

УНИВЕРЗИТЕТ "Св. КИРИЛ И МЕТОДИЈ" - СКОПЈЕ
ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ
СТРУМИЦА

UDC 63(058)

ISSN 1409-987X

ГОДИШЕН ЗБОРНИК
2002
YEARBOOK

ГОДИНА 2

VOLUME 2

**UNIVERSITY "ST. CYRIL AND METHODIUS" SKOPJE
INSTITUTE OF SOUTHERN CROPS - STRUMICA**

ГОДИШЕН ЗБОРНИК
ЈНУ ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ -
СТРУМИЦА
YEARBOOK
INSTITUTE OF SOUTHERN CROPS - STRUMICA

Издавачки Совет

Д-р Саша Митрев
Д-р Илија Каров
Д-р Македонка Даутова
Д-р Милан Ѓеорѓиевски

Editorial board

Dr. Sasa Mitrev
Dr. Ilija Karov
Dr. Makedonka Dautova
Dr. Milan Gjeorgjievski

Редакциски одбор

Д-р Саша Митрев
Д-р Илија Каров
Д-р Македонка Даутова
Д-р Милан Ѓеорѓиевски
Д-р Љупчо Михајлов
М-р Душан Спасов
М-р Драгица Сапсова
М-р Лилјана Колева-Гудева

Editorial staff

Dr. Sasa Mitrev
Dr. Ilija Karov
Dr. Makedonka Dautova
Dr. Milan Gjeorgjievski
Dr. Ljupco Mihajlov
M. Sc. Dusan Spasov
M. Sc. Dragica Sapsova
M. Sc. Liljana Koleva-Gudeva

Одговорен уредник

Д-р Саша Митрев

Responsible editor

Dr. Sasa Mitrev

Уредник

М-р Лилјана Колева-Гудева

Editor

M.Sc. Liljana Koleva-Gudeva

Компјутерска подготовка

М-р Лилјана Колева-Гудева

Computer adaptation

M.Sc. Liljana Koleva-Gudeva

Редакција и администрација

ЈНУ Институт за јужни
земјоделски култури - Струмица
Гоце Делчев б.б.
2 400 Струмица, Р Македонија
тел./факс: 034 345-096

Address of the editorship

Institute of Southern Crops
Strumica
Goce Delcev b.b.
2 400 Strumica, R Macedonia
phone/fax: ++ 389 34 345-096

Реализира Македонска Трибина - Скопје
(тираж 500)

UDC 57.082.83:635.9

Originalen nau-en trud

Original Research Paper

МИКРОПРОПАГАЦИЈА НА НЕКОИ УКРАСНИ РАСТЕНИЈА

Колева-Гудева Лилјана*, Спасеноски М.**

Краток извадок

Денес во *in vitro* услови успешно е добиена регенерација на многу хортикултурни растенија. Меѓу нив спаѓаат и видовите: *Rosa* - мини саксиски ружи; *Myrtillocactus geometrizans* - кактус, сукулентно растение; *Echinopsis spachiana* - кактус, сукулентно растение и *Dianthus carioophyllus* - каранфил.

Регенерација, односно микропропагација на украсни растенија е процес кој се користи за добивање на копии (клонови) од оригиналните растенија (Hussery, 1986).

Во зависност од видот, како почетни експлантати, користени се апикални или аксиларни (странични) пупки.

Клучни зборови: *in vitro*, *Rosa*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Echinopsis spachiana*, *Dianthus carioophyllus*.

MICROPROPAGATION OF SOME ORNAMENTAL PLANTS

Koleva-Gudeva Liljana*, Spasenoski M.**

Abstract

Till now many horticulture plants have been successfully regenerated on *in vitro* conditions. Among them there are ornamental plants such as: *Rosa* - miniature pot roses; *Myrtillocactus geometrizans* - cacti, succulent plant; *Echinopsis spachiana* - cacti, succulent plant and *Dianthus carioophyllus* – carnation.

Regeneration or micropropagation has been used for production of copies (clones) of the original unique plants (Hussery, 1986). Depending on the species, apical or axillar buds was used for micropropagation.

*Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делчев б.б., 2 400 Струмица, Македонија

**Природно-математички Факултет, П. фах 162, 1 000 Скопје, Македонија

*Institute of Southern Crops-Strumica, Goce Delcev b.b., 2 400 Strumica, Macedonia

**Faculty of Natural Science and Mathematics, Gazi Baba b.b., PO box 162, 1 000 Skopje, Macedonia

Key words: *in vitro*, *Rosa*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Echinopsis spachiana*, *Dianthus cariophyllus*.

1. Вовед

По објавувањето на резултатите на Morel (1960, 1963), дека методот култура на меристеми може да се користи за *in vitro* вегетативна пропација, бројот на видовите кои се користат за вегетативно размножување значително е зголемен. Во почетокот на седумдесетите, интересот за користење на оваа техника во лабораториите кои работат со украсни растенија многу порасна - комерцијална микропропација. Меѓутоа, неопходно е потребно да се нагласи дека микроразмножувањето (микропропацијата) е и поисплатлива во споредба со конвенционалното вегетативно размножување. Комерцијалната пропација во *in vitro* услови многу се користи за производство на резано цвеќе и дрвенасти садници. Така на пример *Gerbera jamesonii*, денес во развиените лаборатории се размножува единствено во *in vitro* услови.

Исто така, потврдено е дека вегетативното размножување кај украсните рстенија дава најдобри резултати кога како почетени експлантати се користат апикални меристем.

Добри резултати при микропропацијата добиени се и во случај кога како почетни експланати користени се аксиларни пупки или нодии, што е потврдено од голем број на автори. Всушност, без оглед на тоа кои меристеми се користат како почетни експлантати за микроразмножување, целта е добивање на растенија со исти карактеристики како и растението мајка, односно добивање на клон.

Основна цел на нашето истражување беше да се испита регенеративниот потенцијал кај неколку украсни видови и тоа: *Rosa*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Echinopsis spachiana* и *Dianthus cariophyllus*.

Розите се најромантични и недостижни по својата убавина и мирис од било кој друг вид на цвеќе. Тие се недостижен и незаменлив фактор во производството на резано цвеќе, декорација на градини, паркови и отворен простор како и во производство на минијатурни саксиски видови на ружи, за балконско и собно цвеќе. Затоа нивната микропропацијата е од витален интерес за светското производство. Според Пиерик, споредено со вкупната продажба на ружи, бројот на микропропагирани ружи во Европа е доста мал.

Несомнено е дека најмногубројни различни форми и големини на хабитусот на целото растение се среќава кај

сулукентите, а ако се има во предвид и модификацијата на листот во боцки, и во други форми, тогаш јасен е интересот за микропропагација на оваа група на украсни видови. Кактусите се размножуваат со семе, резници, изданоци и со култура на ткиво *in vitro*. Според Георге, 1996, кактусите тешко се размножуваат со конвенционалните техники заради тоа што: Резниците се подложни на напад на габни и бактериски заболувања; Кактусите имаат мала површина во однос со нивната маса; и Степенот со кој ги акумулираат сувите материи *in vivo* преку фотосинтезата е доста мал, додека степенот на раст е многу побрз во култура *in vitro* каде шќерите се слободни и на располагање.

Огромниот број на видови и на хибриди од *Dianthus* сп. дава за право да се каже дека тоа се најраспространети и најбројни цвеќиња. Се среќаваат како градинарски, украсни, оранжериски видови, режано и саксиско цвеќе. Заради тоа култури *in vitro* кај каранфилот се најпроучувани а интересот за микропропагација е огромен. Не постои ткиво кое не е земено во култура *in vitro* за микропропагација на каранфил, а литературните податоци се сведоци за тоа (Спасеноски, Колева-Гудева Лилјана, 2002).

Како почетни експлантати а во зависност од видот, се користеа апикални меристеми, аксиларни пупки и нодии.

2. Материјал и метод на работа

2.1. Изолирање на почетни експланати

За микропропагација на *Rosa* - мини саксиски ружи, како почетни експлантати се користеа нодии, чија големина беше околу 10 mm. Истите после стерилизација беа поставени на MS медиум.

За микропропагација на

Myrtillocactus geometrizans и *Echinopsis spachiana* - кактуси, сукулентни растенија, како почетни експланати беа земени пупки од површината на стеблото од катусот со големина од 10 до 15 mm (Слика 1. Micropropagation in practice, Part II, Cacti, George 1996).

Почетните експланати после извршената стерилизацијата беа поставени на MS медиум. Од видот *Dianthus carioophyllus* – каранфил, како почетни експлантати беа користеи меристеми или нодии.

2.2. Стерилизација на растителен материјал

Стерилизацијата на растителниот материјал, од кого беа изолирани почетните експланати, се одвиваше на следниот начин: најнапред материјалот беше промиван со млаз вода а потоа површински стерилизиран 15-10 секунди во 70% алкохол и 15-20 минути во 1% Изосан-G, но, по потреба и 5-10 минути и во 5% натриум хипохлорид. На крај материјалот беше исперен во стерилна вода.

За стерилизација на растителниот материјал земен од сукулентните растенија - кактусите *Myrtillocactus geometrizans*, и *Echinopsis spachiana*, поради присуството на боцки на површината од растението, во средствата за стерилизација се додаваше: 2-3 капки детергент Tween 80 во 70% алкохол и 2-3 капки детергент Tween 20 во 1% Изосан-G.

2.3. Состав на подлогата за одгледување на културите

Од сите користени растенија, почетните експлантати беа поставувани на MS (Murashige & Skoog 1962) минерален раствор со 3% сахароза, 0,7% агар, 100 mg/L инозитол, 200 mg/L казеин хидролизат, од витамините се користат вит. B1 (тиамин) 0,1 mg/L, B6 (пиридоксин) 1,0 mg/L и никотинска каиселина 0,5 mg/L. Од фитохормоните се користеа: IAA (индолил-3-оцетна киселина), IBA (индолил-3-бутерна киселина), NAA (1-нафтален-оцетна киселина), BAP (6-бензиламинопурин) и KIN (6-фурфурил аминопурин).

2.4. Услови за одгледување на културите

Почетните експлантати поставени на MS минерален раствор, со горенаведениот состав, како и сите пасажи во *in vitro* услови, беа поставени во клима комора со контролирани услови и тоа: на температура од $25 \pm 2^\circ\text{C}$, фотопериодизам од 16/8 часа светло/темно, и интензитет на осветлување од 2000 - 3000 Lux

3. Резултати и дискусија

3.1. Микропропагација на *Rosa*

Изолираните експлантати од *Rosa* беа поставени на МС минералн раствор во присуство на хормоните 1,0 mg/l BAP и 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA. Добиените резултати се прикажани на Табела 1 и на Слика 2. Имено на MS медиум во присуство на 1,0 mg/l BAP е добиен поголем број на изданоци, додека вкоренувањето е подобро на МС медиум во присуство на 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA (Слика 2в).

Резултатите од оваа испитување се во согласност со резултатите од повеќе автори, при што во присуство на BAP е добиено само разгранување (микропропагација) на изданоците, а вкоренување во присуство на BAP и на IBA.

3.2. Микропропагација на кактуси *Myrtillocactus geometrizans* и *Echinopsis spachiana*

За микропропагација на кактусите беа користени аксиларни пупки (Слика 3а и 4а), а резултатите се прикажани на табела 2.

Добиените резултати покажуваат дека бројот на изданоци е најголем на МС медиум во присуство на 10 mg/l KIN + 1 mg/l NAA и 10 mg/l KIN + 1 mg/l IBA (Табела 2, Слика 3б и 4б). Повисоки концентрации на цитокинини го фаворизираат овој процес, а ризогенезата е поттикната со нешто повисоко ниво на ауксин во присуство на цитокинин (Табела 2, Слика 3в и 4в).

3.1. Микропропагација на *Dianthus caryophyllus*

За вегетативно размножување на каранфил во услови *in vitro* од меристем, кај нас детално реферираа Спасеноски М., Колева-Гудева Лилјана, 2002. Како почетни експлантати во нашите истражувања земени се апикални пупки, меристем (Слика 5 а) и нодии (Слика 6), а резултатите преставени се во табела 3.

На MS медиум со различни комбинации и концентрации на ауксин со цитокинин добиено е и различно издолжување и размножување. Ризогенезата пак добиена е на MS медиум, но во присуство на ниски концентрации на IAA и IBA. За разлика од апикалните пупки, кај нодиите е забележан понизок процент на микропропагација, што и нормално се очекува, заради структурата на немеристемското ткиво, но степенот на варијабилност е поголем. Меѓутоа, независно од видот на експлантатот, *Dianthus* sp. е култура

со голема можност за микропропагација, а светската продукцијата на каранфил е тесно поврзана со култура *in vitro* (Pierik, R.L.M. 1998).

4. Заклучок

Во *in vitro* услови кај *Rosa* - мини саксиски ружи; *Myrtillocactus geometrizans* - кактус, сукулентно растение; *Echinopsis spachiana* - кактус, сукулентно растение и *Dianthus cariophyllus* – каранфил, на MS медиум во присуство на различни концентрации на цитокинини и ауксини беа добиени изданоци од различни видови на експлантати. Всушност, сите истражувани видови покажаа висок процент на мултипликација и погодни се за микропропагација, односно за вегетативно размножување во услови *in vitro*.

Литература

Ault J.R.R. and Blacknon W.J. 1987: *In vitro* propagation of *Ferocactus acanthoides* (Cactaceae) Hort Science, 22, 126-127.

Arnold et al. 1992: A study of the effect of growth regulators and time of plantlet harvest on the *in vitro* multiplication rate of hardy and hibrid tea Roses. J. Hort. Science, 67, 727-735.

Bhojwani S.S. 1990: Plant Tissue Culture: Applications and limitations: Tissue culture in relation to ornamental plants 161-190,

Frey L. 1992: Somatic embriogenesis in carnation. Hort.Sc. 27:63-65.

George, E.F. 1996: Plant Propagation by tissue culture: Part 2 In Practice. Exegetics Ltd. Edington. England.

Koleva-Gudeva Liljana, Spasenoski M., Mitrev S. 2001: Mo`nosti za primena na neкои novi metodi za dobivawe na bezvirusen posado~en materijal. God. Zbor. IJZK Strumica 1: 37-45.

Pierik, R.L.M. 1998. *In vitro* Culture of Higer Plants. Wageningen Agricultural University, The Netherland.

Spasenoski M., Koleva-Gudeva Liljana 2002: Mo`nosti za vegetativno razmno`uvawe na karanfil *Dianthus sp.* vo uslovi *in vitro*: 1^{vi} Simpozium za Hortikultuta, 2002, Ohrid Makedonija, Zbornik na trudovi: 92-97.

Табела 1. Влијанието на фитохормоните во МС медиумот врз развојот на изданоците на *Rosa*

Table 1. The effect of phytohormones on the shoot growth on *Rosa*

MS medium mg/l MS medium mg/l	бр. изданоци по стебло nr. of shoots	висина на изданоци cm length of shoots	бр. корени по стебло nr. of roots	калус callus
1,0 BAP	4,52	2,83	0	+--
1,0 BAP+0,1 IBA	2,20	2,86	4,69	+--

Табела 2. Влијанието на фитохормоните врз развојот на изданоците на *Myrtillocactus geometrizans* и *Echinopsis spachiana*

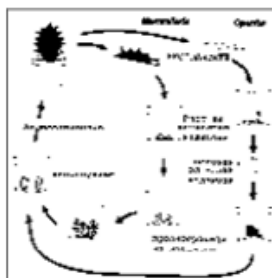
Table 2. The effect of phytohormones in MS medium on the shoot growth on *Myrtillocactus geometrizans* and *Echinopsis spachiana*

MS medium mg/l MS medium mg/l	вид на kaktus type of cacti	бр. izdanoci po steblo nr. of shoots	visina na izdanoci cm hight of shoots	бр. koreni po steblo nr. of roots	kalus callus
5 BAP + 0,1 NAA	<i>Myrtillocactus</i>	2,50	2,46	0	+--
10 BAP + 0,1 2,4D	<i>geometrizans</i>	2,88	3,10	0	+--
10 KIN + 1 NAA	(Slika 3 a,b,v)	3,33	2,05	4,58	+--
10 KIN + 1 IBA	(Figure 3 a,b,v)	3,00	2,88	3,79	+--
10 BAP + 0,1 2,4,D	<i>Echinopsis</i>	2,50	1,50	0	++-
10 KIN + 1 NAA	<i>spachiana</i>	2,11	1,39	3,40	++-
10 KIN + 1 IBA	(Slika 4 a,b,v) (Figure 4 a,b,v)	2,00	1,66	3,33	++-

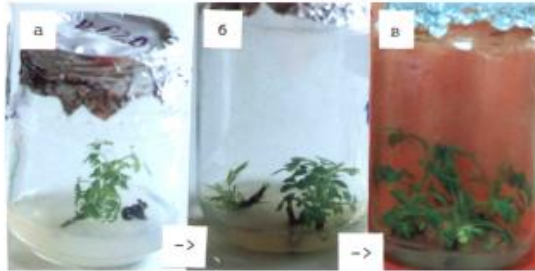
Tabela 3. Vlijanieto na fitohormonite vo MS mediumot vrz razvoјot na apikalnite pupki i nodiite od *Dianthus caryophilus*

Table 3. The effect of phytohormones in MS medium on the shoot growth on *Dianthus caryophilus*

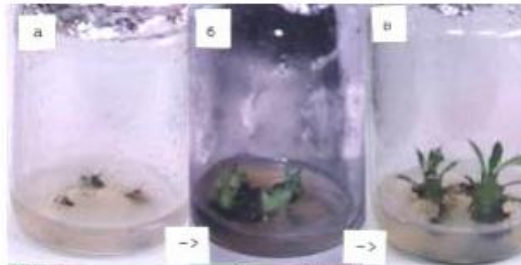
MS medium mg/l MS medium mg/l	eksplantat explantant	br. izdanoci po steblo nr. of shoots	visina na izdanoci cm hight of shoots	br. koreni po steblo nr. of roots	kalus callus
1,0 KIN + 0,5 IAA	apikalni pupki	3,0	2,0	3,0	+--
1,0 KIN + 1,0 IAA	apical buds	4,0	3,0	1,0	+--
0,5 KIN + 1,0 IAA	(Slika 5a) (Figure 5a)	13,0	3,0	7,0	---
1,0 IBA	(Figure 5a)	5,7	4,0	15,0	---
0,5 IAA		10,0	3,0	9,0	---
2,2 KIN + 0,2 NAA	nodii/nodes	3,0	3,0	0	+--
1,0 BAP + 0,1 IAA	(Slika 6) (Figure 6)	2,0	3,0	0	+--



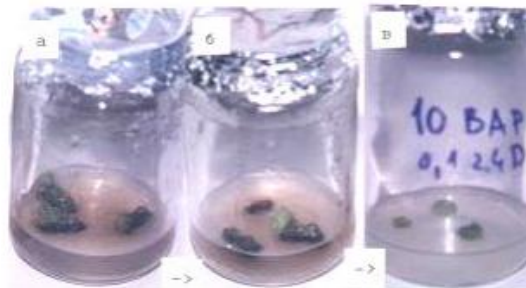
Слика 1. шематски приказ за микропропагација на кактуси
 Fig. 1. Micropropagation of cacti



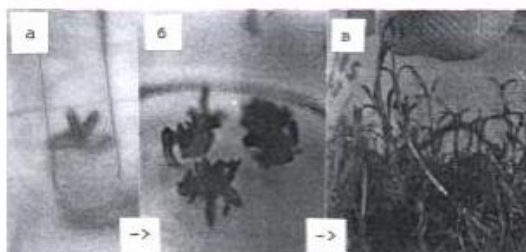
Слика 2. Микропропагација на *Rosa* - мини саксиска ружа
Figure 2. Micropropagation of *Rosa* – miniature pot roses



Слика 3. Микропропагација на *Myrtillocactus geometrizans*
Figure 3. Micropropagation of *Myrtillocactus geometrizans*



Слика 4. Микропропагација на *Echinopsis spachiana*
Figure 4. Micropropagation of *Echinopsis spachiana*



Слика 5. Микропропагација на *Dianthus* sp, од апикални пупки
Figure 4. Micropropagation of *Dianthus* sp, from apical buds



Слика 6. Микропропагација на *Dianthus* sp, од нодии
Figure 6. Micropropagation of *Dianthus* sp, from nodes