procencie, od 94,7 (Gisela 5) do 85,0% (PHL 84). Pędy podkładek wytworzyły średnio od 9,5 sztuk korzeni (Maxma) do 4,6 sztuk (Weiroot 10). W analizie statystycznej wykazano istotną zależność długości korzeni, wysokości ukorzenionych roślin, liczby liści przypadających na jedną roślinę od podkładki. Najdłuższe korzenie wytworzył 'Damil', natomiast najkrótsze korzenie cechowały 'Gisela 5', 'Edabriz' i 'Weiroot 10'. Otrzymane rośliny różniły się wysokością, największe rośliny uzyskano dla podkładek Edabriz oraz Weiroot 10. Największą liczbę liści odnotowano dla 1 rośliny podkładek Damil i Gisela 5.

Wielu autorów do ukorzeniania słabo rosnących podkładek czereśni stosuje pożywkę Murashige i Skooga (7). Gülen i Küden (12) do ukorzenienia podkładek Damil i Edabriz zastosowali pożywkę MS z dodatkiem IBA w stężeniu 3 mg/l. Według tych autorów procent ukorzenionych pędów podkładki Damil wahał się od 83 do 100%, przy średniej liczbie korzeni od 4 do 9 sztuk na roślinę i długości od 4,0 do 9,2 cm, natomiast dla podkładki Edabriz ukorzenie wynosiło 33-83%, liczba korzeni 4-15 sztuk, a średnia długość korzeni od 3,6 do 10,0 cm. Autorzy ci stwierdzili również, że dwustopniowe ukorzenianie (ekspozycja pędów na działanie wysokiego stężenia auksyn przez krótki czas, a potem pasaż na pożywkę pozbawioną auksyn) daje korzystniejszy efekt niż ciągłe działanie wysokiego stężenia auksyn. Al -Sabbagh i in.

(14) najlepsze ukorzenie pędów podkładki Maxma (95%) odnotowali na płynnej pożywce MS z dodatkiem 2,45 μM IBA (0,5 mg/l IBA).

4. Wnioski

1. Słabo rosnące podkładowe wegetatywne czereśni można namnażać oraz ukorzeniać metodą kultur tkankowych.

2. Do namnażania pędów podkładek czereśni można polecać pożywkę Murashige i Skooga z dodatkiem BA w stężeniu 2,0 mg/l.

3. Ze względu na wysoki procent ukorzenionych pędów podkładek czereśni do ukorzenia można stosować dwuetapowo pożywkę WPM.

Literatura

1. Druart Ph., (1998), *Acta Hort.*, 468, 135-144.
2. Franken-Bembenek S., (1998), *Acta Hort.*, 468, 279-284.
3. Grzyb Z. S., Sitarek M., Omiecińska B., (1998), *Acta Hort.*, 468, 333-338.
4. Wertheim S. J., Balkhoven J. M. T., Callesen O., Claverie J., Vercammen J., Ystaas J., Vestrheim S., (1998), *Acta Hort.*, 468, 249-264.
5. Webster T., Tobutt K., Evans K., (2000), *100 International dwarf fruit tree association the compact fruit-tree*, v. 33,4.
6. Lichev V., (2000), *First results from testing cherry clonal rootstocks Gisela and Weiroot in Bulgaria*, Proceedings of 9th International Conference of Horticulturae, vol. 1, 111-115.
7. Murashige T., Skoog F., (1962), *Physiol. Plant.*, 15, 473-497.
8. Lloyd G., McCown B., (1980), *Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture*, Combined Proceedings International Plant Propagators' Society, 30, 421-427.
9. Ružić D., Sarić M., Cerović R., Čulafić L., (2000), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63, 9-14.
10. Zilkah S., Faingersh E., Rotbaum A., (1992), *Acta Hort.*, 314, 93-98.
11. Buzkan N., Cetiner S., Yalcin-Mendi Y., Terlizzi B. D., (1997), *Acta Hort.*, 441, 329-331.
12. Gülen H., Küden A., (1998), *Micropropagation of some vegetative rootstocks of sweet and sour cherry by meristem culture*, Proceedings of the 1st Balkan Botanical Congress, 501-504.
13. Erbenova M., Paprstein F., Sedlak J., (2001), *Acta Hort.*, 560, 477-480.
14. Al-Sabbagh M., Abdul-Kader A., Khoder M., Abdul-Rahman K., (1999), *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 59, 203-208.
15. Ružić D., Cerović R., (1998), *Acta Hort.*, 468, 209-218.