

## ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА РАСТЕЖНИТЕ ПРОЦЕСИ НА IN VITRO РАСТЕНИЯ ОТ ХМЕЛ (*H. lupulus* L.) ПРИ РАЗЛИЧНИ СВЕТИЛНИ УСЛОВИЯ

РУСКА РУСЕВА

*Институт по растителни генетични ресурси „К. Малков”, Садово*

### Study on the Growth Processes of in Vitro Hop Plants (*H. lupulus* L.) under Different Light Conditions

R. Ruseva

*Institute of Plant Genetic Resources “K. Malkov”, Sadovo, Bulgaria*

#### Abstract

Seven varieties of hop (*H. lupulus* L.) have been used to study establishing the influence of light intensity on growth dynamics of microcuttings with and without leaf, cultivated in vitro. The results showed that a light of 1000 to 6000 lx has a unidirectional action on the formation of the root system. The different growth rate of the roots for both groups of microcuttings was determined by the presence or absence of a leaf, regardless of the light intensity. Light intensity has an emphasized influence on the growth rate of shoots. The most rapid shoot growth was achieved at 3000 lx. At 1000 lx shoot growth was delayed and the intensity of 6000 lx had a suppressing effect. Shoot growth of in vitro cultivated hop microcuttings with a leaf was enhanced for the three tested levels of light intensity.

**Key words:** hop, in vitro, growth, microcuttings, light intensity

Макар и в по-малка степен в сравнение с in vivo отглежданите растения, in vitro културите се нуждаят от светлина за фотосинтетичните и морфологични процеси. Различните растителни видове и различните експлантите от тях имат специфични изисквания към светлинния интензитет. Влиянието е по-силно върху стъбленото развитие, отколкото върху ризогенеза (Lucchesini, 2003). Диапазонът на прилагания светлинен интензитет е твърде широк. Според Kozai (2004), при in vitro размножаване на някои видове са достатъчни 500 lx, а за други препоръча 10 000 lx. Има съобщения за различни изисквания към степента на осветяване дори на отделни сортове от една култура (Fahlén, 1999; Lucchesini, 2003). В повечето случаи необходимостта на in vitro експлантите от светлина е от 1000 до 6000 lx (Batista, 2000).

За размножаване на хмел чрез различни тъкани и органи в in vitro условия авторите съобщават за конкретно приложени светлинни условия, вариращи от 700 lx до 6000 lx (Русева, 1999; Roy, 2001; Smýkalová, 2001; Schwekendiek, 2008). За постигане на максимален ефект в процеса на микроразмножаване е необходимо сравнително изпитване на различни светлинни режими. Наличието или отсъствието на прилежащ към микрорезниците лист е в пряка връзка с фотосинтетичните процеси, което наложи провеждането на комбинирано изследване за установяване влиянието на светлина с различен интензитет върху темпа на нарастване на корените

и летораслите на микрорезници от хмел и връзката на процесите с наличието и отсъствието на прилежащ към експлантите лист.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа е проведена със 7 сорта хмел: Булион, Чинук, Галена, Наяет, Таргет, Опал и Кристал. След сегментиране на in vitro растенията от проучваните сортове получените микрорезници са разделени в две групи: 1 – микрорезници с прилежащ към тях лист; 2 – микрорезници без лист. Двете групи микрорезници бяха култивирани в хранителна среда по Gamborg (1976) с витамини по Morel (Grenan, 1979).

Културите са поставени за отглеждане в растежни камери при осветление с различна интензивност: А) 1000 lx; Б) 3000 lx; В) 6000 lx. За трите степени на светлинен интензитет е зададен фотопериод 16/8 часа ден/нощ. Експериментите са проведени в три повторения, всяко включващо по 200 експланта за всеки вариант и сорт.

Отчетени са броят и дължината на корените (mm) след 4-седмично култивиране и времето (дни), необходимо за нарастване на летораслите до 120 mm при различни степени на светлинен интензитет за двете групи микрорезници (Запрянов, 1995).

#### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Трите степени на приложения светлинен интензитет способстват за формиране на приблизител-

но еднакъв брой корени (фиг. 1). Няма съществени различия в броя на корените между групата микрорезници с прилежащ лист и без лист. В първата група средният брой корени варира от 4,15 до 4,35 броя, а във втората – от 4,13 до 4,43 броя. Наблюденията показваха, че има разлика във времето на поява на корените между двете групи експланти. При отсъствие на прилежащ лист появата на корените закъснява с около 5-6 дни в сравнение с наличие на лист. Следователно степента на осветеност не влияе върху формирането на броя на корените на микрорезници от сортове хмел, когато светлината е приложена в граници от 1000 до 6000 lx. Наличието на лист към микрорезниците способства за ускоряване на началния коренообразователен процес, независимо от светлинния интензитет в изпитания диапазон.

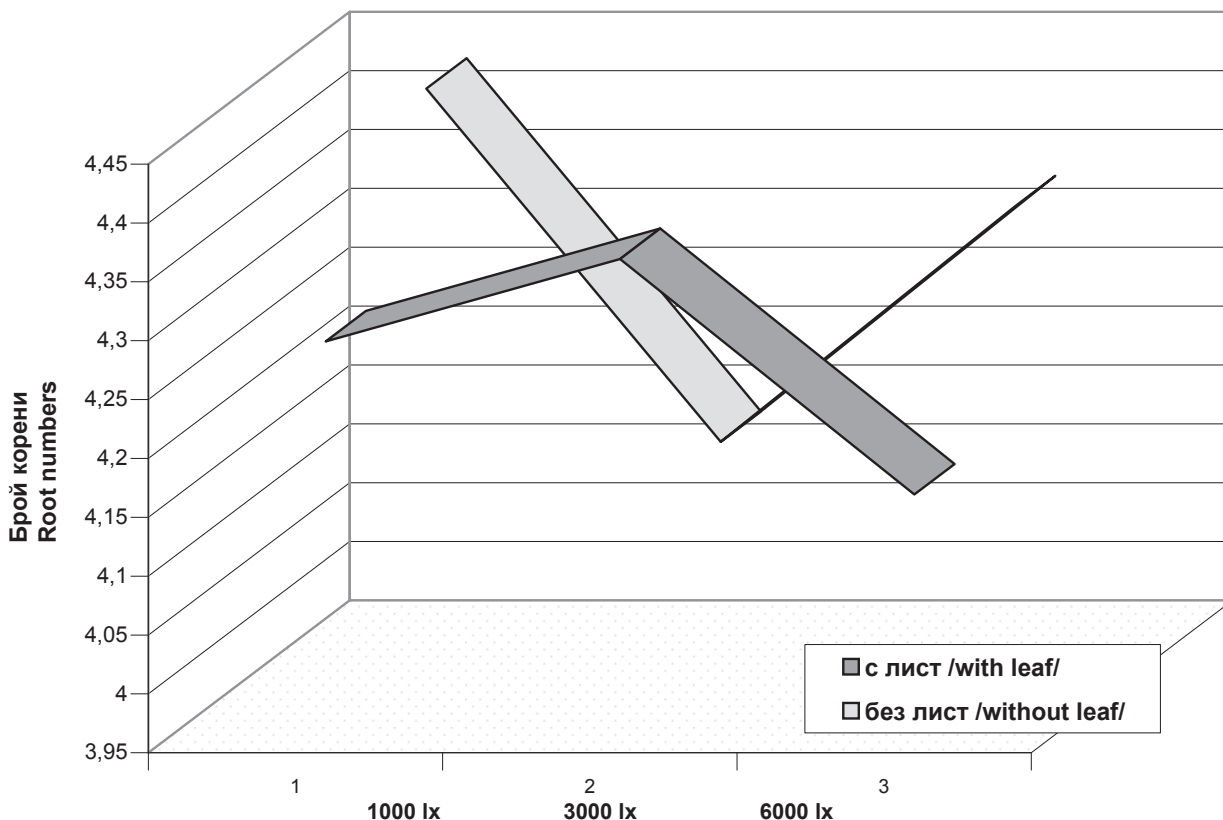
Влиянието на светлинния интензитет върху растежа на корените е представено на фиг. 2. Резултатите показват, че и при най-ниската и най-високата степен на осветяване няма различия в дължината на корените за 4-седмично култивиране на микрорезниците, от което става ясно, че интензивност на светлината 1000 lx е достатъчна за нормален ризогенез на хмел в условия *in vitro*. Установена е разлика само в нарастването на корените меж-

ду двете групи микрорезници – с лист и без лист, независимо от светлинния интензитет. Микрорезниците с прилежащ лист са формирали корени с дължина от 50,0 до 61,2 mm в изпитания светлинен диапазон. За същия период при същите условия микрорезници без лист имат дължина на корените 13,3 – 18,7 mm.

По-бързият темп на нарастване на корените, обусловено от присъствието на лист, а не от интензивността на светлината, обяснява от една страна ролята на прилежащия към микрорезниците лист за ускоряване на началния процес на фотосинтеза и корелативната връзка с процеса на ризогенез, а от друга – необходимостта от наличие на светлина и индиректното ѝ влияние за растежа на корените при *in vitro* култивиране на микрорезници от хмел.

Степента на интензивност на светлината има съществено значение за развитие на стъблената част на *in vitro* растенията от хмел. Значителни различия във времето, необходимо за израстване на летораслите до 120 mm са установени при различните степени на светлината и при двете групи микрорезници (табл. 1).

Най-бърз растеж на летораслите ( $27,63 \pm 1,88$  дни) е отчетен при интензивност на светлината 3000 lx в групата микрорезници с лист. Приложението на светлина с интензивност 1000 lx е недостатъчно, тъй



Фиг. 1. Формиране на корени на микрорезници от хмел в условия *in vitro* под влияние на различни степени на светлинния интензитет

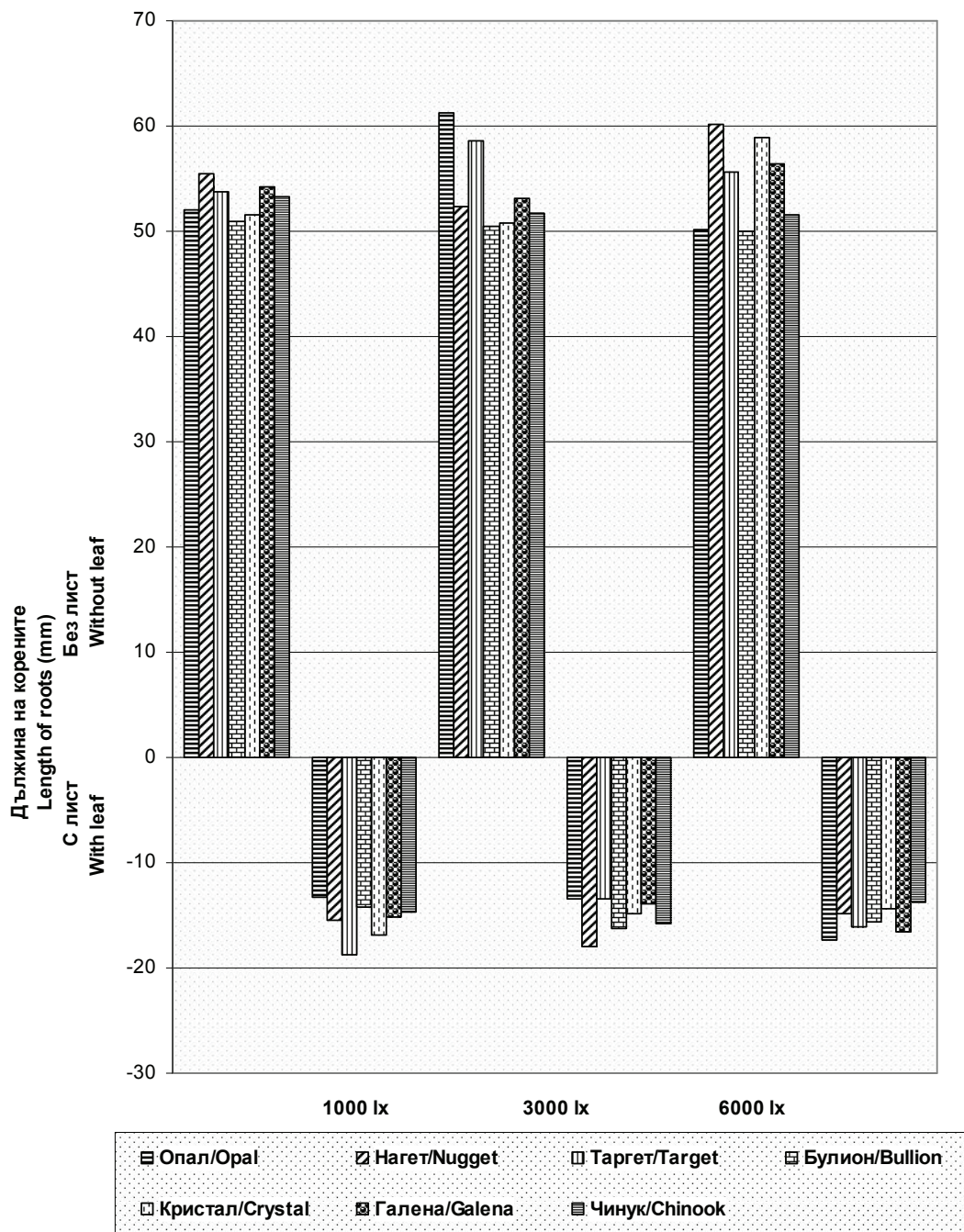
Fig. 1. Formation of roots on hop microcuttings *in vitro* under influence of different degrees of light intensity

като в същата група микрорезници нарастването на стъблата изостава с около 16 дни спрямо тези при 3000 lx. Високият светлинен интензитет – 6000 lx има потискащ ефект върху стъбления растеж. За нарастване на летораслите до 120 mm при този светлинен режим са необходими средно 74,11 ± 3,51 дни.

Същата закономерност е констатирана и при микрорезници без лист. За най-кратко време (36,20 ± 3,17

дни) летораслите нарастват до 120 mm при светлина с интензивност 3000 lx, докато за същия резултат при 1000 lx са необходими 55,21 ± 3,18 дни, а при 6000 luxa времето се удължава до 74,11 ± 3,51 дни.

При сравняване на резултатите между двете групи микрорезници от хмелни сортове се вижда, че и при трите режима на осветяване експлантите значително по-бързо нарастват когато са с прилежащ лист. При осветление с интензивност 1000 lx разли-



Фиг. 2. Влияние на интензивността на светлината за растежа на корените на *in vitro* растения от хмел

Fig. 2. Influence of the light intensity on the roots growth of hop plants *in vitro*

Таблица 1. Роля на светлината за нарастване на леторасли от хмел in vitro  
Table 1. Role of the light for shoots growth of hop in vitro

Cultivar	Light intensity					
	1000 lx		3000 lx		6000 lx	
	with leaf	without leaf	with leaf	without leaf	with leaf	without leaf
	days	days	days	days	days	days
Bullion	46,7 ± 2,5	52,5 ± 3,5	25,6 ± 1,8	37,9 ± 2,9	73,1 ± 3,2	86,1 ± 4,6
Cristal	42,1 ± 2,8	55,5 ± 3,3	28,4 ± 1,7	34,3 ± 3,5	79,4 ± 3,4	88,8 ± 4,9
Target	44,2 ± 2,9	60,4 ± 3,0	26,5 ± 1,9	36,0 ± 3,2	70,7 ± 3,3	83,6 ± 4,3
Chinuk	40,9 ± 2,9	58,7 ± 3,0	29,5 ± 1,9	35,0 ± 3,2	71,7 ± 3,3	86,6 ± 4,3
Naget	41,4 ± 2,8	54,5 ± 3,1	29,7 ± 2,1	40,0 ± 3,7	72,9 ± 3,8	78,6 ± 5,5
Opal	44,9 ± 3,1	55,2 ± 3,5	25,9 ± 2,1	36,3 ± 2,9	77,4 ± 3,0	88,1 ± 5,1
Galena	43,7 ± 2,6	50,0 ± 3,1	28,1 ± 1,6	33,9 ± 3,4	73,5 ± 4,0	82,5 ± 4,8
<b>Average</b>	<b>43,40 ± 2,78</b>	<b>55,21 ± 3,18</b>	<b>27,63 ± 1,88</b>	<b>36,20 ± 3,17</b>	<b>74,11 ± 3,51</b>	<b>84,90 ± 4,84</b>

ката във времето за нарастване на летораслите до 120 mm между микрорезници с лист и без лист е 11,81 дни, със светлинен режим 3000 лука – 8,57 дни и при 6000 lx – 10,79 дни.

Получените резултати позволяват заключение, че оптималният светлинен интензитет и наличието на прилежащ лист имат еднаква значимост за подпомагане на фотосинтетичната дейност на микрорезниците от хмел в in vitro условия и за ускоряване на общите растежни процеси.

### ИЗВОДИ

За процеса на коренообразуването на микрорезници от хмел в in vitro условия светлинният интензитет в диапазон от 1000 до 6000 lx влияе еднопосочно. Разликата в темпа на нарастване на корените е резултат от наличието на прилежащ към микрорезниците лист.

Най-бърз in vitro растеж на летораслите от хмел при изпитаните сортове се постига чрез култивиране на експлантите при интензивност на светлината 3000 lx.

Растежът на летораслите се ускорява и при трите степени на изпитания светлинен интензитет с наличие на прилежащ към микрорезниците лист.

### ЛИТЕРАТУРА

**Запрянов, З., Д. Димова.** 1995. Ръководство за упражнения по опитно дело с биометрия. Пловдив.

**Русева, Р.** 1999. Влияние на нивото на рН върху растежните реакции на няколко сорта хмел (*H. lupulus* L.) в култура in vitro. *Растениевъдни науки*, № 5, 262-264

**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

**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

**Gamborg, E. T., Murashige, T. Thorpe, K. Vasil.** 1976. Plant tissue culture media. *In vitro*, Vol. 12, № 7, 473-478

**Grenan, S.** 1979. Rhizogenese du bourgeons apicaux de boutures de vigne cultivees in vitro. *Vigne Vin*, 13, 125-130

**Kozai, T., C. Kubota, B. Jeong.** 2004. Environmental control for the large-scale production of plants through in vitro techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol. 51, № 1, 49-56

**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

**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

**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

**Schwekendiek, A.** 2008. A temporary immersion system for the effective micropropagation of hop. 2<sup>nd</sup> ISHS International Humulus Symposium, 1-5 September 2008, Ghent Belgium.

**Smykalová, 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