

IN VITRO OŽILJAVANJE RAZLIČITIH VOĆNIH PODLOGA

Bijelić Sandra, Gološin Branislava, Cerović, S., Ognjanov, V.

REZIME

Ožiljavanje izdanaka predstavlja naročito veliki problem kod drvenastih vrsta, ali primenom kulture tkiva često se postiže bolja rizogeneza nego klasičnim metodama. U ovom radu prikazani su rezultati in vitro ožiljavanja različitih voćnih podloga: vegetativne podloge jabuke (M27, M26 i MM 106), dunje MA i četiri genotipa stepske višnje (SV1, SV2, SV11 i SV12). Ožiljavanje izdanaka u kulturi in vitro postiže se prvenstveno prisustvom odgovarajućeg auksina u medijumu. U tom cilju ispitali smo uticaj različite koncentracije IBA (0,5; 1,0 i 2,0 mg l⁻¹). Najbolje ožiljavanje podloga jabuke, dunje MA i genotipa SV2 bilo je sa 1,0 mg l⁻¹ IBA, a genotipa SV1 i SV11 sa 0,5 mg l⁻¹ IBA.

Ključne reči: in vitro ožiljavanje, voćna podloga, IBA

UVOD

Mikropropagacija je savremeni postupak koji se sve više primenjuje u proizvodnji sadnog materijala, naročito u proizvodnji voćnih podloga. Ovom metodom se mogu dobiti biljke slobodne od virusa ako se primeni kultura meristema ili se može za kratko vreme umnožiti željeni materijal (obično se koristi kultura vrha mladara). Primena ovih metoda u rasadničkoj proizvodnji u svetu se koristi više od dve decenije. Kao savremena tehnika savladana je za veliki broj voćnih vrsta (Broome i Zimmerman, 1984; Skirvin, 1986; Gološin i Galović, 1995). Naša laboratorija za mikropropagaciju voćaka osnovana je osamdesetih godina. Cilj ovog rada je da prikazemo dobijene rezultate in vitro ožiljavanja podloga različitih voćnih vrsta zavisno od koncentracije IBA u medijumu.

MATERIJAL I METOD RADA

Za izolaciju početnog eksplantata korišćene su podloge sledećih voćnih vrsta: jabuka (M27, M26 i MM106), dunja (MA) i stepska višnja (genotipovi SV1, SV2, SV11 i SV12).

Kod podloga jabuke primenjena je tehnika kulture meristema, a kod dunje i stepske višnje kultura vrha mladara.

Nakon uspešne organizacije početnog eksplantata u lisnu rozetu i umnožavanja na različitim hranljivim podlogama, svi izdanci koji su postigli odgovarajuću dužinu (> 10 mm) subkultivisani su na podloge za ožiljavanje.

Za ožiljavanje izdanaka korišćen je MS (Murashige i Skoog, 1962) mineralni rastvor. Hranljiva podloga za ožiljavanje sadržala je: MS mineralni rastvor čija je koncentracija soli smanjena na polovinu, saharozu (1,0%), B₆ (4 mg l⁻¹), inozitol (200 mg l⁻¹), biotin (0,2 mg l⁻¹), Ca-pantotenat (1,0 mg l⁻¹) i ispitane su tri koncentracije IBA (0,5; 1,0; 2,0 mg l⁻¹).

Kulture su gajene u kontrolisanim uslovima, na temperaturi od 25°C, pri fotoperiodu od 16h/dan.

Ožiljeni izdanci ispitivanih voćnih podloga presađeni su u plastične kontejnere, u „steck medium” (75% treset : 25% perlit) i aklimatizovani. Uspešno aklimatizovane biljke posađene su u poljske uslove.

REZULTATI RADA I DISKUSIJA

Izdanci koji su dostigli porast od 10 mm i više u fazi umnožavanja subkultivisani su na hranljivu podlogu za ožiljavanje. Cilj ove faze je de novo regeneracija adventivnih korena iz izdanaka dobijenih u fazi umnožavanja. Ožiljavanje izdanaka in vitro prvenstveno se postiže dodavanjem odgovarajućeg auksina (IBA, IAA, NAA) u medijum jer je poznato da on utiče na inicijaciju i razviće korena (Skoog i Miller, 1957). Zbog toga je u hranljivu podlogu dodata IBA u različitim koncentracijama, koja važi za najdelotvorniji auksin u indukciji korena kod jabuke (Gološin, 1984). Takođe, razblaženje mineralnih soli u hranljivoj podlozi za ožiljavanje olakšava indukciju korena, pa je u svim hranljivim podlogama MS mineralni rastvor smanjen na polovinu koncentracije. Pored toga, i niža koncentracija saharoze pozitivno utiče na formiranje korena u kulturi (Srisikandrah i sar. 1982) i iz tog razloga je korišćen 1% rastvor saharoze. Isključivanje saharoze iz podloge ne dovodi do formiranja korena (Snir i Erez, 1980).

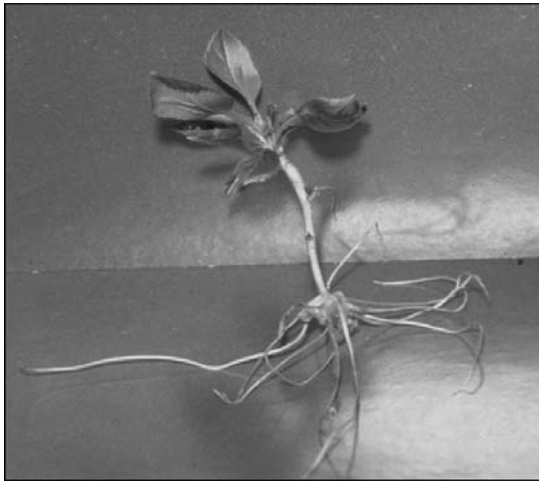
Uspešnost ožiljavanja ispitivanih voćnih podloga zavisila je od koncentracije IBA u hranljivoj podlozi. Rezultati ožiljavanja izdanaka različitih voćnih podloga prikazani su u tab. 1.

Ožiljavanje ispitivanih voćnih podloga u uslovima in vitro nije postignuto kod svih. Genotip stepske višnje SV12 nije se ožilio u prisustvu IBA. Za sve tri podloge jabuke (sl. 1), kao i za dunju MA (sl. 2) i genotip stepske višnje SV2 (sl. 3) najbolje ožiljavanje bilo je u prisustvu IBA u koncentraciji 1,0 mg l⁻¹, što je u skladu sa

rezultatima drugih autora: Jones-a (1979) – kod jabuke i Dai Han Ping i sar. (2001) – kod stepske višnje.

Tab. 1: Uticaj koncentracije IBA na in vitro ožiljavanje različitih voćnih podloga

Voćna podloga	Hranljiva podloga	Broj izdanaka u kulturi	Ožiljeni izdanci	
			broj	%
M 27	1/2 MS + IBA 0,5	24	6	25,00
	1/2 MS + IBA 1,0	33	18	54,54
	1/2 MS + IBA 2,0	52	20	38,46
M 26	1/2 MS + IBA 0,5	26	13	50,00
	1/2 MS + IBA 1,0	23	18	78,26
	1/2 MS + IBA 2,0	30	20	66,67
MM 106	1/2 MS + IBA 1,0	20	15	75,00
	1/2 MS + IBA 2,0	22	16	72,73
MA	1/2 MS + IBA 0,5	57	5	8,77
	1/2 MS + IBA 1,0	36	26	72,22
SV1	1/2 MS + IBA 0,5	16	2	12.50
	1/2 MS + IBA 1,0	12	0	0.00
	1/2 MS + IBA 2,0	16	0	0.00
SV2	1/2 MS + IBA 0,5	33	9	27.27
	1/2 MS + IBA 1,0	11	8	72.73
	1/2 MS + IBA 2,0	19	0	0.00
SV11	1/2 MS + IBA 0,5	52	48	92.31
	1/2 MS + IBA 1,0	45	17	37.78
	1/2 MS + IBA 2,0	39	23	58.97
SV12	1/2 MS + IBA 0,5	40	0	0.00
	1/2 MS + IBA 1,0	20	0	0.00
	1/2 MS + IBA 2,0	20	0	0.00



Slika 1: Ožiljeni izdanak MM106 na MS + 1,0 mg l⁻¹ IBA



Slika 2: Ožiljeni izdanak dunje MA na MS + 1,0 mg l⁻¹ IBA



Slika 3: Ožiljeni izdanak SV2 na MS + 1,0 mg l⁻¹ IBA



Slika 4: Ožiljeni izdanak SV11 na MS + 1,0 mg l⁻¹ IBA

Od svih ispitivanih genotipova stepske višnje, rizogeneza se najuspješnije odvijala kod izdanaka genotipa SV11 (sl. 4). Izdanci SV11 formirali su korenov sistem na svim ispitivanim hranljivim podlogama. Najbolje ožiljavanje postignuto je na podlozi sa 0,5 mg l⁻¹ IBA (92,31%), što je u saglasnosti sa već poznatim rezultatima ožiljavanja podloga za trešnju i višnju (Buzkan i sar., 1997; Bijelić, 2004). Slabije ožiljavanje ovog genotipa bilo je na podlogama koje su sadržale 2,0 mg l⁻¹ IBA (58,97%) i 1,0 mg l⁻¹ IBA (37,78%). Sa povećanjem koncentracije IBA povećavalo se i prisustvo kalusa na formiranom korenovom sistemu. Poznato je da kada je koncentracija auksina visoka, u bazalnom delu izdanka formira se kalus koji inhibira normalan razvoj korena (Gološin i Radojević, 1987). Sem toga, zabeleženo je prisustvo velikog broja sekundarnih korenskih žila na podlogama sa manjom koncentracijom IBA, što je u saglasnosti sa prethodnim proučavanjima mikropropagacije slabo bujnih podloga za trešnju i višnju (Bijelić i sar., 2003; 2004).

ZAKLJUČAK

Ožiljavanje podloga različitih voćnih vrsta zavisilo je od koncentracije IBA u hranljivoj podlozi. Genotip stepske višnje SV12 nije se ožiljavao na ispitivanim medijumima. Podloge jabuke (M27, M26 i MM106), dunja MA i genotip stepske višnje SV2 najbolje su se ožiljavali kada je u medijumu bila prisutna IBA u koncentraciji 1,0 mg l⁻¹. Za genotipove SV1 i SV11 najbolje ožiljavanje bilo je sa 0,5 mg l⁻¹ IBA.

LITERATURA

1. Bijelić, S., Gološin, B., Cerović, S., Ognjanov, V. (2003). In vitro ožiljavanje podloga za trešnju i višnju. *Savremena poljoprivreda*, 1–2: 145–148.
2. Bijelić, S. (2004). Mikropropagacija slabo bujnih podloga za trešnju i višnju. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
3. Bijelić, S., Gološin, B., Cerović, S., Ognjanov, V. (2004). In vitro ožiljavanje različitih genotipova stepske višnje. *Savremena poljoprivreda*, 1–2: 41–44.
4. Broome, O. C., Zimmerman, R. H. (1984). Culture of shoot meristems: fruit plants. In Vasil, I. K. (ed): *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, Acad. Press Inc., Orlando, Florida, 111–122.
5. Buzkan, N., Cetiner, S., Yalcin-Mendi, Y., Terllizzi, B. di. (1997). Clonal propagation of disease-free rootstocks for sour and sweet cherry by meristem culture. *Acta Horticulturae*, No. 441, pp. 329–332.
6. Dai HanPing, Li BaoJiang, Lin LiHua, Liu FengJun. (2001). Techniques of tip tissue culture for Prairie sour cherry. *China Fruits*, No. 6, pp. 19–21.
7. Gološin, B. (1984). Vegetativno razmnožavanje podloga jabuke M27, M26 i MM 106 u kulturi in vitro. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
8. Gološin, B., Radojević, Lj. (1985). Uticaj floroglucinola na razmnožavanje in vitro podloge jabuke M27. *Jug. voć.* 19: 371–378.
9. Gološin, B., Galović, V. (1995). Mikropropagacija. Iz „Kultura tkiva u poljoprivredi”: Branislav Dozet i sar., Feljton, Novi Sad.
10. Jones, O. P. (1979). Propagation in vitro of apple trees and other woody plants: methods and applications. *Sci. Hort.* 30 (2): 44–48.
11. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 437–497.
12. Skirvin, R. M. (1986). Fruit crops. In Conger, B. V. (ed.): *Cloning Agricultural Plants via In Vitro Techniques*, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 51–140.
13. Skoog, F., Miller, C. O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118–131.
14. Snir, I., Erez, A. (1980): In vitro Propagation of Malling Merton Apple Rootstocks. *Hort Science*, 15 (5): 597–598.
15. Sriskandarajh, S., Mullins, M. G., Nair, Y. (1982). Induction of adventitious rooting in vitro in difficult-to-propagate cultivars of apple. *Plant Science Letter*, 24:1–9.

ROOTING OF DIFFERENT FRUIT ROOTSTOCKS IN VITRO

by

Bijelić Sandra, Gološin Branislava, Cerović, S., Ognjanov, V.

SUMMARY

Shoots rooting is very difficult, especially at woody species. Better rhizogenesis can be achieved by using tissue culture. In this paper work are shown results of in vitro rooting of different fruit rootstocks: apple (M27, M26, and MM106), quince MA and four genotypes of *Prunus fruticosa*, Pall. (SV1, SV2, SV11, SV12). Also it was shown that the presence of auxin in medium was necessary.

Different concentration of IBA (0.5, 1.0, 2.0 mg l⁻¹) was studied in this paper work. Rooting of apple rootstocks, quince MA, SV2 genotype was the best with 1.0 mg l⁻¹ IBA and of SV1, SV11 genotypes with 0.5 mg l⁻¹ IBA.

Key words: in vitro rooting, fruit rootstocks, IBA

Primljeno: 17. 03. 2005.

Prihvaćeno: 21. 03. 2005.

Recenzent: Prof. dr Zoran Keserović