Tijana Mitić

Efekat polietilenglikola (PEG) na morfologiju izdanaka i indukciju tubera kod krompira (*Solanum tuberosum* L. cv. Desiree) *in vitro*

Proučavan je uticaj polietilenglikola (PEG) na morfologiju izdanaka i indukciju krtola kod krompira (Solanum tuberosum L. cv. Desiree) in vitro. Pošlo se od podatka da PEG obezbeđuje uslove smanjenog vodnog potencijala i uzrokuje osmotski šok kod biljaka čime se simuliraju uslovi suše u kulturi in vitro. Biljke su gajene na osnvnom medijumu bez hormona (Morashigie & Skoog 1962), u koji je dodat PEG u koncentracijama od 0%, 5%, 10%, 15% i 20%. Polovina kultura svake koncentracije postavljena je na svetlosti sa fotoperiodom od 16 časova svetlosti i 8 časova mraka, a druga polovina u kontinualnom mraku. Tri nedelje nakon postavke eksperimenta utvrđivan je uticaj PEG-a na morfologiju izdanaka i indukciju tubera, određivanjem dužine izdanaka, broja internodija, krtola, bočnih grana kao i broja korenova.

Visoke koncentracije PEG-a verovatno izazivaju osmotski šok kod izdanaka, budući da prisustvo polietilenglikola (PEG-a) smanjuje procenat eksplantata koji razvijaju izdanke kod nodusa gajenih i na svetlosti i u mraku, pri čemu se sa povećanjem koncentracije PEG-a taj procenat drastično smanjuje.

Uvod

Krompir pripada vrstama bogatom rodu *Solanum*, koja je u 16. veku dopremljena u Evropu, a čije ishodišne oblike valja tražiti u Andima Perua, Bolivije, severne Argentine i Čilea. I stare južnoafričke civilizacije koristile su krompir, ali kao ukrasnu biljku, te je njegova istorija duža nego što bi se moglo pretpostaviti. U Srbiju ga je doneo Dositej Obradović u 19. veku, od kada postaje neophodna namirnica u ishrani.

Krompir je veoma značajna kultura zbog visokog prinosa krtola. Po hranljivoj vrednosti svojih krtola, krompir spada u najvažnije poljo-privredne kulture u svetu.

Krtole se kod krompira formiraju na podzemnim metamorfoziranim izdancima koji se nazivaju stoloni. Stoloni se u prirodnim uslovima formi -

Tijana Mitić (1981), Vranje, Kneza Miloša 56, učenica 2. razreda Gimnazije "Bora Stanković" u Vranju

MENTOR:

Mr Ivana Dragićević, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković" u Beogradu raju u mraku. Formiranje krtola je morfogenetski proces koji se takođe odvija u mraku i koji je sve više proučavan kod krompira (Denffer, Ziegler 1988).

Mofologija krompira zavisi u mnogome od uslova svetlosti. Posebno je važno istaći značaj svetlosti za razvoj stolona, izdanaka i tubera (Kumar, Wareing 1972). Prvenstveno zato što se krompir kompleksom svojih bioloških osobenosti znatno razlikuje od drugih ratarskih kultura, potrebno je posvetiti mu više pažnje u ispitivanjima.

Malo je urađeno na ispitivanju vodnog režima kod krompira. Rast krompira pod takvim uslovima izaziva problem transporta vode iz podloge. Poslednjih godina pojavljuje se pitanje kakav bi uticaj imao polietilenglikol za ispitivanje osmotskog potencijala na tuberizaciju kod krompira *in vitro* za vreme osmotskog šoka. Dovoljna količina vode za sve vreme rasta krompira i selekcija hibrida otpornih na sušu su zajednički načini rešavanja ovog problema. U ovom ispitivanju pokušano je da se to predstavi na odgovarajući način.

Cilj ovog rada je da se određivanjem odgovarajućih osobina biljaka u uslovima vodnog stresa utvrde efekti delovanja PEG-a kao prilog izučavanju otpornosti krompira (*Solanum tuberosum* L. cv. Desiree) na sušu.

Materijal i metode

Krompir jednom uveden u kulturu lako se subkultiviše i kao takav se koristi u in vitro ispitivanjima. Svakom daljom kultivacijom dobija se novi pasaž ili postavka sa koje se izdanci prenose na nove podloge.

Za merenje uticaja polietilenglikola (PEG) na morfologiju izdanaka i tuberizaciju kod krompira uzeta je sorta krompira Desiree. Napravljen je osnovni MS (Moorashige and Skoog 1962) medijum. Medijum je nakon pravljenja izdeljen na četiri dela nakon čega je u svaki dodavana odredjena koncentracija PEG-a: 5, 10, 15 i 20%. Medijum bez PEG-a korišćen je kao kontrola.

Odsečci sa jednim nodusom biljaka krompira kultivisani su *in vitro* na nove podloge sa PEG-om. Prenošenje biljaka na odgovarajuće koncentracije PEG-a, obavljeno je u laminaru, pod sterilnim uslovima uz korišćenje sterilnog pribora. Kulture su zatim gajene na temperaturi od 25 ± 2 °C, u vremenu od tri nedelje. Polovina kultura je gajena na svetlosti sa fotoperiodom od 16 časova svetla i 8 časova mraka (16/8), a druga polovina u kontinualnom mraku. Uticaj PEG-a na morfologiju izdanaka i indukciju tubera, utvrđivan je tri nedelje nakon postavljanja eksplantata, merenjem dužine izdanaka, broja internodija, broja krtola, bocnih grana kao i broja korenova

Rezultati i diskusija

Medijumi sa 15 i 20% PEG-a su bili tečni i iz nodusa postavljenih na medijum sa 20% PEG-a se uopšte nisu razvili izdanci (tabela 1). Ovo bi se moglo objasniti činjenicom da se sa povećanjem koncentracije PEG-a snižava vodni potencijal medijuma (Popović 1987). Takođe, izdanke nisu dali ni svi eksplantati postavljeni na medijume sa prve dve koncentracije PEG-a (5 i 10%), što se uočava upoređivanjem procentualnih vrednosti za svetlo i mrak.

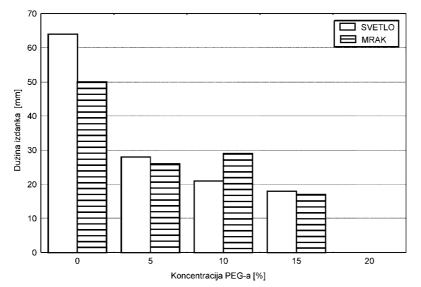
Tabela 1. Zavisnost broja eksplantata koji su razvili izdanke od koncentracije PEG-a

Medijumi sa PEG-om [%]	Prosečan broj eksplantata koji su razvili izdanke [%]	
	svetlo	mrak
0	62.8	80.6
5	25.0	23.3
10	25.8	11.1
15	13.0	10.5
20	0	0

Prisustvo polietilen glikola (PEG-a) u medijumu smanjuje procenat eksplantata koji razvijaju izdanke (tabela 1), pri čemu se sa povećanjem koncentracije PEG-a taj procenat drastično smanjuje. Dobijeni rezultati za eksplantate koji su razvili izdanke pokazuju da se veći broj njih razvio u mraku nego na svetlosti s tim što su oni u mraku imali osušen ili nekroziran vrh.

Sa grafika koji prikazuje uticaj PEG-a na dužinu izdanaka (slika 1), vidimo da su etiolirane biljke sa kontrolnog medijuma kraće od biljaka gajenih na svetlosti. Međutim, podaci iz literature (Kastori 1995) pokazuju da su etiolirane biljke duže nego one na svetlosti. To bi se moglo objasniti sušenjem vrha, odnosno, ukidanjem apikalne dominacije kod krompira, što dovodi do formiranja bočnih grana sa tendencijom da preuzmu vrh, ili činjenicom da je procenat preživelih u mraku i na svetlosti različit.

Na medijumima koji su sadržali PEG uočava se drastično smanjenje dužine izdanaka u odnosu na kontrolne biljke i na svetlosti i u mraku, pri čemu se sa porastom koncentracije PEG-a uočava opadanje srednje dužine izdanaka i na svtlosti i u mraku. Iz istih razloga (sušenja vrha) biljke na svetlosti su duže od onih u mraku. Jedino odstupanje se primećuje na medijumu sa 10% PEG-a, gde su biljke u mraku bile duže nego one na svetlosti (10% PEG svetlost = 20.5 mm; 10% PEG mrak = 29 mm), što



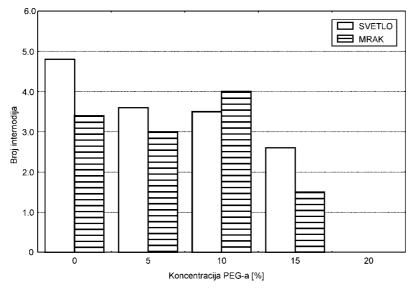
Slika 1. Uticaj PEG-a na dužinu izdanaka.

Figure 1.
Effect of PEG on shoot length.

bi se moglo objasniti malim brojem biljaka koje su dale izdanke (10% PEG svetlost = 25.8%, 10% PEG mrak = 11.1%).

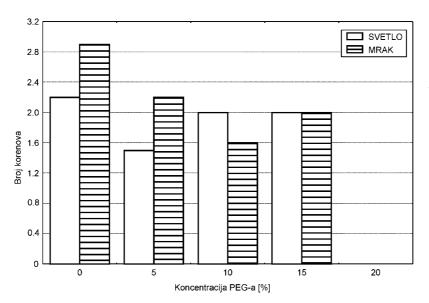
Sa grafika na slici 2 se vidi da je broj internodija na kontrolnom medijumu veći na svetlosti nego u mraku, što je i očekivano jer se radi o etioliranim biljkama.

Nema razlike između kontrolnog i medijuma sa 5% PEG-a, verovatno zato što je ta koncentracija PEG-a još uvek niska da bi imala uticaja. Normalno je da biljke koje rastu u mraku imaju manji broj internodija i da su duže, te su ovi rezultati i očekivani. To se vidi kod svih, osim kod 10%-koncentracije PEG-a, što se isto može objasniti malim brojem biljaka koje su dale izdanke. Niže koncentracije PEG-a nemaju veliki efekat na



Slika 2. Uticaj PEG-a na broj internodija.

Figure 2. Effect of PEG on number of internodes.



Slika 3. Uticaj PEG-a na broj korenova po izdanku.

Figure 3.
Effect of PEG on number of roots per shoot.

povećanje broja internodija, dok sa porastom koncentracije PEG-a broj internodija opada i u mraku i na svtlosti.

Ni pri jednoj koncentraciji PEG-a nisu se formirale grane ni na svetlosti ni u mraku. Dobijeni su samo podaci za kontrolni medijum (tabela 2) koji pokazuju da se na njemu u mraku razvila jedna bočna grana, a na svetlosti u proseku 3.4 bočne grane, pri čemu su bočne grane u mraku bile duže nego na svetlosti (0% PEG-a u mraku = 27.2 mm, na svetlosti = 6.6 mm). To je posledica fitohromskog efekta, prema kojem svetlost inhibira izduživanje (Deuffer, Zigler 1988). Sušenje vrha je dovelo do izduživanja bočnih grana. Jedna bočna grana preuzima ulogu vrha i izdužuje se.

Tabela 2. Zavisnost dužine bočnih izdanaka od koncentracije PEG-a

	Dužina bočnih izdanaka [mm]	
[%]	svetlo	mrak
0	6.6	27.2
5	_	4.2
10	_	_
15	_	_
20	_	-

Broj formiranih korenova je veći na kontrolnom medijumu na svetlosti (grafik 3), što je razmljivo jer se biljke slabije oživljavaju u mraku nego na svetlosti.

Prisustvo PEG-a ne utiče znatno na broj korenova na svetlosti i ne vidi se jasna promena, te se ne može govoriti ni o bitnijim efektima (niti

povećanju niti smanjenju), jer ni trend nije jasan. Ne možemo reći da polietilenglikol smanjuje broj korenova. Najmanji broj korenova po izdanku uočava se kod biljaka sa 5% PEG-a gajenih u mraku. To se verovatno ne može pripisati prisustvu PEG-a, jer je na istom medijumu mnogo manje biljaka preživelo nego na kontrolnom medijumu.

Zaključak

Na osnovu rezultata ovog eksperimenta u kome je dodavanjem koncentracija polietilenglikola (PEG-a) pokušano da se simuluraju uslovi suše *in vitro* može se zaključiti sledeće:

- 1. PEG utiče na morfologiju izdanaka krompira gajenih *in vitro*. Smanjuje dužinu biljaka, broj internodija i bočnih grana. Na broj korenova nema bitnijeg efekta, te se pretpostavlja da apsorpciona moć korenova nije promenjena. To je logična posledica suše, jer kraće i manje razgranate biljke imaju manju transpiracionu površinu. U uslovima kulture *in vitro* biljke ne transpirišu pošto je atmosfera u tim uslovima zasićena vlagom.
- 2. S obzirom na to da je PEG osmotski aktivna supstanca i da snižava vodni potencijal simulirajući tako uslove suše u zemljištu, njegovi efekti na morfološke parametre izdanaka *in vitro* verovatno su slični efektima suše u prirodnim uslovima.
- 3. U kulturi *in vitro* je malo teže izazvati uslove suše. Međutim, ipak je moguće.
- 4. Visoke koncentracije PEG-a verovatno izazivaju osmotski šok kod izdanaka. Gledano prema promenama koje su zapažene na biljkama, opseg koncentracija koji se može uzeti za izazivanje šoka bio bi između 10% i 15% PEG. Onda bi promene u morfologiji koje srećemo, a naročito pojava deformisanih izdanaka (veoma su tanki bledo zelene su boje, malih listova, uglavnom nemaju korenove) bile verovatno i posledica tog šoka.

Uočene morfološke promene u uslovima simulirane suše kod krompira (*Solanum tuberosum* cv. Desiree) *in vitro* verovatno podsećaju na prilagođenost biljaka izloženim suši u prirodnim uslovima.

Literatura

Denffer, Zregler. 1988. Morfologija i fiziologija. Zagreb: Školska knjiga.

Đilanov, D., et al. 1997. Selection in vitro for drought tolerance in alfaalfa (Medicago sativa L.): Drought and plant production, proceedings 2. Belgrade: Agricultural researchinstitute 'Serbia', 99-110.

Isakov, A., Alimgazinova, B., Terletskaya, N. 1996. Primena kulture in vitro za izučavanje otpornosti ječma na sušu. U zborniku kratkih sadržaja *Suša i biljna proizvodnja*. Beograd: Institut za istraživanja u poljoprivredi 'Srbija', str. 105.

Kastori, R. 1995. Fiziologija biljaka. Beograd: Nikola Dančev.

Kumari, D., Wareing, P.F. 1972. Factors controlling stolonsdevelopement in the potato plant: New phitol. Botany Department. 7I, 639-48.

Mezei, S. Nagl, N., Zlokolica, M., Kovačev, L., Čačić, N., Sklenar, P. 1996. *In vitro* testiranje otpornosti šećerne repe na sušu. U zborniku kratkih saržaja *Suša i biljna proizvodnja*. Beograd: Institut za istraživanja u poljoprivredi 'Srbija', str 163.

Popović, Ž. 1987. Fiziologija biljaka, rastenje i razviće. Beograd: Naučna knjiga.

Sarić M. 1979. Fiziologija biljka. Beograd: Naučna knjiga.

SIGMA CHEMIE 1996. SIGMA CHEMIE – biochem i kalien organiche verbindungen und diagnostika.

Vinterhalter, D., Vinterhalter, B. 1996. Kultura in vitro i mikropropagacija biljaka. Beograd: Institut za istraživanja u poljoprivredi 'Srbija'.

Vinterhalter, D., Vinterhalter, B., Calović, M. 1996. Odnos između saharoze i citokinina u regulaciji rastenja i grananja kultura izdanaka krompira sorte Desiree. U zborniku kratkih sadržaja *Povrće i krompir*. Beograd: Institut za istraživanja u poljoprivredi 'Srbija', str 231.

Vinterhalter, D., Vinterhalter, B., Calović, M. 1997. The relationship between sucrose and cytokinins in the study regulation of grouth and branching in potato cv. Desiree shoot cultures. First Balkan Symposium, vegetable and potatoes. *Acta hort*. 462, ISHS.319-23.

Voet, D., Voet, J.G. 1995. *Biochemistry*. New York: Wiley, str. 85, 818-19.

Tijana Mitić

Effect of Polyethyleneglycol (PEG) on Shoot Morphology and Tuber Induction in Potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Desiree) *in vitro*

Among the abiotic environmental stresses, drought remains one of the most important. In this research we tried to find proper methods for testing potato on drought in *in vitro* culture. We used polyethileneglicol (PEG) to simulate drought conditions in *in vitro* culture.

The potato cultivar Desiree was propagated *in vitro* by laising the nodes of stalk in hormone-free medium with increased amounts of PEG. Explantats were immediately put on media with 0, 5, 10, 15 i 20% PEG.

In this paper we present methods for testing the Desiree where the growth changes under osmotic conditions, were compared in *in vitro* culture of potato obtain to the light and the other obtain to the darkness. We morphologically analyzed the explantats that were obtain to the electric light and the other obtain to the darkness.

In reduced water supply, plantlets reacted by reducing the number of auxiliary buds and the length of internodes, also reducing the number of shoots per explantat.

Considering the gotten results we may generally conclude next:

- 1. PEG did showed an effect on morphology of *in vitro* shoot cultures, thus reduced the plants length and number of internodes, reduced number of lateral leafy shoots, while on the number of roots per shoot didn't show any significant effect.
- 2 considering osmotic activity of used chemical and also that it lowers the water potential simulating the drought conditions in the soil. So that it's effect on shoot morphology are probably similar to those in the real drought conditions in nature.
- 3. In *in vitro* culture of potato is hard to effect the drought conditions, but it is also possible by using higher concentration of PEG.

