

Годишен зборник на ЈНУ Земјоделски институт, Скопје
Книга XXIV-XXV година 2005/2006
Yearbook of the Institute of Agriculture, Skopje
Volume XXIV-XXV year 2005/2006

Редакциски одбор

Д-р Слободан Банџо
Д-р Виолета Димовска
Д-р Ана Селамовска
Д-р Јулијана Цветковиќ
Д-р Даница Андреевска

Editorial board

Slobodan Bandzo, Ph.D.
Violeta Dimovska, Ph.D.
Ana Selamovska, Ph.D.
Julijana Cvetkovic, Ph.D.
Danica Andreevska, Ph.D.

Главен и одговорен уредник

Д-р Слободан Банџо

Editor-in-chief

Slobodan Bandzo, Ph.D.

Технички уредник

Д-р Виолета Димовска

Technical editor

Violeta Dimovska, Ph.D.

Лектура

Зорица Велкова
(македонски јазик)
Анита Стојковска
(англиски јазик)

Language editor

Zorica Velkova
(Macedonian)
Anita Stojkovska
(English)

Адреса

ЈНУ Земјоделски институт
бул. Александар Македонски бб
п.ф. 191
1000 Скопје, Република Македонија
тел: +389 (0)2 3230 910
факс: +389 (0)2 3114 283

Address

Institute of Agriculture
bul. Aleksandar Makedonski bb
P.O. 191
1000 Skopje, Republic of Macedonia
phone: +389 (0)2 3230 910
fax: +389 (0)2 3114 283

Зборникот е финансиран од Министерство за образование и наука на Република Македонија
The Yearbook is financed by the Ministry of Education and Science of Republic of Macedonia

Дизајн на изданието
eXpressive GRAPHICS

Печати

РИ Графика - Скопје

Тираж

500 примероци

МИКРОПРОПАГАЦИЈА НА ДОМАТ (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Колева-Гудева Л., Трајкова Ф. и Митева Т. - ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури,
Струмица, Гоце Делчев б.б., Струмица, Р. Македонија. liljanak@isc.ukim.edu.mk

КРАТОК ИЗВАДОК

Во овој труд е даден краток преглед на експерименталните резултати од ефектот на некои цитокинини и ауксини врз органогенезата и регенерацијата на експлантати од домати во *in vitro* услови.

Како експериментален материјал беше користен доматиот (*Lycopersicon esculentum* Mill.) сорта Belle F₁. Како експлантанти беа користени апикални пупки и сегменти од котиледони изолирани од асептички изртените семиња и потоа култивирани на MS медиум (Murashige и Shoog, 1962). Беше испитуван ефектот на различните концентрации на цитокинините BAP и KIN во комбинација со различни концентрации на ауксините IAA и IBA. Пет недели по поставувањето на почетните експлантите на медиумот беа извршени мерења за бројот на формираните корени, лисни розети и калус.

Во зависност од концентрацијата и комбинацијата на цитокинините и ауксините, процентот на формирањето на корени, лисни розети и калус беше различен. Комбинацијата BAP + IBA се покажа како најефикасна во формирањето на лисни розети, додека комбинацијата KIN + IAA го стимулира формирањето на корени кај сите испитувани експлантанти. Аликалните пупки во споредба со сегментите од котиледоните покажаа поголема способност за формирање на регенеранти како и нивна мултипликација во *in vitro* услови.

MICROPROPAGATION OF TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Koleva-Gudeva L, Trajkova F and Miteva T. -
PSI Institute for Southern Crops, Strumica, Goce Deleceev b.b., Strumica, R. Macedonia.

ABSTRACT

In this paper the results from the experimental work on the effects of cytokinins and auxins on organogenesis and regeneration of tomato explants under *in vitro* conditions are presented.

The tomato variety (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Belle F₁ was used as experimental material, while apical buds and segments of cotyledons isolated from aseptically germinated seed were used as explants cultured on MS medium (Murashige and Shoog, 1962). The effect of different concentrations and combinations of the cytokinins BAP and KIN in combination with different concentrations of the auxins IAA and IBA was studied. The measurement of the number of formed roots, leaf rosettes and callus was done eight weeks after the establishment of the cultures.

The percentage of formed roots, leaf rosettes and callus was different depending on the concentration and combination of the cytokinins and auxins. The combination BAP + IBA was the most effective in stimulation of leaf rosettes formation, while the combination KIN + IAA

stimulated the formation of roots in all explants. The apical buds as compared to the segments of cotyledons showed greater ability for formation of regenerants and their multiplication under *in vitro* conditions.

ВОВЕД

Струмичкиот регион е главно ориентиран кон земјоделството, па нашиот интерес за *in vitro* култури се однеува на градинарските култури. Во производството, домотот е меѓу водечките култури, кај нас и во светот. Голем број на научни информации, за оваа култура, претставуваат изворна база за примена на поголем број современи техники од биотехнологијата и генетскиот инженеринг.

Првите истражувања поврзани со култури на домот во *in vitro* услови, датираат уште од 1954 год. кога Norton et al. почнале да го истражуваат регенеративниот потенцијал на коренови врвови. Оттогаш, па сè до денес, домотот е култура која сè уште е експлоатирана за *in vitro*, а не постои тип на експлантант кој не е земен за истражување, па затоа целосна регенерација е добиена од антери, протопласти, сегменти од листови, калус и многу други ткива (Vasantha et al., 1973, Bhenki and Lesly, 1976, Gresshof et al., 1972).

Постојат повеќе истражувања поврзани со органогенезата и регенерацијата на домот од апикални и аксиларни пупки на медиум со различна концентрација на фитохормони (Полеваја et al., 1988) и култура на протопласти (Shanin, 1985). Влијанието на различните фитохормони врз органогенезата и регенерацијата кај апикални пупки од домот, во услови *in vitro*, е истражувано од Цветановска и Спасеноски, 1991. Сепак, покрај регулаторите за раст на органогенезата на домотот, во *in vitro* услови, и други фактори, исто така играат важна улога во нивниот развој, како што е интензитетот на светлината, фотопериодизмот, како и температурата (Цветановска и Спасеноски, 1994; Murashige и Nacano, 1968; Murashige, 1974; Weiss и Jaffe, 1969).

Производството и одржувањето на растенијата со култура на ткива, денес масовно е користи, заради тоа што со оваа постапка за кратко време и на мал простор од едно растение можат да се добијат, условно неограничен број на генетски идентични единки. Со овој метод, сосема е реална можноста за добивање на безвирусен посадочен материјал, а со тоа се подобрува не само генетската стабилност на регенерираните растенија, туку и морфолошките и биолошките карактеристики на испитуваните култури (Колева-Гудева et al., 2001).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

Целната сорта во експериментот е домот Belle F₁ кој е холандски хибрид, со крупни плодови и во последните години е една од најексплоатираните сорти во среднораното оранжериско и пластеничко производство на домати.

Стартниот материјал за експериментот беше добиен од асептички одгледувани фиданки. Семето беше измиено со дестилирана вода, потоа површински беше стерелизирано со 70% алкохол за време од 15 секунди, 15 минути со 1% натриум хипохлорид и неколку пати измиено со стерилна дестилирана вода. Семето беше поставено на ½ МС минерален раствор за ртење (Слика 1а).

Кога младите потомци достигнуваат големина од 3 до 5 cm, од нив се изолираат почетните експлантати и истите се поставуваат на MS медиум со соодветната концентрација и комбинација на цитокинин и ауксин. Како почетни експлантати беа користени апикални

пупки со големина 1-3 mm (Слика 1e) и котиледони поделени на 3 сегменти (1/3) и означени како K1 – апикален дел на котиледонот, K2 – медијален дел на котиледонот и K3 – базален дел на котиледонот (Слика 1b).

Во експериментот беше користен MS медиумот со следниве комбинации на цитокинини (KIN и BAP) и ауксини (IAA и IBA):

MY + 1.5 mg/l KIN + 0.1 mg/l IAA;	MY + 1.5 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA;
MY + 3.0 mg/l KIN + 0.2 mg/l IAA;	MS + 3.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l IBA;
MY + 4.5 mg/l KIN + 0.3 mg/l IAA;	MY + 4.5 mg/l BAP + 0.3 mg/l IBA;
MY + 6.0 mg/l KIN + 0.4 mg/l IAA;	MY + 6.0 mg/l BAP + 0.4 mg/l IBA.

Културите беа одржувани во контролирани услови во клима комора на температура од $25 \pm 1^\circ\text{C}$, релативна влажност од 50% и фотопериодизам од 16/8 часа светло/темно со интензитет на светлина од $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

ДОБИЕНИ РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Апикалните пупки поставени на MS медиум по 5 недели реагираа со регенерација на корени, лисни розети и калус, соодветно на аплицираната комбинација на цитокинин и ауксин (Табела 1).

Табела 1. Регенерација на апикални пупки од домати (*Lycopersicon esculentum* Mill. сорта Belle F1) по 5 недели на MS медиум со различна комбинација и концентрација на KIN, BAP, IAA и IBA.

Table 1. Regeneration of tomato apical buds (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Belle F1) after 5 weeks on MS medium supplemented with different combination and concentration of KIN, BAP, IAA and IBA.

Медиум Medium MS mg/l	Тип на експлантанти / Type of explants		
	Апикални пупки / Apical buds		
	Корени Roots (%)	Лисни розети Leaf rosettes (%)	Калус Callus (%)
1.5 KIN + 0.1 IAA	68	68	8
3.0 KIN + 0.2 IAA	18	59	51
4.5 KIN + 0.3 IAA	32	48	76
6.0 KIN + 0.4 IAA	0	42	5.2
1.5 BAP + 0.1 IBA	0	33	33
3.0 BAP + 0.2 IBA	0	62	62
4.5 BAP + 0.3 IBA	0	80	80
6.0 BAP + 0.4 IBA	7	71	35

Комбинацијата од различни концентрации на KIN + IAA стимулира формирање на корени, лисни розети и калус, каде што 1.5 mg/l KIN + 0.1 mg/l IAA покажуваат формирање на 68% корени и 68% лисни розети, што е најголем процент на формирани корени од апикални пупки споредени со другите хормионални комбинации. На претход-

но наведената хормонална комбинација се формира 8% калус што претставува најмал процент на формирање калус споредено со сите други хормонални комбинации. Формирањето на лисни розети е со најголем процент во случај на култивирање на MS со хормонална комбинација 4.5 mg/l BAP + 0.3 mg/l IBA (Слика 1f).

Кога за почетни експлантанти беа користени сегменти од котиледони и поставени на MS со различна хормонална комбинација, се формираа корени, лисни розети и калус. Во сите случаи, кога високи концентрации на KIN беше комбиниран со многу ниски концентрации на IAA, резултатот беше формирање на корени и калус и отсуство на регенерација на лисни розети од сите три сегменти на котиледони. Најголем процент на регенерирани корени (81%) и калус (97%) беа формирани кај K3 експлантантите (Табела 2).

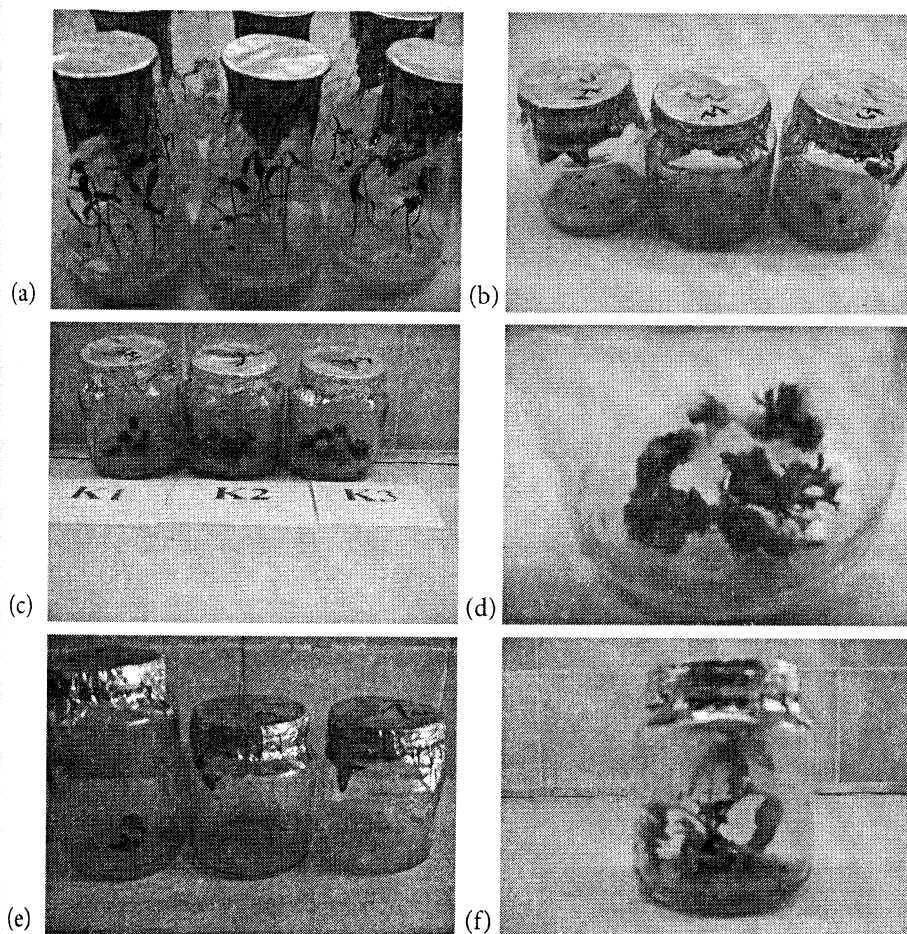
Табела 2. Регенерација на сегменти од котиледони од домати (*Lycopersicon esculentum* Mill. сорта Belle F1) по 5 недели на MS медиум со различна комбинација и концентрација на KIN, BAP, IAA и IBA.
Table 2. Regeneration of tomato cotyledons (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Belle F1) after 5 weeks on MS medium supplemented with different combination and concentration of KIN, BAP, IAA and IBA.

Медиум Medium MS mg/l	Тип на експлантати / Type of explants								
	K1			K2			K3		
	Корени Roots (%)	Лисни розети Leaf ro- settes (%)	Калус Callus (%)	Корени Roots (%)	Лисни розети (%)	Калус Callus (%)	Корени Roots (%)	Лисни розети Leaf ro- settes (%)	Калус Callus (%)
1.5 KIN + 0.1 IAA	43	0	6	66	0	4	66	0	29
3.0 KIN + 0.2 IAA	61	0	55	74	0	51	81	0	87
4.5 KIN + 0.3 IAA	41	0	81	62	0	81	61	0	97
6.0 KIN + 0.4 IAA	6	0	34	33	0	56	23	0	65
1.5 BAP + 0.1 IBA	0	87	70	4	116	66	4	141	62
3.0 BAP + 0.2 IBA	0	16	33	0	83	75	0	70	62
4.5 BAP + 0.3 IBA	0	20	66	0	33	79	0	40	66
6.0 BAP + 0.4 IBA	0	62	66	0	54	87	0	62	79

Трите типови на сегменти од котиледони беа поставени на MS со висока концентрација на BAP и ниска концентрација на IBA, експлантантите реагираа со *de novo* формирање на лисни розети (Слика 1d), каде што сегментите од котиледони K2 формираа 116%, а сегментите од котиледони K3 формираа дури 141% лисни розети (Слика 1c). Формирање на корени (4%) беше забележано за K2 и K3 сегментите, додека формирањето на калус е присутно кај сите сегменти за сите хормонални комбинации.

Резултатите од регенеративната способност и органогенезата во *in vitro* услови доз-

волува да се констатира дека од сите сегменти на котиледоните K3 или базалниот дел на котиледонот има најголема способност за регенерација.



Слика 1. (a) Семе од домати сорта Belle F1 изртно во асептички услови на $\frac{1}{2}$ MS медиум; (b) Делови од котиледони K1, K2 и K3 како почетни експлантати и поставени на MS медиум; (c) Формирање на лисни розети од котиледонски експлантати; (d) De novo формирање на фиданки од котиледонски експлантати; (e) Апикални пупки како почетни експлантати поставени на MS медиум; (f) Формирање на фиданки од домати од апикални пупки.

Figure 1. (a) Seeds of tomato cultivar Belle F1 germinated in aseptic conditions on $\frac{1}{2}$ MS medium; (b) Segments of cotyledons K1, K2 and K3 as starting explants cultured on MS medium; (c) Formation of leaf rosettes from cotyledon explants; (d) De novo formation of shoots from cotyledon explants; (e) Apical buds as starting explants cultured on MS medium; (f) Formation of tomato shoots from apical buds.

ЗАКЛУЧОК

Врз основа на добиените резултати може да се заклучи дека сите користени експлантати имаат способност за органогенеза во *in vitro* услови. Комбинацијата ВАР + ИВА во MS медиумот се покажа како најефикасна во формирањето на лисни розети, додека комбинацијата KIN + IAA го стимулира формирањето на корени кај сите испитувани експлантати. Апикалните пупки, за разлика од сегментите на котиледоните покажаа поголема способност за формирање на регенеранти како и нивна мултипликација во услови *in vitro*, што укажува дека тие можат да се искористат и во производството. Исто така *de novo* формирањето на лисни розети и нивното понатамошно развивање во фиданки ја потврдува констатацијата дека домотот Belle F₁ е идеална култура за микропропагација,

ЛИТЕРАТУРА

1. Bhenki, R.M. and Lesly S.M. 1976. In vitro plant regeneration from leaf explants of *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Canad. J. Bot* 54:2409-2414
2. Gresshof, P.M., Doy, H.C. 1972. Development and diferetiation of haploid *Licoperdicum esculentum* (tomato). *Planta* (Berlin) 107:162-170.
3. Колева-Гудева Л., Митрев С., Спасеноски М. 2001. Можности за примена на некои нови методи за добивање на безвирусен посадочен материјал. Год. Зборник ЈНУ ИЈЗК 1:37-46
4. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Annual Review of Plant Physiology*, 25: 135-166.
5. Murashige, T., Nacano, R.T. 1968. The light requirement for shoot initiation in tobacco callus culture. *Am. J. Bot.* 55: 710.
6. Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and biassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
7. Norton J.P., Boll, W.C., 1954. Callus and shoot formation from tomato roots in vitro. *Science* (Wash.), 119:220-222.
8. Цветановска, Л., Спасеноски, М. 1994. Содржина на хлоропласни пигменти и некои биогени елементи кај домати (*Lycopersicum esculentum* сорта Балка и Домбито) добиени во *in vitro* и надворешни услови. Год. збор. Биол. 47: 155-164.
9. Цветановска, Л., Спасеноски, М. 1991. Хормонална регулација на растот и развитокот на апикални пупки кај патлицан (*Lycopersicum esculentum* сорта Балка) во услови *in vitro*. Год. збор. Биол. 43-44: 243-249.
10. Полеваја, В.С., Јашина, С.Г., Олеинкова, Т.А. 1988. Размножение "in vitro" регенератов томата из изолиранавих меристема. Физиологија на растении. Том 35, вип. 3.
11. Shanin, E.A. 1985. Totipotency of tomato protoplast. *Theor Appl Genet.*, 69: 235-240.
12. Weiss, J.S., Jaffe, M.J. 1969. Photoenhancement by blue light of organogenesis in tobacco pith cultures. *Physiol Plantarum*, 22:171-176.
13. Vasantha, P., Paddock, E.F., Sharp, R.W. 1973. Plantlet formation from *Lycopersicon esculentum* leaf callus. *Can J. Bot.*, 32:1429-1432.