

МОРФОЛОШКО-АНАТОМСКИ И ЦИТОЛОШКИ ПРОМЕНИ ВО ФУНКЦИЈА НА МИНЕРАЛНАТА ИСХРАНА КАЈ ТУТУНСКИОТ РАСАД

(*Nicotiana tabacum* L.)

Ленка Цветановска¹, Гордана Димеска¹, Марија Србиноска²,
Ивана Клиничарска-Јовановска¹, Светлана Божиновска³

¹Институт за биологија, Природно-математички факултет, Скопје,
Р.Македонија

²Научен институт за тутун, Прилеп, Р. Македонија

³Последипломец на Институтот за биологија, Природно-математички
факултет, Скопје, Р.Македонија

ВОВЕД

Тутунот претставува значајна земјоделска култура широко застапена низ светот, па и во нашата земја. За тоа зборува фактот според кој Република Македонија се наоѓа на 30-тото место по количеството на произведен тутун во светот. Тутунот е жолтото злато на Македонија. Постојат повеќе сорти кои се одгледуваат во Македонија, а најмногу во Прилеп и околината, каде што има најмногу посеви од тутун. Главно се одгледуваат три сорти на тутун, и тоа: прилеп, јака и басмак.

Анализите на минералниот состав на тутунот даваат јасна слика за физиолошките особини на оваа култура. Типот на тутунот, влијанието на климата, ѓубрењето, почвата, агротехниката и технологијата на обработка директно влијаат врз содржината на минералните материи на тутунот. Фосфатните ѓубриња со кои се третираат сите ориенталски тутунски сорти (П-156/1 и Јака V 125/3) содржат висока концентрација на тешки метали. Употребата на фосфатни ѓубриња се смета за основен фактор на полупција во агрохемиските типови на почви. Развивокот на тутунското растение се должи и на промените на минералните материи, односно квалитетот на тутунот зависи и од избалансираноста на минералните материи. Поквалитетниот тутун секогаш содржи помалку минерални материи од понеквалитетниот. Најзастапени компоненти се: калциумот, калиумот и силициумот, додека фосфорот, хлорот, сулфурот, железото и алуминиумот се сретнуваат во

помали количини. Може во трагови да се јави и манган, натриум, бакар, литиум, титан, цезиум и јод. Од групата на испитуваните елементи (Fe, Cu, Zn и K) сите претставуваат есенцијални елементи за растенијата доколку се застапени во оптимални и дозволени концентрации. Во спротивно, тие се опасност за биолошките системи заради полутантното дејство (Brown et al, 1999). Минералните материи не се подеднакво застапени во органите на тутунското растение. Најмногу минерални материи содржат листовите (21%), а (7,2%) коренот најмалку. Во ориенталските тутуни, според Bush и Tso (1989), содржината на N, P, K, Ca се намалува во текот на растењето, како и содржината на хлорофилот и протеините, додека содржината на никотинот се зголемува.

Листот на *Nicotiana tabacum* L. е обвинен со релативно слаба кутикула кој ја сочинува еднослоен епидермис со тенки клеточни сидови. Целата лисна површина е прекриена со смолест и гумест ексудат кој се синтетизира и излучува од кутикулата и лисните влакненца (трихоми) (Nielsen et al., 1991, Wagner, 1999). Важен фактор за аромата, миризливоста, како и отпорноста кон инсекти на одредена сорта тутун претставува застапеноста на различните фенолни компоненти на површината на листот (Georgieva, 1998).

Nicotiana tabacum L природно се јавува со хромозомски број $2n = 48$ во соматското кореново ткиво, што се потврдува и во литературните податоци. Организмите, за да

опстојат, неопходно е да се делат. Постојат иницијални клетки каде што способноста за делба е особено изразена. Иницијалните клетки се наоѓаат во апикалниот коренов меристем. Митотскиот индекс е параметер кој ја покажува моменталната меристемска активност на коренот. Како резултат на меристемските клетки растението се издолжува

и расте. При изработка на препарати се користи кореново меристемско ткиво од адвентивни коренчиња. Цитолошките испитувања поврзани со кариолошките анализи се многубројни. Постојат бројни методи за изработка на препарати, како и различни методи за изучување на митотскиот делбен процес.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Истражувањата се вршени во 2008 година на почвени култури на две сорти тутун (*Nicotiana tabacum* L) П-156/1 и Јака V 125/3, одгледувани во полски услови на опитните полиња на Институт за тутун-Прилеп. Почвата во која е одгледуван тутунот е од колувијално-делувијален тип. Содржината на хумус и вкупен азот е ниска, а фосфорот е лесно достапен во површинскиот слој. рН на средината е слабо кисела и најмногу одговара за одгледување на ориенталски и полуориенталски типови тутун.

Материјалот за анализа, колекциониран на корен, стебло и лист е исушен на температура од 105°C. Во текот на растот и развитокот на расадниот материјал беше анализирана содржината на минералните

елементи (железо, кадмиум, цинк, бакар и калиум), одредена со ААС (Атомска апсорпциона спектрометрија).

Со цел да се проследат промените и на анатомско ниво, материјалот е собран и фиксиран. Паралелно со анатомијата на стебло и лист, направени се кариолошки анализи на корен, каде беа употребени стандардни методи и техники на работа. Боењето беше направено по Фолген. При изработката на препарати се користи кореново меристемско ткиво од коренчиња изработени во лабораториски услови. Најдобро е да се направат по 3 препарати за секој тип тутун, а поматаму на секој препарат се брои вкупниот број на клетки, кој се движи некаде околу 1000.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Одгледувањето на тутунскиот расад е неопходна етапа во технологијата на производството на тутун. Според Узуноски (1985), само здрав расад со добро развиен коренов систем може да обезбеди максимални приноси и добар квалитет на тутунот. Во нашето истражување беа анализирани морфолошко-анатомските карактеристики на корен, стебло и лист и одреден е митотскиот индекс (МИ) во функција на минералната исхрана во расаден материјал.

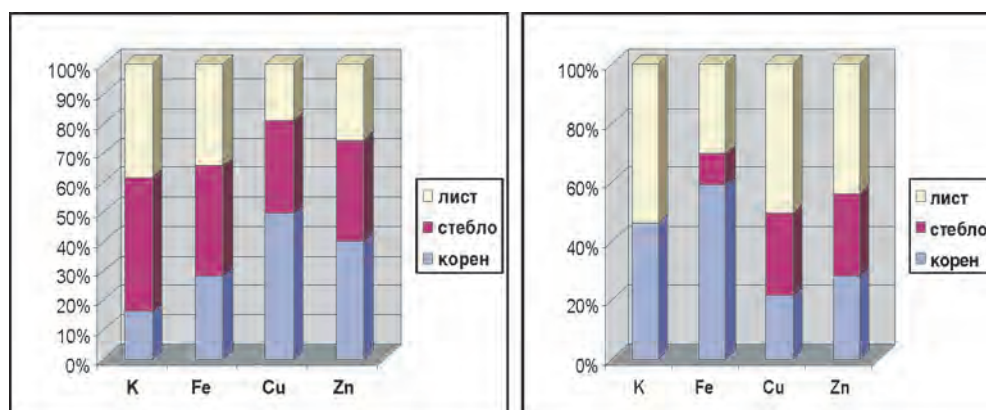
Во својот развиток, тутунските растенија користат различни количини на биогени елементи кои се во постојано изменување во зависност од стадиумот на растење. Најмногу минерални материји тутунот содржи

во младата возраст (расад), а потоа нивната содржина опаѓа се до цутењето. Во литературата се наведува дека при оптимални услови за развој на растенијата концентрациите на одделни елементи се донесуваат според зависноста: K>Ca~Mg>Fe>Cu~Mn. Со највисоки концентрации кај двата типа застапени се калиумот и железото, после следи цинкот, а најниските вредности отпаѓаат на бакарот. Во нашето истражување не се испитуваат метаболичките промени во услови на вишок или недостаток од одредени елементи, туку се врши нивно одредување во контролни единки од сортите П-156/1 и Јака V 125/3. Поголеми варирања на вредностите за двете сорти не се забележуваат.

Табела 1. Концентрација (mg/g) на одделни испитувани елементи во сув материјал на корен, стебло и лист на расад од сортите П-156/1 и Јака V 125/3
Table 1. Concentracion (mg/g) of the investigated elements in dry material of roots, stalk and leaves of the seedlings of varieties P-156/1 and Yaka V 125/3

Концентрација на елементите Concentration (mg/g)	K	Fe	Cu	Zn
П-156/1 P-156/1				
Корен Root	158,000	4970	1130	4460
Стебло Stalk	453,000	6600	730	3820
Лист Leaf	384,000	6120	1270	2870
Јака V 125/3 Yaka V 125/3				
Корен Root	226,000	30,780	980	4090
Стебло Stalk	/	5600	1270	4090
Лист Leaf	265,000	15,930	2300	6430

Графикон 1. Концентрација (mg/g) на одделни испитувани елементи во сув материјал на корен, стебло и лист на расад од сортите П-156/1 и Јака V 125/3
Figure 1. Concentracion (mg/g) of the investigated elements in dry material od roots, stalk and leaves of seedlings of varieties P-156/1 and Yaka V 125/3



Кадмиумот дејствува токсично во многу пониски концентрации, силно ги инхибира растењето и развитокот на растенијата, издолжувањето на коренот, делбата на клетките, синтезата на пигментите, фотосинтезата, развитокот на етиопластите и ламеларната структура на хлоропластите (Worny и Jerczynska, 1991). Нашите резултати зборуваат за слаба транслокација на Cd која условува појава на немерливо ниски вредности на анализираниот материјал.

Калиумовиот јон делува врз образувањето на сложени јаглехидрати кои се продукт на фотосинтезата, а влијае и врз разградувањето и движењето на разните материи кон одделни органи на растението. Тоа влијание може да се објасни на тој начин што калиумот ги активира ферментите амилаза и инвертаза, кои при негов недостиг ја

намалуваат својата активност (Станчев, 1977). Содржината на калиум е доста висока кај сите досега испитувани сорти тутун, како резултат на лесната апсорпција од страна на растенијата. Овие податоци се во корелација со резултатите добиени од нашите испитувања. Како микроелемент во лисјата неопходен за синтеза на хлорофилот се јавува железото. Тоа има незаменлива функција во различни редокс-системи благодарейќи на способноста лесно да прима или отпушта електрони. Употребата на поголеми дози на фосфорни ѓубриња може да ја намали апсорпцијата и транспортот на железото во растенијата и тоа да предизвика негов недостаток. Воопшто каква било примена на зголемени дози на фосфорни ѓубриња на почва која е слабо или средно обезбедена со микроелементи може да поттикне нивен недостаток во растенијата.

Бакарот претставува компетитивен инхибитор за сите останати испитувани елементи и покрај фактот што во поглед на физиолошката улога тој има одредени сличности со железото. Високите количини на бакар ја инхибираат синтезата на органските киселини (Alaoui-Sosse, et al. 2004). Бакарот и железото се елементи кои лесно ја менуваат својата валентност и истите стануваат лесно достапни за растенијата. Бакарот силно ја инхибира акумулацијата на цинк во растителните ткива бидејќи користат ист транспортер низ клеточната мембрана, кон кој бакарот покажува повисок афинитет (Lotti et al., 1968). Транслокацијата на цинкот во постарите листови е многу слаба, за разлика од онаа кај коренот и младите лисни примордии. Овој елемент, доколку се аплицира егзогено, може да придизвика забрзана синтеза на органски киселини во материјалот (Krotz, 1989). Според Љ.Томиќ и сор. (1973), за согорливоста на тутунот не одлучува количината на минерални материји

туку количината на одделни елементи и составот на органската материја (односот меѓу хлорот и калиумот).

Ориенталскиот тип прилеп е прилагоден на лесни, растресити, топли почви, не многу богати со хранливи материи. Растенијата имаат кошест хабикус, висината на стракот варира од 30 до 60 cm. Стеблото е релативно тенко, кусо и прилично цврсто со отворено зелена боја. Според бројот на листови, типот прилеп спаѓа во групата на тутуни со среден број на листови, што е во согласност со нашите испитувања. Овој тип има специфичен облик на листовите, по што лесно се разликува од другите типови тутун. Долните инсерции имаат рибовидна форма, средните елиптично-копјеста, а врвните јазичесто-копјеста. Овој тутун се карактеризира со релативно изразена ситнолисност, а доминантни особини се неговата миризливост и ароматичност. Бројот на листовите, пак, зависи од генетскиот потенцијал на сортата и претставува сортна карактеристика.

Табела 2. Број на листови, должина на стебло и лист во расад од сортата П-156/1
Table 2. Number of leaves, stalk and leaf lengths in seedlings of tobacco variety P-156/1

	Должина на стебло Stalk height (cm)	Број на листови Leaf number	Должина на лист Leaf length (cm)
1	11.2	5	3.5;
2	10.5	6	4;
3	11	6	5;1.8;
4	11.4	7	6;5.3;5.2;
5	11.2	6	6.4;3.5;1.7;
6	14.4	6	5.5;2.3;
7	11.2	6	6;1.7;
8	12	6	3.8;1.2;
9	12	7	1.3;
10	10	6	1.8;
11	10	6	3.8;1.2;
12	14	6	3;1;
13	15	7	1.6;
14	14	6	1.5;
15	11	7	4.7;1.8;
16	11.5	6	5;2;
17	14.8	6	6.2;4.2;
18	13.5	6	4.5;1.5;
19	11	5	2;
20	11	6	4.4;1.4;

Типот јака во однос на квалитетот на суровината, во Македонија и во светски рамки претставува синоним за највисок квалитет. Се карактеризира со тесен, вретенест хабикус, стеблото е тенко и високо, со карактеристична

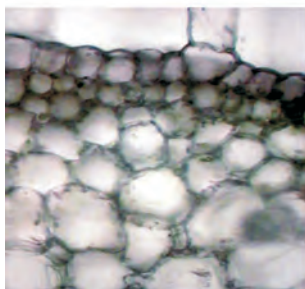
маслинестозелена боја. Височината на стракот заедно со цветната китка изнесува 60-120 cm. Бројот на листовите е доста варијабилен и изнесува 25-32. Бројот на ребрата е помал отколку кај типот прилеп (Табела 3).

Табела 3. Број на листови, должина на стебло и лист во расад од сортата Јака V 125/3
Table 3. Number of leaves, stalk and leaf lengths in seedlings of tobacco variety Yaka V 125/3

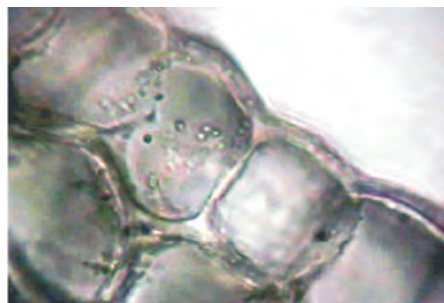
	Должина на стебло Stalk height (cm)	Број на листови Leaf number	Должина на лист Leaf length (cm)
1	11.2	5	7.6 ;6.8;7.6 ;6.4;4.48;
2	10.8	5	6.4 ;6. 56;7.2 ;6.64;2.88;
3	10.4	5	8.08 ;8.16;6.8;5.6;4.08;
4	12	5	8.72 ;8.64;9.04;6.88;2.96;
5	11.2	5	6.8 ;8.08;5.2;5.92;1.8;
6	13.6	5	7.76 ;8;7.2;4.8;2;
7	10.8	5	7.6 ;7.68;7.36;5.6;1.92;
8	11.2	4	6.64 ;8;6.48;3.2;
9	12	5	7 ;7.5;5.4;4.9;2.2;
10	11	5	6.6 ;7.1;7.4;5.8;2.5;
11	10.5	4	7.5 ;7.8;7;2.6;
12	12	5	8 ;7.2;6.8;5.6;2.5;
13	10.5	5	7.6 ;5.3;7.6;7;2;
14	10.5	5	8 ;7.8;6.5;4.2;1.5;
15	12	5	7.2 ;7.4;6.7;5.7;2.6;
16	13	4	9.4 ;7.5;4.4;1.6;
17	11.2	4	7.5 ;6.6;4;1.7;
18	11.5	5	8 ;8;6.8, 4.4;2.3;
19	11.3	4	6.8 ;6;6.5;2.3;
20	12.5	5	7.2 ;7;6. 2;4.4;1.3;

Тутунското растение се одликува со добро развиено стебло во кое на напречен пресек се разликуваат еднослоен епидермис како примарно кожно ткиво, кора и срцевина. Кората започнува со еден до два реда субепидермално ткиво (аглест коленим) со слабо развиен секундарен клеточен сид. Во кората на стеблото доминира паренхимот претставен од крупни живи клетки со тенок клеточен сид и големи централни вакуоли. Странично во цитоплазмата се сместени

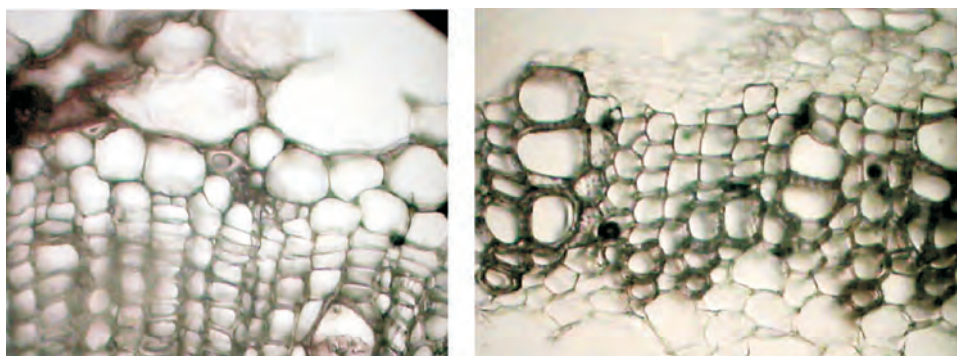
ретки хлоропласти. Централно се сместени спроводниците за вода и минерални материи, од кои најзастапени се трахеидите, и трахеите со релативно големи лумени. Од прегледот на хистолошките елементи во ксилемот (Слика 3), евидентно е дека има релативно малку механичко, но и паренхимско ткиво кое не е многу поразлично и во флоемскиот дел, каде се забележуваат ретки ликнини влакна со добро развиен секундарен клеточен сид.



Сл.1. Кора на стебло
Ph 1. Cortex of stem



Сл.2. Епидермални клетки со мазна кутикула
Ph .2. Epidermal cells with smooth cuticula



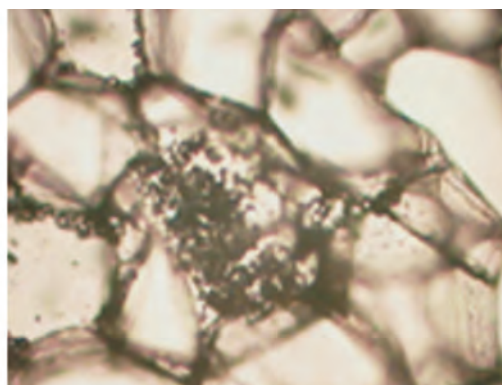
Сл. 3. Хистолошки пресек на ксилем и флоем на стебло
Ph 3. Hystological cut of xylem and phloem of stem

При анализа на анатомската градба на тутунските листови констатиравме правилен распоред на епидермалните клетки. Епидермисот е нежен, еднослоен, со тенки клеточни ѕидови и релативно слаба кутикула, барем на позицијата на средни и помлади листови. Сите листови се обраснати со многуклеточни трихоми од кои врвната клетка со крушковидна форма е жлездена. Кај различни сорти тутун гус-

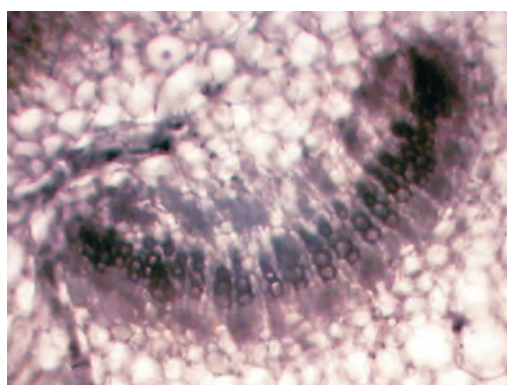
тината и видот на влакненцата варираат во зависност од тоа дали се наоѓаат на горната или на долната страна на листот (Pejcinovic i sarad.,1977, Nielsen et al.,1991). Во листовите преовладува асимилационен паренхим богат со хлоропласти, додека спроводното ткиво е присутно во вид на снопчиња на лисните плочи како и во централната жила во која се доминантни трахеидите.



Сл. 4. Трихоми на лист
Ph 4. Trichomes in leaf



Сл. 5. Оксалатен песок во лист
Ph 5. Oxalate sand in leaf



Сл.6. Централна жила во лист
Ph.6. Central vein of leaf

Цитолошки испитувања се вршени врз врвно кореново меристемско ткиво од *Nicotiana tabacum* L. Во поглед на одгледување и колекционирање на материјалот, тутунот се покажа како многу погоден објект за истражувања кој обилува со релативно крупни странични коренчиња, а неретко развива и добри адвентивни корени што се посебно погодни за обработка во цитолошките истражувања. Во текот на истражувањето беше констатирано дека делбите во меристемското ткиво се намалени, што укажува на постоење на инхибирачки фактори кои директно или индиректно влијаат врз клеточниот циклус. Намален е процентот на меристемски клетки во коренот, преовладуваат интерфази, а поретко профазы, анафазы и ретки телофазы. Главна причина за оваа појава се високите надворешни температури кога се собираше материјалот. Според Borojevic

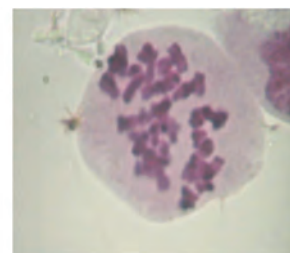
(1983), високата температура спаѓа во физичките агенси кои може да делуваат инхибиторно на клеточните делби, па дури и да предизвикаат мутација. На висока температура молекулите и атомите се многу подвижни и повеќе вибрираат. Поради тоа доаѓа до меѓумолекуларни замени, а со тоа и до мутација. Според Saric и sor. (1991), познато е дека со зголемување на температурата се зголемува и интензитетот на дишење и на тој начин се зголемува и содржината на органски киселини. Непотребното зголемување на органските киселини може штетно да влијае на растенијата, па може да се претпостави дека поради тоа се зголемува внесувањето на Ca кој врши неутрализација на вишокот киселина. Ca ја врзува пред се оксалната киселина и на тој начин гради соединение калциумов оксалат кое е тешко растворливо во вода, а се таложи во клетките или се инкрустрира во клеточната мембрана.



Сл.7. Профаза
Ph. 7. Prophase



Сл.8. Прометафаза
Ph.8. Prometaphase



Сл.9. Метафаза
Ph 9. Metaphase

Митотскиот индекс е оној дел од комплетниот број на клетки во меристемското ткиво кој се наоѓа во текот на митозата, без разлика на степенот на делба на вкупно 100 клетки. Неговите вредности се силно промен-

ливи во зависност од различни внатрешни и надворешни фактори, па дури и кај ист организам. Добиените резултати при анализата на митотскиот индекс во расаден материјал од тутун се прикажани на Табела 4.

Табела 4. Митотски индекс во расад од тутун од сортите П-156/1 и Јака V 125/3
Table 4. Mitotic index in seedlings of tobacco varieties P-156/1 and Yaka V 125/3

Анализирани клетки (%) Analyzed cells	Јака V 125/3 Yaka V 125/3	П-156/1 P-156/1
Вкупен број на анализирани клетки Total number of analyzed cells	1023	1004
Интерфаза Interphase	68,42	77,76
Профаза Prophase	6,45	8,16
Метафаза Metaphase	078	0,59
Анафаза Anaphas	0,58	0,29
Телофаза Telophase	0,19	0,19
МИ MI	8,01	9,26

Од резултатите може да се констатира дека митотскиот индекс е варијабилен параметер и се разликува од препарат до препарат, односно од едно до друго меристемско ткиво. Фактот дека се работи за МИ вредности кои се добиени од митотската

кариокинеза, јасно укажува дека не станува збор за инхибиција на митотската активност во коренот, туку за определена динамика на развојот на меристемското ткиво и истата зависи од многу фактори на средината но и од внатрешни фактори.

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Со највисоки концентрации кај двата типа тутун се застапени калиумот и железото, потоа следи цинкот, а најниски вредности имаше за бакарот. Оваа релација одговара на литературните податоци, според кои за испитуваните елементи важи правилото: $K > Ca \sim Mg > Fe > Cu \sim Mn$.

2. Хистолошките пресеци направени кај двете испитувани сорти покажуваат еднослоен епидермис, кора и срцевина. Во кората имаме еден до два реда аглест коленихим со слабо развиен клеточен сид, а доминира паренхимот со крупни живи клетки и големи централни вакуоли.

3. При анализа на анатомската градба

на листот кај тутунските растенија, констатиравме правилен распоред на епидермалните клетки, со тенки клеточни сидови и многуклеточни трихоми од кои врвната клетка со крушковидна форма е жлездена.

4. Определен е митотскиот индекс кај *Nicotiana tabacum* L., по стандардна постапка и изработка на препарати кои се користат во кариолошки анализи, и тој изнесува 9,26% за П-156/1 и 8,01% за Јака V 125/3.

5. Бројот на хромозомите во соматските клетки на *Nicotiana tabacum* L. изнесува $2n = 48$. Тоа укажува на фактот дека *Nicotiana tabacum* L. претставува стабилен цитотип со константен хромозомски број.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alaoui-Sossè B., Genet P., Vinit-Dunand F., Toussaint M., Epron D. & Badot M., 2004. Effect of copper on growth in cucumberplants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents, *Plant Science* Vol. 166, Iss, 5, p.1213-1218.
2. Borojevic K., 1976. Geni i populacija. Forum, Novi Sad.
3. Georgieva Y., 1998. Possible Relation between Tobacco Resistance to Aphids (*Mysus nicotianae* Blackman) and Phenolic Compounds in Glandular Trichomes and Leaf Epidermis. *Ann. du Tabac, Selection* 2.30, 3-9.
4. Georgieva Y., 1998. Possible Relation between Tobacco Resistance to Aphids (*Mysus nicotianae* Blackman) and Phenolic Compounds in Glandular Trichomes and Leaf .
5. Tomić Lj., 1973. Tehnologija obrade duvana. Građevinska kniga, Beograd.
6. Krotz R.M., Evangelow B.R. & Wagner G.J. 1989. Relationships between Cadmium, Zink, Cd-Perpide and Organic Acid in Tobacco Suspensions Cell. *Plant Physiol.* 91, p. 780-787.
7. Lotti G., Petronici C., Baza E., 1968. Assorbimento dello zinco da radical piant intere di arancio, *Agric. Ital.* 23,n.s.845.
8. Nielsen M.T., Akers C. P., Japifors U. E., Wagnet G. J, Berger S., 1991. Comparative Ultrastructural Features of Secreting and Nonsecreting Grandular Trichomes of Two Genotypes of *Nicotiana tabacum* L.
9. Pejcinovic D., Gudeski A., Gligorievic S., 1977. Gustina pojedinih tipova trihoma na mm² na listovima nekih sorti duvana u R. Makedniji u zavisnosti od isnercije listova, prisustvo cvasti i dubine njenog odlamanja, *Tutun*, No. 11-12, 489-508.
10. Sarić M. i sor., 1991. Praktikum iz fiziologije biljaka, Beograd
11. Stancev L., 1977. Mikroelementi I mikrotorove. S., S., Zemizdat, S., Zemizdat. 56, 185-186.
12. Uzunovski M., 1985. Proizvodstvo na tutun, Stopanski vesnik, Skopje

MORPHO-ANATOMICAL AND CYTOLOGICAL CHANGES OF MINERAL FERTILIZATION AT THE TOBACCO SEEDLINGS (*Nicotiana tabacum* L.)

L. Cvetanovska¹, G. Dimeska¹, M. Srbinoska², I. Klincarska-Jovanovska¹, S. Bozinovska³

¹*Institute of Biology, Faculty of Natural sciences and Mathematics, Skopje, R. Macedonia*

²*Scientific Tobacco Institute, Prilep, R. Macedonia*

³*Postgraduate student, Institute of Biology, Faculty of Natural sciences and Mathematics, Skopje, R. Macedonia*

SUMMARY

Analyzis were made on tobacco seedlings (*Nicotiana tabacum* L.) from the crop 2008, cultivated in Tobacco Institute-Prilep.

Analyzes included two oriental varieties P-156/1 and the Yaka V 125/3. Morpho-anatomical characteristics of the root, stalk and leaf of seedlings were investigated. Mitotic index of the seedlings material was estimated in function of mineral composition of the plants. Anatomic and genetic characteristics of the seedlings give a clear picture of the quality of tobacco.

Auhtor's address:

Lenka Cvetanovska

Institute of Biology

Faculty of Natural sciences and Mathematics

Skopje, R. Macedonia