

Uticaj imidazol fungicida na multiplikaciju *in vitro* slabo bujne podloge za trešnju Gisela 6

Tatjana Vujović, Đurđina Ružić, Radosav Cerović, Milena Đorđević

Institut za voćarstvo, 32000 Čačak, Kralja Petra I 9, Srbija
E-mail: jugvocca@yu1.net

Primljeno: 19. januara, 2009; prihvaćeno: 31. marta, 2009.

Rezime. U radu je ispitivan uticaj imidazol fungicida na multiplikaciju slabo bujne podloge za trešnju Gisela 6, samostalno, ili u kombinaciji sa N6-benzil-aminopurinom (BAP). Kao izvor imidazol fungicida korišćen je komercijalni preparat SPORTAK 45 – EC – 450 čija je aktivna supstanca N-propil-N-[2-(2,4,6-trihlorfenoksi)-etil]-imidazol-1-karboksamid (prohloraz). U eksperimentu je ispitano 19 tipova medijuma u fazi multiplikacije, sa makro i mikro solima po Murashige i Skoog (1962) (MS), ali sa različitim koncentracijama prohloraza (PRO), BAP, IBA i GA₃. Prohloraz je korišćen u 3 koncentracije (1, 5 i 10 μ M), samostalno, ili u kombinaciji sa BAP (4,4 μ M), IBA (5 μ M) i GA₃ (0,3 μ M). Posle druge supkulture utvrđivani su parametri multiplikacije izdanaka, indeks multiplikacije, dužina i broj listova osovinskog i bočnih izdanaka. Takođe je merena sveža i suva masa izdanaka.

Najveći indeks multiplikacije (1:4,94), kao i sveža/suva masa izdanaka dobijeni su na medijumu koji je sadržavao 5 μ M PRO, 4,4 μ M BAP i 0,3 μ M GA₃.

Primena fungicida samostalno, kao i u kombinaciji sa IBA ili GA₃ nije imala značajan uticaj na multiplikaciju podloge za trešnju Gisela 6, bez obzira na upotrebijenu koncentraciju PRO. Međutim, sve tri ispitane koncentracije prohloraza u kombinaciji sa IBA uticale su na rizogenezu, pri čemu je najveći procenat ožiljavanja dobijen na medijumu sa 10 μ M PRO (83,33%).

Dobijeni rezultati pokazuju da PRO pojačava efekat egzogeno dodatog BAP na multiplikaciju vegetativne podloge za trešnju Gisela 6, a u kombinaciji sa IBA utiče i na rizogenezu.

Ključne reči: imidazol fungicidi, podloga za trešnju, *in vitro*, multiplikacija

Uvod

Primena fungicida u cilju kontrole gljivičnih infekcija u kulturi *in vitro* je pokazala da neke od ovih supstanci mogu uticati na organogene i morfogene procese u biljkama razmnoženim mikropropagacijom (Werbrouck et al., 2001). Tako je utvrđeno da imidazol fungicidi imazalil (IMA), prohloraz (PRO) i triflumizol (TRI), kao i triazol retardant paklobutrazol (PBZ) pojačavaju efekat egzogeno dodatih citokinina na multiplikaciju kod predstavnika *Areaceae* – *Spathiphyllum*

floribundum Schott i *Anthurium andreanum* Schott (Werbrouck i Debergh, 1995; Werbrouck i Debergh, 1996; Werbrouck et al., 1996). Sličan efekat IMA je uočen i kod drugih predstavnika ukrasnih vrsta biljaka, npr. kao kod *Curcuma alismatifolia* Gagnep. (Topponyanont et al., 2005). Takođe, uticaj imidazol fungicida, PRO i IMA, na povećanje indeksa multiplikacije u kulturi *in vitro* zabeležen je i kod nekih drvenastih vrsta, kao što su neki predstavnici rodova *Citrus* (*C. aurantium* L., *C. sinensis*), *Ficus* (*F. benjamina* i *F. elastica*) i *Pyrus* (*Pyrus communis* L., Pyrodwarf)

(Werbrouck *et al.*, 2001; Ružić *et al.*, 2008). Iako je najčešće ispitivana interakcija između imidazol fungicida i 6-benzil-aminopurina (BAP), istraživanja sprovedena kod nekih predstavnika *Areacea* su pokazala da IMA, PRO i TRI pojačavaju efekat i drugih citokinina (zeatina, 2iP), kao i supstanci sa citokininskom aktivnošću (tidiazurona) (Werbrouck i Debergh, 1996).

Izučavanja mehanizma dejstva imidazol fungicida u kulturi *in vitro* kod *Spathiphyllum floribundum* su pokazala da oni ne menjaju metabolizam egzogenih citokinina kao što je BAP (Werbrouck *et al.*, 1999), već se njihovo dejstvo kod predstavnika *Areacea* delom bazira na inhibiciji biosinteze giberelne kiseline (GA_3) (Werbrouck *et al.*, 1996).

Polazeći od činjenice da imidazol fungicidi mogu pojačati dejstvo egzogenih citokinina u kulturi *in vitro*, cilj ovoga rad je bio da se ispita uticaj PRO, samostalno, ili u kombinaciji sa BAP, kao najčešće korišćenim citokininom kod drvenastih vrsta voćaka, na multiplikaciju *in vitro* podloge za trešnju Gisela 6 u cilju optimizacije mikropropagacije ovog genotipa.

Materijal i metode

Biljni materijal. Slabo bujna podloga za trešnju Gisela 6 pripada seriji Gisela podloga koje su stvorene u Nemačkoj 60-tih godina prošlog veka na Justus Leibig University u Giessen-u. Ova podloga je veće bujnosti u odnosu na podlogu Gisela 5, ali je manje zahtevna u pogledu kvaliteta zemljišta, vodosnabdevanja i agrotehničkih mera. Podloga je u Institut za voćarstvo uvezena iz Nemačke (Lodder) u okviru projekta: „Uvođenje certifikacije u proizvodnju sadnog materijala voćaka (dobijanje osnovnog štoka i zasnivanje matičnjaka sorti i podloga voćnih vrsta“ finansiranog od strane Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede RS, tokom 2005. godine.

Medijumi. Izdanci podloge za trešnju Gisela 6, koja je prethodno bila uvedena i umnožena u kulturi *in vitro* su postavljeni na Murashige i Skoog (1962) (MS) medijum sa različitim koncentracijama imidazol fungicida (Tab. 1). Kontrolni medijum je bio „hormon free“ (HF) medijum. Kao izvor imidazol fungicida korišćen je komercijalni preparat SPORTAK 45 – EC – 450 čija je aktivna supstanca N-propil-N-[2-(2,4,6-trihlorfenoksi)-etil]-imidazol-1-karboksiamid (prohloraz). Prohloraz je dodavan u medijume posle autoklavira-

Tab. 1. Hormonski sastav korišćenih medijuma
Hormonal composition of used media

Broj medijuma <i>No of medium</i>	BAP (μM)	Prohloraz (μM)	GA_3 (μM)	IBA (μM)
1	0	0	0	0
2	0	0	0,3	0
3	0	5	0	0
4	0	5	0,3	0
5	0	10	0	0
6	0	10	0,3	0
7	4,4	0	0	0
8	4,4	0	0,3	0
9	4,4	5	0	0
10	4,4	5	0,3	0
11	4,4	10	0	0
12	4,4	10	0,3	0
13	0	1	0	0
14	0	1	0,3	0
15	4,4	1	0	0
16	4,4	1	0,3	0
17	0	1	0	5
18	0	5	0	5
19	0	10	0	5

nja (20 min. na 120°C, 1,5 bar) filter sterilizacijom (Millipore filteri 0,22 μM). Svi medijumi su sadržavali agar i saharozu u koncentraciji 7.000, odnosno 20.000 mg l⁻¹, resp.

Parametri multiplikacije, sveža i suva masa izdanaka. Izdanci su dva puta supkultivisani na medijumu istog hormonskog sastava, pa su parametri determinisani u 2. supkulturi koja je trajala 20 dana. Praćeni su sledeći parametri multiplikacije: indeks multiplikacije, dužina osovinskog i bočnih izdanaka, ali i specifične pojave, kao što su konzistencija i boja kalusa, obojenost i položaj listova, pojava hloroze, nekroze i dr. Takođe je merena sveža i suva masa izdanaka, odnosno njihovih delova, kalusa, stabla i listova. Sveža masa je određivana odmah po skidanju izdanaka sa medijuma pri čemu su oni prethodno oprani u destilovanoj vodi i osušeni filter papirom. U svrhu određivanja suve mase izdanci su sušeni 48 sati na 65°C (Ružić, 1998).

Na svaki ispitivani medijum je postavljeno 100 uniformnih izdanaka (10 erlenmajer posuda x 5 izdanaka x 2 ponavljanja). Dobijeni rezultati su obrađeni statistički, analizom varijanse i Dankanovim višestrukim testom intervala, za p < 0,05.

Uslovi gajenja u kulturi *in vitro*. Kulture su gajene u klimatizovanoj prostoriji sa kontrolisanom temperaturom

($23 \pm 1^\circ\text{C}$), fotoperiodom (16/8 h, svetlost/mrak) i intenzitetom svetlosti na površini kultura od $8,83 \text{ Wm}^2$, obezbeđenim sa belim fluorescentnim lampama, jačine 40 W, 6.500°K .

Rezultati i diskusija

Primena prochloraza samostalno, kao i u kombinaciji GA_3 nije imala nikakav uticaj na multiplikaciju podloge za trešnju Gisela 6 bez obzira na upotrebljenu koncentraciju (Tab. 2). Izdanci su sa kratkim stablom, širokim listovima, naročito u gornjoj polovini izdanaka. Listovi se karakterišu pojavom mrežaste hloroze. Ne uočavaju se mladi listovi, odnosno nije uočeno rastenje izdanaka tokom supkultivisanja. Kalus je male mase, tamno braon, do crvene boje, čvrst, kompaktn (Sl. 1).

Werbrouk *et al.* (1999) su postavili hipotezu prema kojoj se efekat imidazol fungicida na multiplikaci-

ju kod *Areacea* može objasniti njihovom citokininskom aktivnošću, ali na osnovu analize sadržaja citokinina u biljkama tretiranim IMA i kontrolnim biljkama ova hipoteza nije mogla biti potvrđena. Takođe, na osnovu rezultata dobijenih u našem eksperimentu, efekat PRO na multiplikaciju podloge Gisela 6 se uočava samo u prisustvu egzogeno dodatog BAP, što isključuje mogućnost da PRO sam po sebi ima citokininsko dejstvo. Prema Werbrouk *et al.* (1996) odsustvo multiplikacije na medijumima sa IMA i PRO bez egzogenih citokinina ukazuje i na to da nivo endogenih citokinina u *in vitro* biljkama nije dovoljan za indukciju multiplikacije, iako je prisustvom fungicida inhibirana biosinteza endogenih giberelina.

Najveći indeks multiplikacije (1:4,94), kao i dužina osovinskog i bočnih izdanaka kod podloge za trešnju Gisela 6 su dobijeni na medijumu sa $4,4 \mu\text{M}$ BAP, $5 \mu\text{M}$ PRO i $0,3 \mu\text{M}$ GA_3 (Tab. 2). Pojedinačni indeks multiplikacije je išao i do 1:9. Indeks multiplikacije na

Tab. 2. Parametri multiplikacije podloge za trešnju Gisela 6
Multiplication parameters of sweet cherry rootstock Gisela 6

Broj medijuma <i>No of media</i>	Indeks multiplikacije <i>Multiplication index</i>	Dužina osovinskog izdanaka <i>Length of axial shoot (cm)</i>	Dužina bočnih izdanaka <i>Length of lateral shoots (cm)</i>	Broj listova osovinskog izdanaka <i>No. of leaves of axial shoot</i>	Broj listova bočnih izdanaka <i>No. of leaves of lateral shoots</i>
1	1,00 d*	0,72 gh	–	7,72 def	–
2	1,00 d	0,73 gh	–	6,94 f	–
3	1,00 d	0,81 fgh	–	7,61 def	–
4	1,00 d	0,67 h	–	7,89 def	–
5	1,00 d	0,88 efgh	–	7,00 ef	–
6	1,00 d	0,93 defgh	–	8,11 def	–
7	1,33 d	1,19 cd	0,58 e	10,28 cd	4,33 d
8	1,28 d	1,24 bc	0,72 d	11,50 c	6,20 c
9	2,44 c	1,24 bc	0,90 c	17,22 b	8,88 a
10	4,94 a	1,93 a	1,18 a	20,94 a	8,44 ab
11	3,22 b	1,49 b	1,05 b	15,83 b	8,10 ab
12	2,61 c	1,75 a	0,92 c	17,06 b	8,31 ab
13	1,00 d	0,99 cdefg	–	7,44 ef	–
14	1,00 d	1,01 cdefg	–	7,33 ef	–
15	1,33 d	0,81 fgh	0,52 e	15,55 b	8,17 ab
16	2,17 c	0,84 fgh	0,53 e	15,00 b	7,24 bc
17	1,00 d	0,83 fgh	–	9,77 cde	–
18	1,00 d	1,10 cdef	–	7,88 def	–
19	1,00 d	1,15 cde	–	7,94 def	–

* Prosečne vrednosti za ispitivane parametre u istoj koloni koje su praćene različitim slovima su statistički različite na nivou $p \leq 0,05$ (Dankonov višestruki test intervala)

Means followed by different letters within columns are significantly different at the level $p \leq 0.05$ using Duncan's Multiple Range Test



Sl. 1. Izdanci podloge za trešnju Gisela 6 na medijumu sa $10 \mu\text{M}$ PRO
Shoots of sweet cherry rootstock Gisela 6 on medium with PRO $10 \mu\text{M}$ alone



Sl. 2. Izdanci podloge za trešnju Gisela 6 na medijumu sa $4,4 \mu\text{M}$ BAP i $0,3 \mu\text{M}$ GA_3
Shoots of sweet cherry rootstock Gisela 6 on medium with BAP $4,4 \mu\text{M}$ and GA_3 $0,3 \mu\text{M}$

ovom medijumu je bio 3,9 puta veći nego na medijumu koji je sadržavao samo $4,4 \mu\text{M}$ BAP i $0,3 \mu\text{M}$ GA_3 (Sl. 2). Izdanci su snažni, sa širokim zelenim listovima i dobro razvijenim, izduženim bočnim izdancima. Kalus je velike mase, čvrst, tamno braon boje. Kod 83,33% izdanaka uočena je pojava i sitnih začetaka pupoljaka u osnovi osovinskih izdanaka, dužine do 0,4 cm (Sl. 3). Najveće vrednosti sveže i suve mase kalusa, osovinskog i bočnih izdanaka, koji predstavljaju parametre kvaliteta izdanaka za dalje supkultivisanje,

su takođe dobijene na istom medijumu (Tab. 3). Visoke vrednosti parametara multiplikacije, kao i dobar kvalitet izdanaka su dobijeni i na medijumu sa $4,4 \mu\text{M}$ BAP i $10 \mu\text{M}$ PRO (Tab. 2, Sl. 4)

Werbrouck *et al.* (1996, 1999) su takođe postavili hipotezu prema kojoj se efekat imidazol fungicida bazira na inhibiciji biosinteze giberelne kiseline. Poznato je da se dodavanjem GA_3 inhibira indukcija razvoja novih izdanaka u *in vitro* uslovima pod dejstvom BAP i ovaj fenomen je uočen kod velikog broja biljnih vrsta (George, 1993, cit. po Werbrouck *et al.*, 1996).



Sl. 3. Izdanci podloge za trešnju Gisela 6 na medijumima sa $4,4 \mu\text{M}$ BAP, $5 \mu\text{M}$ PRO i $0,3 \mu\text{M}$ GA_3
Shoots of sweet cherry rootstock Gisela 6 on media with BAP $4,4 \mu\text{M}$, PRO $5 \mu\text{M}$ and GA_3 $0,3 \mu\text{M}$



Sl. 4. Izdanci podloge za trešnju Gisela 6 na medijumima sa $4,4 \mu\text{M}$ BAP i $10 \mu\text{M}$ PRO
Shoots of sweet cherry rootstock Gisela 6 on media with BAP $4,4 \mu\text{M}$ and PRO $10 \mu\text{M}$

Tab. 3. Sveža i suva masa izdanaka podloge za trešnju Gisela 6
Fresh and dry weight of sweet cherry rootstock Gisela 6 shoots

Broj medijuma No of medium	Sveža masa izdanaka/Fresh weight of shoots (mg)					Suva masa izdanaka/Dry weight of shoots (mg)				
	Kalus Callus	Stablo/Stem		List/Leaf		Kalus Callus	Stablo/Stem		List/Leaf	
		Osov. izdanak Axial shoot	Bočni izdanak Lateral shoots	Osov. izdanak Axial shoot	Bočni izdanak Lateral shoots		Osov. izdanak Axial shoot	Bočni izdanak Lateral shoots	Osov. izdanak Axial shoot	Bočni izdanak Lateral shoots
1	19,5 fgh	24,5 ij	–	120,0 efg	–	5,1 gh	7,6 ef	–	43,6 def	–
2	19,0 fgh	26,2 hij	–	108,6 ghi	–	4,9 gh	7,8 ef	–	39,8 efg	–
3	16,4 gh	21,7 j	–	93,5 i	–	4,8 gh	7,4 f	–	36,7 efg	–
4	25,2 fgh	30,6 fghij	–	114,5 fghi	–	6,9 fg	9,3 cdef	–	40,9 def	–
5	12,6 h	32,8 fghij	–	139,0 cdefghi	–	3,1 h	9,9 cdef	–	50,4 cd	–
6	10,6 h	36,6 defghi	–	142,8 cdefghi	–	2,7 h	10,9 bcde	–	50,1 cd	–
7	60,5 de	44,0 cdef	12,6 c	173,2 cdef	14,6 c	11,4 e	8,8 def	2,6 a	35,2 fg	3,2 d
8	60,4 de	54,7 bc	22,7 ab	176,0 cdef	33,5 a	10,2 ef	9,7 cdef	3,1 a	31,3 g	6,0 a
9	155,8 b	46,4 bcde	24,2 ab	250,2 b	30,3 ab	26,4 b	9,0 def	2,5 a	49,7 cd	4,9 abc
10	218,1 a	77,0 a	27,0 a	347,6 a	30,7 ab	30,4 a	10,3 cdef	2,5 a	60,5 ab	4,7 abcd
11	182,0 b	50,0 bed	23,9ab	186,6 cd	23,7 bc	25,7 b	7,9 ef	2,4 a	37,8 efg	3,5 cd
12	118,7 c	57,9 b	16,8 bc	197,0 bc	16,4 c	20,3 c	12,6 abc	3,1 a	43,9 def	3,9 bcd
13	9,6 h	47,5 bcde	–	96,0 hi	–	2,5 h	15,2 a	–	36,3 efg	–
14	11,6 h	44,0 cdef	–	128,8 defghi	–	2,7 h	13,8 ab	–	46,0 cde	–
15	77,9 d	35,2 efg	18,2 bc	196,5 bc	18,7 c	15,3 d	7,4 f	2,5 a	43,8 def	5,5 ab
16	72,4 de	31,8 fghij	12,8 c	182,2 cde	18,8 c	15,2 d	7,2 f	2,3 a	45,5 cde	3,9 bcd
17	28,8 fgh	30,3 ghij	–	202,0 bc	–	6,9 fg	9,7 cdef	–	66,2 a	–
18	48,3 ef	39,0 defgh	–	155,5 cdefgh	–	11,2 e	12,0 bcd	–	53,8 bc	–
19	43,9 efg	43,4 cdefg	–	160,5 cdefg	–	9,3 ef	12,3 abc	–	50,7 cd	–

Prema Werbrouck et al. (1996) endogeni giberelini blokiraju potpunu ekspresiju citokininske aktivnosti egzogeno dodatog BAP kod *S. floribundum*. Dodavanjem IMA ili PBZ se uklanja ova blokada putem inhibicije biosinteze giberelne kiseline, čime se obezbeđuje puna ekspresija aktivnosti egzogeno dodatih citokina.

U eksperimentu sa podlogom Gisela 6 indeks multiplikacije kao i ostali parametri multiplikacije i kvaliteta izdanaka su imali statistički značajno veće vrednosti na svim ispitanim medijumima sa PRO u kombinaciji sa BAP bez obzira da li je bila prisutana GA₃ ili ne, u odnosu na medijume sa BAP, sa izuzetkom medijuma sa 4,4 μM BAP i 1 μM PRO (Tab. 2, 3).

Sve tri ispitane koncentracije prochloraza (1, 5, 10 μM) u kombinaciji sa IBA uticale su na rizogenezu pri

čemu je najveći procenat ožiljavanja (83,33%) dobijen na medijumu sa 10 μM PRO (Tab. 4). Prethodna istraživanja su pokazala da na medijumu koji je sadržavao 5 μM IBA i 0,33 μM GA₃ nije došlo do rizogeneze kod ovog genotipa (Godišnji izveštaj TR-6866B, 2006). Međutim, u ovom eksperimentu, dodavanjem PRO u medijum sa IBA procenat ožiljavanja je rastao srazmerno porastu koncentracije PRO. Ožiljene biljke su bile sa širokim, zelenim listovima i kratkim stablom. Kalus je bio male mase, čvrst, kompaktno, tamno-bron boje. Mestimično su se na kalusu uočavale nodule svetlije boje. Korenovi su bili debeli, kratki, ružičaste boje, zrakasto raspoređeni i bez pojave sekundarnih korenova (Sl. 5). Werbrouck et al. (1999) su takođe uočili da imidazol fungicidi utiču na formiranje deblih korenova, čija je elongacija značajno inhibirana.

Tab. 4. Parametri ožiljavanja izdanaka podloge za trešnju Gisela 6
Rooting parameters of sweet cherry rootstock Gisela 6

Broj medijuma <i>No of medium</i>	% ožiljavanja <i>Rooting rate</i>	Prosečan broj korenova <i>Average number of roots per plant</i>	Prosečna dužina korenova <i>Average length of roots (cm)</i>	Prosečna sveža masa korenova <i>Average FW of roots (mg)</i>	Prosečna suva masa korenova <i>Average DW of roots (mg)</i>
13	5,55 c	1,00 b	1,90 a	23,00 c	2,7 c
17	16,66 b	3,33 ab	0,72 b	53,30 b	6,1 b
18	72,22 ab	4,23 a	0,60 b	53,40 b	6,4 b
19	83,33 a	3,73 ab	0,82 b	82,80 a	9,6 a



Sl. 5. Ožiljeni izdanci podloge za trešnju Gisela 6 na medijumu sa 5 μ M IBA i 10 μ M PRO
Rooted shoots of sweet cherry rootstock Gisela 6 on medium with IBA 5 μ M and PRO 10 μ M

Zaključak

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom eksperimentu može se zaključiti da:

– Uticaj imidazol fungicida prochloraza na *in vitro* multiplikaciju podloge za trešnju Gisela 6 se uočava samo u prisustvu egzogeno dodatog citokinina BAP;

– U kombinaciji sa IBA ovaj fungicid utiče na rizogenezu *in vitro*.

Iako mehanizam dejstva imidazol fungicida u kulturi *in vitro* nije razjašnjen evidentno je da njihovo prisustvo menja postojeće interakcije između biljnih regulatora rasteња što može imati velike posledice na razvojne procese u biljkama razmnoženim u *in vitro* uslovima. Stoga, primena ovakvih supstanci u kulturi *in vitro* može imati ne samo praktičan značaj u smislu optimizacije mikropropagacije već može poslužiti i u

cilju razjašnjavanja mehanizama dejstva i međusobnih interakcija citokinina, auksina i giberelina u biljkama.

Literatura

- Godišnji izveštaj TR-6866B (2006): Unapređenje tehnologije gajenja voćaka primenom novih biotehnologija.
- Murashige T., Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473–479.
- Ružić Đ. (1998): Reakcija genotipova nekih vrsta roda *Prunus* u kulturi *in vitro* na mineralni sastav podloge. Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, pp. 1–154.
- Ružić Đ., Vujović T., Milenković S., Cerović R., Miletić R. (2008): The influence of imidazole fungicides on multiplication *in vitro* of Pyrodwarf pear rootstock. *Australian Journal of Crop Science*, 1(2): 63–68.
- Topponyanont N., Chongsang S., Chujan S., Somsueb S., Nuamjaroen P. (2005): Micropropagation scheme of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 673: 705–712.
- Werbrouck S., Goethals K., Van Montagu M., Debergh P. (1999): Surprising micropropagation tools. In: 'Plant Biotechnology and *in vitro* Biology in the 21st Century', Altman, A. et al. (eds.), Kluwer Academic Publishers, pp. 667–672.
- Werbrouck S.P.O., Debergh P.C. (1995): Imazalil enhance the shoot-inducing effect of benzyladenine in *Spathiphyllum floribundum* Schott. *J. Plant. Growth Regulation*, 14: 105–107.
- Werbrouck S.P.O., Debergh P.C. (1996): Imidazole fungicides and paclobutrazol enhance cytokinin induced adventitious shoot proliferation in *Araceae*. *J. Plant. Growth Regulation*, 15: 81–95.
- Werbrouck S.P.O., Dhuyvetter H., Pérez R.M., Topponyanont N., Debergh P.C. (2001): Plant propagation *in vitro*: hormonal interactions. *Acta Horticulturae*, 560: 377–381.
- Werbrouck S.P.O., Redig P., Van Onckelen H.A., Debergh P.C. (1996): Gibberellins play a role in the interaction between imidazole fungicides and cytokinins in *Araceae*. *J. Plant. Growth Regulation*, 15: 87–93.

THE INFLUENCE OF IMIDAZOLE FUNGICIDE ON MULTIPLICATION *IN VITRO* OF LOW VIGOROUS SWEET CHERRY ROOTSTOCK GISELA 6**Tatjana Vujović, Đurđina Ružić, Radosav Cerović, Milena Đorđević**

*Fruit Research Institute, 32000 Čačak, Kralja Petra I No 9, Serbia
E-mail: jugvocca@yu1.net*

Abstract

The effect of imidazol fungicides applied either individually or combined with N6-benzyl-aminopurine (BAP) on the multiplication of low vigorous sweet cherry rootstock Gisela 6 was studied in the paper. The commercial chemical SPORTAK 45 – EC – 450 containing N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethyl]-imidazole-1-carboxamide (prochloraz) as an active substance, was used as the source of imidazole fungicide. Some 19 medium types were studied over the multiplication phase. The media, containing different rates of prochloraz (PRO), BAP, IBA and GA₃, included macro and micro salts according to Murashige and Skoog (1962) (MS). PRO was applied at 3 concentrations (1, 5 and 10 μM), either individually or combined with BAP (4.4 μM), IBA (5 μM) and GA₃ (0.3 μM). Upon the second subculture, the parameters of shoot multiplication, multiplication index, and length and number of axial and lateral shoots were checked. Fresh and dry shoot weight was also evaluated.

The highest multiplication index (1:4.94) and fresh/dry shoot weight were observed on the medium containing PRO 5 μM, BAP 4.4 μM and GA₃ 0.3 μM. The fungicide, applied either individually or combined with IBA or GA₃, had no effect on the multiplication of Gisela 6 sweet cherry rootstock regardless of the applied PRO concentration. Nevertheless, all studied concentrations of PRO combined with IBA affected rhizogenesis whereby the highest rooting rate was obtained on the medium containing PRO 10 μM (83.33%).

The obtained results suggest that PRO intensifies the effect of exogenous added BAP on the multiplication of Gisela 6 vegetative sweet cherry rootstock, whereas when combined with IBA, PRO has been reported to affect rhizogenesis.

Key words: imidazole fungicides, sweet cherry rootstock, *in vitro*, multiplication