

СЕЛЕКЦИЯ НА ТЕХНИЧЕСКИ И ДРУГИ КУЛТУРИ
Кръмно цвекло, памук, тютюн, орехи



КАЛУСОГЕНЕЗИС И ОРГАНОГЕНЕЗИС НА КРЪМНО ЦВЕКЛО
(*BETA VULGARIS* L.VAR. CRASSA). I част.

Ели Зайова, Мария Касчиева, Йорданка Славова
Земеделски институт, Шумен

Резюме

Зайова, Е., М. Касчиева, Й. Славова, 2004. Калусогенезис и органогенезис на кръмно цвекло (Beta vulgaris L.var. Crassa). I част.

Получени са твърди и рехави калуси от изолирани неоплодени семепъпки на кръмно цвекло. Проучено е влиянието на растежните регулатори: БАП (6-бензиламинопурин), АНОК (α -нафтилоцетна киселина), ТДЗ (тидиазурон), БИ (бензимидазол) в хранителната среда върху органогенезиса на калусните тъкани. Най-благоприятен ефект върху регенерационните процеси е постигнат на хранителни среди, съдържащи цитокинина БАП в концентрация 0.2 mg/l – самостоятелно и в комбинация с ауксина АНОК в концентрация 0.05 mg/l.

Ключови думи: Кръмно цвекло, Растежни регулатори, Калусогенезис, Органогенезис

Abstract

Zayova, E., M. Kaschieva, Y. Slavova, 2004. Callusogenesis and organogenesis in fodder beet (Beta vulgaris L.var. Crassa), Part I.

Hard and friable calluses from isolated unpollinatedles were obtained in the present study. The effect of growth regulators BAP (6-benzylaminopurine), NAA ((-naphthylacetic acid), TDZ (thidiazuron), BI (benzimidazol) on the organogenesis of callus in culture medium were investigated. Best effect on the on the regeneration processes was achieved using culture media containing cytokinin BAP in concentration 0.2 mg/l – independently and in combination with auxin NAA in concentration 0.05 mg/l.

Key words: Fodder beet, Growth regulators, Callusogenesis, Organogenesis

УВОД

Многогодишният опит по успешното получаване на калуси от тъканите на различни експланти на захарно цвекло и последваща растителна регенерация

от тях (Slavova, 1981, 1988) открива възможността за работа в тези направления и с крѣмното цвекло.

Морфогенезисът в условия *in vitro* е комплексен процес на развитие на растителните клетки и тъкани, които претърпяват редица физиологични и морфологични промени, довеждащи до тяхната дедиференциация и диференциация (Saunders et al., 1986; Mezei et al., 1992). Въпреки че се отчита ролята на генотипа, произхода и възрастта на експланта, нивото на фитохормони в хранителната среда, условията на култивиране и други фактори върху калусната пролиферация и растителна регенерация, все още няма сигурен метод за регулирането на тези процеси (Krens et al., 1989; Galatowitsch et al., 1990; Shimanoto et al., 1993; Gurel et al., 2001).

Цел на изследването беше да се установи влиянието на различни растежни регулатори в хранителната среда върху калусогенезиса и органогенезиса при крѣмното цвекло.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са проведени в лабораторията по тъканни култури към Земеделски институт - гр. Шумен през периода 2002-2003 година. Използвани са калуси, получени от изолирани неоплодени семеѣпки едносеменен диплоиден генотип S-201. Пролиферацията на калусите е осъществена на хранителни среди, препорѣчвани за захарното цвекло (Slavova, 1988). Културите са субкултивирани на всеки 22 дни в продължение на 10 пасажа.

За предизвикване на растителна регенерация от получените калуси са проучени различни комбинации от растежните регулатори: БАП (6-бениламинопурин), АНОК (β -нафтилоцетна киселина), ТДЗ (тидиазурон), БИ (бензимидазол) с ауксиново действие (Slavova et al., 2003).

Условия на култивиране: температура – $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ при фотопериод 16h/8h.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Генетическата структура на изходното растение и условията на култивиране – състав на хранителната среда, температурен режим, относителна влажност, осветление и други фактори - играят важна роля за начина, по който протичат процесите на *in vitro*-гиногенезиса при крѣмното цвекло. Не малка част от изолираните неоплодени семеѣпки формират калуси, което изисква разработването на оптимални хранителни среди за органогенезис. Прорастване е установено за 46 (18.8 %) от общо заложените 245 броя неоплодени семеѣпки на донорното растение. Половината от тях формираха калуси (9.4 ± 1.8 %). Калусната индукция протече от 24^{-я} до 58^{-я} ден след култивирането на семеѣпките. Растежът и развитието на калусите са проследени до 10^{-ти} пасаж, т.е. в продължение на 7 месеца. Описани са два типа калуси - с твърда и с рехава консистенция. Рехавият калус е разделен на два подтипа: такъв с множество червени зърнести структури по повърхността (ембриогенен – фиг.1.) и такъв, по който липсват подобни структури (неембриогенен). За предизвикване на органогенезис бяха залагани всички типове калуси.

На таблица 1 може да се проследи влиянието на 5 хранителни среди върху органогенетичния потенциал на калусите от изходния генотип S-201. Най-голям

брой растения-регенеранти (18) бяха получени на първата хранителна среда, съдържаща 0.2 mg/l БАП (фиг.2.). От тях два са формирани в 3^{ти} пасаж, пет в 5^{ти}, осем в 6^{ти} и три в 9^{ти} пасаж на култивиране. На трета хранителна среда, допълнена с 1 mg/l ТДЗ, 0.5 mg/l АНОК и 5% захароза са образувани общо 15 растения-регенеранти в по-късни пасажи (от 6^{ти} до 9^{ти}), като най-голям брой (8) - в 7^{ми} пасаж. При комбинацията от 0.2 mg/l БАП с 0.05 mg/l АНОК във втора хранителна среда са получени 8 броя регенеранти, образувани в началните 3^{ти}, 4^{ти} и 5^{ти} пасажи. На четвърта хранителна среда, съдържаща 1 mg/l ТДЗ; 0.5 mg/l АНОК, 8% захароза, и пета хранителна среда с 2 mg/l ТДЗ и 0.2 mg/l БИ калусите имаха най-нисък органогенетичен капацитет. Те не са ефективни за предизвикване на растителна регенерация.



Фиг.1. Рехав калус, получен от изолирана неоплодена семепъпка на кръмно цвекло

Таблица 1. Влияние на растежните регулатори върху растителната регенерация от пасиран калус при кръмно цвекло (изходен генотип S-201)

Съдържание на растежните регулатори в хранителни среди за органогенезис, mg/l	Растения-регенеранти, брой							
	Пасажи							Общ брой
	3	4	5	6	7	8	9	
0.2 БАП	2	-	5	8	-	-	3	18
0.2 БАП + 0.05 АНОК	4	3	1	-	-	-	-	8
ТДЗ + 0.5 АНОК + 5% захароза	-	-	-	1	8	4	2	15
ТДЗ + 0.5 АНОК + 8% захароза	-	-	-	2	-	-	-	2
ТДЗ + 0.2 БИ	5	-	-	-	-	-	-	5
Общ брой	11	3	6	11	8	4	5	48

Най-интензивна регенерация на растения от калусите на изолирани неоплодени семепъпки на изходното растение е наблюдавана в 3^{ти} пасаж (11 броя), 6^{ти} (11 броя) и 7^{ми} (8 броя). Получени са общо 48 растения-регенеранти

от пасиран калус, някои от които вкоренени и отгледани при полски условия. След девети пасаж на култивиране калусите губят органогенетичната си способност.



Фиг.2. Органогенезис от пасиран рехав калус, формиран от култивирани неоплодени семеп̀пки на кр̀мно цвекло

ИЗВОДИ

- Наред с растителната регенерация от изолирани неоплодени семеп̀пки на кр̀мно цвекло е постигнат и масов калусогенезис.
- Установени са ефективни хранителни среди за органогенезис от пасирани калуси на неоплодени семеп̀пки от проучваните генотипове кр̀мно цвекло. Най-масова регенерация е постигната на хранителна среда, съдържаща БАП в концентрация 0.2 mg/l самостоятелно и в комбинация с ниски количества ауксин – 0.05 mg/l АНОК.

ЛИТЕРАТУРА

- Galatowitsch, M. W., G. A. Smith, 1990** Regeneration from unfertilized ovule callus of sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Can.J.Plant Sci.*, 70:83-89.
- Gurel, S., E. Gurel, Z. Kaya, 2001b.** Callus development and indirect shoot regeneration from seeding explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured in vitro, *Turkish J.Bot*, 25: 25-33.
- Krens, F. A., D. Jamar, 1989.** The role of explant source and culture conditions on callus induction and shoot regeneration in sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *J.Plant Physiol.*, 134 (6): 651-655.
- Mezei, S., L. Kovacev, 1992.** Regeneration of plants from callus tissue of sugar beet (*Beta*

vulgaris L.), Genetika, 24, N3: 173-179.

Saunders, J. W., W. P. Doley, 1986. One step shoot regeneration from callus of whole plant explants of sugar beet lines and a somaclonal variant for in vitro behaviour, J.Plant Physiol., 124: 473-479.

Shimanoto, Y., H. Hayakawa, J. Abe, H. Nakashima, T. Mikami, 1993. Callus induction and plant regeneration of Beta germplasm, J.Sugar Beet Res., 30: 317-319.

Slavova, Y. V., 1981. Organogenesis of sugar beet callus cultures, Plant Physiol. BAS, Sofia, 7: 71-77 (Bg).

Slavova, Y. V., 1988. Developing of the vegetative propagation methods and obtaining of the haploid sugar beet plants in vitro, Dissertation, Agric.Acad., Sofia (Bg).

Slavova, Y., D. Nenkova and I. Ivanova, 2003. Study on the influence of the substance of benzimidazol upon Stevia rebaudiana Bertoni, cultivated in vitro, Bulg.J.of Agric.Sci., 9: 225-228 (Bg).