

## ДИХАПЛОИДИ ОД АНТЕРИ НА ОРИЕНТАЛСКИ ТУТУН И НИВНИТЕ МОРФОЛОШКИ СВОЈСТВА

Гордана Мицеска, Мирослав Димитриески  
Институт за тутун - Прилеп

### 1. ВОВЕД

Еден од денес често употребуваните биотехнички методи кај растенијата е методот на двојните хаплоиди, чија главна цел е скратување на селекциониот процес во полски услови при добивање на хомозиготни линии во првите генерации, а врз основа на различните комбинации кои настануваат на ниво на гамети, консолидирање на линиите и создавање на нови сорти (Robert A. Morison, David A. Evens 1988).

При редуccionото делење на половите клетки се добиваат клетки со еднакви наследни информации, т.е. уште во првите генерации има распаѓање на хибриодот на хомозиготни линии, но со удвојување на геномот на секој хаплоиден регенрант се добиваат дихаплоиди кои се разликуваат од родителските форми по некои морфолошки својства (Oinuma, Tetal 1974); сепак, секое дихаплоидно потомство е хомозиготно. Хомозиготните линии покажуваат високо ниво на униформност (Devereux, Lameri, 1974) во споредба со стандардните сорти, а во други

случаи (Legg, Collins, 1968) се забележуваат одредени варирања во морфолошките својства помеѓу линиите добиени од едно растение. Raymond (1987) во своите испитувања открива значајни разлики во сите показатели, освен по бројот на листови меѓу дихаплоидните регенранти на високохибридната сорта NC 95.

Постојат некои спорни моменти околу предностите и недостатоците на хаплоидните методи, односно методот на индуцирана андрогенеза при добивањето на дихаплоидни хомозиготни растителни линии. Со цел да се надминат или разјаснат некои од овие сомневања, во овој труд си поставивме за задача да ги испитаме морфолошките својства на некои дихаплоидни линии тутун во споредба со нивните аналози, како и да ја потврдиме примената на индуцираната андрогенеза, во зависност од целите на селекцијата во добивањето на хомозиготни дихаплоидни линии тутун.

### 2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

Дихаплоидизацијата е спроведена со директна органогенеза на хаплоидните растенија користејќи ја методата култура на ткива (меристеми, делови од лист со големина од 0,5 cm), на хранлива средина по Murashige и Skoog (1962), модифицирана за директна органогенеза и оптимизирана со различни хемиски супстанции во mg/l: казеин хидролизат - 1; L- глутамин - 250; глицин 200; ИОК - 0,2; ВАР - 0,5; аденин - 20; кинетин - 3; миоинозит - 100. Првите добиени потомства беа одгледувани во Биолошката лабораторија во вегетационска каша 3:1 (перлит, почва) до добивање на семенски материјал.

Оценката на дихаплоидните потом-

ства беше извршена во полски услови во периодот 2005-2006 година на опитното поле во Институтот за тутун - Прилеп. Опитот беше поставен по стандардните селекциони методи (Случаен блок систем во 4 повторувања), во кој беа вклучени три дихаплоидни линии тутун П 146-7/1 ДХ, Јк. 301/23 ДХ, Хиб. 301/Н ДХ (Слики бр.2,4,6) и нивните аналози (Слики бр.1,3,5). Во текот на вегетациониот период на тутунот беа набљудувани основните биометриски показатели: висина на растенијата, број на листови, димензии на најголемиот и на врвните листови. Извршена е статистичка обработка на добиените резултати.

### 3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

#### \*Морфолошки својства

\*\* Висина на растенијата со соцветие

Хаплоидните потомства добиени од антерите на испитуваните линии тутун покажуваат фенотипска генетска различност како резултат на рекомбинацијата на гените, но со удвојување на хомологните гени во хаплоидот се постигнува хомозиготност која е изразена во морфолошките својства на дихаплоидните потомства (Oinuma, Tetal, 1974).

Испитувајќи го варирањето на висината на растенијата и бројот на листовите кај неколку дихаплоидни потомства од ориенталски тип тутун, Димитрова (1991) истакнува дека варијациониот коефициент е низок и се движи од 4-4,5% за висината на растенијата и 3,7 - 5,5% за бројот на листови по растение, што значи дека испитуваните дихаплоидни линии покажуваат висока морфолошка изедначеност во однос на овие својства.

Фенолошките набљудувања во текот на вегетациониот период и во двете години на испитувања покажаа висока изедначеност на растенијата, особено кај дихаплоидните потомства.

Имено, во нашите испитувања, варирањето на висината на растенијата (Табела 1) е незначително и помало кај дихаплоидните линии во споредба со нивните аналози, вари-

јациониот коефициент за висината на растенијата се движи од 3,17% (Хибрид 301/Ш) до 8,44% (Јк.301/23Ш), за реколтата 2005 година и од 0,94% (П146-7/1ДХ) до 3,66% (П146-7/1Ш), за 2006 година.

Средното квадратно отклонување е од  $\delta = 1,96$  cm (П 146-7/1 ДХ) до  $\delta = 9,50$  cm (Јк.301/23Ш) за 2005 година и од  $\delta = 0,71$  cm (П146-7/1ДХ) до  $\delta = 2,58$  cm (Јк.301/23 ДХ).

Нашите испитувања се совпаѓаат со испитувањата на С. Димитрова (1991) која, испитувајќи ги агробиолошките карактеристики на некои дихаплоидни линии ориенталски тутун и нивните аналози, дошла до заклучок дека варијациониот коефициент за висината на растенијата е понизок кај дихаплоидната сорта Тича 117(5,66%) и Еленски 817(7,34%). Тоа покажува дека двете сорти се изедначени во однос на ова својство,

Енчева Ю. и Д. Стойкова (2000), пак, испитувајќи ја генетичката стабилност на дихаплоидните потомства од неколку хибридни комбинации ориенталски тутун дошле до заклучок дека растенијата се доста изедначени при што варијациониот коефициент за висината на растенијата се движи од 6,1 до 8,6%.

Табела 1 Висина на растенијата со соцветие, cm

Table 1 Plant height with inflorescence, cm

Сорти Variety	2005			2006		
	$\bar{x}$	$\delta \pm S\delta$	CV %	$\bar{x}$	$\delta \pm S\delta$	CV %
П146-7/1 $\emptyset$	67,1	2,67 $\pm$ 0,60	3,97	75,7	2,77 $\pm$ 0,61	3,66
П146-7/1 ДХ	58,6	1,96 $\pm$ 0,44	3,34	75,5	0,71 $\pm$ 0,16	0,94
Јк 301/23 $\emptyset$	112,5	9,50 $\pm$ 2,12	8,44	132,6	2,32 $\pm$ 0,52	1,75
Јк 301/23 ДХ	117,3	9,34 $\pm$ 2,08	7,96	138	2,58 $\pm$ 0,58	1,87
Хиб. 301/Н $\emptyset$	77,5	2,46 $\pm$ 0,55	3,17	70,8	0,91 $\pm$ 0,20	1,28
Хиб.301/Н ДХ	62,4	2,71 $\pm$ 0,61	4,34	80,3	0,77 $\pm$ 0,17	0,95

$\bar{x}$ - Аритметичка средина - средна вредност (cm)

$\delta$  - Стандардна девијација

S $\delta$ - Грешка на стандардната девијација

CV- Варијационен коефициент %

\*\*\* Број на листови по едно растение

Варирањето на вредностите за бројот на листовите по едно растение (Табела 2) е помало и изнесува од  $\delta \pm 1,06$  (Хиб 301/НШ) до  $\delta \pm 4,47$  (Јк301/23Ш), додека CV од 1,75%

(Хиб.301/Н ДХ) до 8,71% (Јк.301/23Ш). Сите дихаплоидни линии имаат помала вредност за стандардна девијација како и варијационен коефициент во споредба со нивните аналози.

Табела 2 Број на листови по растение  
Table 2 Number of leaves per plant

Сорти Variety	2005			2006		
		$\delta \pm S\delta$	CV %		$\delta \pm S\delta$	CV %
П146-7/1 $\emptyset$	45,8	1,22 $\pm$ 0,27	2,66	46,9	0,99 $\pm$ 0,22	2,11
П146-7/1 ДХ	50,3	1,49 $\pm$ 0,33	2,96	43,0	0,94 $\pm$ 0,21	2,19
Јк 301/23 $\emptyset$	51,3	4,47 $\pm$ 1,00	8,71	49,6	1,57 $\pm$ 0,35	3,16
Јк 301/23 ДХ	50,0	2,35 $\pm$ 0,52	4,70	44,7	1,42 $\pm$ 0,32	3,18
Хиб. 301/Н $\emptyset$	35,7	1,06 $\pm$ 0,24	2,97	34,8	0,91 $\pm$ 0,20	2,61
Хиб.301/Н ДХ	38,3	0,67 $\pm$ 0,14	1,75	39,5	0,5 $\pm$ 0,11	1,32

$\bar{x}$ - Аритметичка средина - средна вредност (cm)

$\delta$  - Стандардна девијација

S $\delta$ - Грешка на стандардната девијација

CV- Варијационен коефициент %

### \*\*\* Димензии на најголемиот и на врвните листови

Што се однесува до варирањето на димензиите на најголемиот лист како и на врвните листови (Табела 3, 4,5 и 6), може да се заклучи дека и по ова својство испитуваните дихаплоидни линии имаат помали варирања во однос на нивните аналози. Имено CV% се движи од 2,66% (должина на најголемиот лист) и 3,38% (ширина) кај Хиб.

301/Н ДХ до 9,8% должина (Јк. 301/23II) и 13,68% ширина Јк. 301/23 ДХ (Табела 3).

Варијациониот коефициент за ова својство во 2006 година е нешто помал и се движи од 0,31% должина (П146-7/1 ДХ) и 0,73% ширина (Хиб. 301/Н Ш) до 2,74% должина (П146-7/1Ш) до 3,97% ширина (П146-7/1ДХ) (Табела 4).

Табела 3 Димензии на најголемиот лист, cm (2005)  
Table 3 The largest leaf size, cm, crop 2005

Сорти Variety	Должина - Length			Ширина - Width		
		$\delta \pm S\delta$	CV %		$\delta \pm S\delta$	CV %
П146-7/1 $\emptyset$	21,81	1,34 $\pm$ 0,29	6,14	10,45	1,03 $\pm$ 0,23	9,85
П146-7/1 ДХ	21,61	1,15 $\pm$ 0,26	5,32	11,0	1,28 $\pm$ 0,29	11,64
Јк 301/23 $\emptyset$	25,0	2,45 $\pm$ 0,55	9,8	11,45	1,19 $\pm$ 0,27	10,39
Јк 301/23 ДХ	20,45	1,46 $\pm$ 0,33	7,14	9,21	1,26 $\pm$ 0,28	13,68
Хиб. 301/Н $\emptyset$	24,29	1,24 $\pm$ 0,28	5,10	11,43	0,98 $\pm$ 0,22	8,57
Хиб.301/Н ДХ	25,19	0,67 $\pm$ 0,15	2,66	12,72	0,43 $\pm$ 0,10	3,38

$\bar{x}$ - Аритметичка средина - средна вредност (cm)

$\delta$  - Стандардна девијација

S $\delta$ - Грешка на стандардната девијација

CV- Варијационен коефициент %

Варирањата на димензиите на врвните листови кај испитуваните дихаплоидни линии се во потесни граници за 2006 година во однос на 2005 година во споредба со нивните аналози (Табела 5 и 6). Имено средното

квадратно отклонување се движи од  $\delta \pm 0,07$ cm должина (П146-7/1ДХ) и  $\delta \pm 0,16$ cm ширина (Хиб. 301/Н ДХ) за 2006 год. до  $\delta \pm 0,93$ cm должина и  $\delta \pm 0,73$ cm (П146-7/1II) за 2005 год.

Табела 4 Димензии на најголемиот лист, cm, (2006)  
Table 4 The largest leaf size, cm, crop 2006

Сорти Variety	Должина - Length			Ширина - Width		
		$\delta \pm S\delta$	CV %		$\delta \pm S\delta$	CV %
П146-7/1 $\emptyset$	26,98	0,74 $\pm$ 0,16	2,74	12,93	0,25 $\pm$ 0,05	1,93
П146-7/1 ДХ	25,71	0,08 $\pm$ 0,02	0,31	14,97	0,46 $\pm$ 0,10	3,97
Јк 301/23 $\emptyset$	27,87	0,5 $\pm$ 0,11	1,79	13,77	0,4 $\pm$ 0,09	2,90
Јк 301/23 ДХ	25,87	0,41 $\pm$ 0,09	1,58	13,43	0,3 $\pm$ 0,07	2,23
Хиб. 301/Н $\emptyset$	26,11	0,49 $\pm$ 0,11	1,88	12,31	0,09 $\pm$ 0,02	0,73
Хиб.301/Н ДХ	26,76	0,4 $\pm$ 0,09	1,49	12,41	0,35 $\pm$ 0,08	2,82

$\bar{x}$ - Аритметичка средина - средна вредност (cm)

$\delta$  - Стандардна девијација

S $\delta$ - Грешка на стандардната девијација

CV- Варијационен коефициент %

Табела 5 Димензии на врвни листови, cm, (2005)  
Table 5 The top leaf size, crop 2005

Сорти Variety	Должина - Length			Ширина - Width		
		$\delta \pm S\delta$	CV %		$\delta \pm S\delta$	CV %
П146-7/1 $\emptyset$	8,82	0,93 $\pm$ 0,21	10,54	4,94	0,73 $\pm$ 0,16	14,78
П146-7/1 ДХ	7,06	0,77 $\pm$ 0,17	10,91	3,87	0,53 $\pm$ 0,12	13,69
Јк 301/23 $\emptyset$	11,17	0,86 $\pm$ 0,19	7,69	6,37	0,39 $\pm$ 0,09	6,12
Јк 301/23 ДХ	8,9	0,2 $\pm$ 0,04	2,47	4,45	0,40 $\pm$ 0,09	8,99
Хиб. 301/Н $\emptyset$	7,64	0,72 $\pm$ 0,16	9,42	4,49	0,61 $\pm$ 0,14	13,58
Хиб.301/Н ДХ	10,1	0,68 $\pm$ 0,15	6,73	5,0	0,39 $\pm$ 0,09	7,80

$\bar{x}$  - Аритметичка средина - средна вредност (cm)

$\delta$  - Стандардна девијација

S $\delta$ - Грешка на стандардната девијација

CV- Варијационен коефициент %

Табела 6 Димензии на врвни листови, cm, (2006)  
Table 6 The top leaf size, crop 2006

Сорти Variety	Должина - Length			Ширина - Width		
		$\delta \pm S\delta$	CV %		$\delta \pm S\delta$	CV %
П146-7/1 $\emptyset$	13,5	0,09 $\pm$ 0,20	0,67	7,17	0,13 $\pm$ 0,03	1,81
П146-7/1 ДХ	12,74	0,07 $\pm$ 0,01	0,55	6,03	0,11 $\pm$ 0,02	1,82
Јк 301/23 $\emptyset$	11,95	0,30 $\pm$ 0,07	2,51	7,62	0,13 $\pm$ 0,03	1,71
Јк 301/23 ДХ	10,87	0,41 $\pm$ 0,09	3,77	6,52	0,26 $\pm$ 0,06	3,98
Хиб. 301/Н $\emptyset$	12,4	0,65 $\pm$ 0,14	5,24	6,38	0,21 $\pm$ 0,05	3,29
Хиб.301/Н ДХ	11,66	0,08 $\pm$ 0,02	0,68	6,08	0,01 $\pm$ 0,00	0,16

$\bar{x}$  - Аритметичка средина - средна вредност (cm)

$\delta$  - Стандардна девијација

S $\delta$ - Грешка на стандардната девијација

CV- Варијационен коефициент %

Фенолошките набљудувања во текот на вегетациониот период и во двете години на испитувања покажаа висока изедначеност на растенијата особено кај дихаплоидните потомства, што го потврдуваат и добиените резултати за морфолошките својства. Имено,

дихаплоидите добиени од антери на хибриди на ориенталски тип тутун имаат висока морфолошка изедначеност односно се стабилни, имајќи во предвид дека варирањето е значително ако CV < 10% (Шанин, 1977 цит. по Најческа 2002).



Слика 1 - П146-7/1  
Photo 1 - P146-7/1



Слика 2 - П146-7/1 ДХ  
Photo 2 - P146-7/1 DH



Слика 3 - Јк 301/23  
Photo 3 - Jk 301/23



Слика 4 - Јк 301/23 ДХ  
Photo 4 - Jk 301/23 DH



Сика 5 - Хибрид 301/Н  
Photo 5 - Hibrid 301/N



Слика 6 - Хибрид 301/Н ДХ  
Photo 6 - Hibrid 301/N DH

## ЗАКЛУЧОЦИ

Имајќи ги предвид литературните податоци како и податоците добиени од нашите истражувања, можеме да дојдеме до следниве заклучоци:

- Примената на дихаплоидните методи во селекцијата на тутунот придонесува за создавање на морфолошки изедначени линии. Постигнат е висок степен на изедначеност во однос на висината на растенијата со соцветие, бројот на листовите како и димензиите на најголемиот лист и врвните лис-

тови, чиј варијационен коефициент е < 10 %.

- Расителните биотехнички методи (култура на ткива и андрогенеза) можат успешно да се применат во селекционите програми на ориенталските тутуни за добивање на изедначени потомства.

- Добиените дихаплоидни потомства со изедначени морфолошки белези претставуваат почетен материјал за понатамошните селекциони проучувања.

## ЛИТЕРАТУРА

**1. Димитрова С., 1991.** Дихаплоиди од антери на хибриди во  $F_1$  од ориенталски тип тутун и техните качества со оглед на нуждите на селекцијата. Генетика и селекција, год. 24, № 4. Софија 1991 стр. 261-266.

**2. Димитрова С., Кунев К., 1997.** Биологична хатактеристика на новоселекционирани линии ориенталски тутун за района на северна Бугарија. Plant science, vol. XXXIV №5 str. 375-379, Sofia 1998.

**3. Димитрова С., 1998.** Агробиологична карактеристика на ориенталските тутун сорт Тича 117. Plant science, XXXIV № 3-4, str. 375-379, Sofia, 1998.

**4. Deaton W.R., Collins G.B., Nielson M.T., 1986.** Vigor and variation expressed by anther-derived doubled haploids of burley tobacco (*Nicotiana tabacum*). I. Comparasion of sexual and doubled-haploid populations. Euphytica. Vol. 35 № 1 p. 33-40.

**5. Devereux M., Lameri U., 1974.** Anther culture haploid plantisogenie line and breeding research in *N. tabacum* L. - In: Poliploidy and induced mutations in plant breeding. Atomic Energy Agency, Viena 503, 15, 101-107.

**6. Енчева Ю., Стойкова Д., Машева В., 2000.** Проучување на дихаплоидните линии ориенталски тутуни. Висш селскосто-

пански институт - Пловдив, Научни трудове, м, XLV, 2000, стр. 91 - 97.

**7. Енчева Ю., Стойкова Д., 2000.** Създаване на исходен селекционен материјал чрез индуциран андрогенезис in vitro. Висш селскостопански институт - Пловдив, Научни трудове, м, XLV, 2000, стр. 107-112

**8. Leeg P.D., Collins G. B. 1968.** Variation in selfed progeny od doubled haploid stoks of *N. tabacum* L. Crop.Sci. 8, 620- 621.

**9. Morrison R.A., Evans D.A., 1988.** Haploid plants from tissue culture: New plant varieties in a Shortened time frame. Bio/ Tehnology 6, 684-690.

**10. Најческа Ц., 2002.** Експериментална статистика применета воземјоделските и биолошките истражувања. Бона Скопје, 2002.

**11. Oinuma T., Yoshida T., 1974.** Genetic variation among doubled haploid lines of burley tobacco vaieties. Jap.J Breed 24(5) p.211-216.

**12. Raymond J.S., 1987.** Anther culture induced changes as a source of variability for tobacco impruvment . Tob. Abstract, 31, 2 March - Apr. 758,408-409.

**13. Шанин Й., 1977.** Методика на полски □ опит. С. БАН.

## **DIHAPLOIDS FROM ANTERS OF ORIENTAL TOBACCOS AND THEIR MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS**

**G. Miceska, M. Dimitrieski**

*Tobacco Institute - Prilep*

### **SUMMARY**

Using the methods of induced androgenesis and culture tissues, uniform plant progenies were obtained (Collins G.B. et.al., 1975). By application of these methods in *in vitro* laboratory of Tobacco Institute-Prilep during 2004, three dihaploid lines were developed from three hybrids of the oriental type of tobacco. In order to study qualitative and quantitative traits of dihaploid lines, they were also set up in field conditions in 2005 and compared to their analogues. It could be stated that, in relation to morphological characteristics, the investigated dihaploid lines did not significantly differ from their analogues.

*Author's address:*

*Miceska Gordana*

*Tobacco Institute - Prilep*

*Republic of Macedonia*