

**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП
ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ**

UDC 63(058)

ISSN 1409-987X



**ГОДИШЕН ЗБОРНИК
2008
YEARBOOK**



ГОДИНА 8

VOLUME VIII

**GOCE DELCEV UNIVERSITY - STIP
FACULTY OF AGRICULTURE**

ГОДИШЕН ЗБОРНИК
УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП
ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ

YEARBOOK
GOCE DELCEV UNIVERSITY - STIP, FACULTY OF AGRICULTURE

Издавачки совет

Проф. д-р Саша Митрев
Проф. д-р Борис Крстев
Проф. д-р Илија Каров
Проф. д-р Блажо Боев
Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева
М-р Ристо Костуранов

Editorial board

Prof. Sasa Mitrev, Ph.D
Prof. Boris Krstev, Ph.D
Prof. Ilija Karov, Ph.D
Prof. Blazo Boev, Ph.D
Prof. Liljana Koleva-Gudeva, Ph.D
Risto Kosturakov, M.Sc

Редакциски одбор

Проф. д-р Саша Митрев
Проф. д-р Борис Крстев
Проф. д-р Илија Каров
Проф. д-р Блажо Боев
Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева
Проф. д-р Верица Илиева
Проф. д-р Љупчо Михајлов
Доц. д-р Душан Спасов

Editorial staff

Prof. Sasa Mitrev, Ph.D
Prof. Boris Krstev, Ph.D
Prof. Ilija Karov, Ph.D
Prof. Blazo Boev, Ph.D
Prof. Liljana Koleva-Gudeva, Ph.D
Prof. Verica Ilieva
Prof. Ljupco Mihajlov
Ass. Prof. Dusan Spasov, Ph.D

Одговорен уредник

Проф. д-р Саша Митрев

Editor in chief

Prof. Sasa Mitrev, Ph.D

Главен уредник

Проф. д-р Лилјана Колева-Гудева

Managing editor

Prof. Liljana Koleva-Gudeva, Ph.D

Јазично уредување

Даница Гавриловска-Атанасовска
(македонски јазик)
М-р Марија Кукубајска
(англиски јазик)

Language editor

Danica Gavrilovska-Atanasova
(Macedonian)
Marija Kukubajska, M.Sc
(English)

Техничко уредување

Благој Михов

Technical editor

Blagoj Mihov

Редакција и администрација

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип
Земјоделски факултет
Бул „Крсте Мисирков“ бб
п.фах 201, 2000 Штип, Македонија

Address of editorial office

Goce Delcev University
Faculty of Agriculture
Krske Misirkov b.b., PO box 201
2000 Stip, R of Macedonia

Изданието е финансиски поддржано од Министерството за образование и наука на Република Македонија
Реализира „2-ри Август“ Штип
Тираж 300 примероци

UDC: 631.52

Прегледен труд
Revised paper

**БИОТЕХНОЛОГИЈА И БИОДИВЕРЗИТЕТ: АСПЕКТИ
НА ПОДОБРУВАЊЕ НА ГЕНЕТСКИТЕ РЕСУРСИ НА
ЗЕМЈОДЕЛСКИТЕ КУЛТУРИ**

Лилјана Колева-Гудева*, Фиданка Трајкова*, Васко Златковски*

Краток извадок

Светската популација за време на XX век бележи прираст со голема брзина, кога најбрзата милијарда (шестата милијарда) беше додадена кон човековата популација. Прирастот на населението бара повеќе ресурси на почва и вода за урбанизација, индустрисализација и земјоделство. Овој додатен притисок врз почвените и водените ресурсите веќе ја има загрозено животната средина. Затоа, развојот на модерната биотехнологија резултира со култури кои се отпорни и на биотички и на абиотички стрес. Од друга страна, организмите добиени со биотехнолошки метод покажуваат дека тоа е докажан, брз и стабилен механизам за подобрување и зголемување на генетските ресурси во земјоделството. *In vitro* техниките на растителна клетка, култури на ткиво и орган не ни се повеќе нови. Сите овие причини ни даваат добра основа за да го дискутираме значењето на широкиот земјоделски биодиверзитет, каде важноста на софистицираната биотехнологија е тесно поврзана со зголемувањето и подобрувањето на земјоделските генетски ресурси. Затоа соматската ембриогенеза, преку културата на антери од пиперка, е ефективен метод за добивање на хаплоидни и дихаплоидни хомозиготи. Оваа тема, со сите предности и недостатоци на методот, детално е презентирана и дискутирана во овој труд.

Клучни зборови: биотехнолошки методи, андрогенеза, сорти пиперка

* Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, Земјоделски факултет, ул. „Крсте Мисирков“ 66, п. фах 201, 2000 Штип, Македонија; liljana.gudeva@ugd.edu.mk

* Goce Delcev University – Stip, Faculty of Agriculture, Krste Misirkov bb PO box 201, 2000 Stip, Republic of Macedonia; liljana.gudeva@ugd.edu.mk

BIOTECHNOLOGY AND BIODIVERSITY: ASPECTS OF IMPROVEMENT OF GENETIC RESOURCES OF AGRICULTURE CROPS

Liljana Koleva-Gudeva*, Fidanka Trajkova*, Vasko Zlatklovski*

Abstract

World population has increased at a tremendous pace during the 20th century when the fastest billion (the 6th billion) was added to the human population. Increase in population certainly requires extra land and water resources for urbanization, industrialization and agriculture. This extra pressure on land and water resources is already placing the environment under threat. Therefore, the development of modern biotechnology has produced crops resistant to both biotic and abiotic stress. On the other hand, products produced with the biotechnological method show this method to be a proven, fast and steady mechanism for improvement and increase of genetic resources in agriculture.

In vitro techniques of plant cell, tissue and organ cultures are no longer novel to us. Hence, we are in a good position to discuss the relevance of wide agricultural biodiversity, where the importance of sophisticated biotechnology is strictly related to increasing and improving agricultural genetic resources. Thus, somatic embryogenesis, through anther culture in pepper, is an effective method for obtaining the haploid and doublehaploid homozygote. This issue, with all the advantages and disadvantages of the method, is presented and discussed in details in this paper.

Key words: *biotechnological methods, androgenesis, pepper varieties*

1. Вовед

Република Македонија поседува значајна агробиолошка растителна разновидност како резултат на поволните географски и климатски карактеристики. Најголем дел од вкупната обработлива површина на државата е употребена за полјоделски и градинарски култури. Важноста на градинарските култури за овој регион е од огромно значење. Во најголем процент во регионот се одгледуваат пченица, домати и пиперки, а во Струмичката Котлина традиционално се одгледуваат најразлични сорти на пиперка за свежа консумација па сè до сорти за индустриска преработка, одгледувани во оранжерији, пластеници и на отворено.

Од друга страна, новите методи на растителната биотехнологија, што во последната деценија полека но сигурно почнаа да се применуваат и кај нас, во голема мера го зголемуваат и подобруваат агробиодиверзитетот. На Земјоделскиот факултет при Универзитет „Гоце Делчев“ веќе подолг период, скоро една деценија, се работи на култура на растителни клетки



и ткива во *in vitro* услови на повеќе градинарски култури (Колева-Гудева и Спасеноски, 2001; Колева-Гудева и сораб., 2001). Особено внимание е посветено на култура на антери од пиперка, метод со кој се добиени повеќе андрогенетски линии (2002-2008). Овие линии, во последните неколку години (2005-2008), се предмет на компаративни истражувања во оранжерија, пластеник и на отворено. Нивните производствени, хранливи и технолошки карактеристики се испитуваат во континуитет, со крајната цел за подобрување и збогатување на генофондот на македонските сорти на пиперки.

2. Материјал и методи на работа

Во култура на антери од пиперка беа поставени 21 различни генотипови (тиран, куртовска катија БГ, куртовска катија ТР, куртовска катија СР, куртовска катија ШТ, златен медал ШТ, златен медал СР, бонбона, слатко лута, везена лута, сирија, феферона, калифорниско чудо, фехерозон, ротунд, притавит, доматовидна блага, тура, мајори, кинсем и витамин Ф), а од добиените регенеранти во лабораториски услови успешно се аклиматизираа и адаптираа на нестерилни услови само 4 (куртовска катија СР, златен медал СР, тиран и фехерозон).

Од овој стартен материјал се изведени 11 андрогенетски линии кои се предмет на компаративни истражувања на карактеризација и селекција во оранжерија, пластеник и на отворено (Колева-Гудева и Трајкова, 2005, 2007; Колева-Гудева и сораб., 2007 б).

Истражувањата за андрогенетскиот потенцијал на испитуваните генотипови на пиперка во *in vitro* услови се изведувани според методот на Dumas de Valux (1981), користени се и други инкубациони медиуми со соодветни температурни стресови како: MS (Murashige и Skoog, 1962) и N (Nitsch, 1969) со третман на 25°C и LS (Linsmaer и Skoog, 1965) и NN (Nitsch и Nitsch, 1969) со третмен на 7°C.

2.1.Предности и негативности на методот култура на антери од пиперка во *in vitro* услови

Андрогенезата која се одвива во услови *in vitro* е биотехнолошки метод за добивање на хаплоидни единки. Тоа е сигурна постапка за добивање на хомозиготно хаплоидно или дихаплоидно потомство, каде вегетативното или генеративното јадро од поленовото зрно се стимулира да се развие во нова хаплоидна индивидуа без понатамошно оплодување.

Од друга страна, иако е сето тоа возможно многу видови од земјоделските култури немаат способност за успешна микропропагација на микроспората. Андрогенезата е доста рестриктивна појава и за жал

многу често видови кои имаат големо комерцијално значење се неуспешни генотипови во оваа постапка. Причините за оваа ограничена појава се од најразлична природа, како: потеклото на стартниот материјал, староста на цветните пупки, генетската одреденост за андрогенеза, инкубациониот медиум, составот на хормоните во медиумот, инкубациониот температурен третман и многу други познати и непознати причини (Колева-Гудева, 2005). Од тие причини, вршени се истражувања за андрогенетскиот потенцијл на најразлични медиуми со различни инкубацијски температурни третмани од страна на многу истражувачи, со цел да се зголеми продуктивноста на оваа постапка (табела 1, табела 2).

3. Резултати и дискусија

Пиперките се непредвидливи култури во услови *in vitro* и поради тоа резултатите кои се добиваат со култура на клетки и ткива се умерени, а по сè изгледа дека културата на антери е единствен исклучок од тоа правило (Mytiko и Fary, 1997). Може да се каже дека сите испитувани генотипови не се способни за формирање на хаплоидни ембриоиди (Koleva-Gudeva et al., 2007; Koleva-Gudeva et al., 2009).

Механизмот на топлиот и ладниот температурен шок во индуцијата на андрогенезата е дискутиран од голем број на автори, а некои од нив се прикажани во табела 1. Температурните стрес-инкубацијски третмани имаат за цел да ги поттикнат андрогенетските процеси, но до денес овој механизам во целост не е разјаснет. Врз основа на бројни истражувања е докажано дека топлиот третман од 35°C има поголем ефект од ладниот (Колева-Гудева, 2003а, 2003б; Koleva-Gudeva et al. 2007).

Друг релевантен фактор е и составот на хранливата подлога, за што исто така е посветено огромно внимание од научници кои работат на оваа проблематика (табела 2). Дали андрогенезата ќе тече во правец на делба на микроспората и формирање на ембриоиди, т.е. во правец на соматска ембриогенеза или пак ќе се формира калус т.е. во правец на калусогенеза, зависи најмногу од составот на подлогата и температурниот третман (Колева-Гудева, 2003 а, 2003 б).

4. Заклучок

Од поставените 21 различни генотипови на пиперка 12 покажаа андрогенетска способност за формирање на ембриоиди, а од 4: *куртовска катија, златен медал, фехерозон и тиран* е добиен семенски материјал. Од овој семенски материја се изведени 11 андрогенетски линии кои во последните неколку години се предмет на континуирани и компаративни истражувања во оранжерија пластеник и на отворено.

Според Студијата за биодиверзитетот на Република Македонија (2003), во Република Македонија се признаени 129 домашни и 2.205 увезени сорти, кои се одомаќинети, каде пиперката е застапена со 5 домашни признаени сорти, 51 одобрени странски сорти и 18 одомаќинети странски сорти, што е доказ за големата агробиолошка разновидност. Новите андрогенетски линии, кои се предмет на понатамошна карактеризација и селекција на пиперката, се потенцијал со кој не само што се зголемува агродиверзитетот на пиперката, туку тенденциозно се подобрува генофондот за селекција на земјоделските култури.

Со овој биотехнолошки метод битно го оплеменуваме генетскиот фонд на пиперката, кој е селектиран со децении во Ген банката во Струмица на Земјоделскиот факултет при Универзитетот „Гоце Делчев“ – Штип.

Литература

- Dolcet-Sanjuan R., Claveira E. (1994): Carbon dioxide enrichment and carbohydrates in androgenesis of *Capiscum annuum* L.. HortScience, 29: 465.
- Dolcet-Sanjuan R., Claveira E., Huerta A. (1997): Androgenesis in *Capiscum annuum* L. – Effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. J Amer Soc Hort Sci, 122: 468-475.
- Dumas de Valux R., Chambonner D., Pochard E. (1982): *In vitro* anther culture in red pepper (*Capiscum annuum* L.): improvement of the rate of plant production in different genotypes by treatments at 35 deg C. Agronomie, 1: 859-864.
- Gonzales-Garcia J. (2002): Plant induction by anther culture of jalapeno pepper (*Capiscum annuum* L.). Yeast Genetics and Molecular Biology 2002, University of Wisconsin, Madison, USA, July 30-August 4, 2002. YGM 2002 Abstract #503.
- Irikova T., Rodeva V. (2004): Anther culture of pepper (*Capiscum annuum* L.): The effect of nutrient media. Capsicum and Eggplant Newsletter, 23: 101-104.
- Kim J.Y., Kim Y.S., Yi G., Kim K.M. (2005): Anther culture of transgenic pepper (*Capiscum annuum* L.). Korean Journal of Breeding, 37: 241-246.
- Колева-Гудева Л. и Спасеноски М. (2001): Ефектот на некои цитокинини врз органогенезата на пиперката (*Capiscum annuum* L.). Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица. Вол 1: 31-35.
- Колева-Гудева Л., Митрев С. и Спасеноски М. (2001): Можности за примена на некои нови методи за производство на безвирусен посадочен материјал. Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица. Вол 1: 37-45.



- Колева-Гудева Л. и Спасеноски М. (2002): Индуција на калус од антери на пиперка. Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица, Вол 2: 59-68.
- Колева-Гудева Л. (2003а): Влијание на инкубацијскиот третман врз андрогенезата на пиперка. Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица, Вол 3: 87-94.
- Колева-Гудева Л. (2003б): Култура на антери од пиперка (*Capsicum annuum* L.). Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица, Вол 3: 95-102.
- Колева-Гудева Л. и Трајкова Ф. (2005): Добивање на семе од пиперка добиена во *in vitro* култура од антери. Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица, Вол 4/5: 85-93.
- Колева-Гудева Л. (2005): Капсицин – можен инхибирачки фактор во андрогенезата на пиперката. Годишен зборник на Институт за јужни земјоделски култури, Струмица, Вол 4/5: 75-83.
- Колева-Гудева Л., Трајкова Ф. (2007): Примена на андрогенезата како метод за подобрување на разновидноста на земјоделските култури. III Конгрес на еколоzi на Македонија. Зборник на трудови: 284-290.
- Koleva-Gudeva L., Spasenoski M., Trajkova F. (2007a): Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effects of incubation treatments and different media. *Scientia Horticulturae*, 111: 114-119.
- Колева-Гудева Л., Трајкова Ф., Спасеноски М. (2007б): Генетски ресурси на *Capsicum* spp. во Ген банката на Земјоделскиот факултет при Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип. III Конгрес на еколоzi на Македонија. Зборник на трудови: 303-309.
- Koleva-Gudeva, L., Trajkova, F., Dimeska, G., Spasenoski, M. 2009. Androgenesis efficiency in anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Hort. (ISHS)*, 830: 183-190.
- Kristiansen K., Andersen S.B. (1993): Effects of donor plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of *Capiscum annuum* L.. *Euphytica*, 67: 105-109.
- Linsmaer E.M., Skoog F. (1965): Organic growth factor requirement of tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 18: 100-127.
- Litifi A., Wenzel G. (1994): Anther culture of hot and sweet pepper (*Capiscum annuum* L.): Influence of genotype and plant growth temperature. *Capsicum and Eggplant News*, 13: 74-77.
- Matsubara S., Yammamoto M., Nab-Hyun J.O., Murakami K., Man H.J. (1998): Embryoid and callus formation from microspores by anther culture from July to November in pepper (*Capiscum annuum* L.). *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University*, 87: 117-122.



- Mityko J., Fari M. (1997): Problems and results of doubled haploid plant production in pepper (*Capiscum annuum* L.) via anther and microspore culture. *Acta Horticulturae*, 447: 281-287.
- Morrison R.A., Koning E.R., Evans D.A. (1986b): Pepper. In: *Handbook of Plant Cell Culture*. Macmillan, New York, Vol. 4, 552-573.
- Morrison R.A., Koning E.R., Evans D.A. (1986a): Anther culture of interspecific hybrid of *Capsicum*. *Journal of Plant Physiology*, 126: 1-9.
- Munyon I.P., Hubstenberger J.F., Phillips G.C. (1989): Origin of plantlets and callus obtained from Chile pepper anther cultures. *In Vitro Cell Dev Biol*, 25: 293-296.
- Murashige T., Skoog F. (1962): A reserved medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15: 473-497.
- Mythili J.B., Thomas P. (1999): Influence of ammonium to nitrate nitrogen ratio in different basal media on callusing response of *Capsicum* (*Capiscum annuum* L. *grossum* Sendt.) anthers. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37: 314-316.
- Nitsch J.P. (1969): Experimental and androgenesis in *Nicotiana*. *Phytomorphology*, 19: 389-404.
- Nitsch J.P., Nitsch C. (1969): Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163: 85-87.
- Nowaczyk P., Kisiala A. (2006): Effects of selected factors on the effectiveness of *Capiscum annuum* L. anther culture. *J Appl Genet*, 47: 113-117.
- Özkum D., Tipirdamaz R. (2002): The effects of cold treatment and charcoal on the in vitro androgenesis of pepper (*Capiscum annuum* L.). *Turk J Bot*, 26: 131-139.
- Özkum D., Tipirdamaz R., Ellatioglu S. (2001): The relationship between the endogenous abscisic acid content of anthers and in vitro androgenesis in pepper (*Capiscum annuum* L.). *Acta Horticulturae*, 560: 327-329.
- Qin X., Rotino G.L. (1993): Anther culture of several sweet and hot pepper genotypes. *Capsicum and Eggplant News*, 12: 59-62.
- Rodeva V. (2001): *In vitro* regeneration in anther culture of pepper (*Capiscum annuum* L.). Scientific works of Agricul Univ, Plovdiv, 3: 211-214.
- Rodeva V., Irkova T., Todorova V. (2004): Anther culture of pepper (*Capiscum annuum* L.): comparative study on effect of the genotype. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 3: 34-38.
- Rodeva V., Grozeva S., Todorova V. (2006): *In vitro* answer of Bulgarian pepper (*Capiscum annuum* L.) varieties. *Genetica (Serbia)*, Vol. 38, 2: 129-136.
- Rodeva V., Koleva-Gudeva L., Grozeva S., Trajkova F. (2007): Obtaining of haploids in anther culture of pepper *Capiscum annuum* L. and their including in the breeding process. Goce Delcev University, Stip, Faculty of Agriculture, Yearbook 7: 7-17.



- Sibi M., Dumas de Vaulx R., Chambonnet D. (1980): Androgenese *in vitro* chez le Piment *Capiscum annum* L.: Impact des pertraiements sur le taux de plantes regenerées. In: Reunion C R (ed) EUCARPIA Application de la culture *in vitro* a l'Amelioration des Plantes Potageres. Versailles, April 16-18, 143-149.
- Sibi M., Dumas de Vaulx R., Chambonnet (1979): Obtaining haploid plants by *in vitro* androgenesis in red pepper (*Capiscum annum* L.). Annales de l'Amelioration des Plantes, 29:583-606.
- Simeonova N., Pandeva R., Zagorska N. (1990): Pollen and anther cultures of pepper (*Capiscum annum* L.). V-th International Youth School, Conference on Genetics. Albena 11-15 Sept 1990, 186-189.
- Студија за биодиверзитетот на Република Македонија (Прв национален извештај)(2003): Министерство за животна средина и просторно планирање, Скопје, стр.1-217.
- Supena E.D., Suharsono S., Jacobsen E., Custers J.B. (2006): Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capiscum annum* L.). Plant Cell Rep, 25: 1-10.
- Vagera J., Havranek P. (1985): *In vitro* induction of androgenesis in *Capiscum annum* L. and its genetic aspects. Biologia Plantarum, 27: 10-21.

Табела 1. Ефектот на температурниот третман врз индуцијата на андрогенезата *in vitro*
Table 1. Effect of temperature treatment on induction of pepper androgenesis *in vitro*

Температурен третман Temperature treatment	Експлантати Explants	Ефекти Effect	Автори Authors
4°C	Цветни пупки Flower Buds	Стимулација на ембриогенезата Stimulate embryogenesis	Sibi et al 1979; Morrison et al. 1986a; Supena et al 2006
		Нема позитивен ефект No positive effect	Vagera and Havranek 1985; Munyon et al 1989; Özkum et al 2001; Özkum and Tipirdamaz 2002; Kim et al 2005
7°C	Антери Anthers	Стимулација на ембриогенезата Stimulate embryogenesis	Dolcet-Sanjuan et al. 1997
		Нема позитивен ефект No positive effect	Колева-Гудева и Спасеноски 2002; Колева-Гудева Л. 2003a; Koleva-Gudeva L. et al. 2007
9°C	Антери Anthers	Стимулација на ембриогенезата Stimulate embryogenesis	Dumas de Valux et al 1982; Supena et al. 2006
25°C	Антери Anthers	Нема позитивен ефект No positive effect	Колева-Гудева и Спасеноски 2002; Колева-Гудева 2003a, 2003b; Koleva-Gudeva et al. 2007
35°C	Антери Anthers	Стимулација на ембриогенезата Stimulate embryogenesis	Sibi et al 1980; Morrison et al. 1986b; Колева-Гудева 2003a, 2003b; Koleva-Gudeva et al. 2007; Rodeva et al. 2007

Табела 2. Ефектот на хранливата средина во култура на антери од пиперка
Table 2. Effect of culture media used for anther culture of pepper

Хранлива средина / Автор Medium / Author	Применето од други автори Applied by other authors	Резултати Results
Cp, R1 / Dumas de Valux 1981	Qin and Rotino 1993; Kristiansen and Andersen 1993; Litifi and Wenzel 1994; Mityko and Fari 1997; Dolcet – Sanjuan et al 1997; Rodeva et al. 2004, 2007; Колева-Гудева 2003а, 2003б; Koleva-Gudeva et al. 2007	Формирање на ембриоиди Embryo formation
MS / Murashige and Skoog 1962	Matsubara et al 1998; Gonzales-Garcia 2002; Özkum and Tipirdamaz 2002; Irikova and Rodeva 2004; Rodeva et al. 2006, 2007; Supena et al 2006;	Ембриогенетски антери Emбриогенетички антери Emбриогенетic anthers
	Колева-Гудева 2003а, Koleva-Gudeva et al 2007	Калус / Callus formation
Cm, Rm, Cp, R1, R2, RM, V3 Sibi et al. 1979; Chambonet 1988	Morrison et al 1986b; Rodeva 2001; Irikova and Rodeva 2004; Nowaczyk et al 2006; Simeonova et al 1990	Ембриогенетски антери Emбриогенетички антери Emбриогенетic anthers
B5 / Gamborg et al 1988	Mythili and Thomas 1999	Калус / Callus formation
N / Nitsch 1969	Koleva-Gudeva et al. 2007; Колева-Гудева и Спасеноски 2002; Колева-Гудева 2003а;	Калус / Callus formation
NN / Nitsch and Nitsch 1969	Dolcet-Sanjuan et al. 1994; Supena et al. 2006	Формирање на ембриоиди Embryo formation
	Колева-Гудева и Спасеноски 2002; Колева-Гудева 2003а, 2003б; Koleva-Gudeva et al. 2007	Калус / Callus formation
LS / Linsmaer and Skoog 1965	Колева-Гудева и Спасеноски 2002; Колева-Гудева 2003а, 2003б; Koleva-Gudeva et al. 2007	Калус / Callus formation