

**ВЛИЯНИЕ НА ГЕНОТИПА ВЪРХУ РАЗВИТИЕТО *IN VITRO*
НА НЕОПЛОДЕНИ СЕМЕПЪПКИ И НЕЗРЕЛИ ЗАРОДИШИ
ОТ КРЪМНО ЦВЕКЛО**

Цветан Кикиндонов
Земеделски институт – Шумен

Резюме

*Кикиндонов, Ц., 2004. Влияние на генотипа върху развитието *in vitro* на неоплодени семепъпки и незрели зародиши от кръмно цвекло.*

Представени са резултатите от развитието *in vitro* на неоплодени семепъпки и незрели зародиши от диплоидни и тетраплоидни произходи кръмно цвекло.

Дялът на развитите регенеранти и калус от неоплодени семепъпки за дихаплоидите е по-голям, което може да бъде обяснено с проявата на хаплоидно ниво на рецесивни фактори за гиногенезис и калусогенезис.

Параметрите на индукция към хаплоидно развитие се различават от тези на диплоидния гаметофит и зародишите.

Ключови думи: Семепъпки, Зародиши, *In vitro*, Кръмно цвекло

Abstract

*Kikindonov, Ts. 2004. Influence of the genotype on *in vitro* development of unpollinated ovules and immature embryos of fodder beet.*

The results of *in vitro* development of unpollinated ovules and immature embryos of diploid and tetraploid fodder beet origins is discussed.

The share of developed regenerants and calli from unpollinated ovules for the diploids is greater, which could be explained with the manifestation on haploid level of recessive factors for gynogenesis and calligenesis.

The parameters of haploid development's induction differ from that of the diploid gametophyte and the embryos.

Key words: Ovules, Embryos, *In vitro*, Fodder beet

УВОД

Методът за гиногенезис *in vitro* е използван за пръв път при захарното цвекло от Hosemans и Bossoutrot (1983) и намира широко приложение в практиката за получаване на хаплоиди (Славова, 1988; D'Halluin & Keimer, 1985; Lux et al., 1990). По-късно като изходен материал се включват и произходи от кръмно и салатно цвекло (Baransky, 1996), както и диви видове (Bruun, 1991).

Диплоидизираните хаплоиди се използват като хомозиготни линии в

хетерозисната селекция (Захариев и Кикиндонов, 1997; Pedersen & Keimer, 1996). Получените дихаплоиди от развитието на неоплодени семепъпки от тетраплоиди обогатяват генофонда за селекция на диплоидно ниво.

Проучено е влиянието на генотипа върху развитието *in vitro* на неоплодени семепъпки и незрели зародиши при диплоидни и тетраплоидни произходи крѣмно цвекло.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Като изходен материал са използвани диплоидни и тетраплоидни опрашители от селекционната програма на Департамента по генетика и селекция, CLO-Гент, Белгия. Растенията се отглеждат в оранжерии при свободно опрашване в суперелитни групи. Залагат се минимум по 60 семепъпки и зародиши от всеки произход, които се изолират от 1-2 цвята преди и след антезиса. Култивират се в петрита, по 12 от семепъпките и зародишите заедно.

За индукция към развитие се използват готови среди на Gamborg (Gamborg & Eveling, 1968) с добавяне на растежни регулатори по Славова (1988). Култивирането през първите 14 дни е на тъмно, при 33°C, след което режимът е при 25-27° и 8 часа тъмно /16 часа светло. Разнообразните форми на развитие се отчитат до 30-тия ден и се разделят в два алтернативни типа на регенеранти и калусно развитие.

Извършен е статистически анализ на честотата на развитие P, средната грешка Sp, коефициентите на вариране CV% и корелацията r по Лидански (1988).

Лабораторната работа е проведена в DvP-CLO- Гент, Белгия, в рамките на съвместен проект през 1999-2000 г.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Развитието при еднакви условия на изолирани неоплодени семепъпки и незрели зародиши от 12 диплоидни произхода е посочено в таблица 1.

Развитите семепъпки варират от 2,9 до 47,7%, при средно 13,7%. Коефициентът CV% = 84,8 е показателен за влиянието на генотипа на изходните растения. Дялът на развитите регенеранти варира по-слабо и е средно 73,6% от общо развитите семепъпки и с CV% = 27,6%.

Честотата на развитие при зародишите по-малко зависи от генотипа и е от 2,5 до 20,0%, при средно 9,6% и CV% = 36,9%, като 87,7% са развитите регенеранти.

Тези резултати и ниската степен на корелация ($r=0,187$) отразяват съществуването на различни механизми за развитие на хаплоидния гаметофит и диплоидния зародиш *in vitro*.

Влиянието на генотипа се отразява и върху развитието на семепъпки от тетраплоидно цвекло, което средно за 12 произхода е 9,3% и CV% = 83,0% (Таблица 2). Прави впечатление високият дял на пряко развитие на регенеранти – 95,7% от развитите семепъпки и 94,8% от развитите зародиши.

Високите стойности на CV% за развити зародиши и на корелацията между развитието на семепъпките и зародишите ($r = 0,461$) при тетраплоидите потвърждават наличието на различни фактори за хаплоидно развитие на диплоидно и тетраплоидно ниво. По-високият дял на калусогенезис при диплоидите може да се обясни с проявлението на хаплоидно ниво на рецесивни алели.

Таблица 1. Развитие *in vitro* на неоплодени семепъпки и незрели зародиши от диплоидни произходи крѣмно цвекло

Произходи	Развити семепъпки			Развити зародиши		
	Честота P% ± Sp	Дял на регенеран тите	Честота P% ± Sp	Дял на регенеран тите	Честота P% ± Sp	Дял на регенеран тите
S ₂₂ – 1	27.3	3.63	82.9	13.3	4.38	100.0
- 2	4.0	1.79	75.0	2.5	2.01	100.0
- 3	14.4	4.53	71.4	6.3	3.14	66.7
- 4	30.0	5.92	91.7	20.0	5.16	50.0
- 5	6.7	3.23	100.0	10.0	3.87	66.7
Средно	16.5	4.71	84.2	10.4	2.11	76.68
S ₁₁₁	15.6	3.82	35.7	6.7	2.67	100.0
S ₃₂	10.0	2.74	100.0	9.2	2.64	100.0
S ₂₄	13.5	1.40	58.2	13.9	2.55	59.3
S ₂₁	47.7	2.04	82.3	2.7	1.87	100.0
S ₈	2.9	1.96	100.0	10.0	3.59	100.0
S ₆	5.8	2.81	50.0	4.3	2.43	66.7
S ₃	5.8	2.81	75.0	11.4	3.81	87.5
S ₁₂	13.8	3.85	90.9	12.5	3.69	72.7
S ₁₄	5.8	2.79	100.0	14.3	4.19	90.0
Средно	13.7	3.36	76.25	9.58	1.02	87.74
Vc%	84.82		27.56	36.90		16.47

Таблица 2. Развитие *in vitro* на неоплодени семепъпки и незрели зародиши от тетраплоидни произходи крѣмно цвекло

Произходи	Развити семепъпки			Развити зародиши		
	Честота P% ± Sp	Дял на регенеран тите	Честота P% ± Sp	Дял на регенеран тите	Честота P% ± Sp	Дял на регенеран тите
S ₆₁ – 1	14.5	3.21	75.0	0	-	-
2	11.0	2.87	100.0	8.3	3.55	80.0
3	4.8	2.55	95.3	3.6	2.22	100.0
4	11.7	2.97	78.6	12.2	3.43	81.8
5	11.9	3.89	91.7	8.6	3.34	100.0
Средно	10.8	1.44	88.12	6.54	1.90	90.45
S ₁₀₇	2.9	2.17	100.0	2.9	2.17	100.0
S ₆₉	11.4	4.13	100.0	8.6	3.34	100.0
S ₁₁₂	10.0	3.59	100.0	10.0	3.35	97.0
S ₃₁	25.0	3.95	95.0	23.8	3.88	94.7
S ₃₉	7.1	2.32	100.0	8.6	3.63	96.7
S ₆₃	0	-	-	0	-	-
S ₅₅	5.7	3.00	85.0	20.0	5.16	78.7
S ₄₃	1.7	1.54	100.0	5.0	2.45	100.0
S ₄₂	8.6	3.34	100.0	11.4	3.68	100.0
S ₄₁	24.3	3.89	82.3	14.3	4.47	90.0
S ₅₉	3.8	0.77	98.1	0	-	-
Средно	9.28	2.23	95.71	9.26	2.04	94.76
Vc%	83.01		6.66	76.10		6.82

ИЗВОДИ

Съществуват различни механизми за хаплоидно развитие на диплоидно и тетраплоидно ниво. По-високият дял на гиногенезис и калусогенезис при диплоидите е проявление на рецесивни алели на хаплоидно ниво.

ЛИТЕРАТУРА

- Захариев А. и Кикиндонов Г., 1997.** Възможности за използване на хаплоидията в селекцията на захарното цвекло. Раст.науки , XXXIV, 7-8:28-30.
- Лидански Т., 1988.** Статистически методи в биологията и селското стопанство. Земиздат. София.384-388
- Славова Й., 1988.** Автореферат на дисертация, София.
- Varansky R., 1996.** In vitro gynogenesis in red Beet. Acta Soc. Botan. Polonice.Vol 65, №1, 57-60.
- Bruun L., 1991.** Statistical analysis of some genetic, physiological and anatomical parameters of the development of ovules from intra and inter specific crosses in the genus Beta. Sex Plant Reprod . №4, 118-125.
- D'Halluin K., Keimer B., 1985.** Production of haploid sugar beet by ovule culture, In: Proces. EUCARPIA; Genetic manipulation in plant breeding, Berlin. 124-138.
- Gamborg. O.Z. Eveling D., 1968.** Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. Canad.J. Biochem, 24: 417-421.
- Hosemans D., Bossoutrot D., 1983.** Induction of haploid plants from in vitro culture of unpollinated beet ovules. Z. Pflanzenzuchtung. 91:74-77.
- Lux H., Hermmann L. and Wetzel C., 1990.** Production of haploid sugar beet by culturing unpollinated ovules. Plant Breeding 104:177-183.
- Pedersen H.C., Keimer B., 1996.** Haploidy in sugar beet. In "In vitro haploid production in higher plants" (eds Bajaj YPS). Vol 3. 367-372.