

Latgales meloņu klonēšana *in vitro* The *In Vitro* Cloning of Latgales Melon's

Jānis Haļzovs, Gints Vasiļjevs, Ina Alsiņa
LLU Lauksaimniecības fakultāte

Abstract. Melon (*Cucumis melo* L.) is an important horticultural crop. To contribute melon growth in Latvia, it is necessary to provide proper planting material. Valuable genetic material of Latvia's melons has been obtained from Pure Horticultural Research Centre. The obtained genetic material was propagated from seeds of two seasons from 2014 to 2015 in Botanical Garden of Latvia University on opened field. Latgale's melon lines 4(3), 5(2), 8, 14 were introduced from seeds in Murashige and Skoog medium and cloned two times. The main objective was to observe the morphological evolution and characteristics of Latgale's melon clones *in vitro*. This method is particularly important for genetically homogenous clones reproducing for breeding needs. Line 4(3) of Latgale's melon seeds showed the best results of all the other lines, and 2 of 10 seeds germinated. The seeds of Latgale's melon lines 8 and 5(2) *in vitro* did not germinate. The more productive clone was the line 14 by releasing the 31 clone from one seed. The Latgale's melon clones reproduce the roots without auxins and cytokinins added to the culture medium.

Key words: *Cucumis melo* L., propagation.

Ievads

Ķirbjaugu dzimtā deserta melones (*Cucumis melo* L.) augļi ir vērtīgs un dažādi pielietojams pārtikas produkts (Esquinas – Acazer, Gulick, 1983). Lai sekmētu meloņu audzēšanu Latvijā, ir nepieciešams veikt piemērota stādāmā materiāla sagatavošanu un agrotehnikas izstrādi. Latvijā vērtīgs meloņu ģenētiskais materiāls ir iegūts un sadalīts līnijās Pūres Dārzkopības pētījumu centrā (Lepse et al., 2008). Saglabājot ģenētisko vienveidību, vērtīga stādāmā materiāla pavairošanai izmanto augu klonēšanu *in vitro*. Šī darba mērķis bija, izmantojot Latgales meloņu līniju 4(3), 5(2), 8, 14 ģenētisko materiālu, salīdzināt katra klona individuālās īpatnības un klonēšanas specifiku *in vitro*.

Materiāli un metodes

Kā pētījuma objekts izvēlētās četras Latgales meloņu līnijas – 4(3), 5(2), 8 un 14, kuru sēklas iegūtas no Pūres DPC 2014. gadā. Meloņu līniju sēklu izejmateriāls izsēts un pavairots divas sezonas pēc kārtas 2014. un 2015. gadā LU Botāniskajā dārzā atklāta lauka apstākļos. Veicot mākslīgo apputi, izmantoti ziedu izolatori.

Iegūtais sēklu materiāls 2016. gada 4. martā tika 1 min. skalots 70% etilspirtā un 3 min. apstrādāts ar ACE (aktīvā viela NaClO <5%), un trīs reizes skalots destilētā ūdenī. Sēklas dīdētās stikla Petri platēs uz 10% agara. Katrā

variantā izsētas 10 sēklas. Sēklas diedzētas fitokamerā 24 ± 2 °C ar 16 h gaismas un 8 h tumsas fotoperiodu 2500 lx gaismas intensitātē, pamatojoties uz J.Z. Donga un S.R. Jia izstrādāto metodiku (Dong, Jia, 1991).

Augiem sagatavota Murashige un Skoog (MS) barotne ar 30 g L^{-1} saharozes un 8.5% agaru ar pH 6.2, kas ievietota 500 mL tilpuma stikla veģetācijas traukos, katrā iepildot 50 mL barotnes. Trauki cieši noslēgti ar foliju un autoklāvēti 20 minūtes 121 °C.

Pēc meloņu sēklu uzdīgšanas Petri traukos augi preparēti, tiem nogriežot auga sakni, atfīrot no sēklapvalka, un ievietoti MS barotnē. Augi inkubēti augu kamerā 24 ± 2 °C ar 16 h gaismas un 8 h tumsas fotoperiodu 2500 lx gaismas intensitātē (Murashige, Skoog, 1962).

Augi klonēti divas reizes, sadalot to vasu mikrospraudeņos ar vienu pumpuru, visi kloni uzskaitīti, novērota to morfoloģiskā attīstība un īpatnības (Huang et al., 2006).

Rezultāti un diskusija

Veicot Latgales meloņu līniju 14, 8, 5(2) un 4(3) diedzēšanu *in vitro* apstākļos, konstatēts, ka meloņu līnijas 5(2) un 8 nav dīgtspējīgas. Meloņu līnijas 14 un 4(3) uzdīga 14 dienu laikā pēc to ievadīšanas kultūrā. No 10 meloņu līnijas 4(3) sēklām uzdīga divas, bet no 10 ievadītajām meloņu līnijas 14 sēklām uzdīga 1 sēkla.

Sēklu dīgtspēju ietekmē vairāki eksogēnie un endogēnie faktori. Kā galvenais sēklu sliktās dīgšanas iemesls tiek uzskatīts neattīstīts dīglis (Huang et al., 2006). Iegūtie augu paraugi no meloņu līnijām 4(3) un 14 pēc pārstādīšanas no agara barotnes uz MS barotni veidoja spēcīgu vasu, kura divas reizes sadalīta mikrospraudeņos ar vienu pumpuru. Katrs spraudenis 14 dienu laikā apsakņojās MS barotnē. Apsakņošanās atšķirības starp abām izmantotajām Latgales meloņu līnijām nav novērotas. Pēc divām klonēšanas reizēm Latgales meloņu līnijas 14 klonu skaits sasniedza 31 klonu (1. att.). Meloņu līnija 14 veģetācijas traukos veido arī adventīvās saknes virs agarizētās barotnes. Meloņu līniju kloniem pēc otrās klonēšanas novērota vīrišķo ziedu attīstība un ziedēšana (2. att.).

Meloņu līnijas 4(3) iegūtais klonu skaits bija mazāks nekā līnijai 14 un sasniedza 19 klonus (3. att.). No tā izriet, ka meloņu līnija 14 *in vitro* apstākļos ir produktīvāk pavairojama. *In vitro* apstākļos visiem kloniem veidojās sugai raksturīgās lapas, saknes, stumbrs un vīrišķie ziedi.

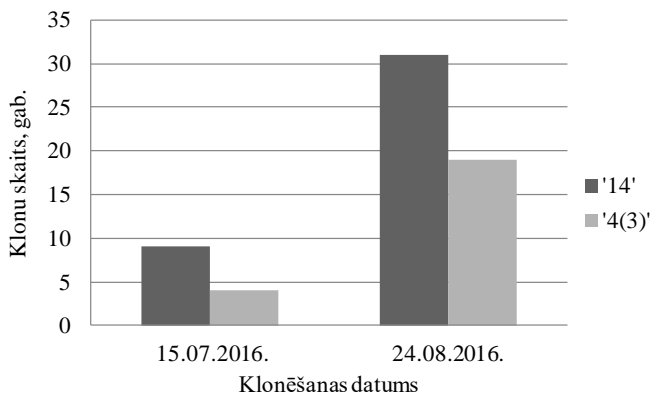
Svarīgs ekonomiskais aspekts ir augu spraudēju apsākņošanās spēja MS barotnē bez auksīnu un citokinīnu pievienošanas barotnēm sakņu un vasas attīstības stimulēšanai, kas dod iespēju augus pavairot ar iespējami zemākām izmaksām (Dong, Jia, 1991).



1. att. Latgales meloņu līnijas 14 kloni.



2. att. Meloņu klona ziedēšana.



3. att. Latgales meloņu klonu skaita pieaugums pēc divām klonēšanas reizēm.

Secinājumi

1. No četrām pētīšanai izvēlētajām Latgales meloņu līnijām tikai divu līniju sēklas uzdīga. No 10 Latgales meloņu līnijas 4(3) sēklām uzdīga 2 sēklas, bet līnijai 14 – viena. Latgales meloņu līniju 8 un 5(2) sēklas *in vitro* neuzdīga.
2. No Latgales meloņu līnijām visproduktīvāk klonētā līnija bija 14, kurai pēc divām klonēšanas reizēm iegūts 31 klons.
3. Meloņu līniju kloni apsakņojās MS barotnē bez augsniņu un citokinīnu pievienošanas barotnei.

Pateicības

Pateicamies Latvijas Universitātes Botāniskajam dārzam, Latvijas Universitātes Augu bioloģijas laboratorijai, SIA Pūres Dārzkopības pētījumu centram, Latvijas Lauksaimniecības universitātes Augsnes un augu zinātņu institūtam un LZP finansētajam projektam Nr. 519/2012 “Metodes fizioloģiski aktīvu savienojumu paaugstināšanai Latvijā audzētos dārzenos mainīga klimata apstākļos” par iespēju veikt pētījumu. Īpašs paldies Signei Tomsonei, Līgai Lepsei, Madarai Lazdānei un Lailai Dubovai par sniegtajiem ieteikumiem un konsultācijām.

Literatūra

1. Dong, J.Z., Jia, S.R. (1991). High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.). *Plant Cell Rep.*, 9, pp. 550–562.
2. Esquinas – Alcazer, J.T., Gulick, P.J. (1983). *Genetic resources of cucurbitaceae, a global report*. IBPGR, 101 p.
3. Huang, Y.H., Lu, L., Tao, X.L., Zhao, C.Z. (2006). Establishment of plant regeneration system for *Cucumis melo*. *Fruit Science*, 23(5), pp. 740–744.
4. Lepse, L., Bāliņš, A., Veinberga, I., Ruņģis, D. (2008). Renewal and the molecular characterisation of the Latvian melon (*Cucumis melo* L.) genetic resources. *Agronomijas Vēstis*, 11, pp. 108–113.
5. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, pp. 473–497.