



ПРОУЧВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО НА СВЕТЛИННИТЕ УСЛОВИЯ ВЪРХУ РАЗВИТИЕТО НА РАСТЕНИЯ ОТ ХМЕЛ В УСЛОВИЯ IN VITRO

РУСКА РУСЕВА

ИНСТИТУТ ПО РАСТИТЕЛНИ ГЕНЕТИЧНИ РЕСУРСИ – САДОВО

INVESTIGATION OF THE LIGHT CONDITIONS INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT OF HOP PLANTS IN VITRO

RUSKA RUSEVA

INSTITUTE OF PLANT GENETIC RESOURCES - SADOVO

ABSTRACT

The influence of light conditions on the *in vitro* growth reaction of hop was investigated by cultivation of microcuttings from 4 cultivars – Bullion, Target, Naget, Zlaten pivovar. The hop explants were put to the test under the following light conditions: light intensity – 1000 lx, 2000 lx, 3000 lx ; photoperiod – 16/8 h day/night, 12/12 h day/night, 8/16 h day/night. The best results for *in vitro* growth of hop explants were received under the influence of 2000 lx light intensity and photoperiod – 12/12 h day/night.

УВОД

Научните изследвания по микроразмножаване на вегетативно размножаващи се видове в по-голямата си част обхващат проучвания, касаещи състава на хранителните среди, съотношението на растежните регулатори, органичните съединения и други компоненти от химичния комплекс. Хмелът е специфична, но значима селскостопанска култура за много райони в света и в България. Повечето изследвания по *in vitro* култивиране и размножаване на този растителен вид са също в посока установяване на химичните фактори на хранителната среда [2, 10, 11], За успешно размножаване в условия *in vitro* от съществено значение е регулирането на рН на средата{3}, съдържанието на въглехидрати {12}, наличието или отсъствието на агарова субстанция{4}. Паралелно се проучва и вирусния статус на експлантите{9}. Изучаването на физичните фактори – температура и светлина е застъпено при други растителни видове {5, 6, 7}, Проучвания за ролята на светлината – интензивност и фотопериод за развитие на експлантите от хмел в култура *in vitro* ще дадат нова информация за растежното поведение на различни сортове и подобряване на ефективността на размножителния процес.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Експерименталната работа беше проведена с четири сорта хмел - Булион, Таргет, Нагет, Златен пивовар. Еднопъпкови микрорезници, получени от сегментирането на *in vitro* растения от сортовете бяха култивирани в хранителна среда по Murashige-Skoog (1962) {8}.

За установяване ролята на светлинния интензитет върху развитието на култивираните микрорезници, експлантите се отглеждаха при осветление с различна интензивност: I вариант - 1000 lx; II вариант - 2000 lx; III вариант - 3000 lx. При трите степени на светлинния интензитет беше зададен константен температурен режим - 23°C. Експериментът беше изведен в три повторения, всяко включващо по 100 експланта за всеки сорт и вариант. Отчетени бяха броя и дължината на корените /mm/ и времето необходимо за нарастването на леторастите до 70 mm /дни/.

За установяване влиянието на продължителността на тъмна и светла фаза в денонощието /фотопериод/ върху култивирани микрорезници от същите сортове хмел, в растежни камери се приложиха светлинни условия, даващи възможност за изпитване на три варианта на фотопериода: I вариант - 16/8 часа ден/нощ; II вариант - 12/12 часа ден/нощ; III вариант - 8/16 часа ден/нощ. Опитът се изведе трикратно, като всяко повторение беше съставено от по 100 експланта за всеки от проучваните сортове във трите варианта. Отчетено беше свежото тегло на *in vitro* растенията /mg/. Получените резултатите са обработени статистически {1}.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Култивираните микрорезници от четирите сорта хмел формират корени в условия *in vitro* и при трите степени на приложения светлинния интензитет /табл. 1/.

Таблица 1. Влияние на светлинния интензитет върху формиране и нарастване на корените на *in vitro* растения от хмел

СОРТ	ИНТЕНЗИВНОСТ НА СВЕТЛИНАТА					
	1000 lx		2000 lx		3000 lx	
	Брой корени	Дълж. на корени mm	Брой корени	Дълж. на корени mm	Брой корени	Дълж. на корени mm
БУЛИОН	4,12±0,037	52,5±3,5	3,94±0,035	47,9±2,9	3,72±0,035	56,1±3,6
ТАРГЕТ	4,06±0,036	55,5±3,3	4,18±0,036	54,3±3,5	4,30±0,038	48,8±2,9
НАГЕТ	3,84±0,032	48,7±2,8	3,88±0,033	45,0±2,6	3,70±0,034	46,6±2,7
ЗЛАТЕН ПИВОВАР	4,23±0,037	50,4±3,0	4,10±0,036	51,0±3,2	4,26±0,037	53,6±3,3
Средно	4,06	51,7	4,02	49,5	3,99	51,2

Броят на корените е приблизително еднакъв при 1000, 2000 и 3000 lx светлина. Осреднените стойности за изпитаните сортове са в границата от 3,99 до 4,06 броя корени на едно растение при трите варианта на експеримента. Варирането на броя на корените при отделните сортове във всеки вариант е незначително.

При проследяване влиянието на светлинния интензитет върху нарастването на корените се констатира същата закономерност. Корените достигат дължина от 49,5 mm във варианта 2000 lx до 51,7 mm при интензивност на осветлението 1000 lx. Разликата от средните стойности за дължината на корените е едва 2,2 mm, което показва еднопосочност на влияние на светлинния фактор по отношение на този показател. По-добре изразените разлики между сортовете в отделните варианти са резултат от биологичните особености на генотиповете.

Тези резултати показват, че наличието на светлина не инхибира процеса на ризигенез при хмел в условия *in vitro*. Освен това, светлинният интензитет, приложен от 1000 до 3000 lx не влияе различно върху формирането и нарастването на корените. Следователно, приложението на светлина с интензивност до 1000 lx е достатъчна за формиране на коренова система на хмелни микрорезници при изпитаните сортове

По-съществено е значението на степента на светлинния интензитет за развитие на стъблената част на *in vitro* растенията от хмел. Отчетените разлики във времето, необходимо за израстване на леторастите до 70 mm са отразени на табл. 2.

Таблица 2. Време за формиране на летораста от хмел в условия *in vitro* при различна интензивност на светлината

С О Р Т	СВЕТЛИНЕН ИНТЕНЗИТЕТ		
	1000 lx	2000 lx	3000 lx
БУЛИОН	45,7 дни	30,6 дни	33,1 дни
ТАРГЕТ	42,1 дни	28,4 дни	29,4 дни
НАГЕТ	40,9 дни	29,2 дни	31,8 дни
ЗЛАТЕН ПИВОВАР	44,2 дни	32,5 дни	30,7 дни
Средно	43,22 дни	30,17 дни	31,25 дни

Най-бърз растеж на стъблата беше установен при интензивност на светлината – 2000 lx. Леторастите на *in vitro* растенията от сортовете хмел достигат дължина 70 mm средно за 30,17 дни. В този вариант сортовете различия варират от 28,4 дни при сорт Таргет до 32,5 дни при сорта Златен пивовар.

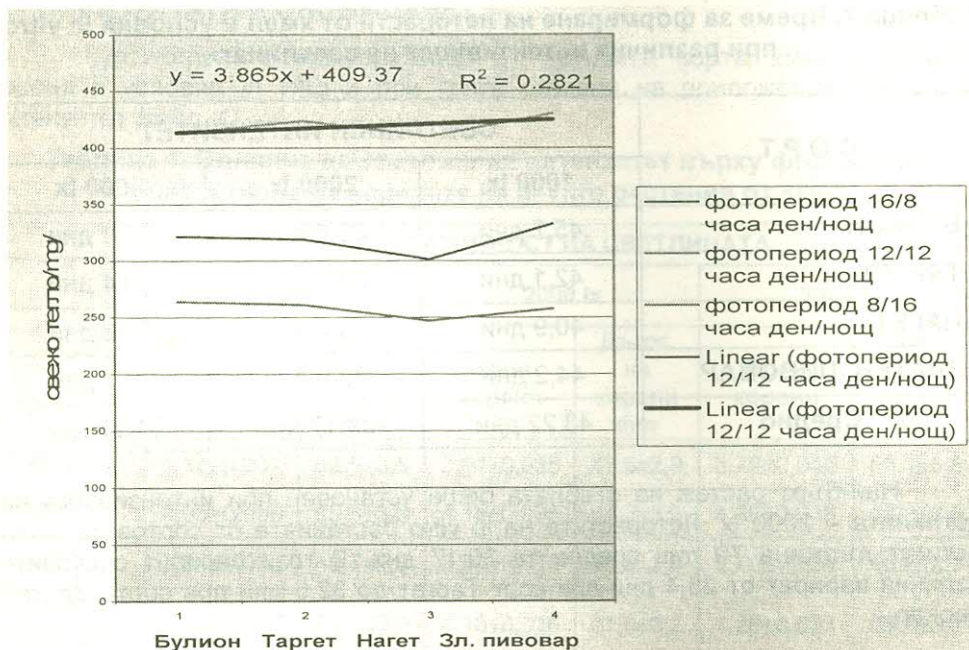
По-ниската степен на светлинния интензитет – 1000 lx забавя растежните процеси в стъблената част на изпитваните сортове хмел. Необходимо е повече време за достигане дължина на леторастите до 70 mm. При този светлинен режим хмелните експлантати в условия *in vitro* изискват средно 43,22 дни за достигане на тази дължина, като отклоненията на отделните сортове по този показател са несъществени. Светлина с интензитет 1000 lx е недостатъчна за бързо стимулиране на фотосинтетичната активност, а от тук и за бърз растежен темп.

Приложението на светлина с интензивност 3000 lx е неефективно, защото растежните реакции на хмелните култури *in vitro* са идентични с тези при 2000 lx. Средното необходимо време за растеж на леторастите до 70 mm е 31,25 дни, при незначителни сортови различия.

Обобщавайки резултати за влиянието на светлинния интензитет върху развитието на хмел в култура *in vitro* може да се каже, че приложението на светлина с интензитет 1000 lx е достъчна за формиране на коренова система, но 2000 lx формират стъблената част най-бързо, без промяна в ризогенеза. Повишаването на светлинния интензитет до 3000 lx е нецелесъобразно.

Резултатите за влиянието на различен фотопериод върху развитието на микрорезници от хмел *in vitro* са представени на фиг. 1.

Фиг. 1. Влияние на фотопериода за формиране на *in vitro* растения от хмел



Свежото тегло на растенията е показател, който най-добре отразява влиянието на продължителността на осветлението върху формирането на растенията. В свежото тегло резултатът косвено голямината на корените и леторастите, изразени чрез хабитуса на растението. Най-високи стойности на свежо тегло се отчитат от приложението на фотопериод 12/12 часа ден/нощ. За сорт Булион – 412,69 mg, за сорт Таргет – 423,44 mg, за сорт Негет – 409,92 mg и за Златен пивовар – 430,08 mg / $y = 3.865x + 409.37$, $R^2 = 0.2821$ /. При фотопериод 16/8 часа ден/нощ стойностите за свежото тегло на растенията са по-ниски – от 301,16 до 332,55 mg за същите сортове. С увеличаване на тъмната фаза – фотопериод 8/16 часа ден/нощ, свежото тегло на *in vitro* растенията намалява и е в границите от 246,63 до 263,54 mg.

При *in vitro* култивиране на хмел от изпитаните сортове продължителността на осветление за 12 часа в денонощие е достатъчно ефективно за формиране на растения с най-добри стойности на свежото тегло, съответно по-добре развити коренова система и летораста.

ИЗВОДИ

Светлинният интензитет в диапазон от 1000 до 3000 lx влияе еднопосочно върху коренообразователния процес – брой и дължина на корените на микрорезници от четири сорта хмел. Приложението на светлина с интензивност до 1000 lx е достатъчна за формиране на коренова система на хмелни експлантати в условия *in vitro*.

Летораста от хмел в култура *in vitro* най-бързо нарастват до 70 mm при интензивност на осветлението 2000 lx /30,17 дни/. За развитие на цели *in vitro* растения от хмел с практическа цел се препоръчва приложението на този светлинен режим.

При *in vitro* култивиране на хмел от изпитаните сортове продължителността на осветление за 12 часа в денонощие /фотопериод - 12/12 часа ден/нощ/ е достатъчна за формиране на растения с най-добри стойности на свежото тегло, съответно по-добре развити коренова система и летораста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Запрянов, З., Д. Димова. (1995). Ръководство за упражнението по опитно дело с биометрия, Пловдив.
2. Русева, Р., Д. Димитрова, Д. Стоянов. (1988). Първи опити по микроразмножаване на хмел/*H. lupulus L.*/ Раст. науки, №9, 35 - 39.
3. Русева, Р. (1999). Влияние на нивото на pH върху растежните реакции на няколко сорта хмел /*H. lupulus L.*/ в култура *in vitro*. Раст. науки, №5, 262-264.
4. Batista, D., L. Ascensao, M. Sousa, M. Pais. (2000). Adventitious shoot mass production of hop (*Humulus lupulus L.*) var. Eroica in liquid medium from organogenic nodule cultures. Plant Sci., 151, 45 - 57.
5. Fahlén, A., M. Welander, R. Wennersten. (1999). Effects of Light - Temperature Regimes on Plant Growth and Essential Oil Yield of Selected Aromatic Plants. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 73, 111 - 119.

6. Islam, T., D. Dembele, E. Keller. (2005). Influence of explant, temperature and different culture vessels on *in vitro* culture for germplasm maintenance of four mint accessions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol. 81, No 2, 123 – 130.
7. Lucchesini, M., S. Pacifi, F. Tognoni, A. Mensuali-Sodi, G. Serra. (2003). Optimisation of *in vitro* cultural conditions of some officinal species. *Acta Horticulturae*, 723 – 728.
8. Murashige, T., F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473 - 497.
9. Patzak, J., J. Matoušek, K. Krofta, P. Svoboda. (2003). Hop latent viroid (HLVd)-caused pathogenesis: effects of HLVd infection on lupulin composition of meristem culture-derived *Humulus lupulus*. *Biologia plantarum*, Vol. 48 (1–3), 579 - 585.
10. Roy, A., G. Leggett, A. Koutoulis. (2001). Development of a shoot multiplication system for hop (*Humulus lupulus* L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 37 (1), 79 - 83.
11. Schwekendiek, A. (2008). A temporary immersion system for the effective micropropagation of hop. 2nd ISHS International Humulus Symposium, 1-5 September 2008, Ghent Belgium.
12. Smýkalová, I., M. Ortová, H. Lipavská, J. Patzak. (2001). Efficient *in vitro* micropropagation and regeneration of *Humulus lupulus* on low sugar, starch-Gelrite media. *Biologia plantarum*, Vol. 44 (1–4), 7 -12.