

STUDIJ ZAKORJENIVANJA KRATKIH
IZDANAKA CRNOG BORA (*PINUS NIGRA* Arn.)

With Summary in English

BRANKA KOLEVSKA-PLETIKAPIĆ

(Odjel za fiziologiju Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 3. 2. 1972.

Uvod

Vegetativno razmnažanje bilja ima praktično značenje, koje je osobito veliko promatra li se sa stajališta unapređenja šumske proizvodnje. Njegovom primjenom moguće je razmnažanje križanaca i selekcija stvaranjem klonova s boljim genetskim svojstvima, koja se daljim križanjima mogu još usavršiti (Vidaković 1968). Iako je znatan broj biljnih vrsta sposoban za ovakav način reprodukcije, postoji, osobito među koniferama, čitav niz takvih za koje se smatra da ih je nemoguće vegetativno razmnožiti.

Prigodom studija zakorjenjivanja kratkih izdanaka crnog bora istraživani su neki fiziološki faktori (primjena tvari rastenja), utjecaj vanjskih faktora te anatomske i histološke promjene nastale tijekom stvaranja kalusa.

Kratki izdanak je specijalizirani ogranač s ograničenim primarnim i sekundarnim rastom. On nosi određeni broj specijaliziranih i ciklički poredanih listova. Također se rijetko razgranjuje i obično je ograničenog trajanja (Strasburger 1958). Kratki izdanak crnog bora ograničenog je primarnog rasta, sekundarno uopće ne raste, a njegovo je trajanje višegodišnje. Nosi dva igličasta lista, koji pri dnu imaju zajednički kožasti ovoj sastavljen od ljuškastih pridankovih listova. Dug je oko 1 mm, a isto toliki mu je odprilike i promjer. Te dimenzije katkad variraju s obzirom na različite superspecijese ove vrste ili starost stabala s kojih su kratki izdanci uzimani. Po svojim anatomskim odlikama potpuno odgovara gradi dugog, godinu dana starog izdanka u znatno smanjenim dimenzijama.

Materijal i metode

Kao materijal za pokuse poslužili su kratki izdanci crnog bora, koji su ubirani neposredno prije postavljanja pokusa. Oni su s dugih ogranaka jednostavno otkidani, a zatim obradivani tvarima rastenja. U tu su svrhu uzete četiri supstancije: indoliloctena kiselina (IOK), indolilmaslačna kiselina (IMK), indolilpropionska kiselina (IPK) i naftalenoctena kiselina (NOK). Primijenjena su dva načina obradbe eksperimentalnog materijala, i to: namakanje kratkih izdanaka u razrijeđenim vodenim otopinama tvari rastenja (koncentracije 20, 40, i 50 mg/l) u trajanju od 24 sata ili naprašivanje njihova donjeg dijela mješavinama tvari rastenja i milovke kao njihovog nosioca (omjeri 1 : 50, 1 : 80 i 1 : 100). U ovom slučaju prašak ostaje trajno na biljnim dijelovima gdje je tijekom obrade nanesen (vidi Kolevska - Plećakić 1968). Ispitivani kratki ogranci sađeni su u mješavinu pijeska i treseta pripremljenu u omjeru 2 : 1.

Radi anatomskehistoloških istraživanja kratki ogranci fiksirani su u formalin-aceto-alkoholu, zatim uklapani u parafin, rezani mikrotomom uzdužno i poprečno te bojeni u safraninu i svjetlom ze' -nilu (Johnson 1940).

Eksperimentalni dio

A. Utjecaj tvari rastenja

U toku godine postavljeno je 10 pokusa od kojih su neki, uz to što su dali konkretne rezultate, imali ujedno i obilježe preliminarnih pokusa. To se odnosi na odabiranje najpodesnije tvari rastenja i njezine koncentracije s najpovoljnijim utjecajem na poticanje i stvaranje kalusa i kori-jena, odabiranje najpodesnije metode obrade biljnog materijala ovim supstancijama te izbor s obzirom na starost stabala s kojih su kratki izdanci ubirani i starost samih kratkih izdanaka (od najmlađih oblika u rano proljeće do potpuno razvijenih tijekom godine). Utjecaji vanjskih faktora (temperatura, svjetlost, vлага) opažani su na taj način da je materijal iz pokusa postavljen na mjesta s različitim uvjetima.

Najvažniji podaci o izvršenim pokusima prikazani su u tabeli 1.

Prikupljeni podaci iz pokusa pokazali su ove rezultate:

1. *Tvari rastenja.* U svim pokusima uzete su: IOK, IMK, IPK i NOK. Čini se da najpovoljnije djelovanje ima IMK (sl. 1), ali isto tako pozitivne rezultate dali su IOK, kao i IPK (sl. 7). Kratki izdanci obrađeni s NOK nisu međutim pokazali znake povoljnog utjecaja ove supstancije. Osim toga ovi kratki izdanci redovito su brže propadali u odnosu na one tretirane ostalim tvarima rastenja kao i s obzirom na kontrolni materijal.

2. *Način obrade materijala.* Obje metode obrade (namakanje i naprašivanje) dale su pozitivne rezultate. Čini se da su kratki izdanci s naprašenim donjim dijelom brže propadali, što upućuje na to da bi metoda namakanja rezница imala stanovite prednosti.

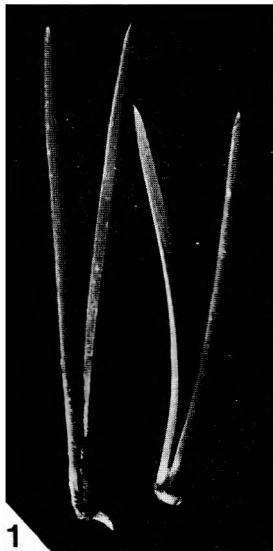
3. *Koncentracija tvari rastenja.* Pokazalo se da je najpodesnija koncentracija otopina 50 mg/l, dok je kod praškastih mješavina najpodesniji omjer 1 : 100. Manje koncentracije što se tiče otopina i što se tiče praškastih mješavina nisu dale pozitivne rezultate.

T a b e l a 1 — Prikaz najvažnijih podataka o izvršenim eksperimentima

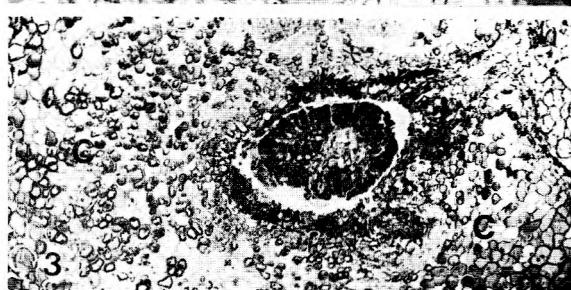
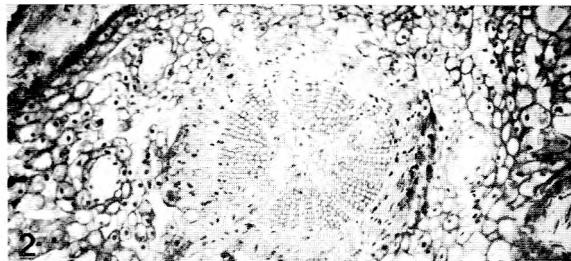
Redni broj skupine eksperi- menata	E B E D	Metode primjene tvari rastenja u otopi- nama kanjem	Koncentracije u prashkastim smješama (omjer)	Broj izdanaka u pojedinačnom eksperimentu	Starost u godinama matičnog kратког stabla izdanka	Trajanje eksperi- menata u mjesecima	Rezultat eksperi- menata u komori stakleniku za uzgoj niku bilja
1.	XI/69	+	+	50 1 : 100	60—80 5	1, 2, 3 1, 2, 3	2 14 1,5 c (IMK, IOK) 0
2.	XII/69	+	+	50 1 : 100	60—80 5	1, 2, 3 1, 2, 3	2 14 1,5 c (IMK, IOK) 0
3.	XII/69	+	+	50 1 : 100	60—80 5	1, 2 1, 2	— 1 1,5 — 0
4.	II/70	—	+	20, 40 1 : 50	50—90 20, 10, 5	— 1	— 1,5 — 0
5.	IV/70	+	—	50 —	60—80 5	— 1	— 14 2 c (IMK, IOK) 0
6.	V/70	+	—	50 —	60—80 10	— 0, 1	— 0, 5 — 0
7.	V/70	+	—	50 —	60—80 10	— 0, 1	— 0, 5 — 0
8.	VI/70	+	—	50 —	60—80 5	— 0, 2	— 0, 5 — 0
9.	VI/70	+	—	50 —	60—80 10	— 0, 2	— 1 — 0
10.	X/70	+	—	50 —	30—40 10	— 0, 5	— 2 — 0

Na bazi kratkog izdanka razvio se kalus ($= c$) pojavio se korijen ($= r$) nisu nastale vidljive promjene ($= 0$)

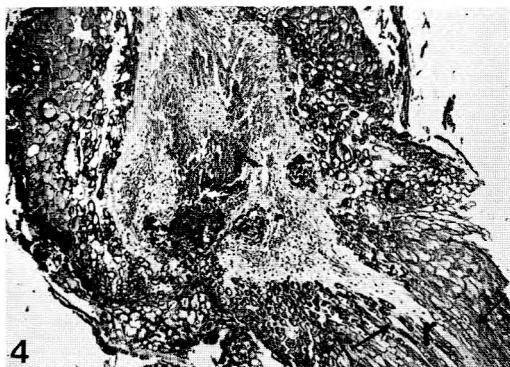
-
- Sl. 1. Kratki izdanci crnog bora, starog 5 godina, tretirani namakanjem bazalnih dijelova u vodenoj otopini IMK (50 mg/l) 24 sata, a zatim držani u mješavini pijeska i treseta 2 mjeseca. Na lijevom kratkom izdanku u kalusu se razvio korijen, a na desnom formiran je samo kalus.
- Fig. 1. Short shoots of Austrian pine, 5 years old, treated by soaking of their basic parts in aqueous solution of IBA (50 mg/l) for 24 hours and then kept in a sand-peat mixture for 2 months. In the left short shoot the callus is developing a root, in the right one the root formation did not start yet.
- Sl. 2. Poprečni prerez kroz bazalni dio kratkog izdanka koji je ubran sa stabla neposredno prije fiksacije (kontrola); 25 : 1.
- Fig. 2. Cross-section through the basal part of the short shoot which has been removed from the tree immediately before the fixation (control); 25 : 1.
- Sl. 3. Poprečni prerez kroz kratki izdanak prikazan na slici 1. desno. Kalus je formiran aktivnošću kambija (c = kalus); 10 : 1.
- Fig. 3. Cross-section through the right short shoot shown in Fig. 1. The callus has been formed by the activity of the cambium (c = callus).
- Sl. 4. Uzdužni prerez kroz kratki izdanak s kalusom i korijenom prikazanim na slici 1. lijevo (c = kalus, r = korijen); 10 : 1.
- Fig. 4. Longitudinal section through the short shoot with callus and root shown in Fig. 1. (c = callus, r = root); 10 : 1.
- Sl. 5. Uzdužni prerez dio kratkog izdanka, s izdiferenciranim traheidama, no korijen se nije razvio (c = kalus, t = traheide); 25 : 1.
- Fig. 5. Longitudinal section through the part of the short shoot with differentiated tracheides. The root is not formed (t = tracheides, c = callus); 25 : 1.
- Sl. 6. Dio kalusa s bazalnog dijela kratkog izdanka tretiranog milovkom koja sadrži IOK (1 : 100). U kalusu se razvio korijen koji se probio svojim apikalnim meristemom kroz staničje kalusa; 10 : 1.
- Fig. 6. The portion of the callus of the basal part of a short shoot treated by talc containing IAA (1 : 100) with a well developed root penetrating by its apical meristem through the callus tissue; 10 : 1.
- Sl. 7. Kratki izdanak s dobro razvijenim korijenom 10 mjeseci nakon postavljanja eksperimenata (tretman: milovka sa IPK); u omjeru 1 : 100.
- Fig. 7. Short shoot with a well developed root 10 months after the beginning of the experiment (treatment: talc with IPA 1 : 100).



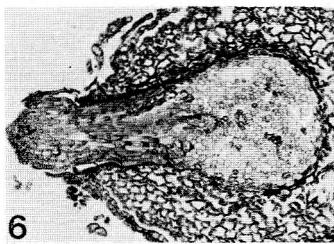
1



3



4



6



7

Sl. 1—7. — Fig. 1—7.

4. Starost stabla. Pokazalo se da starost stabla s kojeg se materijal ubire ima također utjecaja. Veću sposobnost održati se na životu i stvoriti kalus i korijen imaju kratki izdanci sa stabala koja nisu starija od 10 godina. Čini se, međutim, da je najpovoljnija starost stabla oko 5 godina.

5. Starost izdanaka. Trogodišnji i dvogodišnji kratki izdanci nisu dali pozitivne rezultate. Podložni su znatno bržem propadanju u odnosu na jednogodišnje, što se očitovalo naglim žućenjem listova, a zatim i samog izdanka. Nerasvijeni kratki izdanci, koji se pojavljuju u rano proljeće, pokazali su se kao potpuno nepodesni. Propadali su već 3—5 dana nakon postavljanja pokusa zahvaćeni procesima žućenja i trulenja. Dovoljno izrasli i odrvenjeli kratki izdanci, ne stariji od godine dana, dali su jedini pozitivne rezultate te se njih može smatrati podesnim materijalom za dalja istraživanja.

6. Utjecaj vanjskih faktora. Općenito je poznato da vanjski faktori (temperatura, vлага, svjetlost i dr.) imaju znatan utjecaj na procese stvaranja korijena. Stoga je pokušni materijal, koji je smješten u dio staklenika predviđen za vegetativno razmnažanje (množara), dao znatno povoljnije rezultate od onoga u ostalim prostorijama. Svi ovi uvjeti nisu mogli biti egzaktno kontrolirani, no oni se ovdje održavaju na uobičajeni način koji odgovara potrebama prakse. Ostali materijal držao se u prostorijama s normalnim sobnim uvjetima.

7. Trajanje pokusa. Najduže su se održali dijelovi pojedinih pokusa ili čitavi pokusi, koji su imali do sada uočene najpovoljnije uvjete (pokusi 2 i 5 stoje preko godinu dana).

B. Anatomska i histološka opažanja

Analiza poprečnih prereza kroz bazu kratkih izdanaka upozorava na to da se kao posljedica djelovanja tvari rastenja najprije javlja pojačano djelovanje kambija. Ovim djelovanjem stvori se kalus (sl. 3), unutar kojeg zatim počinje diferencijacija traheidalnih elemenata. Oni stvaraju provodno tkivo, koje se počinje orijentirati u kalusu u određenom smjeru, a nakon toga slijedi postanak centralnog cilindra i konačno korijena. Na vršku tako nastalog korijena nalazi se vršni meristem, čijim djelovanjem korijen počinje rasti u duljinu (sl. 4). Ipak ponegdje se ova diferencijacija ne usmjerava pravilno, te se na tim mjestima stvaraju nakupine traheida koje najčešće ostaju u početnim stadijima razvoja (sl. 5). Najvjerojatnije je da se ovdje ne ostvari veza novoformiranih traheida i provodnog sistema kratkog izdanka, tako da ove nakupine diferenciranih traheida ostaju lokalizirane u nediferenciranom tkivu kalusa. Nastanak korijena u kalusu i njegovo probijanje kroz nj vidi se na sl. 6.

Diskusija

Danas se sa sigurnošću zna da na formiranje korijena utječu mnogi unutrašnji i vanjski faktori. Poznati unutrašnji faktori su: auksini, indoli, biotin, organski i anorganski dušični spojevi, ugljikohidrati, adenin, sulfatni spojevi i nikotinska kiselina te vitamini K i H (Hess 1961). Ipak, dodavanjem svih tih poznatih faktora biljkama, koje se ne zakorjenjuju, često ne vodi uspjehu, što govori o tome da postoji niz faktora koji su za sada još nepoznati. Isto tako postoje osobitosti pojedinih biljnih

vrsta koje također utječu na njihovu sposobnost stvaranja korijena. Takva osobina je npr. jako razvijeno mehaničko staničje u kori jasike (*Populus tremula*), koje ovdje prijeći nastajanje i razvoj korijena. (Kolevska - Pletikapić 1968, 1969).

Mnoge konifere poznate su po svojoj nesposobnosti zakorjenjivanja. Iz praktičnih razloga (većina od njih se veoma teško i dugotrajno razvija iz sjemena) postoji baš za njih interes za pronalaženje načina vegetativnog razmaženja. Među tim koniferama svakako se nalaze i borovi. Bilo je već pokušaja da se postigne zakorjenjivanje kratkih izdanaka nekih borova. Mergen (1964) je nastojao pronaći takve mogućnosti kod vrste *Pinus elliotti*, a također i nekih drugih vrsta borova, u čemu je djelomično i uspio. Dok se rad navednog autora odnosi više na pronalaženje načina da se ovo postigne, Hoffmann i Kummere (1958) proveli su slična istraživanja s kratkim izdancima vrste *Pinus radiata*, ali s podrobnim anatomskim i histološkim istraživanjima. Anatomska istraživanja, koja je proveo Satoo (1956), govore o dvojakoj mogućnosti nastajanja adventivnog korijena kod reznica nekih vrsta borova. Prema njegovim navodima korijen može nastati direktno iz izdanka ili iz prethodno stvorjenog kalusa.

Ako uporedimo rezultate postignute u ovom radu s rezultatima navedenih autora, možemo zaključiti da se oni u biti podudaraju, osim što do sad nije mogao biti utvrđen način direktnog postanka korijena od izdanka. Postanak korijena kod kratkih izdanaka crnog bora bio je uvijek vezan na prethodni postanak kalusa.

Dosad dobiveni rezultati daju nadu da će se kod crnog bora moći postići uspješno vegetativno razmnažanje s kratkim izdancima, što dosad, koliko je poznato, nije još uspjelo.

Zaključak

Studiran je nastanak korijena kod kratkih izdanaka crnog bora (*Pinus nigra*). Postignuti su ovi rezultati:

1. Kratki izdanci crnog bora sposobni su stvoriti kalus i korijen.
2. Na stvaranje kalusa i korijena imaju povoljan utjecaj IOK, IMK i IPK, dok je djelovanje NOK nepovoljno.
3. Starost izdanka bitno utječe na njegovu sposobnost stvaranja kalusa i korijena.
4. Kalus nastaje djelovanjem kambija.
5. Postanak korijena uvjetovan je prethodnim nastankom kalusa unutar kojeg se zatim formira korijen.



Najtoplje zahvaljujem prof. dru Zvonimiru Devidéu na korisnim savjetima i pomoći u radu.

Literatura — References

- Hess, E. C., 1961: The physiology of root initiation in easy- and difficult-to-root cuttings. *The Hormolog.* 3, 3—6.
- Hoffmann, A. C. and J. Kummarow, 1966: Anatomische Beobachtungen zur Bewurzelung der Kurztriebe von *Pinus radiata*. *Silvae Genet.* 15, 35—38.
- Johansen, D. A., 1940: Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, inc. New York and London. 1940.
- Kolevska-Pletikapić, B., 1968: Istraživanja ovisnosti stvaranja adventivnog korijena o tvarima rastenja i o anatomskoj građi u vrbe i ve (Salix caprea) i jasike (Populus tremula). *Acta Botan. Croat.* 26/27, 191—211.
- Kolevska-Pletikapić, B., 1969: Hemmung von Adventivwurzelbildung durch Sklerenchymfaserschichten. *Naturwissenschaften* 56, 469.
- Mergen, F. and A. Blanche, 1964: Asexual propagation of *Pinus* by rooting needle fascicles. *Silvae Genet.* 13, 133—139.
- Satoo, S., 1956: Anatomical studies on the rooting of cuttings in Coniferous species. *Bull. Tokyo Univ. For.* 51, 109—158.
- Strasburger, E., 1894: Lehrbuch der Botanik (27. Auflage). Gustav Fischer Verlag. Stuttgart 1958.
- Vidaković, M., 1968: Propagation of Shisham (*Dalbergia sisso Roxb.*) by cuttings. UNDP — FAO Pakistan National Forestry Research and Training Project. Report No. 3.

S U M M A R Y

STUDIES ON ROOT FORMATION IN SHORT SHOOTS OF AUSTRIAN PINE (*PINUS NIGRA* Arn.)

Branka Kolevska-Pletikapić
(Botanical Institute of the University of Zagreb)

Root formation in short shoots of Austrian pine (*Pinus nigra*) has been studied. The following results have been obtained:

1. The short shoots are able to form callus and roots.
2. The formation of callus and roots is stimulated by IAA, IBA, IPA, but not by NAA.
3. The ability of callus and root formation is essentially dependent both on age of short shoots and of the plant.
4. The callus is formed by the cambium.
5. The formation of roots proceeds in the developing callus tissue.

Branka Kolevska-Pletikapić, mr. biol.
Odjel za fizijologiju
Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu
Rooseveltov trg 6/III, p.p. 933
41000 Zagreb (Jugoslavija)