

Proučavanje faktora koji utiču na formiranje kalusa u kulturi antera breskve i šljive

Durđina Ružić
Radosav Cerović
Nikola Mičić

Institut „Srbija“
Centar za voćarstvo i vinogradarstvo, Čačak

Sadržaj: Kalusno tkivo u kulturi antera predstavlja prelaznu fazu jer u specifičnim uslovima kultivisanja može postati embriogeno i voditi ka androgenezi. Od brojnih faktora koji utiču na formiranje embriogenih struktura proučavani su: temperaturno–svetlosni tretmani, pretretman hlađenja, stadijum mikrosporogeneze i hranljive podloge. Kultivisane su antere dve cvs breskve (Julija i Redhaven) i tri cvs šljive (Požegača, Vangenhajmova i Čačanska lepotica), na dva medijuma, tri temperaturno–svetlosna tretmana i jedan pretretman hlađenja na +4°C (7, 14 i 21 dan). Fluorescentnom tehnikom, bojenjem sa DAPI utvrđivan je jedarni stadijum antera. Najveći procenat kalusiranja dala je cv Redhaven (66,48%) na NN medijumu, kada su kulture držane u mraku na 25°C do indukovanja kalusa, a zatim iznošene na svetlo i istu temperaturu. Razvijeni kalusi razlikovali su se po boji i teksturi. Histološkom analizom u kalusima nisu uočene strukture koje bi ukazivale na pojavu somatskih embriona.

Ključne reči: Breskva, šljiva, kultura antera, *in vitro*, haploidi, kalusi.

Uvod

Glavni značaj haploida u voćarstvu, dobijenih metodom kulture tkiva, je u stvaranju čistih linija kod stranooplodnih genotipova ili skraćanju klasičnog postupka putem inbridinga. Značaj čistih linija je u tome što omogućavaju citogenetička, genetička i biohemijska proučavanja, koja predstavljaju osnov u oplemenjivačkom radu.

Haploidi se *in vitro* formiraju ili direktnom androgenezom, ili organogenezom iz haploidnog kalusa. Tako kalusi u kulturi antera predstavljaju prelaznu fazu koji u specifičnim uslovima kultivisanja mogu postati embriogeni i voditi ka androgenezi.

Totipotentna priroda polenovih zrna je iskorišćena u dobijanju haploida *in vitro* mnogih biljnih vrsta, ali je prema literaturnim podacima androgeneza bila uspešna uglavnom kod vrsta iz familija *Solanaceae* i *Gramineae*. Glavni podstrek ovim istraživanjima dala su proučavanja Guha i Maheshwari (1964), koji su dobili embriogene strukture u kulturi antera *Datura innoxia* i kasnije potvrdili njihovo poreklo iz polenovih zrna.

Kod voćnih kultura su uglavnom regenerisani kalusi. Tako rani radovi počinju sa rizogenezom kalusa u kulturi antera jabuke (Nakayama et al., 1971); rizogeneza kalusa kod *P. avium* (Jordan, 1974); Michellon et al. (1974) su kod *P. persica* i *P. amygdalus* regenerisali kaluse iz filameta i unutrašnjosti antera; Milewska-Pawliczuk i Kubicki (1977) su kod jabuke cv Jonatan dobili kalus iz zida antera i embrione u globularnom stadijumu; kaluse kod breskve (Ognjanov, 1988); kaluse kod *Prunus spp.* (Mičić et al., 1996). Uspešna indukcija izdanaka i diferencijacija korenova dobijena je kod *Vitis* (Hirabayshi et al., 1976); regeneraciju izdanaka iz kalusa antera trešnje cv Ferracida (Seirlis et al., 1979); i kod jabuke *Malus pumila* Mill., Zou i Li (1981) su regenerisali haploidne biljke koje su uspešno aklimatizovali.

Cilj ovih istraživanja je da se prouče određeni fiziološki uslovi za dobijanje haploida koštičavih voćnih vrsta androgenezom radi dobijanja čistih linija.

Materijal i metode

Od brojnih faktora koji utiču na formiranje embriogenih struktura proučavani su: temperaturno-svetlosni tretmani, pretretman hlađenja, stadijum mikrosporogeneze i hranljive podloge.

Antere breskve cvs Julija i Redhaven su postavljene na medijume Murashige i Skoog (1962) (MS) i Nitsch i Nitsch (1969) (NN) na tri temperaturno-svetlosna tretmana, dok su antere šljive cvs Čačanska lepatica, Vangenhajmova i Požegača kultivisane na NN medijumu sa pretretmanom hlađenja na +4°C (u tri termina dužine trajanja hlađenja -7, 14 i 21 dan) (Tab. 1).

Tab. 1 – Hranljive podloge, tretmani i pretretmani
Nutrient media, treatments and pretreatments

| Br. med. <i>Number of med.</i> | Hranljiva podloga <i>Nutrient medium</i> | Hormonska kombinacija (mg l ⁻¹) <i>The combination of hormones (mg l⁻¹)</i> | Temp. – svetlosni tretmani <i>Temperature – light treatments</i> |
|-----------------------------------|---|---|---|
| 1 | NN | BAP 0,5+2,4-D 1,0 | 25°C (mrak – do pojave kalusa) <i>25°C (dark – up to the emergence of callus)</i> |
| 2 | ” | BAP 0,5+2,4-D 1,0 | 7 dana na +4°C (mrak) <i>7 days at +4°C (dark)</i> |
| 3 | ” | BAP 0,5+2,4-D 1,0 | 25°C (konstantno na svetlu) <i>25°C (permanently on light)</i> |
| 4 | MS 1/2 | BAP 0,5 + 2,4-D 1,0 | 25°C (mrak – do pojave kalusa) <i>25°C (dark – up to the emergence of callus)</i> |
| 5 | ” | BAP 0,5 + 2,4-D 1,0 | 7 dana na +4°C (mrak) <i>7 days at +4°C (dark)</i> |
| 6 | NN | BAP 0,5 + 2,4-D 1,0 | 7,14,21 dan na +4°C (mrak) <i>7^h, 14^h, 21^h day at +4°C (dark)</i> |
| 7 | ” | Kinetin 1,5 + NAA 2,0 | 7,14,21 dan na +4°C (mrak) <i>7^h, 14^h, 21^h day at +4°C (dark)</i> |

