

UDK: 582.681(497.11)

Izvorni naučni rad *Original scientific paper*

UTICAJ pH VREDNOSTI PODLOGE ZA OŽILJAVANJE NA RAST I RAZVOJ IZBOJAKA BELIH TOPOLA U KULTURI *IN VITRO*

Vanja Vuksanović¹, Branislav Kovačević², Saša Orlović², Marko Kebert², Marina Katanić²

Izvod: U istraživanju je testiran uticaj niskih pH vrednosti hranljive podloge za ožiljavanje na rast i razvoj izbojka pet genotipova bele topole (*Populus alba* L.). Nakon 35 dana kultivacije u kulturi *in vitro* mereni su: visina izbojka, broj korenova, dužina najdužeg korena, procenat preživljavanja i procenat ožiljavanja. Ispitane su tri pH vrednosti medijuma: 3.0, 4.0 i 5.5, puferisanih natrijum citratnim puferom, i standardna podloga za ožiljavanje sa pH 5.5 bez dodavanja limunske kiseline (kontrola), sterilisane u mikrotalasnoj pećnici. Generalno, statistički značajno niže vrednosti ispitivanih morfoloških parametara zabeležene su na podlogama sa vrednošću pH 3.0 u odnosu na sve ostale ispitivane podloge. Najviše vrednosti kod svih ispitivanih parametara na podlozi sa pH 3.0 su zabeležene kod klona L-80. Dobijeni rezultati ukazuju da bi testovi u kulturi *in vitro* mogli da pomognu da se suzi izbor genotipova bele topole koji bi se koristili na kiselim zemljištima.

Ključne reči: *Populus alba*, mikropropagacija, kiselost, sterilizacija mikrotalasima

THE INFLUENCE OF ROOTING MEDIUM pH ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF SHOOTS OF WHITE POPLAR *IN VITRO*

Vanja Vuksanović¹, Branislav Kovačević², Saša Orlović², Marko Kebert², Marina Katanić²

Abstract: The study tested the influence of the low pH values of the nutrient medium for rooting on the growth and development of the shoots of five white poplar (*Populus alba* L.) genotypes. After 35 days of *in vitro* cultivation following characters were measured: height of shoot, the number of roots, length of the longest root, the percentage of survival and rooting. Three different pH values of the medium: 3.0, 4.0 and 5.5, buffered by sodium citrate buffer, and standard medium for rooting with pH 5.5 without the addition of citric acid (control),

¹ Master Vanja Vuksanović, student doktorskih studija, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Republika Srbija; ² dr Branislav Kovačević, viši naučni saradnik, dr Saša Orlović, redovan profesor, dr Marko Kebert, naučni saradnik, dr Marina Katanić, naučni saradnik, Univerzitet u Novom Sadu, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Novi Sad, Republika Srbija

¹ Vanja Vuksanović, MSc, PhD student, University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Republic of Serbia; ² dr Branislav Kovačević, Senior research associate, dr Saša Orlović, full professor, dr Marko Kebert, Research associate, Marina Katanić, Research associate, University of Novi Sad, Institute of Lowland Forestry and Environment, Novi Sad, Republic of Serbia

sterilized in microwave oven, were used. Generally, a statistically significant lower values in all studied morphological parameters have been recorded on the media with pH 3.0, compared to all the other tested media. The highest values of all investigated parameters were observed in clone L-80. The results indicate that the in vitro test culture might help to narrow the selection of white poplar genotypes that could be used on acid soils.

Key words: *Populus alba, micropropagation, acidity, microwave sterilization*

UVOD

Bela topola (*Populus alba* L.) je drvenasta vrsta koja se, uprkos svojoj visokoj prilagodivosti, smatra ugroženom, pa se koristi u bioindikaciji (Kovačević et al., 2010a). Pored njenog korišćenja u proizvodnji drveta (Redei et al., 2013), bela topola je našla primenu u hortikulturi i pejzažnoj arhitekturi, posebno genotipovi sa piramidalnom krošnjom (Eggens et al., 1972; Kovačević et al., 2010b).

Velika rasprostranjenost kiselih zemljišta u svetu (Von Uexkull i Mutert, 1995) čini poznavanje tolerancije biljaka prema reakciji zemljišta izuzetno značajnim. U svetu kisela zemljišta ograničavaju biljnu proizvodnju u manjoj ili većoj meri na oko 30 do 40% obradivih površina kao i na oko 70% potencijalno obradivih površina (Kastori i Milošević, 2011). Reakcija sredine utiče na sve fiziološke i biohemijske procese koji se odigravaju u ćelijama. Vrednost pH hranljive podloge je od velikog značaja za biljni svet, pošto neposredno i/ili posredno utiče na promet materije i energije biljaka, a time na njihovo rastanje i razviće i konačno na organsku produkciju tj. prinos (Kastori i Milošević, 1996). Ispitivanje tolerantnosti prema abiotičkim faktorima u uslovima *in vitro* pruža mnoge prednosti, s obzirom da se radi o relativno brzom metodi, koja omogućava veći broj ponavljanja u kontrolisanim uslovima, bez uticaja indirektnih faktora spoljne sredine (Cui et al., 2010; Kovačević et al., 2013a; Kovačević et al., 2013b).

Cilj ovog istraživanja je bio da se proceni varijabilnost parametara tolerantnosti prema reakciji podloge kod različitih genotipova bele topole u uslovima *in vitro* prema reakciji podloge.

MATERIJAL I METODE

Biljni materijal

Za ogled je odabrano pet genotipova bele topole (*Populus alba* L.), koje karakteriše dobar rast u kulturi tkiva i genetička divergentnost (Guzina i Tomović, 1989; Kovačević et al., 2013b) (Tabela 1).

Priprema podloge

Tokom ispitivanja korišćena je ACM podloga (Aspen Culture Medium) po Ahuja, (1984) sa dodatkom 9 gL⁻¹ agara i 20 gL⁻¹ saharoze i bez hormona. Ova podloga se

uobičajeno koristi za ožiljavanje izbojaka bele topole (Kovačević et al., 2013a) i u ogledu je služila kao kontrola. Za ispitivanje uticaja pH korišćene su i tri posebne podloge sa pH 3.0, 4.0, i 5.5. U njihovoj pripremi korišćen je i natrijum citratni pufeni sistem kako bi se podesila željena pH vrednost podloge i očuvala stabilnost pH vrednosti podloge tokom uzgoja eksplantata (Skirvin et al., 1986).

Tabela 1. Ispitivani genotipovi bele topole

Table 1. Examined white poplar genotypes

Ime Name	Poreklo ^{a)} Origin ^{a)}	Opis Description
"Villafranca"	Italija	Model genotip, pravo stablo uzane krošnje
"Villafranca"	Italy	Model genotype, straight, narrow tree shape
L-12	Srbija	Eksperimentalni klon, vigorozno pravo stablo
L-12	Serbia	Experimental clone, vigorous straight tree shape
L-80	Srbija	Eksperimentalni klon, vigorozno pravo stablo
L-80	Serbia	Experimental clone, vigorous straight tree shape
LCM	Srbija	Genotip hortikulturnog značaja, "Bolleana" oblik krošnje
LCM	Serbia	Horticultural genotype, "Bolleana" tree shape
LBM	Srbija	Genotip hortikulturnog značaja, pravo piramidarno stablo
LBM	Serbia	Horticultural genotype, straight pyramidal tree shape

Legenda: ^{a)} Svi ispitivani genotipovi su selektovani u Institutu za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Novi Sad, Srbija, osim klona "Villafranca" koji je selektovan u Poplar Research Institute in Casale Monferrato, Italija

Legend: ^{a)} All examined genotypes were selected in Institute of Lowland Forestry and Environment, Novi Sad, Serbia, except the clone "Villafranca", that was selected in Poplar Research Institute in Casale Monferrato, Italy.

Vrednost pH podloge je podešena pre sterilizacije. Sterilizacija podloge vršena je u mikrotalasnoj pećnici. Podloga je bila tretirana do početka ključanja, a zatim razlivena u količini od 25 ml u sterilisane staklene teglice zapremine 190 ml. Razlivanje podloge obavljeno je u laminarnoj komori. Na ovaj način ostvaren je efekat geliranja i u podlogama sa pH 3 i pH 4 (Kovačević et al, 2013a).

Uticaj pH vrednosti podloge na rast i razvoj biljaka

Da bi se ispitao efekat početne pH vrednosti podloge na rast i razvoj ispitivanih genotipova, vrhovi izbojaka visine od 1 do 1,5 cm su postavljeni u sterilisane teglice sa ispitivanim podlogama. Kulture su uzgajane na temperaturi 26 ± 2 °C, izložene beloj svetlosti fluorescentnih cevi od 3500 lx u 16h/8h režimu dan/noć. Nakon 35 dana kultivacije utvrđen je efekat primenjenih tretmana na sledeća svojstva: visina izbojka (VI), broj novih korenova (BK), dužina najdužeg korena (DK), procenat preživljavanja (PP) i procenat ožiljavanja (PO), pri čemu se procenat ožiljavanja odnosi na procenat ožiljavanja preživelih eksplantata.

Statistička analiza

Ogled je koncipiran po principu potpuno slučajnog rasporeda, sa pet ponavljanja, pri čemu je jedno ponavljanje činila jedna telica sa pet postavljenih eksplantata. Vrednosti određene na nivou teglice su bile osnov za dalju statističku analizu. Dobijeni rezultati su obrađeni metodom dvofaktorijalne analize varijanse, a značajnost razlike između pojedinih medijuma, genotipova i njihovih interakcija su testirane NZR – testom (test najmanje značajne razlike). Broj korenova je transformisan kvadratnom transformacijom ($\sqrt{X+1}$), a procenat preživljavanja i procenat ožiljavanja arcsin transformacijom ($\arcsin \sqrt{X}$), kako bi se dobila normalna distribucija frekvencija, što je uslov za primenu korišćenih testova parametarske statistike. Za obradu podataka korišćen je programski paket STATISTICA 10 (StatSoft Inc., 2012).

REZULTATI I DISKUSIJA

Konzistencija podloge može biti narušena autoklaviranjem što predstavlja veliki problem kod podloga sa niskom pH vrednošću (De Klerk et al., 2008). Ovaj problem je rešen sterilizacijom podloge u mikrotalasnoj pećnici (Kovačević et al., 2013a). Puferna sposobnost standardne podloge je relativno slaba i menja se kako tokom autoklaviranja (Skirvin et al., 1986), tako i nakon postavke eksplantata u kulturi *in vitro* (Kovačević et al., 2013a). Takođe, utvrđeno je da stabilnost pH podloge zavisi od hemijskog sastava podloge, načina skladištenja i načina sterilizacije (Sarma et al., 1990; Owen et al., 1991; Ružić i Cerović, 2001; Anderson i Ievinsh, 2008). U cilju stabilizacije željenog pH do kraja kultivacije u ovom istraživanju korišćenje natrijum citratni pufer. Mnogi istraživači su ispitivali uticaj pH vrednosti podloge na rast i razvoj brojnih biljnih vrsta u kulturi *in vitro* (Liefert et al., 1995; Ružić, 2004; Bhatia i Ashwath, 2005; De Klerk et al., 2008; Ostrolucká et al., 2010; Anderson i Ievinsh, 2008; Martins et al., 2011; Kovačević et al., 2013a; Vuksanović, 2013), ali samo mali broj istraživača se do danas bavio ispitivanjem uticaja tako kisele reakcije (pH3) čvrste podloge na rast i razvoj bele topole (Kovačević et al., 2013a; Vuksanović et al., 2016). Inače, prema Američkoj klasifikaciji zemljišta, koju navode Đorđević i Radmanović, (2016), zemljišta sa pH ispod 4,5 se nazivaju „Ekstremno kisela zemljišta“ i predstavljaju kategoriju zemljišta sa najnižim pH. U tom smislu, može se reći, da su u ovom radu ispitane podloge sa pH vrednostima koje se nalaze na donjoj granici reakcije zemljišta koje nalazimo u prirodi.

Rezultati analize varijanse nakon 35 dana kultivacije *in vitro* su pokazali da je kod svih ispitivanih morfoloških parametara uticaj ispitivanih podloga kao faktora variranja ne samo statistički značajan, nego i izuzetno jak. Takođe, rezultati kod većine ispitivanih parametara pokazuju da je i uticaj ispitivanih genotipova kao faktora variranja statistički značajan. Interakcija genotip \times podloga, koja opisuje razlike u reakciji genotipova na ispitivane medijume, nije pokazala statistički signifikantan uticaj samo kod procenta preživljavanja (Tabela 2). Prema F-vrednostima dobijenim dvofaktorijalnom analizom varijanse, najjači efekat na

variranje kod ispitivanih morfoloških parametara je ostvaren razlikama u početnoj vrednosti pH podloge.

Tabela 2. Rezultati dvofaktorijske analize varijanse za ispitivana morfometrijska svojstva

Table 2. The results of two-way analysis of variance for morphometric properties

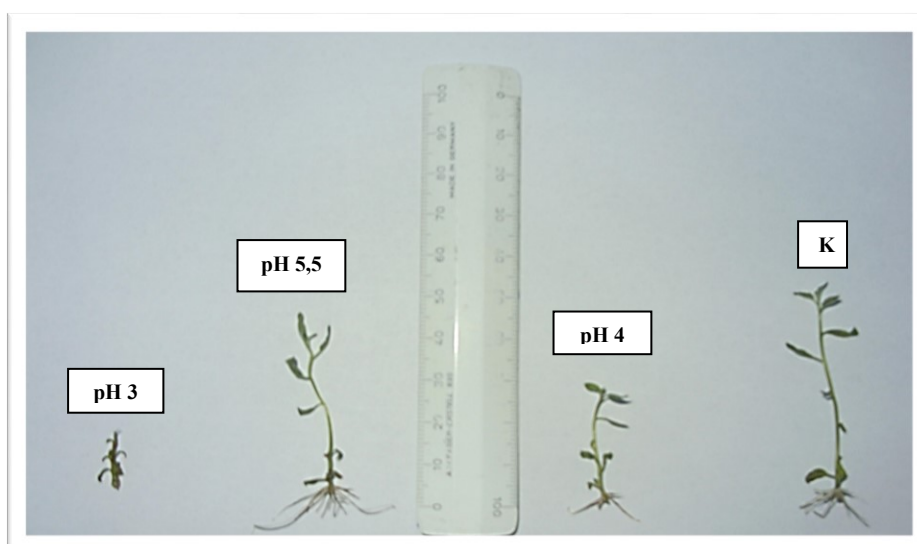
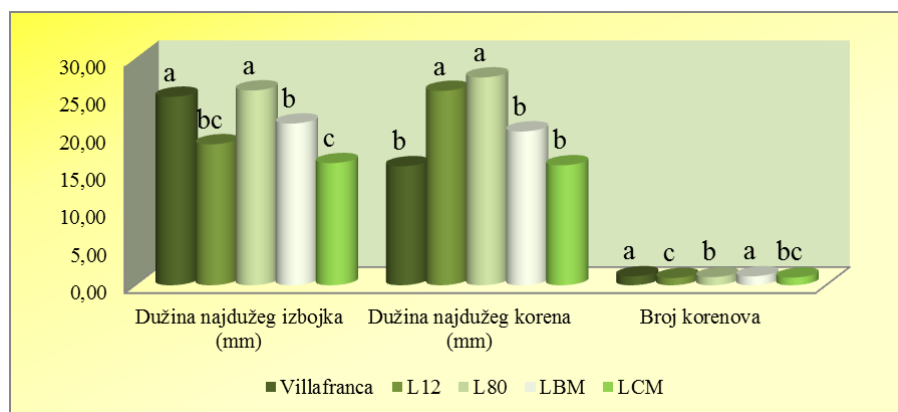
Svojstvo Character	Sredinakvadrata Mean square				F – test F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A × B	Pogreška Error	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A × B
	Genotype (A)	Medium (B)	Interaction A × B		Genotype (A)	Medium (B)	Interaction A × B
Visina izbojka (mm) Shoot height (mm)	322,80	1106,88	104,67	27,30	11,82 ^{**a)}	40,55 ^{**}	3,83 ^{**}
Broj korenova Root number	0,94	3,63	0,54	0,12	7,70 ^{**}	29,62 ^{**}	4,45 ^{**}
Dužina najdužeg korena (mm) Length of the longest root (mm)	430,18	1794,93	334,72	52,73	8,16 ^{**}	34,04 ^{**}	6,35 ^{**}
Procenat preživljavanja Percentage of survival	336,63	1178,98	188,52	236,40	1,42	4,99 ^{**}	0,80
Procenat ožiljavanja Percentage of rooting	497,72	2179,97	579,96	236,43	2,11	9,22 ^{**}	2,45 ^{**}

Legenda: ^{a)}Stepeni slobode za klon: $DF_A = 4$, stepeni slobode zapodlogu $DF_B = 3$, stepeni slobode za interakciju $A \times B$: $DF_{A \times B} = 12$, stepeni slobode za pogrešku $DF_{ERR} = 74$ i stepeni slobode totala $DF_T = 93$

Legend: ^{a)} Degrees of freedom for genotype was $DF_A = 4$, degrees of freedom for medium $DF_B = 3$, degrees of freedom for interaction genotype × pH $DF_{A \times B} = 12$, degrees of freedom for error $DF_{ERR} = 74$ and degrees of freedom for total $DF_T = 93$

U totalu, najbolji rezultati rasta su ostvareni kod genotipa L-80, a najbolje rezultati preživljavanja i ožiljavanja su dobijeni kod genotipova Villafranca i LBM. Najlošije rezultate za ispitivane morfološke parametre ostvarili su genotipovi L-12 i LCM (Grafikoni 1 i 2).

Grafikon 1. Prosečne vrednosti ispitivanih genotipova za morfološke parametre. Slova na vrhu stubića odgovaraju NZR testu, isto slovo predstavlja istu homogenu grupu na nivou $\alpha_{0,05}$
Graph 1. Average values of the genotypes for morphological parameters. The letters at the top of the bars correspond to the LSD-test, where the same letter represents the same homogenous group at the level $\alpha_{0,05}$

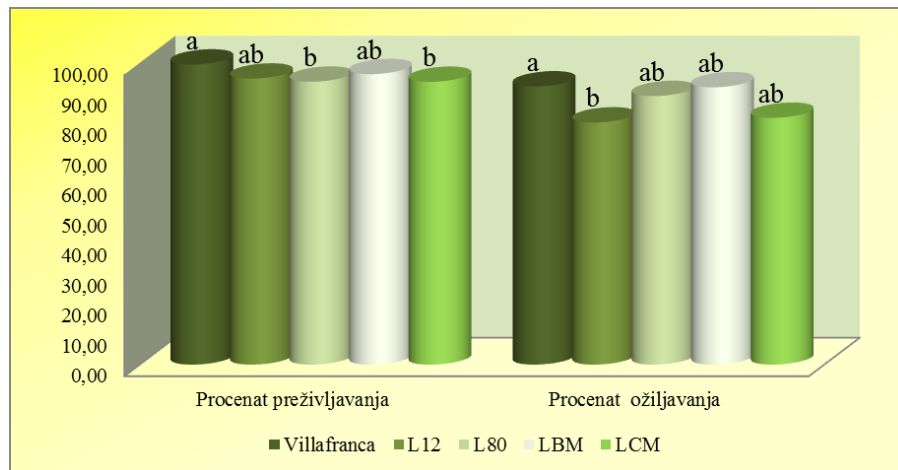


Slika 1. Morfološke karakteristike ožiljenih izbojaka genotipa Villafranica na ispitivanim podlogama.

Figure 1. Morphological characteristics of the rooted shoots genotype Villafranica on tested media.

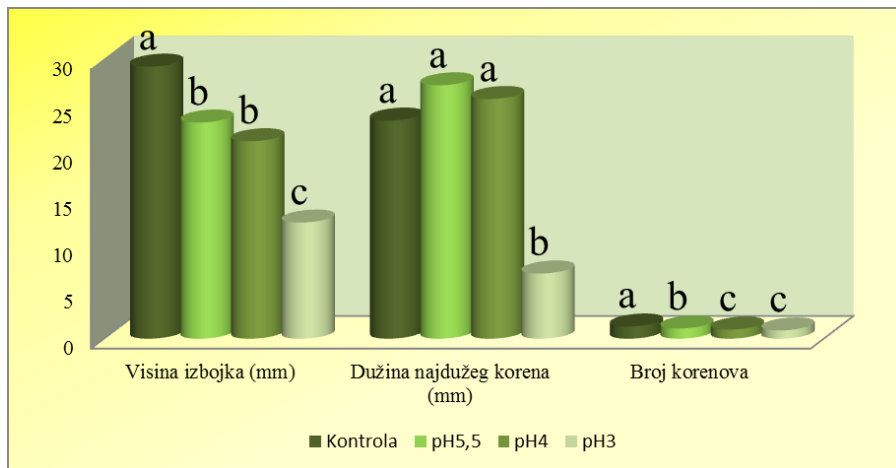
Grafikon 2. Prosečne vrednosti ispitivanih genotipova za morfološke parametre. Slova na vrhu bara odgovaraju NZR testu, isto slovo predstavlja istu homogenu grupu na nivou $\alpha_{0,05}$

Graph 2. Average values of the genotypes for morphological parameters. The letters at the top of the bars correspond to the LSD-test, where the same letter represents the same homogenous group at the level $\alpha_{0,05}$



Prema rezultatima testa najmanjih značajnih razlika (NZR – test) postoji značajna razlika u ispitivanim svojstvima između podloge sa pH 3 i kontrolne podloge (Slika 1, Grafikon 3). Uticaj podloge pH 4 u odnosu na kontrolu nije bio značajan, što se pokazalo kako u totalu, a u najvećoj meri i za ispitivane genotipove pojedinačno. Takođe, gledano prema totalu, sva morfološka svojstva su pokazala i značajnu razliku između pH 3 i tretmana pH 5.5 (sa dodatkom limunske kiseline), pri čemu su posebno jasno reagovali svojstva korena i visina izbojka. Time je dokazan snažan inhibitorni efekat niskog pH na rast i razvoj biljka ispitivanih genotipova. Ovi rezultati nisu u skladu sa rezultatima Kovačević et al., (2013a), koji su dobili stimulativan efekat podloge sa početnom pH 3 vrednošću, što je verovatno uzrokovano slabom pufernom moći njihove podloge, s obzirom da nisu koristili nikakav dodatni puferni sistem. Tome u prilog govori i činjenica da se reakcija u svim njihovim podlogama na kraju kultivacije kretala između pH 5 i pH 6. Međutim i razlika u visini izbojka i broju korenova između kontrole i pH5,5 je bila značajna, što ukazuje da postoji izvestan inhibitorni efekat limunske kiseline i natrijumovog jona, dodatog radi ostvarenja pufernog efekta. Ovaj efekat se posebno ističe kod genotipova L-80 i LBM. Vuksanović et al., (2016), koji su ispitivali istu reakciju iste grupe genotipova na podlogama namenjenim mikropropagaciji, dobili su izostanak značajnog efekta limunske kiseline, izuzev stimulativnog efekta na formiranje novih izbojaka.

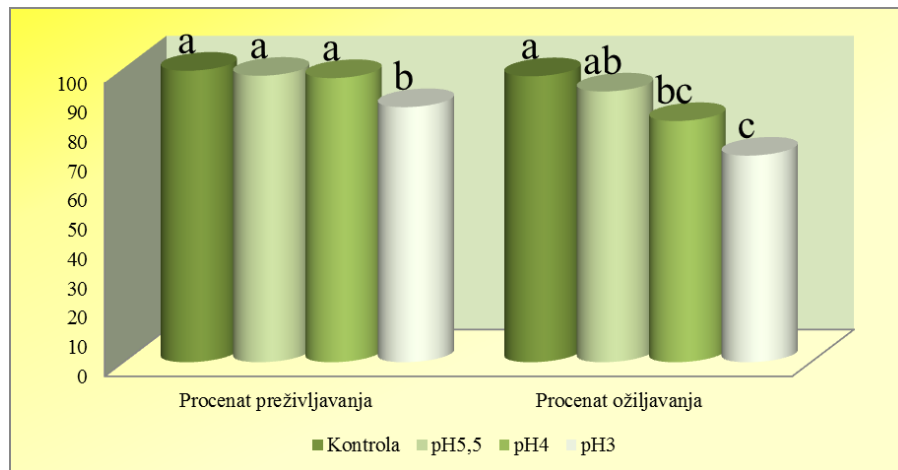
Grafikon 3. Prosečne vrednosti ispitivanih podloga za morfološke parametre. Slova na vrhu bara odgovaraju NZR testu, isto slovo predstavlja istu homogenu grupu na nivou $\alpha_{0,05}$
Graph 3. Average values of the tested substrates for morphological parameters. The letters at the top of the bars correspond to the LSD-test, where the same letter represents the same homogenous group at the level $\alpha_{0,05}$



Među ispitivanim genotipovima su postojale razlike u reakciji na podlogu pH 3 u odnosu na kontrolnu podlogu. Na primer, genotip Villafranca je pretrpeo najslabiji uticaj tretmana pH 3 na procenat preživljavanja izbojaka, ali je procenat ožiljavanja bio izuzetno nizak. Najbolje preživljavanje i ožiljavanje na podlozi pH 3 je pokazao genotip LBM, dok su ostali klonovi ostvarili slabije rezultate. Najblaži negativan efekat na visinu izbojka na podlozi pH 3 u odnosu na kontrolu primećen je kod genotipa LCM, a u nešto manjoj meri kod L-12 i LBM. U slučaju broja korenova, jedino kod genotipa L-12 je uticaj podloge pH 3 nije bio statistički značajan, dok prema dužini najdužeg korena je najslabiji inhibitorni efekat ostvaren kog genotipa L-80 (Tabela 3).

Grafikon 4. Prosečne vrednosti ispitivanih podloga za morfološke parametre. Slova na vrhu bara odgovaraju NZR testu, isto slovo predstavlja istu homogenu grupu na nivou $\alpha_{0,05}$

Graph 4. Average values of the tested substrates for morphological parameters. The letters at the top of the bars correspond to the LSD-test, where the same letter represents the same homogenous group at the level $\alpha_{0,05}$



Rast i razvoj biljaka je uslovljen promenama pH vrednosti u korenu biljaka. Promene mogu nastati usled posledica hemijskog sastava zemljišta i/ili posledica funkcije korena. Usporen rast izbojaka, propadanje korena, hloroza i drugi simptomi su povezani sa funkcijom mineralnih jona u nepovoljnim uslovima pH rizosfere (Kastori i Milošević, 2011). S obzirom da je površina od skoro 4000 miliona hektara pod kiselim zemljištem ovaj problem je globalan i predstavlja veliki ekonomski gubitak u proizvodnji (Marschner, 1995). Rezultati do kojih smo došli u ovom radu ukazuju na značajan uticaj podloge na biljku, kao i značajnu tolerantnost, posebno genotipa L-80, prema veoma kiseljoj podlozi. Takođe, prema Kovačević et al., (2013a), evidentan je i uticaj biljke na podlogu, što ističe belu topolu kao vrstu koja se može primeniti na različitim tipovima zemljišta, kako u smislu proizvodnje drvene mase i ozelenjavanja, tako i radi postizanja meliorativnog efekta ublažavanja zakišljenosti zemljišta.

Pojedini joni poput aluminijuma, mangana i gvožđa mogu postati pokretljiviji i više dostupni biljkama, pa i toksični za biljke u uslovima niske pH vrednosti (Foy, 1984). Posebno je značajna toksičnost aluminijuma, kao ograničavajućeg činioca rasta i vitalnosti u kiselim zemljištima (Arsenijević – Maksimović et al., 2001). U tom smislu, bi u dalja ispitivanja u kulturi *in vitro* trebalo uključiti i navedene jone.

Ako bi smo preživljavanje i ožiljavanje uzeli kao parametare od najvećeg značaja prilikom zasnivanja zasada, u narednim istraživanjima posebnu pažnju bi trebalo obratiti na genotip LBM, koji je ostvario visoke procenat preživljavanja i ožiljavanja na podlozi pH 3. Dobijeni rezultati ukazuju da bi testovi u kulturi *in vitro* mogli da pomognu da se suzi izbor genotipova koji bi se koristili na kiselim zemljištima. U tom smislu istraživanja bi trebalo proširiti i u poljskim uslovima.

Tabela 3. NZR - test za merena morfološka svojstva ispitivanih genotipova bele topole ^{a)}

Table 3. LSD-test for measured morphological characters of examined white poplar genotypes ^{a)}

Genotip <i>Genotype</i>	Podloga <i>Medium</i>	Visina izbojka <i>Shoot height (mm)</i>	Broj korenova <i>Root number</i>	Dužina najdužeg korena <i>Length of the longest root (mm)</i>	Procenat preživljavanja <i>Percentage of survival</i>	Procenat ožiljavanja <i>Percentage of rooting</i>
Villafranca	K	35,28 ^{ab}	1,44 ^a	14,56 ^{ghi}	100,00 ^a	100,00 ^a
Villafranca	pH3	9,80 ^j	0,71 ^j	3,70 ^j	96,60 ^{ab}	39,61 ^h
Villafranca	pH4	26,91 ^{cde}	1,26 ^{bc}	16,25 ^{efgh}	99,14 ^a	99,14 ^{ab}
Villafranca	pH5,5	28,55 ^{bcd}	1,19 ^{cd}	31,73 ^{bcd}	100,00 ^a	98,66 ^{abc}
L-12	K	20,10 ^{efgh}	1,00 ^{defghi}	24,30 ^{def}	100,00 ^a	80,43 ^{cdefg}
L-12	pH3	12,09 ^{ij}	0,89 ^{ghij}	6,33 ^{ij}	76,71 ^{bc}	64,29 ^{fgh}
L-12	pH4	19,98 ^{fgh}	0,82 ^{hij}	44,30 ^a	99,14 ^a	80,00 ^{cdefg}
L-12	pH5,5	22,78 ^{def}	1,09 ^{cdefg}	27,76 ^{cd}	92,46 ^{abc}	92,46 ^{abcde}
L-80	K	38,16 ^a	1,44 ^a	28,39 ^{bcd}	99,14 ^a	99,14 ^{ab}
L-80	pH3	13,85 ^{hij}	0,82 ^{hij}	12,39 ^{hij}	73,23 ^c	86,05 ^{abcdefg}
L-80	pH4	26,94 ^{cde}	0,93 ^{fghij}	37,47 ^{ab}	89,96 ^{abc}	76,71 ^{defg}
L-80	pH5,5	23,85 ^{def}	0,96 ^{efghij}	25,34 ^{cde}	100,00 ^a	84,62 ^{bcdefg}
LBM	K	33,12 ^{abc}	1,42 ^{ab}	34,61 ^{bc}	99,14 ^a	99,14 ^{ab}
LBM	pH3	15,03 ^{ghij}	1,12 ^{cdef}	8,79 ^{hij}	92,68 ^{abc}	92,68 ^{abcde}
LBM	pH4	16,07 ^{ghij}	1,03 ^{defgh}	11,56 ^{hij}	96,60 ^{ab}	77,05 ^{defg}
LBM	pH5,5	21,46 ^{defg}	1,09 ^{cdefg}	28,05 ^{bcd}	94,72 ^{abc}	91,98 ^{abcdef}
LCM	K	17,38 ^{fghi}	1,12 ^{cdef}	15,25 ^{fghi}	94,82 ^{abc}	94,82 ^{abcd}
LCM	pH3	11,27 ^{ij}	0,88 ^{ghij}	5,60 ^{ij}	88,73 ^{abc}	65,81 ^{efgh}
LCM	pH4	14,63 ^{ghij}	0,75 ^{ij}	17,20 ^{efgh}	95,17 ^{abc}	61,49 ^{gh}
LCM	pH5,5	20,14 ^{fgh}	1,15 ^{cde}	23,69 ^{defg}	94,82 ^{abc}	89,96 ^{abcdefg}

Zahvalnica

Ovaj rad je realizovan u okviru projekata: „Istraživanje klimatskih promena inihovoguticajana životnu sredinu: praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“ (III43007) koji finansira Ministarstvo za prosvetu i nauku Republike Srbije u okviru programa Integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja za period 2011-2016. godine, projekta „Unapređenje gajenja nizijskih šuma“, koji finansira JP „Vojvodinašume“, Petrovaradin za 2016. godinu i na osnovu stipendije Ministarstva za prosvetu i nauku Republike Srbije za studenta doktorskih studija Vanju Vuksanović po Ugovoru br. 1667.

LITERATURA

Ahuja, M.R. (1984): A commercially feasible micropropagation method for aspen. *Silvae Genet.* 32: 174-176.

- Andersone, U., Ievinsh, G. (2008): Medium pH affects regeneration capacity and oxidative enzyme activity of *Pinus sylvestris* in tissue culture. *Acta Univ. Latv. Biol.* 745: 25-35.
- Arsenijević – Maksimović, I., Jelić, M., Lomović, S., Kastori, R. (2001): Genetic and physiological bases of plant tolerance to high concentrations of heavy metals and aluminium. In: *Genetic and Breeding of Small Grains*. Ed. Quarrie, S. A. et al., Agricultural Research Institute Serbia, Beograd: 377–405.
- Bhatia, P., Ashwath, N. (2005): Effect of medium pH on shoot regeneration from the cotyledonary explants of tomato, *Biotechnol.* 4: 7-10.
- Cui, X.-H., Murthy, H.N., Wu, C.-H., Paek, K.-Y. (2010): Sucrose-induced osmotic stress affects biomass, metabolite, and antioxidant levels in root suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 103: 7-14.
- De Klerk, G., Hanecakova, J., Jasik, J. (2008): Effect of medium-pH and MES on adventitious root formation from stem disks of apple. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 95: 285-292.
- Dorđević, A., Radmanović, S. (2016): *Pedologija*. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Eggen, C.F., Loughheed, E.C., Hilton, R.J. (1972): Rooting of hardwood cuttings of *Populus alba*. *Can. J. Plant Sci.* 52: 599-604.
- Foy, C.D. (1984): Physiologic effect of hydrogen, aluminum, manganese toxicities in acid soil. In: *Soil Acidity and Liming* (Ed. Adams, F.), American Society of Agronomy Inc. Madison, WI, USA.
- Guzina, V., Tomović, Z. (1990): Mogućnosti korišćenja belih topola i jasika za pošumljavanje u cilju proširenja šumskog fonda Srbije. *Drvarski glasnik*, 5-7.
- Kastori, R., Milošević, N., (2011): *Ekološki i fiziološki aspekti kisele sredine - zemljište, biljke i mikroorganizmi*. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad i Vojvođanska akademija nauka i umetnosti, Novi Sad, 199 str. ISBN 978-86-80417-31-8
- Kovačević, B., Miladinović, D., Katanić, M., Tomović, Z., Pekeč, S. (2013a): The effect of low initial medium pH on in vitro white poplar growth. *Bulletin of the Faculty of Forestry* 108: 67-80.
- Kovačević, B., Miladinović, D., Orlović, S., Katanić, M., Kebert, M., Kovičić, J. (2013b): Lead Tolerance and Accumulation in White Poplar Cultivated *In Vitro*. *SEEFOR* 4(1): 3–12.
- Kovacevic, B., Orlovic, S., Roncevic, S., Miladinovic, D. (2010a): The effect of silver ion, 1-naphthalene acetic acid and 6-benzylaminopurine on micropropagation of „Fastigiata“ tree shape variety *Populus alba* cl. LBM. *Acta Hort.* 885: 197-202.
- Kovacevic, B., Tomovic, Z., Stajner, D., Katanic, M., Drekić, M., Stojnić, S. (2010b): Restoration of autochthonous poplar species (*Populus* sp.) in riparian zone – genofond establishment, *Topola/Poplar* 185/186: 61-68 [In Serbian]

- Leifert, C., Murphy, K.P., Lumsden, P.J. (1995): Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue cultures. *Crit. Rev. Plant Sci.* 14: 83-109.
- Martins, N., Goncalves S., Palma, T., Romano, A. (2011): The influence of low pH on in vitro growth and biochemical parameters of *Plantago almogravensis* and *P. algarbiensis*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 107: 113-121.
- Marschner, H., Rengel, Z. (2007): Contributions of Rhizosphere Interaction to Soil Biological Fertility. In: *Soil Biological Fertility - A Key to Sustainable Land Use in Agriculture* (Eds. Abbot, L.K., Murphy, D.V.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 81-98.
- Ostrolucká, M.G., Gajdošová, A., Ondrušková, E., Lateěková, M., Libiaková, G. (2010): Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. Cultivars. *Acta Biol. Cracov. Bot.* 52(2): 92-96.
- Owen, H. R., Wengerd, D., Miller, A. R. (1991): Culture medium pH influenced by basal medium, carbohydrate source, gelling agent, activated charcoal, and medium storage method. *Plant Cell Rep.* 10: 583-586.
- Rédei, K., Keserű, Z., Antal, B. (2013): Tending operation models for Leuce poplar stands growing on sandy soils in Hungary. *Topola*, 191/192: 1-8.
- Ruzić, Dj. (2004): The specificity of mineral nutrition in culture in vitro, Andrejevic Endowment, Belgrade
- Ruzić, Dj., Cerović, R. (2001): Changes in the pH value of the medium after autoclaving and during culture of sweet cherry rootstocks in vitro. *Jugosl. Voćar.* 35: 27- 37.
- Sarma, K.S., Maesato, K., Hara, T., Sonoda, Y. (1990): Effect of method of agar addition on post-autoclave pH of the tissue culture media. *Ann. Bot.*, 65: 37-40.
- Skirvin, R.M., Chu, M.C., Mann, M.L., Young, H., Sullivan, J., Fermanian, T. (1986): Stability of tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time and cultured plant material. *Plant Cell Rep.* 5: 292-294.
- StatSoft Inc. (2010): STATISTICA (data analysis software system), version 12. www.statsoft.com.
- Von Uexkull, R.H., Mutert, R.H. (1995): Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant and Soil*, 171: 1-15.
- Vuksanović, V. (2013): Procena tolerantnosti i mogućnost akumulacije bakra kod genotipova crne topole u uslovima in vitro. Master rad, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Vuksanović, V., Kovačević, B., Orlović, S., Miladinović, D., Katanić, M., Kebert, M. (2016): The effect of medium pH on white poplar shoots growth in vitro. Book of proceedings of VII International Scientific Symposium, 06-09 October 2016, Jahorina, Bosnia and Herzegovina: 2868-2873.

Summary

THE INFLUENCE OF ROOTING MEDIUM pH ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF SHOOTS OF WHITE POPLAR IN VITRO

by

Vanja Vuksanović, Branislav Kovačević, Saša Orlović, Marko Kebert, Marina Katanić

*The study tested the influence of the low pH values of the nutrient medium for rooting on the growth and development of the shoot five genotypes white poplar (*Populus alba* L.). After 35 days of in vitro cultivation following characters were measured: height of shoot, the number of roots, length of the longest root, the percentage of survival and rooting. Three different pH values of the medium: 3.0, 4.0 and 5.5, buffered by sodium citrate buffer, and standard medium for rooting with pH 5.5 without the addition of citric acid (control). Problems with gelling of the media at low pH values were overcome by their sterilization in a microwave oven. Analysis of variance showed that there was a significant effect of media pH on all of examined morphological parameters. Effect of interaction genotype × medium was statistically significant only in the percentage of survival. Generally, a statistically significant lower value in all studied morphological parameters have been recorded on the media with pH 3.0, compared to the control, as well as in relation to the other tested media. The highest values of all investigated parameters were observed in clone L-80 which suffered the weakest influence of the treatment pH 3.0. In subsequent experiments, special attention should be paid to clone L-80 due to good tolerance to low pH values. The results indicate that the in vitro test culture might help to narrow the selection of white poplar genotypes that could be used on acid soils.*