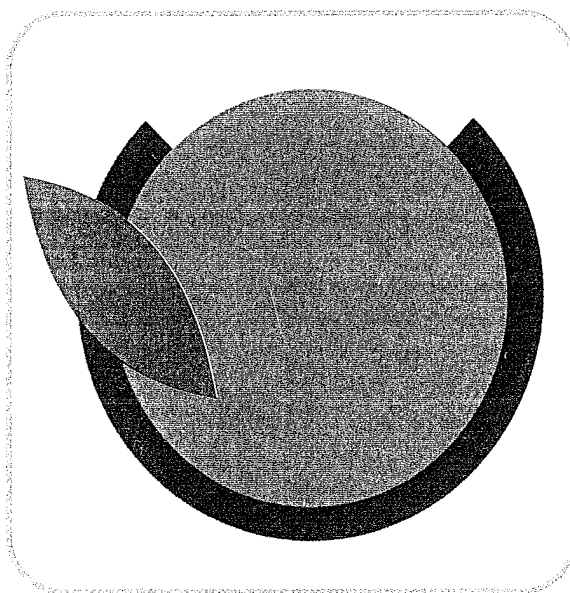


# FIRST SYMPOSIUM ON HORTICULTURE

# ПРВ СИМПОЗИУМ ЗА ХОРТИКУЛТУРА

16 - 20 OCTOBER, 2002  
OHRID, REPUBLIC OF MACEDONIA  
16 - 20 ОКТОМВРИ 2002  
ОХРИД, РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

## SYMPOSIUM PROCEEDINGS ЗБОРНИК НА ТРУДОВИ



Faculty of Agriculture - Skopje  
University St. Cyril and Methodius - Skopje

Земјоделски факултет - Скопје  
Универзитет Св. Кирил и Методиј - Скопје



## **“IN VITRO” POSSIBILITIES FOR VEGETATIVE MULTIPLIKATION OF CARNATION (*Dianthus sp.*)**

**M. SPASENOSKI, LILJANA KOLEVA-GUDEVA, MILANKA JANCEVA**  
Faculty of Natural Science and Mathematics, Skopje R. Macedonia  
Faculty of Agriculture, Skopje, R. Macedonia

### **ABSTARCT**

For “in vitro” regeneration of carnation (*Dianthus sp.*) as initial explants were used apical buds. The explants were cultivated on MS (Murashige and Skoog, 1962) mineral solution, sucrose, agar-agar, inositol, casein, Vitamins: B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, nicotine acid and phytohormones: 0,5 mg/l IAA and 1 mg/l KIN.

The cultures were kept under controlled conditions. Shoot of apical buds indicated the hinges multiplication on MS medium with 0,5 mg/l IAA + 1 mg/l KIN + 0,5 mg/l BA. Rooting of shoots was obtained at 2 mg/l IAA + 0,1 mg/l KIN + 2 mg/l adenine. Rooted plants obtained from apical buds after 15-20 days in clime room condition on a sterile mixture of pert, send and perlit (1:1:1) were well adapted. They normally grew and developed there.

**Key words:** micropropagation, multiplication, rooting, acclimatization, carnation (*Dianthus sp.*).

### **ВОВЕД**

Едни од најатрактивните цветови во растителниот свет се сеаќавват кај видовите од родот *Dianthus*. Огромниот број на видови како и големиот број на хибриди од *Dianthus caryophilus* дава за право да се каже дека тоа се најраспространети и најбројни цвеќарски видови. Се среќаваат како градинарски, орнаментални, 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 (E.F. George 1996):

- **меристем:** Hollings (1965), Stone (1963), Hacket and Anderson (1967), Penazzio (1975), Shable and Murashige (1977), Jelaska and Sutina (1977), Hempel (1979), Majada (1992), Ziv and Ariel (1992) и др.;
- **апикален изданок:** Baker and Phillips (1962), Gukasyan et al. (1977), Schnap and Preece (1986), Weryszko and Hempel (1979), Petru and Landa (1974), Kusey et al. (1978; 1980);
- **аксиларен изданок:** Leshem (1986), Kozak and Hampel (1979), Schnaap and Preece (1986);
- **петиола(цветна дршка):** Leshem (1986), Frey and Janick (1991), Nakano et al. (1994), Simard et al. (1992), Vainstein et al. (1992);
- **хипокотил:** Petru and Landa (1994),
- **нодија:** Frey and Janick (1991), Roest and Bokelmann (1981), Dereuddre et al. (1987; 1988);

- **интернодија:** Frey et al. (1992), Simard et al. (1992);  
- **сегменти од листови:** Van Altvorst et al. (1992), Weryszko and Hampel (1979);  
и многу други различни ткива и клетки кои се користат во методот “in vitro” пропација на каранфил.

Производство и одржување на растенија со култура на ткива денес масовно се користи, затоа што за кратко време и на мал простор од едно растение може да се добијат, условно, неограничен број на генетски идентични единки (Колева-Гудева Лилјана, Спасеноски, М. Митрев.С, 2001)

Основна цел на нашите испитување беше да се постави култура од апикални пупки, меристемско ткиво, од каранфил *Dianthus sp.* Низ сите фази на регенерацијата во “in vitro” услови се следеше развојот на почетните експлантати, нивното размножување, издолжување, вкоренување и на крај адаптацијата на нестерилни услови.

Во последните 10 години, откако се потврди дека растенијата можат рапидно да се клонираат “in vitro” за разлика од “in vivo” услови, сознанијата за пропација рапидно пораснаа, така денес продукцијата на *Dianthus* и *Chrysanthemum* е тесно поврзана со микропропација (Pierik, R.L.M. 1998).

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

Експлантатите се земени од млади растенија одгледувани во стакленик со висина од 15-10 cm. За изолирање на апикалните пупки со големина од 0,2 до 1 cm. млади растенија, земени во јануари, се ставаа во пластични кеси и до употреба беа држени во фрижидер на температура од +4°C. Изолирањето на меристемот од апикалните и аксиларните пуки е изведено во стерилна комора а веднаш потоа е култивиран на MS (Murashige and Skoog, 1962) хранлива подлога. Растителниот материјал се стерилизираше на следниот начин: најпрво врвните делови од стеблата на каранфилот беа измиени под млаз од вода, потоа беа држени 3 минути во 90% алкохол, па 3 минути во 75% алкохол, потоа неколку пати преклакнети во дестилирана вода и на крај преплакнати во стерилна вода. Од вака стерилизираниот материјал се отстрануваа апикалните пупки и истите беа поставувани на MS хранлива подлога. Во составот на медиумот секогаш додаваме: MS минерален раствор, никотинска киселина 0,5 mg/l, тиамин 0,5 mg/l, пиридоксин 1,0 mg/l, инозитол 100 mg/l, агар 0,7 %, сахароза 5%, а користените фитохормони и тоа KIN, BAP, GA<sub>3</sub>, IAA и IBA ги додаваме во различна комбинација и концентрација во зависност од фазата на развој и од степенот на органогенеза на почетниот експлантат. Стерилизацијата на медиумот е изведена со автоклавирање на температура од 120°C, притисок на водните пари од 121,59 kPa за време од 20 мин. а пред тоа рН вредноста на истиот беше подесена на 5,8.

Регенерација на каранфилот беше изведена во неколку фази:

- **прва фаза:** развој на пупките (меристемот) во лисна розета;
- **втора фаза:** размножување на изданоците;
- **трета фаза:** издолжување на изданоците;
- **четврата фаза:** вкоренување на изданоците;
- **пета фаза:** пренесување на растенијата во нестерилни услови.

Во сите овие фази набљудуван е и ефектот на регулаторите на растот врз степенот на регенерација и органогенеза на експлантатот.

Сите култури беа чувани на контролирани услови на температура од 25°C со интензитет на осветлување од 2000-3000 лукси и фотопериодизам 12/12 светло/темно.

Вкоренетите регенеранти, исперени од агарот под млаз вода, засадени се во пластични садчиња во стерилна смеша од хумус : песок : перлит во однос 1 : 1 : 1, поставени во пластична када, покриени со стаклени садови и чувани во клима комора. По десетина дена истите беа префрлени во стакленик, каде добро се адаптираа и го завршија својот вегетативен циклус.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Првата фаза од регенерацијата на пупките, т.е. развитокот на меристемот во лисна розета, е изведена на MS+0,1IBA+0,1GA<sub>3</sub>+1,0BAP (Слика 1). Направени се неколку пасажи на истата подлога, а ефектот на регулаторите на растот е даден во табела 1.

**Табела 1.** Развиток апикалните пупки на MS медиум, по 30 дена.

MS медиум mg/l	бр. на изданоци по стебло	вис. на изданоци cm	бр. на корен по стебло	% на регене- рирани	ка- лус
0,1 IBA+0,1 GA <sub>3</sub> +1,0 BAP	12	2	0	43	++-

Се додека лисната розета добиена од меристемот не се организира во млади изданоци со големина од околу 2 cm не може да се премине на фазите за издолжување и вкоренување а тоа е постигнато со 2 до 3 пасажи.

Размножувањето и издолжувањето на изданоците е изведено на неколку различни подлоги со различна комбинација и концентрација на фитохормоните а нивниот ефект за секоја различна подлога е различен и е даден во табела 2, слика 2.

**Табела 2.** Размножување и издолжување на изданоците на MS, по 30 дена.

MS медиум mg/l	бр. на изданоци по стебло	вис. на изданоци cm	бр. на корен по стебло	долж. корени cm	ка- лус
0,5 IAA + 1,0 KIN	3	2	3	1,5	+-
1,0 IAA + 1,0 KIN	4	3	1	2	+-
0,5 IAA + 1,0 KIN+0,5BAP	40	1	0	-	++-

Со зголемување на концентарцијата на IAA се добива поголемо размножување. Присуството на BAP во медиумот поволно влијае на размножувањето, добиени се дури по 40 изданоци од експлантат, а неповолно за вкоренувањето. Влијанието на BAP врз развојот и размножувањето на врвните пупки е забележано кај голем број растителни видови (Murashige, 1978). При тоа заклучено е дека за секој вид постои оптимална концентрација на која растот е најдобар, а со нејзино поминување доаѓа до угинување на експлантатот. BAP има улога во смалување на апикалната доминација а со тоа на зголемување на размножувањето (Murashige, 1972). Тоа се докажа и кај каранфилот со оптимална концентрација на BAP од 0,5 mg/l.

Во фазата на вкоренување е покажано дека најважна улога имаат ауксините и влијаат врз развојот на корение (Skoog & Miller, 1957; Nightman & Thimant 1976). Видот на ауксинот и неговата концентрација е различна за секој растителен вид, и секогаш има оптимална концентрација над која вкоренувањето се смалува и настанува калусирање. Ауксините имаат улога само во почетната фаза на зачнување на корените, додека покасно го инхибираат нивниот развој и издолжување (Janes 1979). Цитокинините неповолно влијаат врз вкоренувањето на каранфилот додека ауксините имаат позитивен ефект Табела 3.

**Табела 3.** Вкоренување на изданоците на MS медиум, по 30 дена.

MS медиум mg/l	бр. на изданоци по стебло	вис. на изданоци cm	бр. на корен по стебло	долж. корени cm
0,5 IAA	10	3	9	4
1,0 IAA + 0,5 KIN	13	3	7	3
2,0 IAA + 0,1 KIN+2,0BAP	10	2,5	2	3,5
1,0 IBA	5,7	4	15	3

Најдобри подлоги за вкоренување на стеблата се покажаа MS + 2,0 IAA + 0,1 KIN + 2,0BAP (Слика 3) и MS+1,0 mg/l IBA.

Последната а воедно и многу критична фаза, адаптацијата на нестерилни услови зависи од неколку многу битни фактори: влага, светлина и температура. Доволно влажност се постигнува со "мист" системот или со покривање со пластични покриви. Кај каранфилот тоа е постигнато со покривање на саксиите со стаклени садови. На крај растенијата се префрлени во стакленик каде добро се адаптираа и доро се развиваа (Слика 4).



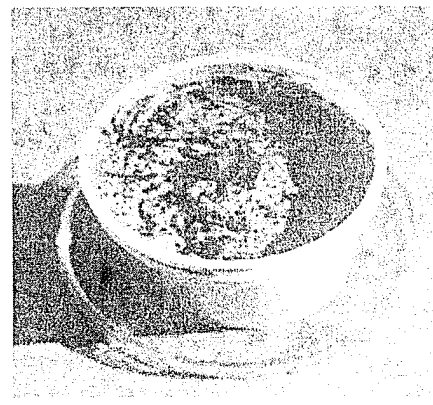
Слика 1. Апикален меристем од *Dianthus sp.* на MS +0,1IBA + 0,1GA<sub>3</sub> + 1,0BAP (mg/l).



Слика 3. Изданоци од *Dianthus sp.* на подлога за вкоренување MS + 2,0 IAA + 0,1GA<sub>3</sub> + 1,0BAP (mg/l).



Слика 2. Лисни розети од *Dianthus* sp. на подлога за размножување MS +0,5 IAA + 1,0 KIN (mg/l).



Слика 4. Младо растение пренесено во надворешни услови во смеша од хумус : перлит : песок.

### ЛИТЕРАТУРА

- Frey L., et al. 1992. Somatic embriogenesis in carnation. Hort.Science 27: 63-65.
- George, E.F. 1996. Plant Propagation by tissue culture: *Dianthus* spp. and hybrids. Part 2 In Practoce. Exegetics Ltd. Edington. England.
- Janes, O.P. 1979. Auxin as a limiting factor in the differentiation of plant tissue. Recent. Adv. Bot. Oniv. Toronto Press 8: 786-790.
- Колева-Гудева Лилјана, Спасеноски, М. Митрев. С, 2001. Можности за примена на некои нови методи за добивање на безвирусен посадочен материјал. Год. Збор. Инст. за јужни земјоделски култури Струмица 1: 37-45.
- Pierik, R.L.M. 1998. In vitro Culture of Higer Plants. Wageningen Agricultural University, The Netherland.
- Skoog, F, and Miller C.O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. Exp. Biology. 126:118-131.
- Спасеноски, М. 1993. Вегетативно размножување кај некои растителни видови во услови in vitro и можност за добивање на здрав растителен материјал, Годи. Збор. за заштита на растенијата 1993. 5: 145 - 148.
- Ziv M., and Ariel 1992 On the relation between virtification and somatal cell wall deformitu in Carnation. Acta Hort., 314: 121-129.