

MULTIPLIKASI KULTUR MERISTEM STROBERI KULTIVAR EARLIBRITE DENGAN PENAMBAHAN KONSENTRASI HORMON BAP DAN KINETIN

MERISTEM CULTURE MULTIPLICATION OF STRAWBERRY EARLIBRITE CULTIVAR WITH ADDITION OF BAP AND KINETIN HORMONES

Dhimas Sigit Bimantara^{*1)}, Dawam Maghfoer, Nunun Barunawati, Yenni²⁾, Ahmad Syahrian Siregar²⁾

¹⁾Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur, Indonesia

²⁾Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika(BALIJESTRO)
Jl. Raya Tlekung No.1, Beji, Junrejo, Kota Batu, 65327 Jawa Timur, Indonesia

^{*}E-mail :115040200111089@mail.ub.ac.id

ABSTRAK

Ketersediaan bibit stroberi berkualitas dan bebas penyakit masih terbatas di Indonesia. Perbanyak *in vitro* merupakan salah satu alternatif penyediaan bibit stroberi dalam jumlah besar dan bebas dari penyakit serta virus. Perbanyak *in vitro* membutuhkan media yang sesuai untuk pertumbuhan eksplan agar dapat beregenerasi secara optimal. Tujuan penelitian ini untuk memperoleh konsentrasi terbaik diantara penggunaan sitokinin BAP dan Kinetin terhadap pembentukan tunas dan induksi planlet pada stroberi kultivar *Earlibrite*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2015 di laboratorium kultur jaringan balai penelitian jeruk dan buah subtropika (BALIJESTRO), Tlekung, kota Batu. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 9 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 ulangan cadangan. Perlakuan terdiri dari BAP dan Kinetin masing-masing pada konsentrasi 0,25, 0,50, 0,75 dan 1,00 mg/L serta kontrol. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan BAP dengan konsentrasi 0,5+ NAA 0,025 mg/L memberikan hasil terbaik terhadap jumlah tunas dan jumlah daun. Sedangkan perlakuan Kinetin dengan konsentrasi 1,00 + NAA 0,025 mg/L memberikan hasil terbaik dalam pembentukan formasi perakaran, diameter klaster dan tinggi planlet stroberi.

Kata kunci : Stroberi, Kultur Jaringan, Meristem, BAP, Kinetin.

ABSTRACT

Strawberries production percentage to the national fruit production only amounted to 0.49%. The availability of quality and disease-free's seed still limited in Indonesia. Propagation through *in vitro* techniques is one alternative way to produce strawberry seeds in large quantities and free from diseases and viruses. *In Vitro* propagation requires a suitable medium for the growth of the in order to regenerate optimally. The purpose of this study is to obtain the best concentration between the use of cytokinin BAP and Kinetin to bud formation and induction of plantlets in strawberry cultivar *Earlibrite*. The research was conducted from October to December 2015 in tissue culture laboratory, research centers citrus and subtropical fruits (BALIJESTRO), Tlekung, Batu. This study uses a completely randomized design (CRD), which consisted of 9 treatments with 3 replications and 2 replicates backup. The treatment consists of BAP and Kinetin respectively at concentrations of 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 mg / L and control. The results showed treatment with a concentration of 0.5 BAP + NAA 0.025 mg / L gives the best and leaves compared to all treatments. While treatment with a concentration of 1.00 Kinetin + NAA 0.025 mg / L gives the best results in the

formation of roots, cluster diameter and height of the strawberries plantlets.

Keywords: Strawberry, Tissue Culture, Meristem, BAP, Kinetin.

PENDAHULUAN

Stroberi merupakan tanaman buah subtropis yang di Indonesia banyak dibudidayakan di wilayah dataran tinggi seperti Brastagi, Batu, Ciwidey, dan beberapa wilayah yang memiliki iklim sejuk. Data Badan Pusat Statistik Tahun 2013 menunjukkan bahwa produksi stroberi di Indonesia masih rendah dengan persentase kontribusi terhadap produksi buah nasional sebesar 0,49 %. Faktor utama yang menjadi pembatas budidaya stroberi di Indonesia adalah ketersediaan benih berkualitas dan bebas penyakit. Penyediaan benih stroberi selama ini dilakukan secara konvensional dengan menggunakan stolon. Kelemahan dari perbanyakan dengan organ vegetatif ini adalah hasil perbanyakan yang relatif lebih sedikit dan tidak terjamin bebas penyakit dan virus karena infeksi patogen endogenous yang ditularkan dari tanaman induk. Bibit yang terinfeksi patogen ini menyebabkan kualitas dan kuantitas produksi semakin menurun setelah tiga periode penanaman (Zebrowska, 2004).

Perbanyakan dengan teknik *in vitro* merupakan salah satu cara alternatif untuk penyediaan bibit stroberi dalam jumlah besar dan waktu yang relatif lebih singkat. Kultur meristem adalah salah satu teknik kultur *in vitro* yang biasa digunakan untuk tujuan menghasilkan tanaman yang bebas dari patogen virus, viroid, bakteri dan jamur (Biswas *et al*, 2007). Keuntungan dari penggunaan kultur meristem adalah hasil perbanyakannya memiliki karakter serupa dengan tanaman induk dan terjamin bebas dari berbagai patogen.

Dalam perbanyakan secara *in vitro*, rasio antara tunas dan akar yang terbentuk sangat ditentukan oleh komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang terkandung di dalam media tumbuhnya. Jenis ZPT yang biasa digunakan dalam tujuan perbanyakan adalah sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin. Rasio sitokinin yang lebih

tinggi dibanding auksin, akan memberikan hasil pada pembentukan tunas yang sangat penting pada fase awal pertumbuhan eksplan. Dan sebaliknya, jika rasio auksin lebih tinggi, maka akan memicu pembentukan perakaran. Penelitian Siregar (2013), menunjukkan bahwa penggunaan sitokinin BAP yang dikombinasikan dengan auksin NAA pada berbagai level konsentrasi memberikan hasil yang berbeda-beda terhadap jumlah tunas yang dihasilkan serta komponen pertumbuhan lainnya pada planlet stroberi kultivar Festival.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh konsentrasi terbaik diantara menggunakan sitokinin BAP dan Kinetin yang dikombinasikan dengan auksin NAA terhadap pembentukan tunas dan induksi planlet pada stroberi kultivar *Earlibrite*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2015 di laboratorium kultur jaringan balai penelitian jeruk dan buah subtropika (BALIJESTRO), Tlekung, kota Batu. Alat yang digunakan adalah autoklaf, gelas ukur, petridish, scalpel, pinset, lampu burnsen, LAFC, oven, handsprayer, timbangan, pemanas, pH meter, batang pengaduk, gelas erlenmeyer, botol kultur, aluminium foil, kertas steril, label, penggaris, kamera. Bahan yang digunakan adalah batang planlet hasil subkultur dari meristem batang stroberi kultivar *Earlibrite* dengan ukuran panjang 5-7 mm, media MS (Murashige dan Skoog) *powder*, ZPT (zat pengatur tumbuh) NAA, BAP dan Kinetin, alkohol 70% dan 96%, HCl 1 N, NaOH 1 N, myoinositol, agar sukrosa, aquades, detergen, spiritus dan bahan-bahan lain yang dibutuhkan dalam penelitian.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 9 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 ulangan cadangan. Perlakuan terdiri dari perlakuan A (kontrol), B (BAP 0,25 + NAA 0,025) mg/L, C (BAP 0,5 + NAA 0,025) mg/L, D (BAP 0,75 + NAA 0,025) mg/L, E (BAP 1,00 + NAA 0,025) mg/L, F (Kinetin 0,25 + NAA 0,025) mg/L, G (Kinetin 0,50 + NAA 0,025) mg/L, H (Kinetin

0,75 + NAA 0,025) mg/L, I (Kinetin + NAA 0,025) mg/L. Pengamatan dilakukan pada 7 hari setelah tanam (HST) hingga 56 HST. Parameter yang diamati adalah: jumlah tunas, jumlah daun, jumlah dan panjang akar, tinggi planlet, diameter klaster planlet. Data hasil pengamatan dianalisa dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) pada taraf 5%. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji perbandingan dengan menggunakan beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Tunas dan Daun

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa rata-rata jumlah tunas pada perlakuan C (BAP 0,5 + NAA 0,025) mg/L mampu memberikan rata-rata hasil jumlah tunas paling tinggi sejumlah 12,33 tunas. Sedangkan untuk perlakuan G (Kinetin 0,5 + NAA 0,025) mg/L dan I (Kinetin 1 + NAA 0,025) mg/L memiliki rata-rata jumlah tunas paling sedikit dengan rata-rata sejumlah 3 tunas. Hal ini disebabkan perbedaan jenis sitokinin yang kemudian direspon berbeda oleh eksplan serta pengaruh dari hormon sitokinin endogen yang terdapat pada eksplan akan mempengaruhi proses pembelahan sel pada jaringan meristematik. Penggunaan sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin akan bekerja secara spesifik terhadap tujuan dari kultur dan memberikan hasil yang bervariasi terhadap berbagai konsentrasi dan jenis sitokinin yang digunakan. Penelitian Roussos (2015), menunjukkan bahwa penggunaan jenis sitokinin yang berbeda pada perbanyak *European chestnuts (Castanea sativa Mill)* memberikan hasil yang berbeda terhadap pembentukan organ tanaman. Pada penelitian tersebut penggunaan BAP memberikan hasil paling efektif pada pembentukan tunas. Kemudian hasil penelitian Sorvari *et al.* (1993), menunjukkan bahwa perlakuan BAP dengan konsentrasi BAP 3 mg/L + IBA 0,1 mg/L mampu memberikan jumlah tunas paling tinggi pada pembentukan tunas serta daun dibanding dengan konsentrasi yang

lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan konsentrasi sitokinin dan auksin sangat mempengaruhi aktivitas pembentukan tunas. Kemudian hasil penelitian Haddadi *et al.* (2010), menunjukkan bahwa dari kombinasi perlakuan TDZ dan BAP yang diberikan pada media, hasil tunas terbanyak tidak terdapat pada konsentrasi pemberian hormon yang paling tinggi, akan tetapi diperoleh dari rasio konsentrasi yang seimbang antara TDZ dan BAP. Bahan tanam serta perbedaan karakter genetik pada kultivar memungkinkan untuk menghasilkan respon pertumbuhan tunas yang berbeda. Julianto (2009), menjelaskan bahwa hubungan antara rasio sitokinin dan auksin pada organogenesis dalam kultur jaringan menunjukkan bahwa rasio sitokinin yang lebih tinggi dibanding auksin akan memicu pertumbuhan tunas.

Pada parameter pengamatan jumlah daun, hasil terbaik diperoleh pada perlakuan C (BAP 0,5 + NAA 0,025) mg/L. Peningkatan jumlah tunas yang muncul diikuti dengan jumlah daun yang terbentuk. Secara umum interaksi ZPT pada media dan jaringan eksplan akan menentukan arah perkembangan dari kultur tersebut. Tanaman yang berbeda dapat merespon ZPT (auksin dan sitokinin) dalam berbagai konsentrasi secara berbeda. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kandungan konsentrasi hormon endogen dalam jaringan eksplan. Penelitian Siregar (2013), menunjukkan bahwa pada multiplikasi tunas stroberi kultivar *Festival*, kombinasi antara sitokinin BAP 0,5 mg/L + auksin NAA 0,025 mg/L juga mampu memberikan hasil yang optimal pada jumlah tunas dan jumlah daun yang terbentuk.

Jumlah dan Panjang Akar

Hasil pengamatan menunjukkan perlakuan I (Kinetin 1 + NAA 0,025) mg/L memberikan jumlah akar yang lebih banyak dibanding semua perlakuan. Jumlah akar yang muncul dan tumbuh akan mempengaruhi daya eksplan dalam penyerapan unsur yang dibutuhkan untuk pembentukan sel, jaringan dan organ hingga menjadi tanaman utuh. Interaksi

Tabel 1 Hasil Pengamatan Pertumbuhan Planlet Stroberi

Perlakuan (mg/L)	Karakter Pengamatan					
	Jumlah Tunas	Jumlah Daun	Jumlah Akar	Panjang Akar (cm)	Diameter Klaster (mm)	Tinggi Planlet (cm)
A (Kontrol)*	6,00ab	11,00ab	2,65abc	1,61abcd	1,54 a	3,83ab
B (BAP 0,25)*	6,66ab	14,00ab	1,93ab	1,15abc	1,86 ab	3,13ab
C (BAP 0,50)*	12,33c	20,66b	1,22a	0,95ab	1,68 ab	1,94ab
D (BAP 0,75)*	4,33ab	13,30ab	3,07bcd	1,90cd	1,84 ab	3,43ab
E (BAP 1,00)*	7,66b	9,00a	1,17a	0,81a	1,65 ab	1,59a
F (Kinetin 0,25)*	4,33ab	8,33a	2,55abc	1,76bcd	2,28 ab	2,52ab
G (Kinetin 0,50)*	3,00a	10,33ab	3,63cd	2,03cd	2,42 b	4,52b
H (Kinetin 0,75)*	4,66ab	15,33ab	4,05cd	2,07d	1,83 ab	3,29ab
I (Kinetin 1,00)*	3,00a	11,00ab	4,55d	2,50d	2,06ab	4,63b

Keterangan: * ; setiap perlakuan ditambah auksin NAA 0,025 mg/L

yang terjadi antara BAP, Kinetin dan NAA sebagai hormon eksogen dengan hormon endogen yang ada dalam jaringan eksplan menghasilkan suatu jumlah yang sesuai untuk pembelahan sel perakaran. Menurut Biswas *et al.* (2010), pembelahan sel dipengaruhi oleh nisbah sitokinin dan auksin yang ditambahkan ke dalam media. Penggunaan Kinetin lebih mampu memicu pertumbuhan akar yang lebih baik dibandingkan dengan BAP pada konsentrasi yang sama. Hasil penelitian Ashrafuzzaman *et al.* (2013), menunjukkan pemberian auksin pada fase pembentukan perakaran dalam konsentrasi yang lebih rendah (0,5mg/L) lebih mampu untuk menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak dibandingkan pemberian dalam konsentrasi yang lebih tinggi.

Hasil pengamatan panjang akar menunjukkan penggunaan kombinasi Kinetin + NAA memberikan perbedaan yang sangat signifikan jika dibandingkan dengan penggunaan BAP +NAA. Penambahan konsentrasi Kinetin yang meningkat sampai dengan 1 mg/L memberikan hasil panjang akar yang semakin tinggi. Perlakuan I (Kinetin1 + NAA 0,025) mg/L memiliki rata-rata panjang akar tertinggi sebesar 2,50 cm. Sedangkan perlakuan E (BAP 1 + NAA 0,025) mg/L memiliki rata-rata panjang akar paling pendek dibanding semua perlakuan dengan panjang 0,81 cm. Pada penelitian ini, konsentrasi auksin yang digunakan

sama untuk semua perlakuan yaitu 0,025 mg/L. Pengaruh dari kultivar, jenis bahan tanam serta konsentrasi BAP dan Kinetin yang diberikan menjadi faktor yang mempengaruhi kerja auksin NAA dalam proses induksi akar. Penambahan konsentrasi auksin dapat menstimulasi pembentukan kalus namun menghambat elongasi akar. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Haddadi (2010), yang menunjukkan bahwa pemberian auksin NAA pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu 1 mM memberikan hasil jumlah akar paling optimal pada induksi akar stroberi kultivar *Camarosa*. Sedangkan konsentrasi NAA pada level 5 mM cenderung menghasilkan kalus yang berakibat pada penghambatan pembentukan perakaran. Kemudian hasil penelitian Rostiana (2007), menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi pemberian auksin NAA tidak memberikan hasil panjang akar yang semakin meningkat, namun malah menimbulkan efek penghambatan pada perpanjangan akar.

Tinggi dan Diameter Klaster Planlet

Pengamatan pada parameter tinggi planlet menunjukkan perlakuan I (Kinetin 1 + NAA 0,025) mg/L mampu memberikan rata-rata tinggi eksplan tertinggi. Namun hasil analisis sidik ragam (Tabel 1) menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata kecuali terhadap

kontrol. Penelitian Nugroho (2012), menunjukkan bahwa perlakuan IAA tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi eksplan. Sedangkan perlakuan Kinetin secara tunggal berpengaruh nyata terhadap tinggi eksplan, sedangkan kombinasi IAA dengan Kinetin memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap tinggi eksplan. Penelitian Sukmadjaja dan Mulyana (2011) juga menunjukkan bahwa formulasi penambahan hormon IBA dan NAA pada media memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi eksplan dengan media kontrol yang tidak diberikan penambahan hormon. Hal ini terjadi karena formulasi media serta tingkat kebutuhan eksplan terhadap penambahan hormon eksogen menjadi faktor yang sangat menentukan tingkat kebutuhan eksplan terhadap penambahan ZPT sintetik. Menurut Chesworth *et al.* (1998), Terikatnya auksin pada membran sel tumbuhan akan mengaktifkan pompa proton yang menyebabkan sekresi proton dari dalam sel menuju dinding sel. Keadaan ini akan mengaktifasi enzim yang menghidrolisis polisakarida pada dinding sel atau melemahkan ikatan hidrogen antara komponen penyusun dinding sel dan mengakibatkan dinding sel menjadi meregang. Efek yang terjadi adalah proses pemanjangan batang yang membuat tanaman mampu tumbuh tinggi.

Pada pengamatan diameter klaster planlet, hasil yang berbeda nyata ditunjukkan antara Kinetin 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L dengan Kontrol. Sedangkan antar perlakuan yang lain tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel1). Hal ini terjadi karena terdapat faktor pembatas genetik yang menyebabkan penambahan hormon tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perkembangan klaster planlet. Penelitian Adak (2011), juga menunjukkan hasil bahwa pemberian kombinasi hormon sitokinin BAP + IAA + GA dan arang aktif pada beberapa kultivar stroberi tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada diameter batang yang dihasilkan antar perlakuan baik dari faktor penambahan konsentrasi hormon maupun kultivar yang digunakan. Kemudian penelitian Fauzana

(2012), menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan fisik seperti intensitas cahaya dan perbedaan temperatur ruang dengan perlakuan BAP + IAA memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap diameter batang planlet.

KESIMPULAN

Perlakuan sitokinin BAP pada konsentrasi 0,5 mg/L + NAA 0,025 mg/L menunjukkan hasil terbaik terhadap multiplikasi tunas dan jumlah daun. Sedangkan perlakuan Kinetin dengan konsentrasi 1 mg/L + NAA 0,025 mg/L menunjukkan hasil terbaik terhadap pembentukan perakaran, diameter klaster dan tinggi planlet. Kesimpulan pada penelitian ini, penggunaan sitokinin BAP dan Kinetin memberikan arah perkembangan yang berbeda terhadap pertumbuhan eksplan. Penggunaan hormon sitokinin BAP memberikan hasil terbaik untuk tujuan perbanyak tunas, sedangkan penggunaan hormon sitokinin Kinetin memberikan hasil terbaik pada pembentukan perakaran, pembentukan klaster dan tinggi planlet.

DAFTAR PUSTAKA

- Adak, N. 2011.** Studies on determining the appropriate hormone concentrations on meristem culture of some strawberry (*Fragaria* spp.) cultivar. Elmalı Vocational School of Higher Education, Greenhouse Program, Akdeniz University, Antalya, Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 9(2):341-344.
- Afticha, F. 2012.** Studi Pengaruh Jenis Penutup Botol Kultur dan Perendaman Air Terhadap Pertumbuhan Eksplan *Stevia rebaudiana* Bertoni M. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ashrafuzzaman, M., S.M. Faisal., D. Yadav., D. Khanam, and F. Raihan. 2013.** Micropropagation of Strawberry (*Fragaria ananassa*) Through Runner Culture, Bangladesh. *Journal Agricultural Resources*. 38(3):467-472.

- Badan Pusat Statistik. 2013.** Data Produksi Stroberi Indonesia. [online]. <http://hortikultura.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/02/Statistik-Produksi-Hortikultura-2013.pdf>.
- Biswas, M. K., U.K. Roy., R. Islam, and M. Hossain. 2010.** Callus culture from leaf blade, nodal, and runner segments of three strawberry (*Fragaria* sp.) clones. *Turkey Journal Biology*. (34):75-80.
- Chesworth, J. M., T. Stuchbury, and J.R. Scaife. 1998.** An Introduction to Agricultural Biochemistry, Chapman and Hall, London.
- Haddadi, F. and M.A. Aziz. 2010.** Micropropagation of Strawberry cv. Camarosa: Shoot Regeneration from In Vitro Shoot Tips Using TDZ with N6-benzylamino-purine. *Horticulture science*. 45(3):453–456.
- Julianto, A.S. dan Teguh. 2009.** Mikropropagasi Duku (*Lancium domesticum* L., cv. Kalikajar) Melalui Kultur pucuk. Fakultas Pertanian dan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Purwokerto. *Agritech*. 11(1):33–44.
- Nugroho, K. 2012.** Pengaruh Penambahan IAA dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) Varietas Pitaloka Secara In Vitro. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rostiana, O. dan D. Seswita. 2007.** Pengaruh Indole Butyric Acid dan Naphtaleine Acetic Acid Terhadap Induksi Perakaran Tunas Pireterum [*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.)Vis.] Klon Prau 6 Secara In Vitro. *Buletin Littro*. 18(1):39-48.
- Roussos, P.A., A. Archimandriti and Ioulia. 2015.** Improving in Vitro Multiplication of Juvenile European Chestnut (*Castanea sativa* Mill) Explants by the use of Growth Retardants. Agricultural University of Athens, Dept. of Crop Science, Laboratory of Pomology. *Horticulturae*. 19(8):254–256.
- Sorvari, S., S. Ulvinen., T. Hietaranta, and H. Hiirsalmi. 1993.** Preculture Medium Promotes Direct Shoot Regeneration from Micropropagated Strawberry Leaf Disks. Agricultural Research Center, Institute of Horticulture, SF-21500 Piikkiö, Finland. *Hortscience*. 28(1):55-57.
- Siregar, A.S. 2013.** Proliferasi Tunas Stroberi Secara In Vitro Menggunakan Eksplan Batang Planlet Hasil Kultur Meristem. *Widyariset*. 16(3):473-480.
- Sukmadjaja, D. dan A. Mulyana. 2011.** Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. *Jurnal Agro Biogen*. 7(2):106-118.
- Żebrowska, A., and W. Pilis. 2004.** The Effects of Graded Exercise on Prostate Specific Markers Activity and Reproductive Hormonal Profiles. Dept. of Physiology, Academy of Physical Education, Katowice, Poland. *Biology Sport*. 2(1):93-102.