

ICES.

THE

89) is a
ountain
applied
papers
eeding,
utions

ISSN 1311-0489

National Centre For Agricultural Sciences

CONTENTS

СЪДЪРЖАНИЕ

<p>Study of reproductive ability and its relationship to milk productivity in the Bulgarian Friesian cattle L. Gavrilov, D. Ganchev</p>	<p>Изследване на репродуктивната способност и нейната връзка с млечната продуктивност при българските фризийски крави Л. Гаврилов, Д. Ганчев</p>
<p>Productive indices of sheep from Tabor breed raised in the Balkans D. Ganchev, G. Ganchev</p>	<p>Производителни показатели на овци от пород Табора отглеждани в Балканите Д. Ганчев, Г. Ганчев</p>
<p>Stockbreeding and Agriculture in the Balkans D. Ganchev</p>	<p>Стойловъдство и земеделие в Балканите Д. Ганчев</p>
<p>Study of the soil biological structure in ewes from Strupnitsa and Tondoupled Tabor D. Ganchev</p>	<p>Изследване на биологичната структура на почвата при овци от пород Струпец и Тондоупъл Табора Д. Ганчев</p>
<p>Feed production E. Vasilov, V. Vasilov</p>	<p>Производство на фуражи Е. Василев, В. Василев</p>
<p>Economic evaluation of sheep from Strupnitsa and Tondoupled Tabor E. Vasilov, V. Vasilov</p>	<p>Икономическа оценка на овци от пород Струпец и Тондоупъл Табора Е. Василев, В. Василев</p>

JOURNAL OF MOUNTAIN AGRICULTURE ON THE BALKANS

Volume 9

Number 7, 2006

Published by
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture
Troyan, Bulgaria

ВЛИЯНИЕ НА ВИДА И КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА АУКСИНИТЕ ВЪРХУ ВКОРЕНЯВАНЕТО НА ЧЕРЕШОВАТА ПОДЛОЖКА ГИЗЕЛА 5 (CHERRY DWARF ROOTSTOCK) IN VITRO

Л. Начева, П. Герчева

Институт по овощарство – Пловдив

THE EFFECT OF AUXIN TYPE AND CONCENTRATION ON *IN VITRO* ROOTING OF GISELA 5 (CHERRY DWARF ROOTSTOCK)

L. Nacheva, P. Gercheva

Fruit-Growing Institute – Plovdiv

РЕЗЮМЕ

Слаборастящата черешова подложка Гизела 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*) е много перспективна за развитието на модерни интензивни черешови насаждения. В научната литература има единични съобщения за микроразмножаване на Гизела 5 и поведението ѝ в *in vitro* култура.

Цел на настоящото проучване е да се оптимизира вкореняването на микроразмножени растения от черешова подложка Гизела 5 чрез вариране на вида и концентрацията на включените в хранителната среда ауксини.

Изследвани са ауксините IBA (0.2, 0.5, 1 и 0 mg/l), NAA (0.1, 0.3mg/l), IAA (0.3, 0.5mg/l).

Най-висок процент на вкореняване 30 дни след залагане на опита е отчетен на среда, съдържаща ½ MS и 0.2 mg/l IBA.

За адаптация към външни условия са залагани вкоренените растения, както и тези, развили само калус в основата на стъблото. Растенията са в много добро физиологично състояние и успешно

SUMMARY

Gisela 5 cherry dwarf rootstock is perspective for the development of modern intensive cherry plantations.

There are single announcements in scientific literature about micropropagation of Gisela 5 and its habit in *in vitro* culture.

The aim of the present study was to optimize rooting of micropropagated plants of Gisela 5 cherry rootstock by variations in the type and concentrations of the auxins added to the nutrient medium.

The auxins IBA (0.2, 0.5, 1 and 0 mg/l), NAA (0.1, 0.3mg/l) and IAA (0.3, 0.5mg/l) were included in the experiment.

The highest rooting percentage was reported on a medium containing ½ MS and 0.2 mg/l IBA 30 days after setting the experiment.

All the rooted plants were set for adaptation to *ex vitro* conditions, including those which had developed only callus at the stem base.

Both types of plants were of a very good physiological status and were successfully adapted to *ex vitro* conditions (above 90 %)

проучване е да се оптимизира вкореняването на микроразмножени растения от черешова подложка Гизела 5 чрез вариране на вида и концентрацията на включените в хранителната среда ауксини.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Растителен материал

Изследванията са проведени с микроразмножени растения на клоновата подложка за череша – Гизела 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*) в Лабораторията по Биотехнологии на Институт по Овощарство-Пловдив.

Изходните растения са свободни от вируси и се отглеждат в поле-изолатор на Институт по Овощарство - Пловдив при непрекъснат фитосанитарен контрол.

Вкореняване

Получените в процеса на мултипликация леторастчета са удължени на безхормонална хранителна среда по MS (Murashige and Skoog, 1962) за 10 дни. Връхчета с височина около 15 мм са заложени за вкореняване на хранителна среда по MS с редуцирано наполовина съдържание на макроелементи, 20 g/l захароза без ауксини, както и на варианти с различно съдържание на ауксини - IBA (0.2, 0.5, 1.0mg/l), NAA (0.1, 0.3mg/l), IAA (0.3, 0.5mg/l).

За всеки вариант са

was to optimize rooting of micropropagated plants of Gisela 5 cherry dwarf rootstock by variations in the type and concentrations of the auxins added to the nutrient medium.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material

Studies were carried out with micropropagated plants of the clonal cherry dwarf rootstock Gisela 5 in the Laboratory of Biotechnologies at the Fruit-Growing Institute – Plovdiv.

The virus-free source plants were grown in an isolated field of the Fruit-Growing Institute – Plovdiv under permanent phytosanitary control.

Rooting

The shootlets obtained in the process of multiplication were elongated on hormone-free MS nutrient medium (Murashige and Skoog, 1962) for 10 days. Apical cuttings of about 15 mm height were set for rooting on MS nutrient medium with macroelements reduced half, 20 g/l of sucrose without auxins or in variants with different content of auxins – IBA (0.2, 0.5, 1.0 mg/l), NAA (0.1, 0.3 mg/l), IAA (0.3, 0.5 mg/l).

By 30 plants were set in tubes for each variant, in three

проучване е да се оптимизира вкореняването на микроразмножени растения от черешова подложка Гизела 5 чрез вариране на вида и концентрацията на включените в хранителната среда ауксини.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Растителен материал

Изследванията са проведени с микроразмножени растения на клоновата подложка за череша – Гизела 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*) в Лабораторията по Биотехнологии на Институт по Овощарство-Пловдив.

Изходните растения са свободни от вируси и се отглеждат в поле-изолатор на Институт по Овощарство - Пловдив при непрекъснат фитосанитарен контрол.

Вкореняване

Получените в процеса на мултипликация леторастчета са удължени на безхормонална хранителна среда по MS (Murashige and Skoog, 1962) за 10 дни. Връхчета с височина около 15 мм са заложени за вкореняване на хранителна среда по MS с редуцирано наполовина съдържание на макроелементи, 20 g/l захароза без ауксини, както и на варианти с различно съдържание на ауксини - IBA (0.2, 0.5, 1.0mg/l), NAA (0.1, 0.3mg/l), IAA (0.3, 0.5mg/l).

За всеки вариант са

was to optimize rooting of micropropagated plants of Gisela 5 cherry dwarf rootstock by variations in the type and concentrations of the auxins added to the nutrient medium.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material

Studies were carried out with micropropagated plants of the clonal cherry dwarf rootstock Gisela 5 in the Laboratory of Biotechnologies at the Fruit-Growing Institute – Plovdiv.

The virus-free source plants were grown in an isolated field of the Fruit-Growing Institute – Plovdiv under permanent phytosanitary control.

Rooting

The shootlets obtained in the process of multiplication were elongated on hormone-free MS nutrient medium (Murashige and Skoog, 1962) for 10 days. Apical cuttings of about 15 mm height were set for rooting on MS nutrient medium with macroelements reduced half, 20 g/l of sucrose without auxins or in variants with different content of auxins – IBA (0.2, 0.5, 1.0 mg/l), NAA (0.1, 0.3 mg/l), IAA (0.3, 0.5 mg/l).

By 30 plants were set in tubes for each variant, in three

заложен трикратно по 30 растения в епруветки. Процентът на вкореняване и процентът на растения с калусирал край на стъблото са отчетени на 20^{тия} и 30^{тия} ден.

Всички *in vitro* растения са култивирани в фитостатна камера с температура $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ и фотопериод 16/8 часа ($40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ФАР).

Адаптация

Адаптацията на растенията се извършва в саксийки с торфено-перлитна смес, поставени във влажни камерки при температура $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ и фотопериод 16 часа ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ФАР).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проведените изследвания показват, че както вида, така концентрацията на ауксините в хранителната среда повлияват вкореняването на *in vitro* размножени растения от черешовата подложка Гизела 5 (фигура 1, фигура 2).

Нашите експерименти показват, че от трите изследвани ауксина IBA е най-подходящият за вкореняване на подложката Гизела 5. Най-висок процент вкореняване 30 дни след залагане на опита е отчетен на среда, съдържаща 0.2 mg/l IBA - 81.6%. Fidanci and al. (2005) установяват най-добро вкореняване на Гизела 5 (95-100%) на среди с 1.0 mg/l IBA, а

репликации. Процентът на вкореняване и процентът на растения с калусирал край на стъблото са отчетени на 20^{тия} и на 30^{тия} ден.

All the *in vitro* plants were cultivated in growth chamber at a temperature of $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and 16/8 hour photoperiod ($40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ FAR).

Acclimatization

Plants acclimatization was carried out in pots with peat-perlite mixture placed in humid chambers at $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature and 16-hour photoperiod ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ FAR).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the conducted studies showed that both the species and the concentration of the auxins in the nutrient medium affected rooting of the *in vitro* propagated plants of Gisela 5 cherry dwarf rootstock (Fig. 1, Fig. 2).

Our experiments showed that IBA was the most suitable of the three tested auxins for rooting of Gisela 5 rootstock.

The highest rooting percentage 30 days after setting the experiment was reported on a medium containing 0.2 mg/l of IBA - 81.6%. Fidanci et al. (2005) established the best rooting of Gisela 5 (95-100%) on media containing 1.0 mg/l of IBA and

заложили трикратно по 30 растения в епруветки. Процентът на вкореняване и процентът на растения с калусирал край на стъблото са отчетени на 20^{тия} и 30^{тия} ден.

Всички *in vitro* растения са култивирани в фитостатна камера с температура $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ и фотопериод 16/8 часа ($40\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ФАР).

Адаптация

Адаптацията на растенията се извършва в саксийки с торфено-перлитна смес, поставени във влажни камерки при температура $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ и фотопериод 16 часа ($60\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ФАР).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проведените изследвания показват, че както вида, така концентрацията на ауксините в хранителната среда повлияват вкореняването на *in vitro* размножени растения от черешовата подложка Гизела 5 (фигура 1, фигура 2).

Нашите експерименти показват, че от трите изследвани ауксина IBA е най-подходящият за вкореняване на подложката Гизела 5. Най-висок процент вкореняване 30 дни след залагане на опита е отчетен на среда, съдържаща $0.2\ \text{mg/l}$ IBA - 81.6%. Fidanci and al. (2005) установяват най-добро вкореняване на Гизела 5 (95-100%) на среди с $1.0\ \text{mg/l}$ IBA, а

репликации. Процентът на вкореняване и процентът на растения с калусирал край на стъблото са отчетени на 20^{тия} и на 30^{тия} ден.

All the *in vitro* plants were cultivated in growth chamber at a temperature of $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ and 16/8 hour photoperiod ($40\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ FAR).

Acclimatization

Plants acclimatization was carried out in pots with peat-perlite mixture placed in humid chambers at $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature and 16-hour photoperiod ($60\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ FAR).

RESULTS AND DISCUSSION

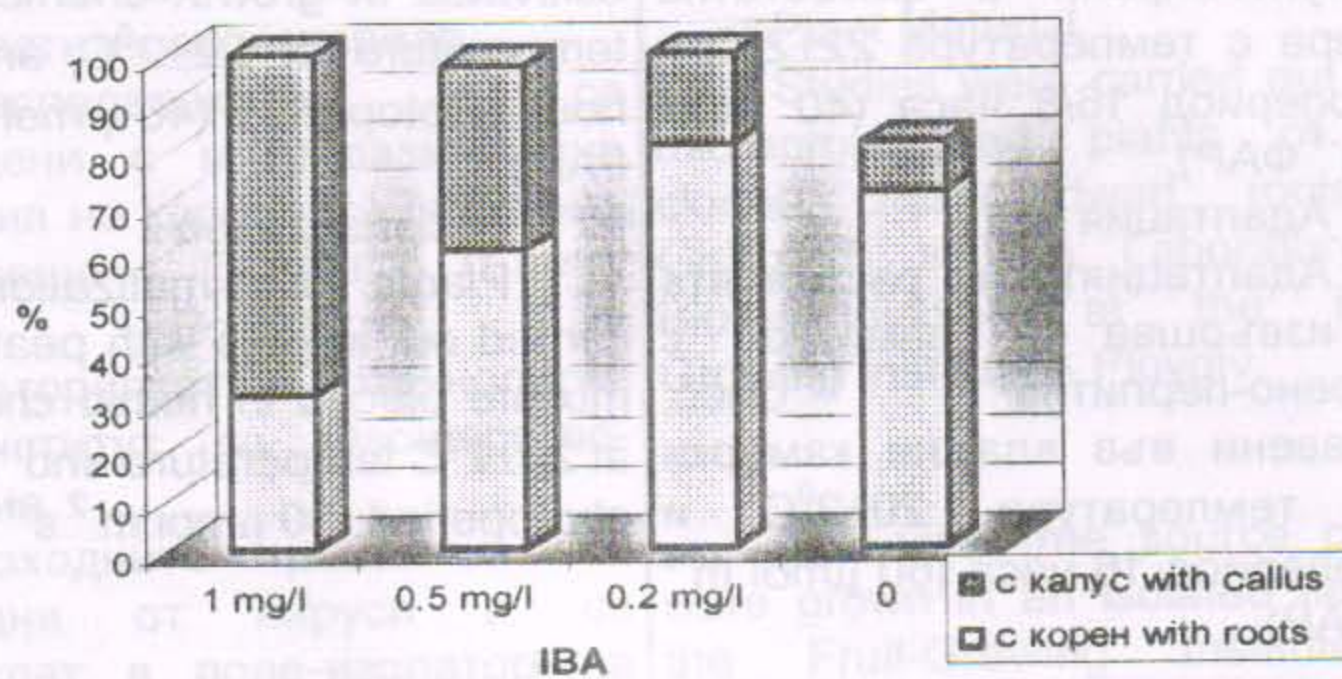
The results of the conducted studies showed that both the species and the concentration of the auxins in the nutrient medium affected rooting of the *in vitro* propagated plants of Gisela 5 cherry dwarf rootstock (Fig. 1, Fig. 2).

Our experiments showed that IBA was the most suitable of the three tested auxins for rooting of Gisela 5 rootstock.

The highest rooting percentage 30 days after setting the experiment was reported on a medium containing $0.2\ \text{mg/l}$ of IBA - 81.6%. Fidanci et al. (2005) established the best rooting of Gisela 5 (95-100%) on media containing $1.0\ \text{mg/l}$ of IBA and

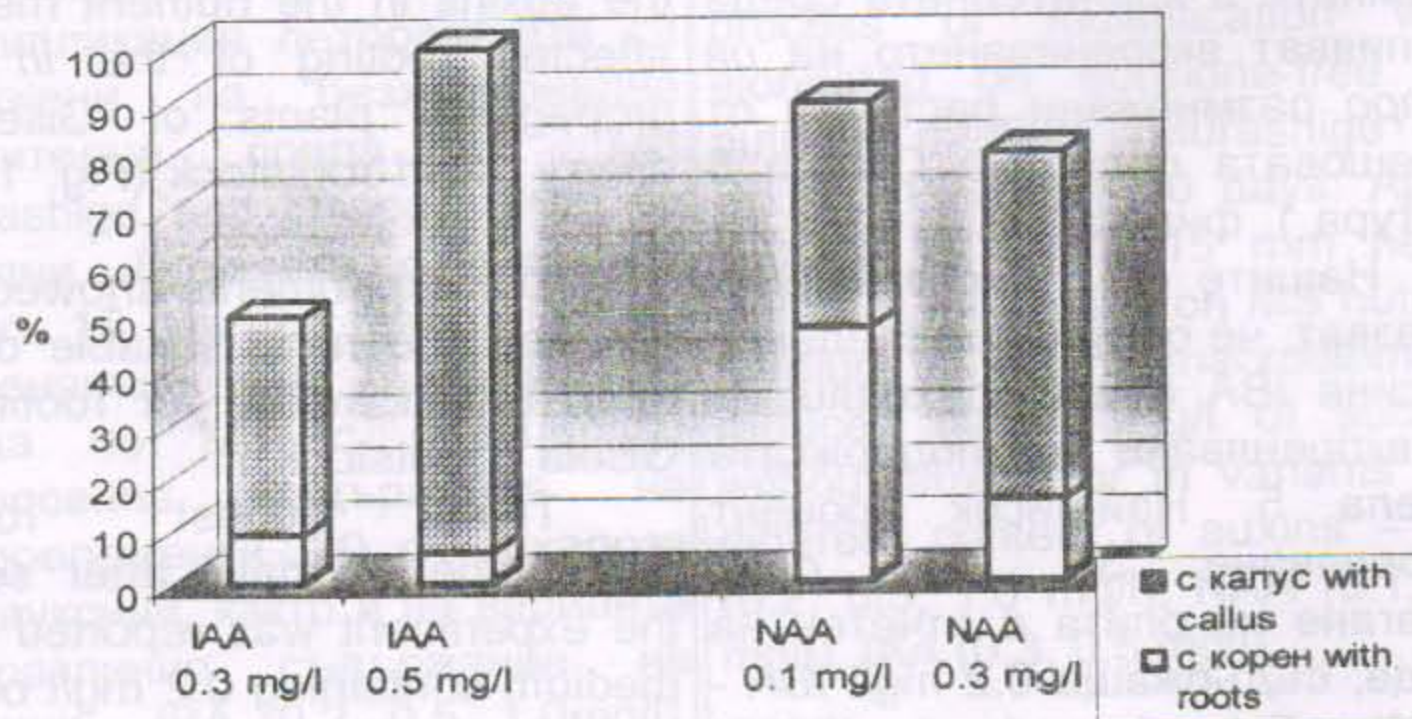
Huang et al. (2005) постигат 83.5% вкореняване на среди 1/4 MS с 0.5 mg/l IBA и 15 дневно култивиране на тъмно. По всяка вероятност разликите в препоръчаните оптимални концентрации на IBA за

Huang et al. (2005) achieved 83,5 % of rooting on 1/4 MS with 0.5 mg/l of IBA after 15-day cultivation in darkness. Probably the differences of the recommended optimal concentrations of IBA for obtaining the best rooting results



Фиг. 1. Влияние на IBA върху вкореняването на черешовата подложка Гизела 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*)

Fig. 1. Effect of IBA on the rooting of cherry rootstock GiSela 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*)



Фиг. 2. Влияние на IAA и NAA върху вкореняването на черешовата подложка Гизела 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*)

Fig. 2. Effect of IAA and NAA on the rooting of cherry rootstock GiSela 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*)

вкореняване са в зависимост от физиологичното състояние и височината на растенията, заложените за вкореняване.

Другите два ауксина, включени в хранителните среди, в нашите експерименти водят до получаване на по-нисък процент вкоренени растения

При използване на NAA в концентрация 0.1 mg/l е достигнато 47.4% вкореняване, а процентът на вкореняване на среди с IAA е значително по-нисък (9.1% и 5.9%). В литературата има съобщенията за успешно вкореняване на череша на среди, съдържащи IAA, но в значително по-високи концентрации (2 mg/l) (Sauer, 1985). При използването от нас хранителни среди и условия на култивиране прилагането на NAA и IAA не води до получаване на задоволителен процент коренообразуване.

При всички използвани хранителни среди първоначално се наблюдава формиране на калус в основата на стъблото. Разграничават се два типа калус. Първият е хомогенен, бързоделещ се и нарастващ в основата на микрорастенията. Най-висок процент растения с такъв калус е получен при прилагане на 0.5 mg/l IAA (94.1%). Вторият тип калус е бял, гранулиран, с твърда консистенция. Същият дава

зависимост от физиологичното състояние и височината на растенията, заложените за вкореняване.

depended on the physiological status and the height of the plants set for rooting.
In our experiments the other two auxins added to the nutrient media led to obtaining lower percentages of rooted plants.

When using NAA in a concentration of 0.1 mg/l, 47.4% of rooting was achieved and the percentage of rooting on media containing IAA was significantly lower (9.1% and 5.9%). There are data in literature about successful rooting of sweet cherries on media containing IAA in significantly higher concentrations (2 mg/l), (Sauer, 1985). The application of NAA and IAA in our experiment did not lead to a satisfactory percentage of root formation on the used nutrient media under the provided conditions.

On all the used nutrient media, callus formation at the stem base was initially observed. Two types of callus were reported. The first one was homogenous, quickly dividing and growing at the base of the microplants.

The highest percentage of plants having such callus was obtained after applying 0.5 mg/l IAA (94.1%). The second type of callus was white, granular, having hard consistency. It initiated roots after the 15th day of cultivation.

начало на корени след 15^{тия} ден от култивирането. По-високите концентрации и на трите изследвани ауксина подтискат коренообразуването. Вероятна причина за това са относително високи нива на ендогенни ауксини при черешовата подложка Гизела 5. Това предположение се потвърждава от високият процент на вкореняване на микрорастенията на безхормонална хранителна среда (71.8%). Подобни данни са получени за черешовата подложка MaxMa14 (Buyukdemirci, H., 2005), която лесно вкоренява на безхормонална среда.

За адаптация към външни условия са залагани всички вкоренени растения, както и тези, развили само калус в основата на стъблото. И двата типа растения са адаптирани успешно (над 90%) към *ex vitro* условия, което показва, че калусиралите растения също развиват корен в почвата при липса на екзогенни ауксини. Физиологичният механизъм на подобен тип реакция на растенията съответства на методите за вкореняване на *in vitro* растения чрез ауксинов импулс. Подобни съобщения има за микроразмножени растения от вишневия сорт "Schattenmorelle" (Gebhardt, 1985), вкоренявани на среда с 1 mg/l IBA за 22 дни, 8 дни и 3 дни с последващо прехвърляне на безхормонална

Higher concentrations of all the three studied auxins suppressed root formation. Probably the reason for that were the relatively high levels of endogenous auxins in the cherry dwarf rootstock Gisela 5. That assumption was confirmed by the high percentage of rooting of the microplants on hormone-free nutrient medium (71.8%). Similar results were obtained about the cherry rootstock MaxMa14 (Buyukdemirci H., 2005), which also formed roots easily on hormone-free medium.

All the rooted plants were set for adaptation to *ex vitro* conditions, including those which had developed only callus at the stem base. Both types of plants were successfully adapted to *ex vitro* conditions (above 90%), which showed that callus plants also formed roots in soil at the absence of exogenous auxins.

The physiological mechanism of such type of plant response corresponded to the methods of rooting of *in vitro* plants by auxin impulse.

Similar announcements are to be found about micropropagated plants of the sour cherry cultivar "Schattenmorelle" (Gebhardt, 1985), rooted on a medium containing 1 mg/l IBA for 22 days, 8 days and 3 days, followed by transfer to hormone-free medium.

среда. Между тези три варианта авторите не установяват разлики в процента на вкореняване.

ИЗВОДИ

За *in vitro* вкореняване на черешовата подложката Гизела 5 (*Cherry Dwarf Rootstock*) най-подходящ от трите изследвани ауксина е IBA.

Най-висок процент на вкореняване 30 дни след залагане на опита е отчетен на среда, съдържаща $\frac{1}{2}$ MS и 0.2 mg/l IBA.

Растенията, развили само калус в основата на стъблото, могат да бъдат успешно адаптирани към външните условия.

Представената разработка е част от проект БМ-36/2005 към НФ"НИ" при МОН.

The authors did not establish any difference in root formation among those three variants.

CONCLUSIONS

IBA is the most suitable out of the three studied auxins for *in vitro* rooting of cherry dwarf rootstock Gisela 5.

30 days after setting the experiment the highest rooting percentage was reported on a medium containing $\frac{1}{2}$ MS and 0.2 mg/l IBA.

The plants which had developed only callus at the stem base can be successfully adapted to *ex vitro* conditions.

This research is part of the project БМ-36/2005, supported by National Science Fund, Ministry of Education and Science.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Buyukdemirci, H., 2005. The effects of medium ingredients on shoot propagation and rooting of cherry rootstocks *in vitro*. 5th International Cherry Symposium, Bursa, Turkey.
2. Fidanci, A., M. Burac, B. Erenoglu, 2005. Determination of *in vitro* propagation techniques of some clonal sweet and sour cherry rootstocks. 5th International Cherry Symposium, Bursa, Turkey.
3. Gebhardt, K., 1985. Self-rooted sour cherries *in vitro*: Auxin effects on rooting and isoperoxidases. *Acta Horticulturae*, 169.
4. Huang, W. J., S. B. Zhaou, F. W. Ma, H. H. Shao, 2005. The Optimization Rooting Conditions of *Cherry Dwarf Rootstock in vitro*. *Chinese Electronic Periodical Service*.
5. Murashige, T., F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473 - 497.
6. Sauer, A., 1985. *In vitro* propagation of *Prunus avium* L. And storage of *in vitro* derived plantlets. *Acta Horticulturae*, 169.