



СОМАТИЧНИЯТ ОРГАНОГЕНЕЗ ПРИ ПРОИЗВОДСТВОТО НА НЯКОИ ОВОЩНИ ВИДОВЕ И ПОДЛОЖКИ (Обзор)

ГАЛЯ ДОБРЕВСКА

Abstract

The high quality in production of apple trees requests purity of the matter. That lead to the introduction of contemporary and effective production method of virus free trees – in vitro reproducing. Different methods of in vitro reproducing are investigated. The goal is to find out an effective system of tree production. One of them is the use on somatic tissue, more precisely – the leaf part. The specialized literature emphasizes on the contents of the used medium in leaf part regeneration of some fruity kinds and rootstocks.

Проучвайки основните фактори, които биха могли да допринесат за по-пълното разбиране и управление на процеса на соматичен органогенез при производството на някои овощни видове и подложки в желаната посока, експериментаторите първоначално насочват своето внимание върху осигуряване на всички необходими елементи в хранителните среди за регенерация. По-късно е извършено прецизиране на състава им и е установено нужното съотношение между отделните компоненти в тях.

Анализирайки листната регенерация при различни овощни видове и подложки, някои автори разглеждат разнообразния солеви състав на използваните хранителни среди [4] и установяват, че висок процент регенерация от листни експланти на ябълковата подложка М 26 се получава при хранителна среда на Gamborg (B5). Същата подложка в MS-среда (среда на Мурашиге и Скуг), обогатена с витамини на Linsmayer и Scoog, дава 100 % регенерация [34]. При работа с ягода и среди MS и LS (среда на Линсмайер и Скуг), обогатени с хидролизат на казеина, се възпроизвеждат успешно листни регенеранти [27]. Според други автори [5] при използване на MS-среда с понижен три пъти състав на макросолите се получава по-висока регенерация при ябълковия сорт Айдаред. А при използване на среда N6 с понижена солева концентрация на N, Ca, Mg и повишена на K и P и среда LS [42] се установява превъзходство на LS по отношение на листната регенерация на ябълка.

Друг формообразователен фактор е неорганичният N и необходимостта от NH_4^+ -йони за добра регенерация [34]. При ябълката това е налице при съчетанието на ниско амониено съдържание, високо калциево и ниска концентрация на растежните регулатори в средата [35]. При листна

регенерация на круша се разглежда балансът между NH_4^+ и NO_3^- йони [26] и се намира оптимално съотношение между тях - 1:3. При работа с ябълка и хранителна среда LS се установява, че варирането на N в съотношението $\text{NO}_3:\text{NH}_4$ не води до увеличаване на регенерацията [42]. По-ниското солево ниво в средата N6 е по-благоприятно за листна регенерация при ябълка, подобно на средите LS и MS [43], установяват автори при проучване съдържанието на NO_3^- , NH_4^+ -и K^+ -йони.

На вниманието на изследователите е и източникът на въглехидрати. Проучва се сорбитол [32] и се установява, че е по-ефективен от захароза, глюкоза и фруктоза при ябълковата подложка York 9. Постига се добра листна регенерация на ябълка при използване на захароза [5], както и образуване на калус при залагане на листни сегменти от праскова, с добавяне в хранителната среда на фруктоза и захароза, а не на глюкоза [10]. Според други [22], при наличие в MS-средата на малтоза или фруктоза, се получава добра регенерация, докато ако фруктоза бъде заменена със сорбитол, са налице удължени регенеранти. Работейки с подложките M 9, клон 8172 и Ottawa 3 при MS-среда, съдържаща захароза, други изследователи [3, 23, 28, 44] получават оптимална листна регенерация.

Авторите проучват и влиянието на растежните регулатори върху листната регенерация. Акцентира се на безусловното значение на цитокинините, поради свойството им да нарушават апикалната доминантност и да участват в процеса на пролиферация [5, 11, 18].

Някои експериментатори сравняват въздействието на растежните регулатори бензиламинопурин (BAP) и тидиазурон (TDZ) върху изолирани растителни части на ябълкови сортове [15]. Други [30], вследствие на отсъствие на BA (бензиладенин) в хранителната среда и намалено съдържание на ендогенни цитокинини, отчитат удължено време на пролиферация. Получена е добра регенерация при използване на BA през последните пролифериращи субкултури [34, 40]. При работа с подложката York 9 и MS-среда, съдържаща BA се констатира висок размер на мултипликация [32]. При среда N6 и две концентрации на BA, се постига висок процент на регенерация при няколко ябълкови сорта [48]. Цитокининът 2-ip (изопентил-аденин) не позволява удължаване стъблата на младите регенеранти от листа на ябълка [40], но когато 2-ip се комбинира с BAP, удължаването става възможно. Работи се и с тидиазурон (TDZ) при ябълка [13, 20], като се изпитва $\frac{1}{2}$ от химичния състав на течна MS-среда. По подобен начин се работи при круша [1, 26] и малина [16]. При среда N6, съдържаща TDZ [38], се установява най-добра регенерация на ябълка. Други автори [21, 39] сравняват ефекта на TDZ с този на BA върху листната регенерация на ябълка и череша. Работи се и в комбинация с BAP и TDZ [6, 8, 31] при ябълкови листни експланتي.

Някои автори [33, 47] към комбинацията BAP и TDZ прибавят IBA (3-индолмаслена киселина) при работа със слива в MS-среда. Експериментира се и с комбинацията BAP, TDZ и зеатин [20], а също – BA, NAA (α -нафтилоцетна киселина) и зеатин [3] при работа с ябълка. Други към BA прибавят кинетин [36], при което значително се повишава процентът на

регенерация. MS-средата със Zeatin riboside, спомага за по-висока регенерационна честота при листни експланти от къпина, в сравнение с такива, заложиени върху MS-среда с 2-ип [29].

Експериментира се и с праскова, като към комбинацията TDZ и BA се прибавя зеатин и кинетин и се получава калус, но не и регенеранти [10].

Много автори изпитват влиянието на ауксините в комбинация с цитокинини [4] при подложката M 26, използвайки 2,4-Д и IBA. В комбинация с цитокинин се прилага ауксинът NAA [5, 15, 19, 25], а също се изпитва ефектът на синтетичния ауксин 1,2 – benisoxazole – 3 - acetic acid (BOA) и NAA в комбинация с BA при подложката York 9 и ябълковия сорт Gala [7]. Изпитвайки ябълковите сортове New Jonagold и Gala и подложката Malus robusta, върху MS-среда с BA и NAA, изследователи [24, 37] получават 100 % листна регенерация. Комбинацията NAA с TDZ при ябълка и при круша разглеждат други [14, 36, 45], както и при дюля [12]. Добра комбинация към TDZ се оказва и IBA в различна концентрация при листна регенерация на ябълка и ягода [17, 25, 27, 41] и при *Rubus idaeus* [9].

С голям успех се прилагат ауксините Dicamba и 2,4-Д, IAA (3-индолилacetна киселина), IBA в комбинация с цитокинин [10,15, 43] при ябълкови подложки и ябълка и при черешовата подложка GM 9 [46].

За разлика от изброените дотук автори, други [2] посочват, че MS-средата с IAA, NAA и кинетин водят до подтискане на листната регенерация.

От изложеното дотук стигаме до извода, че съществено значение за успеха на листната регенерация при производството на овощни видове и подложки, има доброто познаване на състава на хранителните среди. Те могат да бъдат изградени от различни компоненти и оптималното им съчетание за всеки генотип може да доведе до очаквания положителен ефект.

Литература

1. Abdu-Qaoud H., Skirvin R. M., Chevreau E., 1990. In vitro separation of chimeral pears into their component genotypes. *Euphytica* 48,189-196.
2. Ana Emilia R. Matos Brifo, Maria Socorro da Costa, Walter Handro, 1995. Morphogenesis and plant regeneration in leaf explants and callus tissues of *Capraria biflora* cultured in vitro. *R. Bras. Fisiol. Veg.*, 7, 171-174.
3. An Hyun Yoo, Yae BylongWoo, 2000. Influence of plant growth regulators and sucrose on adventitious shoot formation from cotyledonary explants of apple. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*. 41:2, 173-176.
4. Barbieri, Morini, 1987. In vitro regeneration from somatic tissues and seed exolants of apple. *Advances in Horticultural Science* 1, 8-10.
5. Bartish I. V., V.I.Korhovoi, 1997. The composition of nutrient medium and the efficiency of shoot induction in vitro leaf explants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 3, 381-385.
6. Caboni E., M. Tonelli, G. Falasca, C. Damiano, 1996. Factors affecting adventitious shoot regeneration in vitro in the apple rootstock York 9. *Advances in Horticultural Sciens*, 3, 146-150.

7. Caboni E., M. G. Tonelli, 1999. Effect of 1,2-benzisoxazole-3 acetic on adventitious shoot regeneration and in vitro rooting in apple. *Plant Cell Reports*, 12, 985-98.
8. Christel T. H., Robert Theiler - Hedtrich, 1990. Influence of TDZ and BA on adventitious shoot regeneration from apple leaves. *Acta Horticultural*, 280, 195-199.
9. Cousineau J. C. & D. J. Donnelly, 1991. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of tissue cultured and greenhousegrown raspberry. *Plant Cell. Org. Cult*, 27, 249-255.
10. Declerk, Korban, 1996. Influence of growth regulators and carbon sources on callus induction, growth and morphogenesis from leaf tissue of peach (*Prunus persica*, L. Batsch). *Journal of Horticultural science*, 71, 49-55.
11. Ding-AiPing, Wang-Hong-HongFan, 1996. Factors affecting the differentiation of adventitious buds on apple cultured in vitro. *China Fruits*, N 4, 20-21.
12. Dolset-Sanjuan R., M. C. Mok, 1991. Plantlet regeneration from cultured leaves of *Cydonia oblonga*. *Plant Cell Rep.*, 10, 240-242.
13. Durham R. E., S. S. Korban, H. Schmidt, M. Kellerhals., 30 August to September, 1994. Effects of plant size, pretreatment, and light intensity on shoot regeneration from in vitro-grown apple leaves. *Proceeding of the Eucarpia Fruit Breeding Section Meeting, Wadenswil Einsiedeln, Switzerland*, 335-359.
14. Elobeidy A., S. S. Korban, 1988. The effect of thidiazuron on shoot regeneration from apple leaf discs. *HortScience* 23, 755 Abstr.
15. Fasolo F.; R. H. Zimmerman; I. Fordham, 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of in vitro grown shoots of apple cultivars. *Plant Cell Organ Culture*. 16, 75-87.
16. Fiola J. A., M. A. Hassan, H. J. Swarts, R. H. Bors, R. McNiooes, 1990. Effect of thidiazuron, light fluence rates and kanamycin on in vitro shoot organogenesis from excised *Rubus cotylidons* and leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Cultute*, 20, 223-228.
17. Gercheva P., L. Nacheva, V. Dineva, 2007. The rate of shoot regeration from apple (*Malus Domestica*) leaves depending on the in vitro culture conditious of the soure plants. *First Balkan symposium on fruit growing 15-17 November, Plovdiv, Bulgaria*.
18. Gercheva P., P. H. Zimmerman, L.D. Owens, C. Berry, F.A. Hammerschlag, / Dec 1994 /. Particle bombardment of apple leaf explants influences adventitious shoot formation. *Hortscience a publication of the American Society for Horticultural Science / USA / v. 29*, 1536-15.
19. Hammerschlag F.A., R.H. Zimmerman, U.L. Yadava, S. Hunsucker S., P. Gercheva, 1997. Effect of antibiotics and exposure to an acidified medium on the elimination of *Agrobacterium tumefaciens* from apple leaf explants and on shoot regeneration. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 6, 758-763.
20. Hanke, Rohpe, 1991. Untersuchungen zur regeneration on sornatischem bei Apfel. *Gardenbauwissenschaft*, № 5, 214-220.

21. Haoru Tang, Zhenglong Ren, Gots Reustle and Gabi Krczal, 2002. Plant regeneration from leaves of sweet and sour cherry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 93, 235-244.
22. H. Ben Jouira, C. Bigot, V. Dorion, 2000. Plant regeneration from leaves of *Ulmus X "Commelin"*. *Acta. Hort. (ISHS)* 520, 281-290.
23. James D. J., A. J. Passey, E. Rugini, 1988. Factors affecting high frequency plant regeneration from apple tissue cultured in vitro. *J. Plant Physiol*, 132, 148-154.
24. Jamil Ahmed, I. A. Khan, 2000. Adventitious shoot development from leaves and stem segments of apple cultivars in vitro. *Sarhat Journal of Agriculture*, 1, 39-43, 11.
25. Korban S.S., O'Connor, Elobeidy, 1992. Effect of thidiazuron naphthaleneacetic acid, dark incubation and genotype on shoot organogenesis from *Malus* leaves. *Journal of Horticultural Science*, 3, 341-349.
26. Leblay C., E. Chevreau, L.M. Raboiu, 1991. Adventitious shoot regeneration from in vitro leaves of several pear cultivars, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 25, 99-105.
27. Lin, Sandfort, 1988. Plant regeneration by organogenesis from strawberry leaf and runner tissue. *HortScience*, 6, 1057-1059.
28. Lin J.R., K.C. Sink, F.G. Dennis, 1983. Jr. Adventive Embryogenesis from leaf Explants of Apple Seedlings. *Hort Science* 6, 871-873.
29. Lisa J. Rowland, E. L. Ogden, 1993. Efficient shoot regeneration from leaf sections highbush blueberry suitable for use in agrobacterium – mediated transformations. *Acta. Hort. (TSHS)* 336, 193-198.
30. Niederwieser J. B. and J. VanStaden, 1990. The relationship between genotype, tissue age endogenous cytokinin levels on adventitious bud formation on leaves of *Lachenalia*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 22, 223-8.
31. Nieuwkerk, Zimmerman, Fordham, 1986. Thidiazuron stimulation of apple proliferation in vitro. *HortScience*, vol. 3, 516-518.
32. Pawlicki N., M. Welander, 1994. Adventitious shoot regeneration from leaf segments of in vitro cultured shoots of the apple rootstock "Jork 9". *Journal of Horticultural Science*, 4, 687-694.
33. Petri C., Scorza R., 2010. Factors affecting adventitious regeneration from in vitro leaf explants of "Improved French" plum, the most important dried plum cultivar in the USA. *Annals of Applied Biology*, 156, 79-89.
34. Predieri S., Fasolo Fabbri, F. Malavasi, A. J. Passey, M. S. Ridout, D. J. James, 1989. Regeneration from in vitro leaves of Conference and other pear cultivars (*Pyrus communis*). *J. Hortic. Sci.* 64:553-559.
35. Rugini E., M. Muganu, 1998. A novel strategy for the induction and maintenance of shoot regeneration from callus derived from established shoots of apple [*Malus domestica* Borkh.] cv. Golden Delicious, *Plant Cell Report*, 17, 581-585.
36. Sriskandarajah S., R.M. Skirvin, H. Avi-Qaond, S.S. Korban., 1990. Factors involved in shoot elongation and growth of adventitious and axillary shoot of three apple scion cultivars in vitro. *Journal of Horticultural Science*, 2, 113-121.

37. Sun AiJun, Zhang Zhen, Yao Quan Hong, Sheng Bing Sheng, Huang-Xiaomin, Fan-HuiQin, 2000. Plant regeneration from explants of apple and *Malus robusta*. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2, 23-30.
38. Swartz H.J., R. Bors, F. Mohamed, K. Naess, 1990. The effect of in vitro pretreatments on subsequent shoot organogenesis from excised *Rubus* and *Malus* leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2, 179-184.
39. Theiler-Aedtrich, C., R. Theiler-Hedtrich, 1990. Influence of TDZ and BA on adventitious shoot regeneration from apple leaves. *Acta Horticulturae*, 280, 196-199.
40. Van Nieuwkerk, R. H. Zimmerman and I. Fordham, 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation in vitro, *HortScience*, 21, 516-518.
41. Virscek Marn M., B. Bohanec, B. Javornik, 1999. Adventitious shoot regeneration from apple leaves—optimisation of the protocol and assessment of genetic variation among regenerations, *Phyton Horn*, 1, 61-70.
42. Welander M., 1986. Plant regeneration in leaf segments of shoots raised in vitro from mature apple trees. In: *Moet-Hennessy Conference Fruit Tree Biotechnology* (p. 69). Moet-Hennessy, Paris.
43. Welander M., 1988. Plant regeneration from leaf and stem segments of shoots raised in vitro mature apple trees. *Plant Physiol.* 132, 738-744.
44. Welander M., G. Maheswaran., 1992. Shoot regeneration from leaf explants of dwarfing apple rootstocks. *Journal of Plant Physiology*, 2, 223-228.
45. Zimmerman R. H., G. L. Steffens, 1989. Management of self-rooted tissue-cultured apple trees: I. Orchard establishment and early growth. *Acta Horticulturae*, 239, 117-120.
46. Yae B.W., D.K. Lee, H.S. Hwang, J.Y. Moon, J.H. Kim, 1989. In vitro somatic embryogenesis from leaf callus of sweet cherry dwarf rootstock GM 9 / *Prunus incisa* x *Prunus serrula* /. *Research Reports of the Rural Development Administration*, Horticultural, 4, 42-48.
47. Yancheva S., 2002. Influence of the basal culture and type of the growth regulators on regeneration from leaf explants of plum. *Journal of Mountain Agriculture on the Balcans*, vol. 5, 89-97.
48. Yepes L.M., H.S. Aldwinckle, 1994. Factors that affect leaf regeneration efficiency in apple, and effect of antibiotics in morphogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 3, 257-269.