



ВЛИЯНИЕ НА ТЪКАННОТО КУЛТИВИРАНЕ ВЪРХУ ПОВЕДЕНИЕТО НА МАЛИНОВИ РАСТЕНИЯ ОТ СОРТ ШОПСКА АЛЕНА

МАРИЯ ГЕОРГИЕВА¹, ВИОЛЕТА КОНДАКОВА², ДИЯН ГЕОРГИЕВ¹

¹ Институт по планинско животновъдство и земеделие, Троян

E-mail: mariageo@gmail.com

² АгроБиоИнститут, София

E-mail: violeta.kondakova@gmail.com

EFFECT OF TISSUE CULTIVATION ON BEHAVIOUR OF RASPBERRY PLANTS OF CULTIVAR SHOPSKA ALENA

MARIYA GEORGIEVA¹, VIOLETA KONDAKOVA², DIYAN GEORGIEV¹

¹ Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

E-mail: mariageo@gmail.com

² AgroBioInstitute, Sofia

E-mail: violeta.kondakova@gmail.com

Abstract

This study was a comparison between growth and reproductive characteristics of the raspberry plants of cv. Shopska alena propagated in the classical way and by the tissue culture method.

The scientific experiment was carried out in the 2005-2007 period in an experimental plantation of IMSA, town of Troyan.

Shopska alena is one of the main cultivars in our country distinguished for resistance to temporary heats and droughts and for that reason it was chosen as a model (st) of our studies.

Elements of the technology for microclonal propagation were observed by assessing the effect of the used explant and concentration of growth regulators on behaviour of rooted and adapted *in vitro* propagated plants.

It was found that in the first year after planting in field conditions the vegetative and reproductive characteristics were in favour of the traditionally propagated plants and in the next years the tissue cultivated plants were superior to the controls in all variants.

Key words: nutrient media, micropagation, classical propagation, vegetative characteristics, reproductive characteristics.

Увод

Нарастващият интерес към малината като плод с ценни вкусови качества се дължи на съдържанието на вторични метаболити, което я прави много търсена като източник на биологично активни вещества, имащи отношение към човешкото здраве.

Традиционно този вид се размножава чрез коренови издънки и резници [5; 4;], но по този начин получените растения не са свободни от патогени. Основната причина за въвеждане на малина в култура *in vitro* била липсата на система за размножаване, която да обезпечи получаването на здрав посадъчен материал. Разработването на *in vitro* технология за тези видове и преодоляване на проблемите свързани с нея са обект на проучване от много изследователи [9; 14; 12; 10; 8; 17; 7; 1].

В световната литература има ограничен брой изследвания върху влиянието на технологията на размножаване върху реакцията на малиновите растения. Автори като Hoerpner et al., [1994], Petrevica [2000], Bite et al. [2002] докладват, че микроклонално размножените малинови растения са по-добри по вегетативен растеж и репродуктивни прояви от размножените по традиционен начин. Не са наблюдавани фенотипни отклонения и не може да се заключи, че *in vitro* култивирането увеличава получаването на ронливи плодове [6; 15].

Целта на настоящето проучване е да се проследи влиянието на различни типове експланти и концентрации растежни регулатори върху реакцията на тъканно култивирани малинови растения от сорт Шопска алена при полски условия.

Материал и методи

През периода 2005-2007 г. е изведен полски опит с микроразмножени малинови растения, култивирани на два варианта хранителни среди с различна концентрация и тип растежни регулатори. За стандарт са използвани растения от Шопска алена размножени по традиционния метод. Вариантите на опита включват следните растежни регулатори, включени в хранителните среди: A- 0,5 mg/l IBA и 2 mg/l TDZ [13]; C - 0,1 mg/l IBA и 0,22 mg/l TDZ [18].

Разстояниета на засаждане са 2.40/0.50 м. Растенията са отглеждани съобразно възприетата технология за този овощен вид при неполивни условия.

Показателите са отчитани съобразно методиката за изучаване на растителните ресурси при овошните растения [3].

Вегетативни:

При всички опитни растения в края на вегетацията са отчитани:

- среден брой едногодишни издънки на един малинов храст;
- средна дължина на едногодишните издънки (cm);
- среден диаметър на едногодишните издънки (mm) – на 10 см над почвената повърхност;
- среден брой и дължина на междувъзлията (cm).

Репродуктивни:

- маса на плода (g) – средно от 100 плода;

- среден брой плодове на цветонос;
- среден брой цветоноси на издънка;
- средна дължина на цветоноса.

За анализиране на резултатите от тъканно култивирани растения (получени от лист и листна дръжка) са сравнени със същите от сорт Шопска алена, размножени по класическия метод (st чрез издънки).

Тригодишният период на проучването се отличава с различни климатични условия - 2005 г. прекалено дъждовна (1350 ml/m^2) годишна сума на валежите; 2006 г. сравнително нормална и 2007 г. – с продължително лято засушаване, съпроводено с високи температури.

Данните са обработени по вариационно-статистическия метод [2].

Резултати и обсъждане

Анализът на резултатите от тригодишния период на изследване показва, че през първата година от проучването получените чрез тъканно култивиране растения от сорт Шопска алена притежават по-ниски стойности на вегетативните показатели, в сравнение с размножените по конвенционалния метод растения. През следващите години на изследване растенията получени чрез *in vitro* технологията превъзхождат контролите на всички варианти по вегетативни и репродуктивни характеристики. Наблюдаваната тенденция вероятно се дължи на ефекта от сложното взаимодействие на ендогенни и екзогенни хормони, използвани в културалните среди, водещи до промяна във физиологичния статус на растенията, както и на различните метеорологични условия през тригодишния период на изследване.

Така например контролните растения по среден брой издънки през 2005 г. превъзхождат във всички варианти клонално размножени растения от сорт Шопска алена (Таблица 1). През 2006 г. и 2007 г. *in vitro* получените растения имат по-високи стойности във вариантите, което може да се дължи на постакумулативния ефект от TDZ [20] или на силен биологичен стрес от рязката промяна на условията на отглеждане, в сравнение с традиционно размножените, като най-висок е средният брой издънки на вариант С лист - 20,5 бр. (за 2006 г.) и 24,5 бр. (за 2007 г.). Нашите резултати са в съответствие с изследването на Hoepfner et al., [1994], които също наблюдават подтискане на растежа през първата година от трансфера при полски условия на размножените *in vitro* растения. Увеличеният вегетативен потенциал на тъканно култивирани растения в сравнение с традиционно размножените при ех *vitro* условия е съобщен и от следните автори [16; 6; 19; 20].

Средната дължина на издънките през 2005 г. е доказана в полза на конвенционално размножените растения. През 2006 г. същият показател е най-голям при вариант А листна дръжка - 56,9 см, ($p > 0,05$), а през следващата година той е в полза на хранителна среда С и листните екс-планти - 103,2 см, ($p < 0,05$).

През 2005 г. най-дебели са издънките на традиционно размножените мали-нови култури (8,6 см), а през 2006 г. - във вариант А лист и С листна дръжка - 5 см. През

2007 г. средният диаметър на издънките е най-висок във вариант С листна дръжка - 7.1 см., макар че абсолютните стойности са много малки, заради тежката суша.

Контролите от сорт Шопска алена през 2005 г. превъзхождат микроразмножените растения по среден брой междуувъзлия - 19.8 бр. През 2006 г. и 2007 г. от експеримента средният брой междуувъзлия е най-висок във вариант С лист - 19.2 броя.

През първата година от залагане на полския опит средната дължина на междуувъзлията е най-голяма при традиционно размножените растения - 3.7 см. През 2006 г. същият показател е в полза на вариант А лист (3.4 см). През 2007 г. той е с най-високи аналогични стойности при вариант А лист и С листна дръжка - 3.4 см.

Репродуктивното поведение на получените чрез тъканни култури растения от сорт Шопска алена е представено на таблица 2.

Прави впечатление по-големият среден брой цветоноси на издънка (15.7 бр.) при конвенционално размножените растения през първата година от плододаването. През 2007 г. растенията от вариант С лист превъзхождат контролите.

Показателят средна дължина на цветоноса е в полза на традиционно размножените растения през 2006 г. През следващата година от изследването най-високи са стойностите на изследвания показател на вариант С листна дръжка - 12.6 см.

Средният брой плодове на цветонос през 2006 г. е най-висок при традиционно размножените растения - 6 броя, а през 2007 г. - при вариант С листна дръжка (6.1 бр.).

Средното тегло на един плод през 2006 г. е в полза на контролите - 1.6 г, докато през 2007 г. изследваният показател е по-висок във всички варианти от микроразмножените растения, като най-голямо тегло е отчетено във вариант С листна дръжка до 3.1 г. Позитивното влияние на размножаването *in vitro* върху репродуктивните показатели включващи брой цветоноси, брой цветове, средното тегло на един плод и качеството на получения добив при полски условия е забелязано и от Petrevica [2000] и Bite et al. [2002].

Изводи

1. Вегетативните прояви на *in vitro* растенията през първата година след засаждане при полски условия са в полза на традиционно размножените, а през следващите две години те превъзхождат контролите.

2. Произходит на изходния експлант (лист и листна дръжка) не оказва влияние върху растежа и развитието на малиновите растения от сорт Шопска алена при полски условия.

3. Репродуктивните показатели през първата година от плододаването са с по-високи стойности при размножените по класическия метод растения от сорт Шопска алена, докато на третата вегетация регенерантите са с по-добри параметри.

4. Най-добри резултати по отношение на средния брой цветоноси на издънка, средната дължина на цветоноса, среден брой плодове на цветонос и средно тегло на един плод през третата вегетация са получени на

вариантите, където са приложени в регенерационния експеримент по-ниски нива на непуриновия цитокинин TDZ в комбинация с IBA (0.22 mg/l TDZ).

Таблица 1. Вегетативни прояви на сорт Шопска алена

Период	Среда	Тип експлант	Ср. бр. издънки	Ср. дължина (cm)	Ср. диаметър (mm)	Ср. бр. междувъзлия	Ср.дълж. междувъзлия (cm)
2005 г.		лист	12	55 ± 9.3	5.2 ± 0.6	11.3	2.4 ± 0.3
	A	листна дръжка	6.5	67.3 ± 7.6	5 ± 0.7	9.3	2.7 ± 0.2
	C	лист	17	59.3 ± 2.1	5.2 ± 0.2	15.3	3.1 ± 0.1
	C	листна дръжка	10	57.5 ± 8.9	5.6 ± 0.6	14.2	3.2 ± 0.2
	Ш. алена - контрола		13.5	122.2 ± 9.1	8.6 ± 3.3	19.8	3.7 ± 0.5
	LSD (0.05)			p < 24.8	p > 0.05		p > 0.05
	A	лист	13.5	53.5 ± 6.4	5 ± 0.2	13.7	3.4 ± 0.5
	A	листна дръжка	11.5	56.9 ± 3.3	4.8 ± 0.3	16.8	3.2 ± 0.3
	C	лист	20.5	55.6 ± 2.1	4.7 ± 0.2	19.2	3 ± 0.3
	C	листна дръжка	13	45.8 ± 1.6	5 ± 0.2	15.7	3.1 ± 0.2
2006 г.	Ш. алена - контрола		8.5	56.6 ± 4.4	4.4 ± 0.2	12.5	3 ± 0.3
	LSD (0.05)			p > 0.05	p > 0.05		p > 0.05
	A	лист	18.5	85.3 ± 11.7	6.1 ± 0.2	15.2	3.4 ± 0.4
	A	листна дръжка	13	101.3 ± 2.1	6.6 ± 0.2	12.7	3.1 ± 0.3
	C	лист	24.5	103.2 ± 9.9	6.8 ± 0.3	16.5	3.2 ± 0.4
	C	листна дръжка	14	58 ± 7.5	7.1 ± 0.9	12.5	3.4 ± 0.1
	Ш. алена - контрола		9	76.8 ± 7.2	6.3 ± 0.5	15.2	2.9 ± 0.3
	LSD (0.05)			p < 26.2	p > 0.05		p > 0.05

Таблица 2. Репродуктивни прояви на сорт Шопска алена

Период	Среда	Тип експлант	Ср. брой на цветоноси на издънка	Ср.дължина цветоноси (cm)	Ср.брой плодове на цветонос	Ср.тегло на един плод (g)
2006 г.	A	лист	12.7	12.8 ± 0.4	4.9 ± 0.3	1.4
	A	листна дръжка	9.3	11.2 ± 0.4	4.6 ± 0.1	1.2
	C	лист	12.7	11.7 ± 1	4.7 ± 0.01	1.4
	C	листна дръжка	14.7	11.7 ± 1.2	5.1 ± 0.3	1.4
	Ш. алена - контрола		15.7	15.3 ± 2.7	6 ± 0.7	1.6
	LSD (0.05)			p > 0.05	p > 0.05	
	A	лист	8	10.3 ± 0.7	4.5 ± 0.3	2.7
	A	листна дръжка	10.3	10.3 ± 1.3	5 ± 0.4	2.9
	C	лист	12	9.1 ± 2.8	5 ± 0.6	2.9
	C	листна дръжка	8	12.6 ± 1.6	6.1 ± 0.5	3.1
2007 г.	Ш. алена - контрола		11.3	6.8 ± 1.6	5 ± 0.9	1.7
	LSD (0.05)			p > 0.05	p > 0.05	

Литература

1. Велчев, В., (2004), Клонално микроразмножаване на малина (*Rubus idaeus L.*). Растениевъдни науки, 41, 3-8, София.
2. Лидански, Т., (1988), Статистически методи в биологията и в селското стопанство. София – Земиздат р. 135-160.
3. Недев Н., И. Григоров, Х. Баев, С. Серафимов, А. Странджев, Л. Каварджиков, К. Лазаров, Н. Николов, В. Джувинов, Л. Попова, Н. Славов, П. Илиев, Д. Стоянов, И. Кунев, Х. Кринков, Ю. Вишанска, М. Топчийска, 1979. Методика за изучаване на растителните ресурси при овощните растения, Пловдив, 7 – 8, 111 – 116.
4. Христов, Л., А. Иванов, А. Косерков, В. Начевски, (1988), Ягодоплодните култури в нашата градина. София – Земиздат.
5. Ярославцев, Е. И., (1979), Малина. Издателство “Колос”.
6. Bite A., L., Petrevica, Brennan R. M., Gordon S. L., Williamson B. (2002), The influence of *in vitro* propagation on the field behaviour of red raspberry variety 'Norna'. Proceedings of the Eighth International *Rubus* and *Ribes* Symposium, Invergowrie, Dundee, Acta-Horticulturae, 2, 585: 615-619.
7. Dai-HanPing, Tan-ChangHua, Huang-QingWen, Dai-HP, Tan-CH; Huang-QW, (2001), Study on the *in vitro* shoot tip cultural techniques for raspberry. China-Fruits. No. 4, 18-19.
8. Faria, M. J. S. S. de., D. J. Donnelly, J. C. Cousineau, (1998), Adventitious shoot regeneration and Agrobacterium-mediated transformation of red raspberry. Arquivos de Biologia e Tecnologia, Vol. 40, No.3, pp.518-529.
9. Fiola, J. A., M. A. Hassan, H. J. Swartz, R. H. Bors, R. McNicols, (1990), Effect of thidiazuron, light influence rates and kanamycin on *in vitro* shoot organogenesis from excised *Rubus* cotyledons and leaves. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 20, 223-228.
10. Graham, J., L. Iasi, S. Millam, (1997), Genotype-specific regeneration from a number of *Rubus* cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48, 167-173.
11. Hoepfner A. S. (1994), Comparison of cane growth and yield in micropropagated vs. standard method propagated red raspberry. Gartenbauwissenschaft, 59: 6, 258-263.
12. Hoepfner A. S., R. Nestby, H. Nybom, (1996), Genetic deviation initiated by adventitious shoot regeneration from tissue cultured red raspberry. Journal of Horticultural Science, Vol.71, No.1, pp.71-79, 32.
13. Kondakova V., Montichelli S., Meneghini M., Damiano C. (2004), Transgene Environmental Relationship in Sytrawberry. Acta Horticulture ColumnAustralia. pp. 43-50.
14. McNicol R. J., J. Graham, (1990), *In vitro* regeneration of *Rubus* from leaf and stem segments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 21, 45-50.
15. Muster G., C. Lankes, (2002), Effect of conventional and *in-vitro* propagation on selected characteristics of raspberry plants. Acta Horticulturae, No 585, pp. 585-589.
16. Petrevica L. (2000), The influence of the clonal micropropagation on the biological traits of strawberry and raspberry. Sodininkyste-ir-Darzininkyste, 19: 3(1): 464-473.
17. Popescu A. N., V. Isac, (2000), High frequency shoot regeneration from leaf-derived callus in raspberry (*Rubus idaeus L.*) Acta Horticulturae, No.538 (Vol.2), pp. 667-670.
18. Turk B., Swartz H., Zimmerman R. (1994), Adventitious shoot regeneration from *in vitro*-cultured leaves of *Rubus* genotypes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 38:11-17.
19. Velchev V. (2002), Vegetative and reproductive expressions of the micropropagated raspberry plants. Plant Science, 39: 224 – 227.
20. Yancheva S.D., Golubowicz S., Fisher E., Lev-Yadun S., Flaishman M.A. (2003), Auxin type and timing of application determine the activation of the developmental program during *in vitro* organogenesis in apple. Plant Science 165; 299-309.