



Mikropropagacja storczyka *Dendrobium kingianum* Bidwill

Roman Prażak

Instytut Nauk Rolniczych, Akademia Rolnicza, Lublin

Micropropagation of *Dendrobium kingianum* Bidwill orchid

Summary

For the development of aseptic culture, *Dendrobium kingianum* Bidwill orchid pseudobulbs (2.0-3.0 cm long) with one or two terminal leaves were surface sterilized with 0.1% mercuric chloride solution and transferred to initial MS medium, supplemented with auxin IAA at 0.5 mg dm⁻³ and cytokinin BA at 1.0 mg dm⁻³. New shoots, which developed after 4-6 weeks of culture at the base of pseudobulbs or at their upper nodes, were transferred to basal MS medium supplemented with an auxin (IAA or NAA) at 0.5 and 1.0 mg dm⁻³ and cytokinin Kinetin or 6-benzylaminopurine (BA) at 0.5, 1.0 and 2.0 mg dm⁻³ in different combinations. The responses of orchid cultures varied according to concentrations and type of growth regulators. From tested growth regulators, BA in concentration 2.0 mg dm⁻³ in combination with 0.5 mg dm⁻³ IAA was the most effective for shoot induction. At 0.5 mg dm⁻³ both IAA and NAA strongly stimulated shoots multiplication in comparison to 1.0 mg dm⁻³. NAA-BA combinations positively influenced the shoot length. For roots induction, the NAA-Kinetin combinations were better than the remaining ones. Kinetin stimulated the increase of the root length.

Key words:

Dendrobium kingianum Bidwill, micropropagation, orchid, pseudobulbs.

Adres do korespondencji

Roman Prażak,
Instytut Nauk Rolniczych,
Akademia Rolnicza
w Lublinie,
ul. Szczepkowska 102,
22-400 Zamość.

biotechnologia

2 (53) 144-147 2001

1. Wstęp

Generatywne rozmnażanie storczyków stwarza wiele trudności (1). Nasiona storczyków nie zawierają wystarczającej ilości związków zapasowych potrzebnych rozwijającej się roślinie. Trudności w kiełkowaniu i we wczesnych fazach rozwoju małych i delikatnych nasion mogą być jednak opanowane dzięki symbiozie

storczyka z odpowiednim grzybem (8). Rozwój młodych roślin trwa czasami nawet kilkanaście lat. Zastosowanie kultur *in vitro* może ułatwić i przyspieszyć ten proces (3). Dla wielu gatunków storczyków opracowano metody rozmnażania z merystemów wierzchołkowych, fragmentów liści i pędów kwiatostanowych (2,9).

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę wpływu różnych kombinacji wybranych regulatorów wzrostu na mikropropagację storczyka *Dendrobium kingianum* Bidwill z eksplantatów pseudobulw.

2. Materiał i metody

Badania przeprowadzono w latach 1998-1999, w Instytucie Nauk Rolniczych w Zamościu, Akademii Rolniczej w Lublinie. Dla uzyskania aseptycznej kultury, eksplantaty pseudobulw storczyka *Dendrobium kingianum* Bidwill (długości 2,0-3,0 cm) z jednym lub dwoma liśćmi, sterylizowano powierzchniowo w 0,1% roztworze chloru rtęci i przenoszono do 100 ml kolb Erlenmeyera na pożywkę inicjalną MS (5) z dodatkiem $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ IAA (kwas β -indoliloctowy) i $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$ BAP (6-benzylaminopuryna). Odczyn pożywki ustalono na poziomie pH 5,2. Kultury storczyka umieszczono w fitotronie, w temperaturze 22-24°C, przy 60% wilgotności względnej, 16 h fotoperiodzie i oświetleniu z lamp fluorescencyjnych $36 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. Po 4-6 tygodniach hodowli *in vitro*, u podstawy, rzadziej w wierzchołkowej części eksplantatu formowały się nowe pędy. Powstałe pędy przenoszono na pożywkę MS z dodatkiem IAA lub NAA (kwas α -naftylooctowy) w koncentracji 0,5 lub 1,0 mg dm^{-3} oraz kinetyny (6-furfuryloaminopuryna) lub BAP – 0,5, 1,0 lub 2,0 mg dm^{-3} . Po czterech miesiącach (4 pasaża) określono liczbę i maksymalną długość pędów i korzeni oraz świeżą masę roślin zregenerowanych z jednego eksplantatu. Doświadczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Przy analizie statystycznej wyników zastosowano test Tukeya.

3. Wyniki i dyskusja

Do namnażania storczyka *Dendrobium kingianum* Bidwill wybrano pożywkę MS (5), charakteryzującą się uniwersalnym składem soli mineralnych i dodatków organicznych (4,9). Podczas wykonanej analizy liczby pędów wytworzonych na pożywce MS, po czterech miesiącach kultury *in vitro*, wykazano istotny wpływ badanych regulatorów wzrostu na proces mikropropagacji (tab. 1). W kombinacji $2,0 \text{ mg/dm}^3$ BAP i $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ IAA odnotowano największą liczbę pędów (średnio 10,92/1 ekspl.). Ogólnie, przy niższej zawartości auksyn i wyższej cytokinin proces różnicowania pędów przebiegał intensywniej. W kombinacjach zawierających wyższe stężenie auksyn najlepszy efekt uzyskano przy średniej dawce zastosowanych cytokinin. BAP wpływała dodatnio na wzrost i rozwój pędów przybyszowych, jednocześnie ha-

mując proces rizogenezy (tab. 1). Także Pierik i Steegmans (7) podkreślili znaczący wpływ BAP w dawkach od 1,0 do 10,0 mg dm⁻³ na liczbę powstających pąków przybyszowych u *Cattleya aurantiaca*.

Tabela 1

Wpływ współdziałania regulatorów wzrostu na rozwój storczyka *Dendrobium kingianum* Bidwill po czterech miesiącach kultury *in vitro* na pożywce MS (wartości średnie analizowanych cech)

Regulatory wzrostu (mg dm ⁻³)	Liczba pędów	Długość pędu (mm)	Liczba korzeni	Długość korzenia (mm)	Świeża masa rośliny (g)
IAA 0,5					
KIN 0,5	4,06	28,64	4,52	14,24	0,519
1,0	6,71	28,26	5,69	27,84	0,954
2,0	7,93	26,18	6,52	23,46	1,104
BAP 0,5	5,33	34,16	3,81	8,36	0,756
1,0	8,75	29,24	4,25	6,05	1,009
2,0	10,92	31,02	3,06	5,34	1,666
IAA 1,0					
KIN 0,5	3,31	32,16	3,94	30,64	0,932
1,0	5,18	30,93	7,07	23,19	0,687
2,0	6,43	26,01	5,68	11,17	0,952
BAP 0,5	4,97	27,24	2,53	3,72	0,425
1,0	5,93	32,76	3,26	9,26	0,804
2,0	4,78	27,18	1,15	2,94	0,503
NAA 0,5					
KIN 0,5	4,84	32,36	9,06	13,24	1,026
1,0	6,91	30,42	11,30	15,61	1,386
2,0	7,12	26,18	8,41	10,70	0,915
BAP 0,5	5,65	34,46	6,14	13,66	1,066
1,0	7,34	27,15	6,40	8,12	1,009
2,0	9,70	38,31	7,91	7,19	1,607
NAA 1,0					
KIN 0,5	3,75	24,62	8,85	10,76	0,548
1,0	6,67	27,51	8,56	11,84	1,102
2,0	5,80	23,28	15,83	10,25	1,233
BAP 0,5	4,38	30,80	5,44	9,23	0,766
1,0	5,50	35,12	3,76	7,84	1,133
2,0	5,26	41,24	3,42	10,29	0,918
NIR $p=0,05$	0,87	2,64	1,29	3,36	0,148

Ochowicz (6) uzyskiwał najdorodniejsze rośliny *Liparis loeselii* na pożywce z dodatkiem NAA ($1,0 \text{ mg dm}^{-3}$) i BAP ($2,0 \text{ mg dm}^{-3}$). W badaniach własnych uzyskano w tej kombinacji rośliny o najdłuższych pędach (tab. 1). Według Ochowicza (6), BAP ograniczała rizogenezę i hamowała wykształcanie się liści, ale jednocześnie korzystnie wpływała na przyrost świeżej masy roślin. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano negatywny wpływ BAP na rozwój systemu korzeniowego *Dendrobium kingianum* Bidwill. W kombinacjach z $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ IAA, BAP korzystniej od kinetyny, oddziaływała na przyrost świeżej masy roślin (tab. 1).

Mukhopadhyay i Roy (4) porównując różne kombinacje auksyn (IAA i NAA w stężeniach $0,5$ i $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$) oraz cytokinin (KIN, BAP i 2iP w stężeniach $0,5$, $1,0$ i $2,0 \text{ mg dm}^{-3}$), stwierdzili najkorzystniejszy wpływ koncentracji $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ NAA i $2,0 \text{ mg dm}^{-3}$ 2iP (N_6 -2-isopentyloaminopuryna) na liczbę uzyskanych pseudobulw storczyka *Otochilus alba*. Kombinacje z BAP, jak się okazało, były efektywniejsze niż z kinetyną. NAA w niższym stężeniu wpływał korzystniej na regenerację pseudobulw storczyka *Otochilus alba* niż w wyższym.

W badaniach własnych kinetyna silniej stymulowała wydłużanie się korzeni niż pędów. Pędy i korzenie zregenerowane na pożywce z kinetyną były cieńsze i dłuższe od tych uzyskanych na pożywce z BAP. W przeprowadzonej analizie liczby korzeni wykazano silniejszy wpływ NAA niż IAA na proces rizogenezы (tab. 1). NAA, w stężeniu $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$ w kombinacjach z BAP, powodował silne zgrubienie końców korzeni *Dendrobium kingianum* Bidwill, nawet do 5 mm .

W uzyskanych wynikach odzwierciedlono zróżnicowany wpływ badanych kombinacji regulatorów wzrostu na rozwój storczyka *Dendrobium kingianum* Bidwill i wskazano na możliwość jego efektywnej mikropropagacji bezpośrednio z eksplantatów pseudobulw.

Literatura

1. Arditti J., (1967), Bot. Rev., 33, 1-97.
2. Bieńkowska-Mochtak E., (1982), Zastosowanie kultur *in vitro* w uprawie i hodowli roślin, PWRiL, Warszawa.
3. Fu F. M. L., (1979), Orchid Rev., 87, 343-346.
4. Mukhopadhyay K., Roy S. C., (1994), Scientia Horticulturae, 54, 331-337.
5. Murashige T., Skoog F., (1962), Physiol. Plant., 15, 473-497.
6. Ochowicz W., (1998), Acta Universitatis Wratislaviensis, 2038, Prace Bot. LXXVI, 53-62.
7. Pierik R. L. M., Steegmans H. H. M., (1972), Z. Pflanzenphysiol., 68, 228-234.
8. Szlachetko D. L., Skakuj M., (1996), *Storczyki Polski*, Wyd. Sorus, Warszawa.
9. Zenkteler M., (1984), *Hodowla komórek i tkanek roślinnych*, PWN, Warszawa.