

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

Постигнат е интензивен калусогенезис от изолирани неоплодени семепъпки на кръмно цвекло. Семепъпките на регенерант 5-35 P₁₃, получени в трети пасаж, формираха 6.0 ± 1.6 % калус, а тези на 5-35 P₁₈, получени в шести – 17.7 ± 2.2 %. От проучваните четири хранителни среди за органогенезис най-подходяща се оказа тази, съдържаща 0.2mg/l БАП, следвана от съчетанието му с 0.05mg/l АНОК. За калусите на генотип 5-35 P₁₈ е наблюдавана висока способност към регенерация. Получени са 62 растения-регенеранти, някои от които вкоренени и отгледани при външни условия.

Ключови думи: Кръмно цвекло, Калус, Растения-регенеранти, Растежни регулятори, *In vitro*-метод

Abstract

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

The present study obtained intensive callusogenesis from unpollinated fodder beet ovules. The ovules of regenerant 5-35 P₁₃, produced from the third passage, formed 6.0 ± 1.6 % calli, while these of 5-35 P₁₈, from the sixth passage, formed 17.7 ± 2.2 %. Out of the four studied media for organogenesis, the best was that including 0.2 mg/l BAP, followed by its combination with 0.05 mg/l NAA. High regeneration ability was observed for the callus of genotype 5-35 P₁₈ - 62 regenerant plants were produced, some of them rooted and grown outdoors.

Key words: Fodder beet, Callus, Plant regenerants, Growth regulators, *In vitro* method

УВОД

Индукцията на калуси от изолирани неоплодени семепъпки на захарно цвекло с последваща растителна регенерация е една от системите за производство на растения в култура *in vitro* (Славова, 1988; Galatowisch, 1990). Балансът на компонентите в хранителната среда и ролята на генотипа са от голямо значение

за калусовата продукция и регенеративната им способност. Някои произходи захарно цвекло са по-отзовчиви от други и реагират по различен начин на добавката на растежни регулатори в хранителната среда. Влиянието на тези фактори е оценено от De Greef et al. (1979); Slavova (1988); Mezei et al. (1992) и Gurel (1997).

Цел на изследването беше да се проучи регенеративната способност на калуси от изолирани неоплодени семепъпки на растения-регенеранти от кръмно цвекло върху различни хранителни среди за органогенезис.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са проведени в лабораторията по тъканни култури към Земеделски институт, гр. Шумен, през периода 2003-2004 година. В експерименталната работа са използвани калуси от изолирани неоплодени семепъпки на 5-35P₁₃ и 5-35P₁₈ (растения-регенеранти от калус на изходния едносеменен диплоиден произход кръмно цвекло S-201). Първото е получено в трети пасаж на култивиране, а второто - в шести. За индукцията на калусите са използвани хранителни среди, разработени за захарното цвекло (Славова, 1988). Калусните култури са наблюдавани ежедневно в продължение на 9 пасажа (всеки от по 24 дни).

Проучени са четири хранителни среди за органогенезис, съдържащи различни количества от растежните регулатори: БАП (6-бензиламино-пурин), АНОК (β -нафтилоцетна киселина), ТДЗ (тидиазурон), БИ (бензимидазол) (Slavova et al., 2003).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

На таблица 1 са представени данните от развитието на изолиранные неоплодени семепъпки от двете растения-регенеранти. Най-засилено калусообразуване е наблюдавано за семепъпките от регенерант 5-35P₁₈. От изолиранные общо 300 броя семепъпки прорастнаха 57 (19.0 %), от които 17.7 ± 2.2 % развиха само калус, а за регенерант 5-35P₁₃ от общо 215 броя семепъпки развитие получиха 14 (6.5 %), от които 6.0 ± 1.6 % - калус.

Таблица 1. Резултати от развитието на изолирани неоплодени семепъпки при кръмно цвекло

Произход	Заложени неоплодени семепъпки, брой	Прорастнали семепъпки			
		брой	общ %	като калус, %	$\pm m$
1.S-201 (регенерант 5-35 P ₁₃)	215	14	6.5	6.0	1.6
-201 (регенерант 5-35 P ₁₈)	300	57	19.0	17.7	2.2

Калусните култури, получени от двета проучвани произхода, се различаваха по цвят, консистенция и темп на нарастване. Развитието си продължиха калусите, формирани от 8 отделни неоплодени семепъпки на генотип 5-35 P₁₃. От тях 4 бяха зелени, компактни и 4 - рехави с различен цвят (белезников, розов, червен), от които 3 (37.5 %) бяха регенеративни от I-ви подтип (ембриогенни).

Калусогенезис и органогенезис на кръмно цвекло (*Beta vulgaris* L.var. Crassa). II част

Развитието си продължиха и калусите от 36 отделни неоплодени семепъпки на генотип 5-35P₁₈. От тях 4 бяха зелени, компактни. Диференциацията при тях беше рядкост, изразяваща се в появата само на корени. В някои от културалните съдове, наред с плътния калус, беше наблюдавана и активна појава на рехави участъци по повърхността му. В повечето случаи калусът не променя твърдата си консистенция до края на култивирането. От 32 рехави калуси с розов, червен и зелен цвят 18 (56%) бяха регенеративни, като 16 - от I-ви подтип с множество червени зърнести структури и два - от II-ри подтип.

Таблица 2. Влияние на растежните регулятори в хранителната среда върху органогенезиса от пасиран калус на кръмно цвекло

Произход (S-201)	№ на семепъпка	Съдържание на растежните регулятори в хр.среди за органогенезис, mg/l				
		1 ^{va} 0.2БАП	2 ^{pa} 0.2 БАП + 0.05АНOK	3 ^{ra} 0.4БАП + 0.1БИ	4 ^{ta} 2 ТДЗ + 0.2БИ	
		Растения-регенеранти, брой				Общо
5-35 P ₁₃ – 3	8	4		1	1	14
5-35 P ₁₃ – 10	2	-		-	-	2
5-35 P ₁₃ – 17	2	1		-	-	3
Общ брой	12	5		1	1	19
5-35 P ₁₈ – 12	1	-		-	-	1
5-35 P ₁₈ – 16	2	-		-	-	2
5-35 P ₁₈ – 18	11	4		-	1	16
5-35 P ₁₈ – 20	-	-		-	2	2
5-35 P ₁₈ – 26	1	1		-	1	3
5-35 P ₁₈ – 28	-	-		1	-	1
5-35 P ₁₈ – 29	1	1		-	-	2
5-35 P ₁₈ – 30	2	1		-	-	3
5-35 P ₁₈ – 36	4	-		-	-	4
5-35 P ₁₈ – 37	-	-		-	1	1
5-35 P ₁₈ – 38	-	3		1	2	6
5-35 P ₁₈ – 40	6	-		-	-	6
5-35 P ₁₈ – 44	2	1		-	3	6
5-35 P ₁₈ – 46	5	-		-	-	5
5-35 P ₁₈ – 47	1	-		-	-	1
5-35 P ₁₈ – 49	1	-		-	-	1
5-35 P ₁₈ – 53	1	-		-	-	1
5-35 P ₁₈ – 56	1	-		-	-	1
Общ брой	39	11		2	10	62

На таблица 2 могат да се проследят органогенетичните възможности на калусните тъкани от изолирани неоплодени семепъпки на двата генотипа върху проучваните хранителни среди. Самостоятелното участие на 0.2 mg/l БАП в първа хранителна среда осигурява най-голям брой регенеранти - 12 растения за генотип 5-35 P₁₃ и 39 за генотип 5-35 P₁₈. Следва втора хранителна среда, съдържаща комбинацията от 0.2 mg/l БАП и 0.05 mg/l АНОК - 5 растения за произход 5-35 P₁₃ и 11 за 5-35 P₁₈. Добавката на 0.4 mg/l БАП в съчетание с 0.1 mg/l БИ в трета среда и на 2 mg/l ТДЗ с 0.2 mg/l БИ в четвърта се оказаха по-

неподходящи в сравнение с първа и втора хранителни среди.

Засилена растителна регенерация е наблюдавана от 2-ри до 6-ти пасаж на култивиране. Участието на 0.2 mg/l БАП самостоятелно и в комбинация с 0.05 mg/l АНОК предизвиква появата на голям брой червени зърнести структури на повърхността на калусите. За развитието на по-голяма част от тези образувания не ни се отдава да подберем оптимални условия на култивиране.

Изолираните неоплодени семепъпки от генотип 5-35 P₁₈ имаха по-голяма склонност към формирането на рехави и в по-голямо количество калуси от тези на генотип 5-35 P₁₃. Сравнявайки органогенетичния капацитет на калусите от двата произхода се вижда, че той е много по-висок за 5-35 P₁₈ (общо 62 броя регенеранти), отколкото този на 5-35 P₁₃ (общо 19 броя растения). Само от калусите на семепъпка P₁₈-18 върху четирите проучвани среди са получени общо 16 растения-регенеранти, което най-вече е свързано с присъствието на БАП в средата, необходим цитокинин за индукцията на органогенезис.

Данните от тези изследвания потвърдиха резултатите на Славова (1988) за възможността да се откроят отделни генотипове с висока регенерационна способност.

ИЗВОДИ

Установена е определящата роля на генотипа по отношение на индуцирания органогенезис от пасирани калуси на проучваните произходи. За периода на проучване от калусите на произход 5-35 P₁₈ са получени 62 растения-регенеранти, а от тези на 5-35 P₁₃ – само 19.

Докладваните резултати за индиректен органогенезис от калуси на кръмно цвекло, формирани от изолирани неоплодени семепъпки, са получени на хранителни среди, съдържащи 0.2 mg/l БАП самостоятелно или в комбинация с 0.05 mg/l АНОК.

ЛИТЕРАТУРА

- Славова, Й., 1988.** Дисертация, С.
- De Greef and M. Jacobs, 1979.** *In vitro* culture of the sugar beet: description of a cell line with high regeneration capacity, Plant Sci.Letters, 17; 1: 55-59.
- 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, E., 1997.** Callus and root development from leaf explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.), Turkish J.Bot, 21: 131-136.
- Mezei, S., S. Jelaska, L. Kovacev, 1992.** Callus induction and callus tissue proliferation in sugar beet culture, Genetika, 23, 2: 97.
- Slavova, Y., D. Nenkova and I. Ivanova, 2003.** Study on the influence of the substance of bentymidazol upon Stevia rebaudiana Bertoni, cultivated in vitro, Bulg.J.of Agric.Sci., 9: 225-228 (Bg).