

DOI: 10.22620/agricsci.2011.07.001

ИЗСЛЕДВАНИЯ ВЪРХУ НЯКОИ ФАКТОРИ, ОКАЗВАЩИ ВЛИЯНИЕ ВЪРХУ РЕГЕНЕРАЦИОННАТА СПОСОБНОСТ НА ЛИСТНИ ЕКСПЛАНТИ ОТ ЯБЪЛКОВАТА ПОДЛОЖКА М9
STUDIES ON SOME FACTORS AFFECTING THE REGENERATION CAPACITY OF LEAF EXPLANTS OF THE M9 APPLE ROOTSTOCK

Гая Добревска*, Кръстина Иванова
Galya Dobrevska*, Krastina Ivanova

Аграрен университет – Пловдив
Институт по овощарство – Пловдив
Agricultural University - Plovdiv
Fruit Growing Institute - Plovdiv

*E-mail: galysd@abv.bg

Резюме

Изследвани бяха някои фактори, оказващи влияние върху регенерационната честота на листни експланти от ябълка. Проследени бяха три различни комбинации от растежните регулатори BAP и NAA, три различни модификации на хранителната среда MS и позицията на листа върху латорасъла. Нивото на регенерация беше повлияно от всички изпитвани фактори.

Abstract

Several factors were examined for their effect on the frequency of shoot regeneration from apple leaves. Three different combinations of the growth regulators BAP and NAA were assessed for their effect on shoot organogenesis, as well as three modified MS media and the leaf position on the shoot. The level of regeneration was influenced by all the examined factors.

Ключови думи: листна регенерация, растежни регулатори, ябълка.

Key words: leaf regeneration, growth regulators, apple.

ВЪВЕДЕНИЕ

Ин витро техниката на адвентивен органогенезис, т.е. индуциране на формирането на меристеми „de novo“ от соматична тъкан, е първата стъпка в основата на няколко възможности за промяна на изходния генотип. Изискванията, свързани с регенеративната способност на листни експланти от различни растителни видове, са насочени към установяване на една добре работеща система с висока честота на регенерация и възпроизводимост.

Вниманието на изследователите е насочено към отделни химични и физични фактори при ин витро култивирането, които биха могли да имат отношение върху регенерационния процес (Murashige and Skoog, 1962; Dufour, 1990; Mahdi et al., 2007). Правени са изследвания, свързани с влиянието на солевия състав на хранителната

среда (Barbieri and Morini, 1987; Predieri and Malavasi, 1989), вида и концентрацията на използваните растежни регулатори (Barbieri and Morini, 1987; Fasolo et al., 1989; James et al., 1988; Luz and Aldwinckle, 1994; Trifonova et al., 1993; Welander, 1988), източника на въглехидрати в хранителната среда (Welander, 1988), позицията на листа върху ин витро латорасъла (James et al., 1988; Dobranszki and Teixeira da Silva, 2011) и др.

Получените резултати не са еднозначни, вследствие на което се налага изводът, че за всеки обект са необходими конкретни експерименти.

Целта на разработката беше да проследим въздействието на някои от основните фактори, които биха повлияли върху директния адвентивен органогенезис от листни експланти на ябълковата подложка М9.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Леторасълчетата в ин витро култура от ябълковата подложка М9, в последния пасаж, преди отделянето на листните експлантите, бяха поставени в три културални среди. Хранителните среди са на основата на MS, но със следните модификации:

1. Пълен MS състав + 1200 mg/l Ca(NO₃) + 0,7 mg/l BAP + IBA 0,01 mg/l (мултипликация);
2. Пълен MS състав, без растежни регулатори (удължаване);
3. 1/4 MS хранителна среда + IBA 0,1 mg/l (вкореняване).

След два нареза на централния нерв на листните петури листа, отделени от четири позиции (отгоре надолу) по продължение на леторасъла, бяха залагани за регенерация в три варианта хранителна среда, където съотношението BAP:NAA беше 3:0,2; 5:0,2 и 7:0,2 mg/l. Комбинацията на трите хранителни среди за предтретиране, трите съотношения между цитокинини и ауксини (Ц:А) и четирите позиции на листа формираха 36 варианта.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В таблица 1 са представени получените резултати за среден брой регенеранти от експлант и регенерационната честота (осреднени за четирите позиции на листа).

В първите три варианта, където BAP е 3,0 mg/l, най-високи резултати са получени за експлантите, отделени за регенерация от хранителна

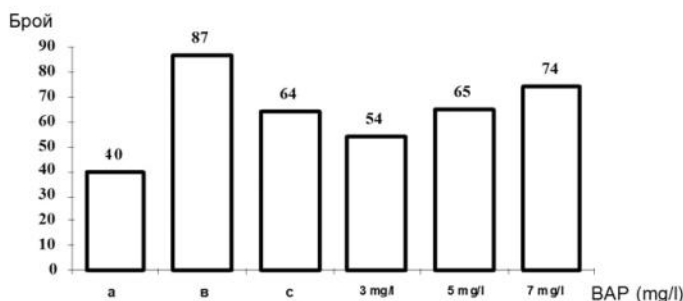
среда за удължаване. В следващите три варианта, където BAP е 5 mg/l, се запазва същата тенденция, но честотата на регенерация се увеличава при експлантите, отделени от хранителната среда за мултипликация. Едновременно с това обаче получените резултати за среден брой регенеранти за експлант показват едно увеличение при експлантите, екстрахири от хранителната среда за вкореняване. При последните три варианта (с най-високо съдържание на BAP в хранителната среда) повишени показатели както за брой регенеранти на експлант, така и за честота на регенерация, са получени при експлантите, отделени от хранителните среди за мултипликация и за вкореняване.

Получените резултати относно броя на регенерантите в зависимост от позицията на листа върху леторасъла са твърде разнородни - от 0 до 16 броя за вариант. При оптимално съчетание на двата фактора - изходна хранителна среда и съотношение BAP:NAA, листните експлантите и от четирите позиции продуцират голям брой регенеранти.

При съпоставяне на общо получените регенеранти в зависимост от хранителната среда за предтретиране и различните нива Ц:А се получава следната картина (фиг. 1). В първите три колонки са резултатите за общ брой регенеранти при елиминирани на различното ниво на цитокинина, а е отчетено само влиянието на предтретирането. Резултатите сочат, че най-голям брой регенеранти са получени от хранителната среда за удължаване.

Таблица 1. Среден брой регенеранти от експлант и регенерационна честота
Table 1. Average number of shoots from explant and regeneration frequency

№	BAP:NAA mg/l	Среден брой регенеранти/експлант Average number of shoots/explant	Произход на експланта Origin of explant	Честота на регенерация, % Frequency of regeneration, %
1	3,0 : 0,2	0,49	Вкореняване Rooting	14,6
2	3,0 : 0,2	2,50	Удължаване Extension	41,6
3	3,0 : 0,2	0,58	Мултипликация Multiplication	12,5
4	5,0 : 0,2	1,06	Вкореняване Rooting	14,6
5	5,0 : 0,2	2,18	Удължаване Extension	35,4
6	5,0 : 0,2	0,81	Мултипликация Multiplication	25,0
7	7,0 : 0,2	1,41	Вкореняване Rooting	25,0
8	7,0 : 0,2	0,68	Удължаване Extension	16,4
9	7,0 : 0,2	2,87	Мултипликация Multiplication	41,6



Фиг. 1. Брой латорасли за вариант в зависимост от предтретирането и различната концентрация на ВАР: а - вкореняване; в - удължаване; с - мултипликация

Fig. 1. Number of shoots for variant depending on pretreatment and different concentrations of BAP: a - rooting; в - extension; с - multiplication

В следващите три колонки е представено влиянието на количеството на ВАР в регенерационната среда. Вижда се, че с повишаване на концентрацията на ВАР се повишава и общият брой на получените регенеранти.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получените от експеримента резултати недвусмислено показват, че прецизирането на всеки един от факторите, които взаимно си влияят, може да доведе до по-пълното разкриване на регенерационния капацитет на листните експланти от ябълковата подложка М9.

ЛИТЕРАТУРА

- Barbieri, C., S. Morini, 1987. In vitro regeneration from somatic tissues and seed explant of apple. – *Adv. Hort. Sci.*, 1: 8-10.
- Dobranszki, J., Jaime A. Teixeira da Silva, 2011. Adventitious shoot regeneration from leaf thin cell layers in apple. – *Scientia Horticulturae*, Vol. 127, 460-463.
- Dufour, M., 1990. Improving yield of adventitious shoot in apple. – *Acta Hort.*, 280: 51–60.
- Fasolo, F., R. H. Zimmerman, I. Fordham, 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of in vitro grown shoots of apple cultivars. – *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 16: 75-87.
- James, D. J., A. J. Passey, E. Rugini, 1988. Factors affecting high frequency plant regeneration from apple leaf tissues cultured in vitro. – *Journal of Plant Physiology*, 132: 148-154.
- Luz, M., H. S. Aldwinckle, 1994. Several factors that affect the frequency of organogenesis. – *Plant Cell. Tissue of Organ Cult.*, 37 (3): 257-269.

Mahdi, R., S. Nazeri, M. Ghadimzaden, M. Ali Malboobi, 2007. Optimizing In Vitro Regeneration from Iranian Native Dwarf Rootstock of Apple (*Malus domestica* Borkh). – *International Journal of Agriculture & Biology*, 1560–8530/2007/09–5–775–778, <http://www.fspublishers.org>

Murashige, T., F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. – *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.

Predieri, S., F. F. Malavasi, 1989. High-frequency shoot regeneration from leaves of the apple rootstock M26. – *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 17: 133-142.

Trifonova, A., D. Slavova, K. Ivanova, 1993. Eucarpia Fruit Breeding Section Meeting, Switzerland, 191-194.

Welander, M., 1988. Plant regeneration from leaf and stem segments of shoots raised in vitro from mature apple trees. – *Journal of Plant Physiology*, 132: 738-744.

Използвани съкращения:

- А – ауксини
Ц – цитокинини
MS – Мурашиге и Скуг
ВАР – бензиламинопури
NAA – нафтилоцетна киселина
IBA – индолилмаслена киселина

Статията е приета на 25.09.2011 г.
Рецензент – доц. д-р Валентин Личев
E-mail: vlichev@abv.bg