

ГОДИШЕН ЗБОРНИК ЗА ЗАШТИТА НА РАСТЕНИЈАТА
YEAR BOOK FOR PLANT PROTECTION

ГОДИНА VI

VOLUME VI

Лилјана Колева, М. Спасеноски

ОДГЛЕДУВАЊЕ НА ВРВНИ ПУПКИ ОД ПИПЕРКИ (CAPSICUM ANNUUM L.) СО ПАТА КУРТОВСКА КАПИЈА ВО КУЛТУРА »IN VITRO«

Liljana Koleva, M. Spasenoski

GROWING OF APICAL BUDS FROM PEPPER (CAPSICUM ANNUUM L.)
C. V. KUROVSKA KAPIJA „IN VITRO“ CULTURE

СКОПЈЕ — SKOPJE
1995

UDC 631.4 : 546.3 (497.17)

Оригинален научен труд
Original research paper

ОДГЛЕДУВАЊЕ НА ВРВНИ ПУПКИ ОД ПИПЕРКА (CAPSICUM ANNUUM L.) СОРТА КУРТОВСКА КАПИЈА ВО КУЛТУРА „IN VITRO”

Лилјана Колева, М. Спасеноски*

КРАТОК ИЗВАДОК

За регенерација на пиперката (*Capsicum annuum* L.) сорта Куртовска Капија во култура *in vitro*, како почетни експлантати беа користени апикални пупки. По неколку пасажи на MS медиум (Murashige и Skoog, 1962) во присуство на IAA, GA₃ и кинетин беше добиена целосна регенерација.

Добиените изданоци во услови *in vitro* пренесени во нестерилни услови добро се аклиматизираа, а аклиматизацијата одеше од клима-комора, потоа преку топли леи (PVC фолија) и на крај во надворешни услови на отворени леи, каде што растенијата нормално се развиваа, цветаа и дадоа плод.

**GROWING OF APICAL BUDS FROM PEPPER (*Capsicum annuum* L.) c. v.
KURTOVSKA KAPIA IN „IN VITRO” CULTURE**

Liljana Koleva, M. Spasenoski**

S U M M A R Y

Apical buds from pepper (*Capsicum annuum* L.) c.v. Kurtovska kapia were isolated from aseptically grown seedlings, then they where cultivated on MS (Murashige and Skoog, 1962) mineral solution with 3% sucrose, 0,7% agar and the hormones IAA, GA₃ and KINETIN. After 4 weeks, leaf rosette formation was obtained from

* Дипл. биолог Лилјана Колева, асистент, д-р Мирко Спасеновски, редовен проф., Институт за биологија, ПМФ, 91000 Скопје, Република Македонија

** Graduate biologist Liljana Koleva, Assistant, Dr Mirko Spasenoski, Prof., Faculty of Natural Sciences and Mathematics, 91000 Skopje, Republic of Macedonia.

the explants. Pepper shoots were subculture on same medium with IAA and IBA, where the shoot were rooted. All culture were incubated in climate condition with relative humidity of 80%, photoperiod 16/8 light/dark, 25°C temperature and under illumination of 2000 - 3000 Lux.

The rooted plants were transferred into plastic pots, in a mixture of peat, sand and perlite (1: 1:1). Acclimatization of pepper shoots was going through 3 stages :first in climate room conditions, second in plastic house conditions and the third in field conditions transferred to soil. After 6 weeks the plantlets gradually became adapted to normal conditions and they grew into normal plants.

ВОВЕД

Органогенезата на пиперката во култура *in vitro* е многу сложен и комплексен процес имајќи го предвид фактот дека тоа е култура со многу мала способност за регенерација.

За разлика од класичниот начин на размножување и селекција, со микропропагација се овозможува добивање популации со одредена генетичка стабилност, а воедно и стабилизирање и подобрување на биолошките, морфолошките и производствените својства на оваа сорта, како и добивање растителен материјал ослободен од присуство на патогени видови.

При долгогодишно производство на оваа пиперка со класичното селекционирање се јавува биолошко изродување, при што доаѓа до измена на некои производствени карактеристики на сортата, а се знае дека тоа е сè уште единствена и ненадминлива сорта во Република Македонија за производство на ајвар, конзервирање, смрзнување и за други потреби на прехранбената индустрија.

Денешните литературни сознанија говорат дека е добиена органогенеза и регенерација на пиперката и тоа од различни експлантати. Според испитувањата на Mathews (1984), морфогенетскиот потенцијал за органогенеза во услови *in vitro* од апикални и аксилярни пупки, антери сегменти од лист, хипокотили и цвет, испитуван на MS медиум обогатен со различни комбинации на цитокинини и ауксини, е различен за различни експлантати од пиперка. Во зависност од експлантатот е добиен различен степен на калусирање.

Кај вариетите од пиперка, кога во култура се користени антери, добиени се хаплоидни и диплоидни хибриди. Воедно испитувана е стимулацијата на андрогенезата со различен температурен третман како и со различна комбинација и концентрација на повеќе фитохормони (Dumas de Valux, 1981).

Затоа, основна цел на нашите испитувања беше да се постави култура од апикални пупки на пиперка (*Capsicum annuum* L.) сорта Куртовска Капија, да се запознае нивниот погенцијал за органогенеза и регенерација, како и можноста за добивање на здрави растенија.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Апикалните пупки од пиперка со големина од 1-5 mm беа изолирани од семе из'ртено во асептички услови. Стерилизацијата на семето беше вршена на следниов начин: најпрвин тоа беше испирано неколку пати во чешминска вода, а потоа неколку пати испирано во дестилирана вода. По испирањето семето е држано 15 секунди во 70% алкохол, 15 минути во 5% натриум хипохлорид, 10 минути во 1% изосан и на крај беше испирано во стерилна вода и насеано во ерленмаерки на 1/2 MS минерален раствор.

Кога младите поници достигнаа големина од 3-4 см од нив беа изолирани апикалните пупки и поставени на MS медиум со 3% сахароза, 0,7% агар, 100 mg/l инозитол, 200 mg/l казеин хидролизат, а од хормоните IAA (индол 3 оцетна киселина) од 0,05-0,2 mg/l GA₃ (гиберелинска киселина) од 0,05-0,2 mg/l и кинетин (6-фурфурил амино пурин) од 1-5 mg/l. На ваков медиум експлантатите беа држани 4 недели, а откако достигнаа големина до 2 см беа пасажирани на MS медиум за вкоренување со следниве хормони: IAA од 0,04-0,1 mg/l и IBA од 0,1-1,0 mg/l. По вториот пасаж беа добиени добро вкоренети изданоци, а потоа младите растенија беа префрлани во пластични сатчиња со стерилна смеса од песок, перлит и тресест (1:1:1) и држани во клима комора на температура од 25°C, релативна влажност од 80%, фотопериодизам од 16 часа светло и 8 часа темно и осветлување од 2000-3000 лукси.

Аклиматизацијата на добро вкоренетите растенија од стерилни во нестерилни услови беше изведувана етапно. Во првата етапа младите растенија беа држани 3 недели во клима комора на асептички и контролирани услови, потоа беа пренесени во саксии под пластеници (PVC фолија) каде што беа држани околу 4 недели и на крај поставени на отворени леи во надворешни и нестерилни услови.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Развојот на изданоците од апикалните пупки беше постигнат на индуциона подлога со хормоните: кинетин, IAA и GA₃.

Таб. 1. - Изолирани апикални пупки од пиперка (*Capsicum annuum* L.) на MS медиум со IAA, GA₃ и кинетин
Table. 1. - Apical buds from pepper (*Capsicum annuum* L.) on MS medium with IAA, GA₃ and kinetin

| Хормони mg/l hormones mg/l IAA GA ₃ kinetin | Должина на изданокот stem on length cm | Калус callus % | Формирање на лисна розета leaf rosette formation % |
|--|--|----------------------|--|
| 0,05 0,05 1,0 | 1,50 | 100,00 | / |
| 0,10 0,10 1,0 | 1,60 | 94,35 | 2,27 |
| 0,10 / 1,0 | 0,76 | 84,00 | 2,27 |
| 0,10 0,20 2,0 | 1,05 | 80,00 | 7,26 |
| 0,20 / 2,0 | 0,80 | 43,19 | / |
| 0,10 0,10 5,0 | 0,82 | 52,50 | / |
| 0,10 / 5,0 | 1,65 | 2,40 | 2,40 |

Од резултатите прикажани во табелата 1 е евидентна разликата во калусирањето на експлантатите на MS медиумот со различни концентрации на растителни хормони. Особено се забележува зависност од концентрацијата на кинетинот во медиумот врз процентот на калусирањето, така при 1,0 mg/l кинетин калусирањето е 100%, а при 5,0 mg/l калусирањето опаѓа дури до 2,4%. Процентот на експлантатите кои се развиле во лисни розети е скоро ист. Од табелата се забележува дека присуството на GA_3 во медиумот го фаворизира калусирањето, а некоја позабелешителна промена во должината на изданоците не се јавува, а се движи од 0,76 до 1,65 см.

Резултатите добиени од вкоренувањето на експлантатите на MS медиумот во присустви на IAA и IBA се прикажани во табелата 2.

Таб. 2. - Влијанието на различни концентрации на IAA и IBA врз ризогенезата на изданоци од пиперка (*Capsicum annuum L.*)

Table. 2. - IAA and IBA effect on rooting of pepper (*Capsicum annuum L.*) shoots.

| Хормони mg/l hormones mg/l KINETIN IAA IBA | | | Вкоренети rooted % | Бр. на корени no. of roots per shoots | Должина на корени см. root length cm. | Должина на изданокот см stem length cm. |
|--|------|-----|-----------------------|---|--|--|
| 1,0 | 0,1 | 1,0 | 0,90 | 2,54 | 1,10 | 1,59 |
| / | 0,1 | 1,0 | 51,31 | 8,72 | 1,92 | 3,33 |
| / | 0,05 | 0,1 | 79,78 | 10,50 | 4,30 | 2,60 |
| / | 0,04 | 0,1 | 83,90 | 6,60 | 3,60 | 1,40 |

Евидентно е дека помала концентрација на IAA и IBA во медиумот ја фаворизира ризогенезата, а при концентрација од 0,04 mg/l за IAA и 0,1 mg/l за IBA, вкоренети се дури 83,90% од изданоците. Најверојатно ниските концентрации на овие хормони во медиумот ја стимулираат нивната ендогена биосинтеза. Доколку концентрациите на IAA и IBA се поголеми, во тој случај процентот на вкоренување значително е помал, а се одразува и по бројот на корени по изданок, како и на должината на корените.

Вкоренетите растенија во култура *in vitro* потоа беа пренесени во стерилна смеса од песок, перлит и тресет (1:1:1) во пластични садови и држени во климатична комора околу 3 недели, што претставува и првата етапа од аклиматизацијата на младите растенија во надворешни услови.

Потоа тие беа пренесени во топли леи, откако претходно беа пресадени во пластични саксии, за на крајот вегетацијата да ја продолжат на отворени леи во нестерилни услови.

Таб. 3. - Адаптација на изданоци на пиперка (*Capsicum annuum L.*) добиени во *in vitro* култура, во различни услови на аклиматизацијаTable. 3. - Adaptation of *in vitro* pepper (*Capsicum annuum L.*) shoots in different acclimatization conditions

| Услови на аклиматизација Acclimatization condition | Број на изданоци No. of shoots | Адаптирани adapted % | Неадаптирани nonadapted % |
|---|-----------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Клима - комора Climate room condition | 70 | 80,00 | 20,00 |
| Топли леи Plastic house conditions | 56 | 41,07 | 58,93 |
| Отворени леи Field conditions | 23 | 100,00 | / |
| ВКУПНО - TOTAL | 23 | 32,85 | 67,15 |

Од табелата 3. се гледа дека процентот на адаптирани млади растенија е најмал во втората етапа, во топлите леи 41,07% додека на отворено сите растенија успешно се адаптираа и ја завршија вегетацијата со нормален развој. Целокупната адаптација низ трите фази се одвива успешно со 32,85% а имајќи го предвид префрлувањето на растенијата во различни услови на аклиматизација, од асептички во нестериилни услови, на отворено, и многу слабата моќ за регенерација на кореновиот систем на пиперката, овој процент може да задоволува. Сите адаптирани растенија имаа нормален развој, цветаа, и дадоа плодови кои беа со високи морфолошки, производствени и квалитетни својства.

ЗАКЛУЧОЦИ

Врз основа на добиените резултати од регенерацијата на пиперката (*Capsicum annuum L.*) сорта Куртовска Калија од апикални пупки во услови *in vitro* може да го заклучиме следново:

- апикалните пупки како почетни експлантати, на MS медиум во присуство на IAA, GA₃ и кинетин продуцираа лисни розети;
- ризогенезата се одвива на MS медиум но во присуство на IAA и IBA а процентот на вкоренување достигна дури до 83,90% и
- комплетно регенерираните растенија во услови *in vitro* успешно се прилагодуваа кон надворешната средина и се развиваат во нормални растенија.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fari, M., Cazaco, M. 1980. Dynamics of the demand of growth substances in the organization of excised pepper hypocotils, 4th Meet, Eucarpia Capsicum Work Group, Wageningen, pp 21-24.
2. Dumas de Valux, R. 1981. In vitro culture of pepper (*Capsicum annuum L.*) anthers, Agronomie, V 1 (10) 854-864.
3. Mathws, H., Rao, P. S. 1984. In vitro responses of black pepper (*Pepper nigrum*), Current Scence, Vol 53, N4.
4. Phillips, G. S. 1985. Organogenesis in pepper tissue culture, Plant cell, tissue, organ culture 4 : 261-269.