

## МИКРОРАЗМНОЖАВАНЕ НА *Actinidia arguta* Planch.

КРЪСТИНА КОРНОВА\*<sup>1</sup>, СТАМЕН ПОПОВ\*, ДОРА БОРИСОВА\*\*

\*Институт по овощарство, Пловдив

\*\*Опитна станция по земеделие, ДП Поморие

<sup>1</sup>E-mail: krasikor@abv.bg

## Micropropagation of *Actinidia arguta* Planch.

K. Kornova\*<sup>1</sup>, S. Popov\*, D. Borisova\*\*

\*Fruit Growing Institute, Plovdiv, Bulgaria

\*\*Experimental Station of Agriculture, Pomorie, Bulgaria

### Abstract

In the recent years, along with the mass propagation and breeding of kiwifruit of the species *Actinidia deliciosa*, increasingly marketed are also the kiwi of type *Actinidia arguta*. Its rapid distribution is due to the greater resistance to cold (-30°, -40 °C) and lack of pappuses on the fruits. The fruits have a very pleasant taste and a small size (10 – 30 g), so they are called mini-kiwi with green, pink, or burgundy color. Included in the investigation are four origins of *A. arguta* (A1 – A4) and the main factors for propagation *in vitro* were studied – putting into sterile culture, multiplication, rooting and planting under *ex vitro* conditions. A high proliferation was obtained when cultivating the micro plants in a modified MS medium. Two types of auxins were tested at the stage of rooting – IBA and IAA. A high percentage of rooting (88.6 – 100%) was achieved in both growth regulators, but the root system's habit and the life status of the micro plants are better with the participation of IAA. When planting and adapting to external conditions, a high percentage of transplantation with more vigorous growth was established.

**Key words:** kiwifruit, *Actinidia arguta*, *in vitro* propagation

Интересът към отглеждането на актинидията (*Actinidia deliciosa* Chev.) се дължи преди всичко на ценния биохимичен състав на плодовото месо, изключително богатото съдържание на витамин С, антиканцерогенните му свойства и редица други качества. Лимитиращ фактор за тази култура обаче е отглеждането в места, където липсват много ниски зимни температури. Поради тази причина разпространение напоследък намира друг вид актинидия – *Actinidia arguta*, която притежава същите ценни качества на плодовете, но същевременно има по-голяма студоустойчивост на отрицателни температури до -30 °C, -40 °C. Плодовете ѝ са по-малки от тези на *A. deliciosa*, поради което се наричат *мини киви*, без власинки, с много приятен вкус и със зелено, розово, или виненочервено оцветяване.

Един от основните начини за размножаване на актинидията е вкореняването на резници (Stanica et al., 2003). Навлизането на растителните биотехнологии, в т. ч. и метода *in vitro*, създават предпоставка за ускорено производство на автентичен посадъчен материал (Hernandez et al., 1997; MacRae, 2007; Xiloyannis et al., 1997; Xu et al., 2003). В тази връзка съществуват редица изследвания относно факторите за осъществяване на микроразмножителния процес. Harada (1975) при *in vitro* размножаване на *A. chinensis* Pl., установява по-голяма пролиферация при включване на zeatin. Bini (1979) постига коефициент на мултипликация 10 чрез прилагане на BAP, или zeatin в концентрация 1 mg/l, а Standardi (1983)

добавя и GA<sub>3</sub>. В други изследвания, Wiyarom et al. (1990) наблюдават успешна пролиферация при сорта Bruno чрез използване на стъблени сегменти, поставени в среда MS (Murashige and Skoog, 1962) с добавяне на 2iP. Добро коренообразуване е постигнато при отглеждане на микрорастенията в ½ MS среда с 0,5 mg/l BA, 0,5 mg/l NAA и 3,0 g/l активен въглен. Подобни изследвания с различни сортове актинидия провеждат и други автори, където се акцентира върху участието на цитокинини и ауксини (Chiarotti et al., 1991; Feito et al., 1995). Корнова и Попов (2009a) установяват оптимално корено образуване при сортовете Tomuri и Hayward след отглеждане в среда с 0,5 mg/l IAA. Засаждането на вкоренените растения *ex vitro* е довело до висок процент на прихващане (92,1 – 98,5) с интензивно нарастване на стъблената част (Корнова и Попов, 2009b). Изследванията относно *in vitro* размножаване на киви касаят основно сортове от *A. deliciosa* Chev. и в тази връзка липсват проучвания с *A. arguta* Planch.

Целта на проведеното изследване беше да се установят технологичните фактори при микроразмножаване на *A. arguta* за постигане на оптимални стойности при мултипликация, вкореняване и адаптиране към външни условия. Получените резултати ще бъдат основа за масово производство на този нов за страната вид.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено през периода 2011 – 2012 г. в производствената лаборатория за микрора-

змножаване на посадъчен материал към ИО – Пловдив. В стерилна култура са въвеждани четири произхода на вида *Actinidia arguta*: **A1** и **A2** – двудомни растения с произход ОС – Поморие; **A3** – двудомно растение с произход Пловдив; **A4** – сорт *Purpurina Sadowa* (женски), внесен от Холандия.

Дезинфекцията на изходния растителен материал е извършвана с 5% разтвор на  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  за 6 минути. В етапа на мултипликация са изпитвани хранителни среди с основа MS, с модифициран минерален състав и наличие на BAP в различни концентрации. В процеса на вкореняване на микрорастенията е прилагана среда с  $\frac{1}{2}$  минерални елементи MS и участие на ауксините IBA (**V1**) и IAA (**V2**) в концентрация 0,5 mg/l.

През целия период на размножаване *in vitro* микрорастенията са отглеждани в растежна камера при температура 24 °C интензивност на светлина 3000 lux и фотопериод 16/8 часа ден/нощ.

Адаптирането на растенията към външни условия е извършвано в стоманено-стъклена оранжерия върху стелажи, покрити с антикондензно полиетиленово фолио. Растенията са засаджани във форми за

разсад, запълнени с торфено-перлитна смес.

Отчитани са показателите: коефициент на мултипликация, процент на вкореняване, среден брой корени, средна дължина на коренче, средна височина на стъблената част, процент успешно прихванати и адаптирани растения при засаждане *ex vitro*. Математическата обработка е извършена чрез метода ANOVA.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

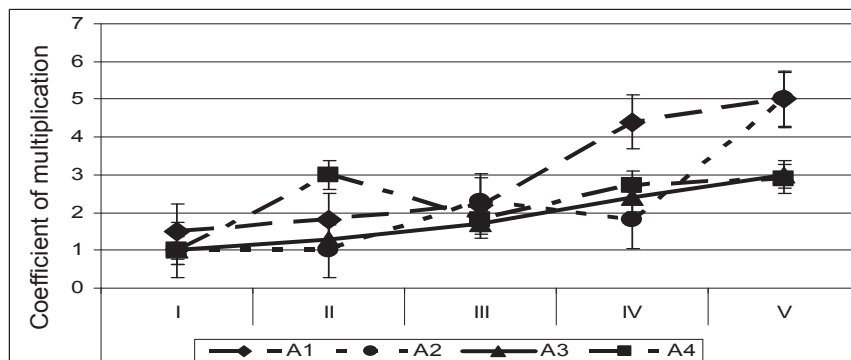
При въвеждане в стерилна култура най-добра дезинфекция е постигната при двудомното растение с произход Пловдив (A3) и сорт *Purpurina Sadowa* (A4), съответно 80% и 90% стерилни жизнени култури. При растенията с произход Поморие (A1 и A2) процентът на стерилност беше по-нисък, съответно 68,7% и 65,4%, вероятна причина за което е по-големият времеви преход на изходния растителен материал до Пловдив.

В етапа на мултипликация, най-добра пролиферация е постигната при отглеждане на микрорастенията в модифицирана по отношение на минералния състав хранителна среда MS с участие на BAP 0,5 – 0,7 mg/l. Всички растения

от изпитваните произходи *A. arguta* бяха с добър жизнен статус, но с определена специфика по отношение коефициента на мултипликация. При тези, с произход Поморие, до 3-то субкултивиране бе наблюдавано плавно нарастване на мултипликационната норма (2,2, 2,3) и в 4-то и 5-то тя нараства до 4,4, 5,0 (фиг. 1). При другите два произхода – A3 и A4 коефициентът на мултипликация бе с по-малки, но достатъчно добри стойности, съответно 3,5 и 2,8 в 5-и пасаж.

В периода на вкореняване, на размножените микрорастения и при 4-те произхода *A. arguta* бе наблюдавано много добро коренообразуване в рамките на 88,6 – 100% (фиг. 2). В същото време влиянието на двата проучвани ауксина – IBA и IAA бе ясно изразено. Независимо че и двете киселини индуцират висок ризогенез при вариантите с участие на IBA и при 4-те произхода е установено образуване на калусна структура, докато при наличието на IAA тя липсва.

Тенденция за по-добри резултати при участие на IAA е установена и по отношение индуцирания среден брой коренчета и тяхната дължина (фиг. 3, а, б). С изключение на произход A1 растенията, отглеждани в среда V2 са с по-голям среден брой коренчета, в рамките на 5 – 8 mm до 15 mm (A4). Средната дължина на коренчетата също варира, като при произходи A3 и A4 отново е с по-високи стойности след отглеждане с

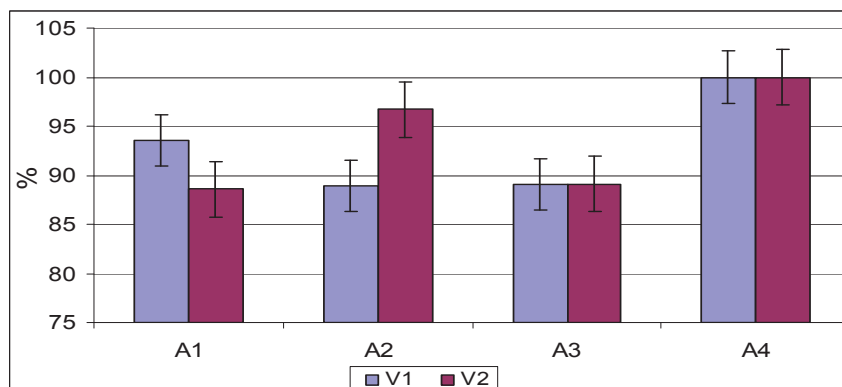


Фиг. 1. Коефициент на мултипликация при микроразмножаване на *A. arguta* в I – IV субкултивиране

Баровете показват стандартната грешка.

Fig. 1. Coefficient of multiplication for micropropagation of *A. arguta* in I – IV subcultivation

The bars show the standard error.

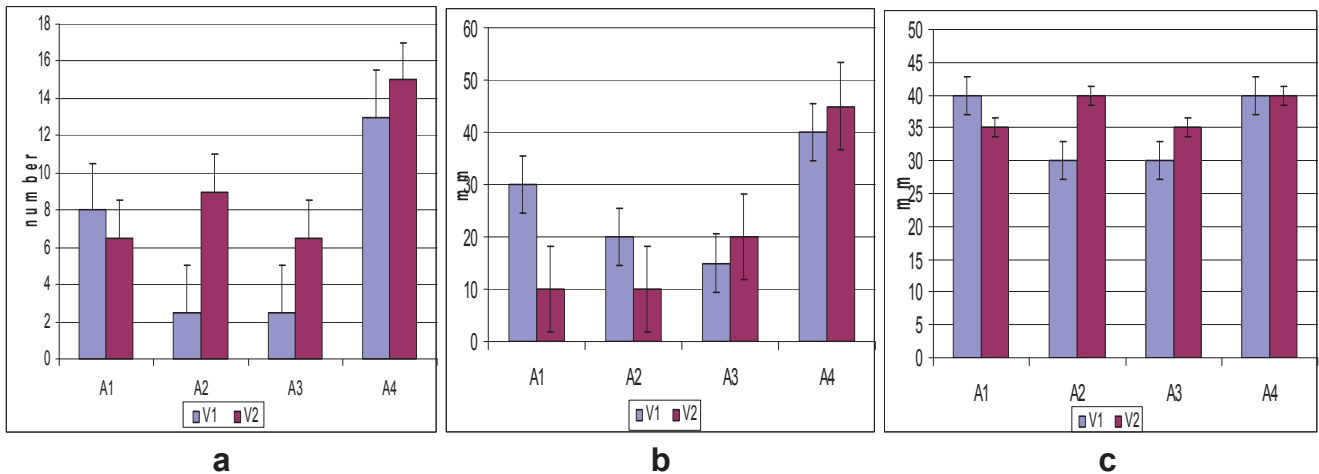


Фиг. 2. Процент на вкореняване при четири произхода на *A. arguta* с участие на 0,5 mg/l IBA (V1) и IAA (V2)

Баровете показват стандартната грешка.

Fig. 2. Rooting percentage of the four origins of *A. arguta* supplemented with 0.5 mg/l IBA (V1) and IAA (V2)

The bars show the standard error.



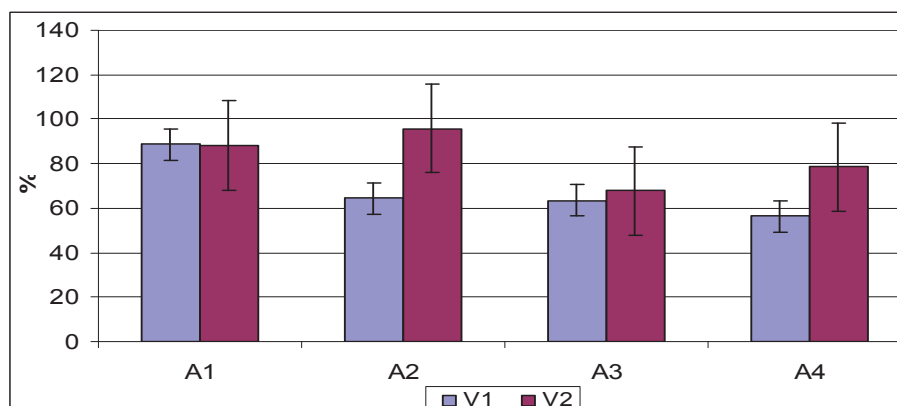
Фиг. 3. Среден брой корени (а), средна дължина на корен (b) и средна височина на стъблото (с) при вкореняване на четири произхода *A. arguta* с участие на 0,5 mg/l IBA (V1) и IAA (V2)  
 Баровете показват стандартната грешка.  
 Fig. 3. Mean number of roots (a), mean root length (b) and mean stem height (c) in the rooting of four origins *A. arguta* with 0.5 mg/l IBA (V1) and IAA (V2)  
 The bars show the standard error.



Фиг. 4. Вкоренени микрорастения от сорт *Purpurna sadova*  
 Fig. 4. Rooted microplants of *Purpurna sadova* variety

участие на IAA. По отношение на средната височина на стъблената част, на микрорастенията не бе установена съществена разлика (30 – 40 mm) с лек превес на стойностите отново при растенията, отглеждани в хранителна среда с участие на IAA (фиг. 3, с).

Най-добри резултати и отличен жизнен статус бяха констатирани при растенията от сорта *Purpurna Sadova* с произход Холандия (A4), отглеждани в хранителна среда с участие на IAA (фиг. 4). При тях бе постигнато 100% вкореняване без индукция на калус в основата на стъблената част, коренова система под форма на звезда, със среден брой и средна дължина на коренчетата, съответно – 15 бр. и 45 mm.



Фиг. 5. Процент на прихващане при засаждане на проучваните четири произхода *A. arguta* в ex vitro условия, вкоренявани в хранителна среда с 0,5 mg/l IBA (V1) и IAA (V2)  
 Баровете показват стандартната грешка.

Fig. 5. Percentage of survival when planting the studied four origins *A. arguta* under ex vitro conditions, rooted in nutrient media with 0.5 mg/l IBA (V1) and IAA (V2)  
 The bars show the standard error.



Фиг. 6. Адаптирани в *ex vitro* условия микроразмножени растения от *A. arguta*

Fig. 6. Adapted to *ex vitro* conditions micropropagated plants of *A. arguta*

При засаждане на размножените и вкоренени микрорастения за адаптация към външни условия, по-добър процент на прихващане отново бе установен при растенията, отглеждани в хранителна среда с участие на IAA. Този път обаче е установен превес при растенията с произход Поморие (A1 и A2), съответно 88,1% и 95,8%, докато при останалите два произхода преживяемостта на микрорастенията е 67,7% и 78,5% (фиг. 5). Независимо от посочените различия, засадените растения и от 4-те произхода на *A. arguta* се адаптираха много добре към *ex vitro* условия (фиг. 6) с индукция на интензивен вегетативен растеж чрез нарастване на стъблената и листната маса.

### ИЗВОДИ

Резултатите от проведеното изследване показват, че е установен протокол за успешно размножаване *in vitro* на вида *A. arguta*. Добра дезинфекция на изходния растителен материал се постига чрез третиране с 5% калциев хипохлорид, с период на въздействие 6 минути. Оптимална пролиферация може да бъде проявена при отглеждане в хранителна среда MS, модифицирана по отношение на минералния състав с участие на BAP 0,5 – 0,7 mg/l.

Много добър процент на ризогенез е установен при отглеждане на микрорастенията в хранителна среда и с двата проучвани ауксина – IBA и IAA, но първият индуцира образуване на калусна структура в основата на стъблената част. Вкореняването

на растенията в среда с участие на IAA спомага за образуване на по-голям среден брой коренчета, с по-голяма дължина.

Всички растения от проучваните произходи *A. arguta*, се адаптират и прихващат много добре при засаждане в *ex vitro* условия, след което започва интензивен вегетативен растеж.

### ЛИТЕРАТУРА

Корнова, К., С., Попов. 2009а. Микроразмножаване на киви (*Actinidia chinensis*). I. Вкореняване *in vitro*. *Растениевъдни науки*, 46, 108-111

Корнова, К., С., Попов. 2009б. Микроразмножаване на киви (*Actinidia chinensis*). II. Адаптиране към нестерилни условия. *Растениевъдни науки*, 46, 112-115

Bini, G. 1979. Moltiplicazione *in vitro* di *Actinidia chinensis* Pl. Tecniche di colture *in vitro* per la propagazione su vasta scala delle specie ortoflorofruitticole. Pistoia. p. 211-218

Chiariotti, A., E. Caboni, A. Frattarelli. 1991. Shoot regeneration from *in vitro* roots of kiwi. *Acta Horticulturae*, 289, 97-100

Feito, I., A. Rodriguez, M. Centeno, R. Sanches-Tames, B. Fernandez. 1995. Effect of applied benzyladenine on endogenous cytokinin content during the early stages of bud development of kiwifruit. *Physiologia Plantarum*, 95, 241-246

Harada, H. 1975. *In vitro* organ culture of *Actinidia chinensis* Pl. as a technique for vegetative multiplication. *J. Hort. Sci.*, 50, 81-83

Hernandez, D., M. Belen, M. Ara, J. C. Garsia Rubio, J. Berrios. 1997. Performance of kiwifruit plant material propagated by different methods. *Acta Horticulturae*, 444, 155-162

MacRae, E. A. 2007. Can biotechnology help kiwifruit breeders? *Acta Horticulturae*, 753, 129-138

Murashige, T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497

Standardi, A. 1983. La "micropropagazione" nella moltiplicazione dell' actinidia. *Frutticoltura*, 45, 17-22

Stanica, F., Peticila, A., Davidescu, V., Dumitrascu, M., Madjar, R. 2003. Use of composed rooting substrates for kiwifruit (*Actinidia* sp.). *Hardwood cuttings propagation. Acta Horticulturae*, 608, 249-251

Wiyaporn, S., S. Subhadrabandhu, O. Sahavacharin. 1990. *In vitro* vegetative multiplication of kiwi plant. *Acta Horticulturae*, 279, 447-460

Xiloyannis, C., V. Nuzzo., R. Massai, D. Piccotino, G. Baroni. 1997. Vegetative growth, yield and root development in kiwifruit plants by different propagation techniques. *Acta Horticulturae*, 444, 145-148

Xu, X., X. Yao, H. Chen. 2003. Application of modern biotechnology on kiwifruit. *Acta Horticulturae*, 610, 525-531