

UDK: 546.815:582.681.81

Izvorni naučni rad *Original scientific paper*

**UTICAJ OLOVA NA RAST IZDANAKA I KONCENTRACIJU
FOTOSINTETIČKIH PIGMENATA U LISTOVIMA KLONOVA BELIH
TOPOLA (*Populus alba*) U KULTURI TKIVA**

Katanić Marina¹, Pilipović Andrej¹, Orlović Saša¹, Krstić Borivoje²

Izvod: U radu je prikazan uticaj olova na parametre rasta i koncentraciju fotosintetičkih pigmenata u listovima izdanaka četiri klona topola iz sekcije Leuce u kulturi tkiva. Mikroizdanci su gajeni pet nedelja na čvrstom ACM medijumu (Aspen Culture Medium) sa dodatkom olova u formi Pb EDTA u različitim koncentracijama (0 , 10^{-5} i 10^{-4} M). Mereni su sledeći parametri: visina glavnog izdanka, sveža masa, multiplikacija (broj aksilarnih izdanaka po eksplantatu) i koncentracija fotosintetičkih pigmenata u listovima. U primenjenim koncentracijama, generalno, olovo je delovalo inhibitorno na visinu i svežu masu izdanaka svih ispitivanih klonova, dok razlike u multiplikaciji i sadržaju fotosintetičkih pigmenata između kontrole i tretmana sa olovom nisu bile statistički značajne. Ispitivani klonovi su pokazali varijabilnost u reakcijama na prisustvo olova u hranljivom medijumu.

Ključne reči: topole, fitoremedijacija, olovo, klon, in vitro

**THE INFLUENCE OF LEAD ON THE SHOOT GROWTH AND CONCENTRATION OF
PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN LEAVES OF THE WHITE POPLAR
(*Populus alba*) CLONES IN VITRO**

Abstract: This research deals with the effect of lead on growth parameters and concentration of photosynthetic pigments in leaves of four poplar clones from section Leuce cultivated in vitro. Microshoots were cultivated five weeks on solid ACM medium (Aspen Culture Medium) with addition of lead in form of Pb EDTA in different concentration (0 , 10^{-5} and 10^{-4} M). The parameters investigated included: length of the main shoot, fresh mass, multiplication (number of axillary shoots per explant) and concentration of photosynthetic pigments in leaves. Applied lead generally decreased height and fresh mass of shoots of all investigated clones, but differences in multiplication and concentration of photosynthetic pigments between control shoots and that treated with lead were not statistically significant. Investigated clones differed in their reactions on lead presence in growth medium.

Key words: poplars, phytoremediation, lead, clone, in vitro

¹ Dipl. biol. Marina Katanić, istraživač saradnik; Mr Andrej Pilipović, istraživač saradnik; Dr Saša Orlović, naučni savetnik, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Novi Sad

² Dr Borivoj Krstić, redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet, departman za biologiju i ekologiju, Novi Sad

Ovo istraživanje je vođeno u okviru projekta TR-6864 B podržanog od Ministarstva nauke, tehnologije i razvoja Republike Srbije

1. UVOD

Zagađenje teškim metalima je jedan od najozbiljnijih problema današnjice. Najčešći izvori olova su sagorevanje tečnih i čvrstih goriva, topionice, otpadne vode sa visokim sadržajem olova, kao i hemikalije kojima se tretira zemljište uključujući i đubriva (Seregin i Ivanov, 2001).

Toksično dejstvo teških metala posledica je njihovog vezivanja sa SH grupama proteina što dovodi do inhibicije enzimske aktivnosti ili narušavanja njihove strukture. Takođe mogu da zamene esencijalne elemente u biomolekulima i na taj način prouzrokuju efekat njihovog nedostatka (van Assche i Clijsters, 1990). Enzimska aktivnost opada pod dejstvom olova, čime se može objasniti inhibitorno dejstvo ovog metala na ćelijski metabolizam, mineralnu ishranu, vodni režim, respiraciju i dr. Do opadanje fotosintetičke aktivnosti dolazi usled narušavanja ultrastrukture hloroplasta i sinteze fotosintetičkih pigmenata, ometanja transporta elektrona i dr.

Efekat vrste metala ili različitih koncentracija metala na sadržaj hlorofila varira među biljnim vrstama.

Inhibicija rasta prouzrokovana teškim metalima može da potiče od metaboličkih poremećaja, ali i od direktnog uticaja na rast, na pr. interakcija sa polisaharidima ćelijskog zida smanjuje plastičnost zida. Dokazano je, međutim, da u niskim koncentracijama olovo može da deluju stimulatивно na rast korena (Seregin i Ivanov, 2001).

Pošto se teški metali ne mogu razložiti najbolje ih je ukloniti iz zagađenih područja. Tokom 80-tih godina 20. veka u SAD su započela istraživanja vezana za uticaj biljaka na kontaminirana zemljišta (Salt et al., 1998; EPA, 2001; Barcelo i Poschenrieder, 2003; Ghosh i Singh, 2005). Utvrđeno je da biljke mogu da utiču na smanjenje koncentracije kontaminanata u zemljištu i podzemnim vodama. Tehnologija korišćenja biljaka u ove svrhe poznata je kao fitoremedijacija.

Topole su biljne vrste koje se vrlo često koriste u fitoremedijaciji zahvaljujući svojim osobinama da brzo rastu, dobro podnose i zemljišta male plodnosti, imaju dobro razvijen korenov sistem koji može da dopre i do podzemnih voda i mogu da transpirišu velike količine vode (Aitchison et al., 2000). One su u stanju da posredno i neposredno vrše fitoremedijaciju više vrsta polutanata na više načina: fitoekstrakcijom, fitodegradacijom, fitovolatilizacijom i rizodegradacijom.

Rezultati savremenih istraživanja ukazuju na mogućnost uspešnog korišćenja topola u fitoremedijaciji zemljišta zagađenih teškim metalima (Pilipović et al., 2002, Kališova - Špirochova et al., 2003; Bojarczuk, 2004; Pilipović, 2005, Pilipović et al., 2005, 2006, Katanić et al., 2006).

U radu su prikazani rezultati dejstva olova na rast izdanaka i koncentraciju fotosintetičkih pigmenata u listovima četiri klona belih topola u kulturi tkiva.

2. MATERIJAL I METOD RADA

Za ogled su odabrani klonovi belih topola (*Populus alba*, sekcija *Leuce*) L-12, L-80, L-111/81 i LBM zbog njihove osobine da dobro rastu u kulturi tkiva (Guzina i Tomović, 1989; Kovačević et al., 2005). U kulturu tkiva su uvedeni aksilarni pupoljci sa stabala različite starosti u periodu mirovanja vegetacije. U svim fazama istraživanja je korišćen Aspen Culture Medium (Ahuja, 1984) kome je dodavano 20 mg/l adenin-sulfata, 100 mg/l mio-inozitola, 0,5 mg/l benzilaminopurina (BAP), 0,02 mg/l α -naftilsirćetne kiseline (NAA), 20g/l saharoze i 9g/l agara (Kolevska-Pletikapić i Tomović, 1988). Kulture su rasle na temperaturi od 26 ± 3 °C i izlagane su beloj svetlosti fluorescentnih cevi od 160 W/m^2 u trajanju od 16 časova dnevno. Umnožavanje materijala je vršeno mikropropagacijom.

Vrhovi izdanaka dužine oko 1,5 cm su kultivisani na podlozi sa olovom pet nedelja. Olovo je dodato podlozi u formi Pb EDTA u koncentracijama od 0, 10^{-5} i 10^{-4} M. Merena su sledeća svojstva: sveža masa izdanaka (g), visina glavnog izdanka (mm), broj aksilarnih izdanaka po eksplantatu (multiplikacija izdanaka) i koncentracija fotosintetičkih pigmenata u listovima. Koncentracije pigmenata hloroplasta-hlorofila a, hlorofila b i ukupnih karotenoida su određene spektrofotometrijski (Wettstein, 1957). Podaci su analizirani u statističkom programu STATISTICA 7.1 (StatSoft Inc., 2006). Dobijeni rezultati su obrađeni dvofaktorijalnom analizom varijanse, a značajnost razlika između pojedinih tretmana, klonova i njihove interakcije su utvrđene i prikazane Dankanovim testom.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Nakon pet nedelja *in vitro* kultivacije, između izdanaka raslih na podlogama sa i bez olova, nije bilo morfoloških razlika tj. nisu uočene razlike u boji listova i nije bilo hloroze (Sl. 1.).



Slika 1. Efekat spitivanih koncentracija olova na klon L-80 (10^{-5} M, 0 i 10^{-4} M)
Figure 1. Effect of investigated concentrations of lead on clone L-80 (10^{-5} M, 0 and 10^{-4} M)

Dejstvo olova u koncentracijama 10^{-5} M i 10^{-4} M na visinu i masu izdanaka klonova belih topola je prikazano u tabeli 1. Može se uočiti da je u oba tretmana olovom došlo do smanjenja visine izdanaka u poređenju sa kontrolom, ali je razlika bila statistički značajna samo u slučaju veće koncentracije olova kod klonova L-12 i L-80. U pogledu sveže mase po tretmanima bez obzira na klon, u oba tretmana olovom je dobijena manja masa nego u kontroli, ali je razlika bila statistički značajna samo u slučaju manje koncentracije olova. Statistički značajne razlike su zabeležene kod klona L-12 između kontrole i tretmana 10^{-5} M olova, kao i kod klona L-80 između kontrole i tretmana 10^{-4} M olova. Ispitivani klonovi su se međusobno statistički razlikovali u pogledu sveže mase koju su postigli u totalu, što ukazuje na njihovu veliku varijabilnost.

Tabela 1. Uticaj različitih koncentracija olova na visinu i svežu masu izdanaka klonova belih topola

Table 1. Influence of different lead concentrations on height and fresh mass of white poplar clones shoots

Klon/Koncentracija <i>Clone/Concentration</i>	VISINA IZDANAKA (mm) <i>Shoots height (mm)</i>				SVEŽA MASA IZDANAKA (g) <i>Fresh mass of shoots (g)</i>			
	c 0	c 10^{-5}	c 10^{-4}	Prosek <i>Average</i>	c 0	c 10^{-5}	c 10^{-4}	Prosek <i>Average</i>
LBM	32.32de	25.04de	27.60de	28.32c	0.18efg	0.25def	0.15fg	0.19c
L-12	67.68a	66.65ab	57.27b	64.73a	0.63a	0.37bcd	0.50ab	0.52a
L-80	44.60c	44.08c	33.70d	41.05b	0.48b	0.43bc	0.31cde	0.40b
L-111/81	25.88de	24.24de	21.96e	24.03c	0.09g	0.11fg	0.12fg	0.10d
Prosek / <i>Average</i>	42.52a	38.60a	32.61b		0.33a	0.26b	0.27ab	

*Vrednosti označene istim slovom se ne razlikuju značajno za $p=0.05$

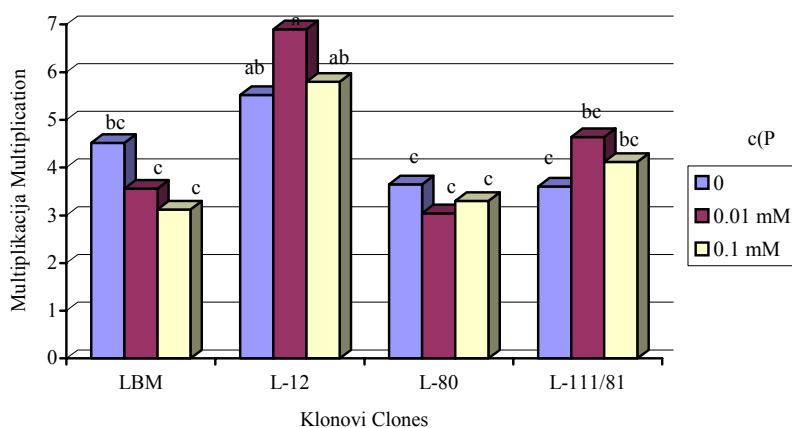
Values with same letter did not differ significantly at $p=0.05$

Smanjenje biomase klonova topola u prisustvu olova kao i dobijena varijabilnost među klonovima je u skladu sa rezultatima ranijih istraživanja Pilipovića et al. (2006) koji su ispitivali dejstvo olova na reznice topola u vodenim kulturama pri koncentracijama olova od 10 i 100 ppm. Međutim, Kališova-Špirochova et al. (2002) nisu ustanovili negativno dejstvo olova na biomasu topola u kulturi tkiva pri koncentracijama od 0,1 mM, nego su čak ustanovili i porast biomase u poređenju sa kontrolom.

Zavisno od primenjenih koncentracija olova nisu postignute statistički značajne razlike u mutliplikaciji u poređenju sa kontrolom, međutim klon L-12 se statistički značajno razlikovao od ostalih klonova (Grafikon 1.). Primenjene koncentracije bile su preniske da bi se izazvao inhibitorni efekat, na šta ukazuju i rezultati Bojarczuka (2004) koji je značajno smanjenje broja izdanaka topola gajenih *in vitro* dobio tek pri koncentraciji Pb^{2+} od 2 mM.

Grafikon 1. Efekat ispitivanih koncentracija olova na multiplikaciju izdanaka klonova bele topole (Dankanov test)

Graph 1. Effect of investigated lead concentrations on multiplication of white poplar clones shoots (Duncan test)



Razlike u sadržaju hlorofila a, hlorofila b i karotenoida u svežoj masi lista između tretmana olovom u koncentraciji 10^{-4} M i u kontroli nisu bile statistički značajne kod proučavanih klonova (sem u slučaju sadržaja karotenoida kod klona L-80). U tretmanu sa 10^{-5} M olova kod klona LBM je sadržaj hlorofila a i karotenoida bio značajno manji, dok je kod klona L-12 bio statistički značajno veći u odnosu na kontrolu. U istom tretmanu sadržaj hlorofila b se nije razlikovao od sadržaja ovog pigmenta u kontroli u slučaju svih klonova, kao ni sadržaj karotenoida kod klonova L-80 i L-111/81. Odnos hlorofil a/ hlorofil b se razlikovao kod ispitivanih klonova što ukazuje na različite reakcije klonova na prisustvo olova u podlozi.

Između tretmana sa olovom i kontrole kod klonova LBM, L-80 i L-111/81, kao i generalno nisu utvrđene statistički značajne razlike u sadržaju hlorofila a, hlorofila b i karotenoida u suvoj masi lista. U pogledu sadržaja hlorofila a i karotenoida po klonovima bez obzira na tretman značajno se razlikovao klon LBM, kod koga je izmerena manja koncentracija ovih pigmenta u poređenju sa ostalim klonovima.

Efekat olova na koncentraciju hlorofila je ispitivan kod pasulja (Zengin et al., 2005) i korovskih biljaka (Ewais, 1997). Utvrđeno je statistički značajno smanjenje sadržaja hlorofila, ali pri većim koncentracijama olova (20 mg/ kg za korovske biljke i preko 1,5 mM olova za pasulj).

Kod klona L-12 je utvrđeno statistički značajno povećanje sadržaja hlorofila a i karotenoida u tretmanu sa manjom koncentracijom olova. Stimulativan efekat olova u malim koncentracijama na sadržaj hlorofila je u skladu sa istraživanjima Sarvari et al. (2002) koji su gajili topole i krastavce u hidroponima sa dodatkom Fe EDTA i Fe citrata, a zatim ih tretirali sa 10, 50 i 100 μ M olovo nitratom. Utvrdili su relativno blag inhibitoran efekat olova na fotosintezu pri relativno visokom koncentracijama, dok je sadržaj hlorofila bio povećan pri manjim koncentracijama olova.

Tabela 2. Uticaj olova na sadržaj hlorofila a, hlorofila b, karotenoida (mg g⁻¹ sveže mase) i na hlorofil a/hlorofil b odnos u listovima izdanaka klonova bele topole
 Table 2. Effects of Pb²⁺ on leaf chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid contents (mg g⁻¹ fresh mass) and on the chlorophyll a/chlorophyll b ratio in white poplar clones shoots

Klon <i>Clone</i>	c(Pb ²⁺) [M]	Chl a ¹⁾	Chl b ²⁾	Chl a/Chl b	Karotenoidi ³⁾ <i>Carotenoides</i>
LBM	0	0.496 bc ⁴⁾	0.252 abc	1.97	0.172 bc
	10 ⁻⁵	0.336 d	0.140 c	2.40	0.120 d
	10 ⁻⁴	0.440 cd	0.244 abc	1.80	0.140 cd
	Sredina <i>Average</i>	0.424 a	0.212 b		0.144 b
L-12	0	0.488 bc	0.196 bc	2.80	0.168 bc
	10 ⁻⁵	0.724 a	0.296 ab	1.80	0.232 a
	10 ⁻⁴	0.496 bc	0.192 bc	2.94	0.156 bcd
	Sredina <i>Average</i>	0.548 a	0.228 b		0.184 a
L-80	0	0.560 bc	0.368 a	1.33	0.156 bcd
	10 ⁻⁵	0.636 ab	0.326 ab	2.21	0.192 ab
	10 ⁻⁴	0.500 bc	0.244 abc	2.03	0.172 a
	Sredina <i>Average</i>	0.564 a	0.312 a		0.172 a
L-111/81	0	0.548 bc	0.284 abc	1.97	0.188 abc
	10 ⁻⁵	0.532 bc	0.224 abc	2.83	0.192 ab
	10 ⁻⁴	0.564 bc	0.276 abc	1.81	0.188 abc
	Sredina <i>Average</i>	0.424 a	0.260 ab		0.192 a

¹⁾ Chl a – sadržaj hlorofila a [mg*g⁻¹ sveže mase]), ²⁾ Chl b - sadržaj hlorofila b [mg*g⁻¹ sveže mase]), ³⁾ Karotenoidi - sadržaj karotenoida [mg*g⁻¹ sveže mase]), ⁴⁾ Dankanov test - Vrednosti označene istim slovom se ne razlikuju značajno za $\alpha_{0,05}$

¹⁾ Chl a – chlorophyll a content [mg*g⁻¹ of fresh mass]), ²⁾ Chl b - chlorophyll b content [mg*g⁻¹ of fresh mass]), ³⁾ Carotenoides - carotenoides content [mg*g⁻¹ of fresh mass]), ⁴⁾ Duncan test - Values with same letter did not differ significantly for $\alpha_{0,05}$

Dobijeni rezultati kao i rezultati drugih autora ukazuju na to da su koncentracije olova primenjene u ovom istraživanju nedovoljno visoke da bi se ostvario značajniji inhibitorni efekat na razvoj bočnih izdanaka kao i na sadržaj fotosintetičkih pigmenata u listovima. Stoga je neophodno nastaviti ispitivanja sa višim koncentracijama olova.

Klon L-12 je imao najveću visinu, masu i multiplikaciju u poređenju sa ostalim klonovima, dok je na manju koncentraciju olova reagovao povećanim sadržajem fotosintetičkih pigmenata. Međutim, kod ovog klona je u tretmanima olovom došlo do značajnog smanjenja visine i mase izdanaka u poređenju sa kontrolom pa bi povećan je sadržaja pigmenata moglo biti uzrokovano smanjenjem mase. Kod klonova LBM i L-111/81 nije utvrđeno značajno smanjenje mase i visine u tretmanima olovom, ali su ovi klonovi imali značajno manju produkciju biomase od ostalih. Idealan klon za fitoremedijaciju zemljišta kontaminiranih olovom bi trebao da nesmetano raste na podlozi sa olovom, ima visok prinos biomase i pri tom da akumulira ovaj teški metal u značajnim količinama.

Tabela 3. Uticaj olova na sadržaj hlorofila a, hlorofila b, karotenoida (mg g^{-1} suve mase) i na hlorofil a/hlorofil b odnos u listovima izdanaka klonova bele topole
 Table 3. Effects of Pb^{2+} on leaf chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid contents (mg g^{-1} dry mass) and on the chlorophyll a/chlorophyll b ratio in different white poplar clone shoots

Klon Clone	c(Pb^{2+}) [M]	Chl a ¹⁾	Chl b ²⁾	Chl a/Chl b	Karotenoidi ³⁾ Carotenoides
LBM	0	3.78 bc ⁴⁾	1.91 ab	1.97	1.29 bc
	10^{-5}	2.64 c	1.09 b	2.74	0.93 c
	10^{-4}	3.56 bc	2.01 ab	1.77	1.15 bc
	Sredina Average	3.33 b	1.68 a		1.13 b
L-12	0	3.72 bc	1.48 b	2.51	1.27 bc
	10^{-5}	5.60 a	2.31 ab	2.43	1.78 a
	10^{-4}	3.82 bc	1.46 b	2.61	1.20 bc
	Sredina Average	4.38 a	1.75 a		1.42 a
L-80	0	4.46 b	2.92 a	1.53	1.23 bc
	10^{-5}	3.38 b	1.99 ab	1.93	1.17 bc
	10^{-4}	3.77 bc	1.85 ab	2.04	1.30 ab
	Sredina Average	4.03 a	2.26 a		1.23 ab
L-111/81	0	4.32 b	2.23 ab	1.93	1.48 ab
	10^{-5}	3.41 bc	1.43 b	2.39	1.25 bc
	10^{-4}	4.35 b	2.11 ab	2.06	1.45 ab
	Sredina Average	4.03 a	1.92 a		1.39 a

¹⁾ Chl a – sadržaj hlorofila a [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ suve mase]), ²⁾ Chl b - sadržaj hlorofila b [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ suve mase]), ³⁾ Karotenoidi - sadržaj karotenoida [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ suve mase]), ⁴⁾ Dankanov test - Vrednosti označene istim slovom se ne razlikuju značajno za $\alpha_{0,05}$

¹⁾ Chl a – chlorophyll a content [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of dry mass]), ²⁾ Chl b - chlorophyll b content [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of dry mass]), ³⁾ Carotenoides - carotenoides content [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of dry mass]), ⁴⁾ Duncan test - Values with same letter did not differ significantly for $\alpha_{0,05}$

Dobijeni rezultati ukazuju da u pravcu procene pogodnosti ispitivanih genotipova za njihovu primenu u fitoremedijaciji zemljišta kontaminiranih olovom postoji potreba za daljim istraživanjima. Ovim istraživanjima bi se ispitalo dejstvo viših koncentracija olova, uticaj olova na druge fiziološke parametre rasta, kao i nivo akumulacije olova za svaki klon.

4. ZAKLJUČCI

Kod ispitivanih klonova, generalno, ustanovljena je statistički značajno manja masa izdanaka u tretmanu olovom u koncentraciji 10^{-5} M kao i značajno manja visina izdanaka u tretmanu olovom u koncentraciji 10^{-4} M u poređenju sa kontrolom.

Vrednosti multiplikacije izdanaka u kontroli i tretmanima olovom se nisu statistički značajno razlikovale, dok se klon L-12 izdvojio po značajno većem broju aksilarnih izdanaka po eksplantatu u poređenju sa ostalim klonovima.

Razlike u sadržaju fotosintetičkih pigmenata između kontrole i tretmana olovom u totalu nisu bile značajne. U tretmanu olovom u koncentraciji od 10^{-5} M sadržaj hlorofila a i karotenoida je značajno smanjen u odnosu na kontrolu kod klona LBM, dok je kod klona L-12 došlo do povećanja sadržaja ovih pigmenata.

Uprkos smanjenju mase i visine kod nekih klonova, prisustvo nižih koncentracija olova u podlozi nije ozbiljno narušilo rast i sadržaj fotosintetičkih pigmenata kod ispitivanih klonova.

Klon L-12 se izdvojio od ostalih klonova postignutom biomasom i sadržajem fotosintetičkih pigmenata u prisustvu olova, pa se može smatrati potencijalnim kandidatom za fitoremedijaciju zemljišta kontaminiranih olovom.

LITERATURA

- Ahuja M. R. (1984): A commercially feasible micropropagation method for aspen. *Silvae Genetica* 32: 174-176
- Aitchison E. W., Kelley S. L., Alvarez P. J. J., Schoor J. L. (2000): Phytoremediation of 1,4-dioxane by hybrid poplar trees. *Water Environ. Res.*, 72, 313-321
- Barcelo J., Poschenrieder C. (2003): Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2 (3), 333-344
- Bojarczuk K. (2004): Effect of toxic metals on the development of poplar (*Populus tremula* L. x *P. alba* L.) cultured *in vitro*. *Polish Journal of Environmental Studies* Vol. 13, No. 2, 115-120
- EPA/540/S-01/500 (2001): Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. U.S. Environmental Protection Agency, Technology Innovation Office, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC
- Ewais E. A. (1997): Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and protein of weeds. *Biologia Plantrarum* 39 (3):403-410
- Ghosh M., Singh S. P. (2005): A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research* 3(1): 1-18
- Guzina V., Tomović Z. (1989): Mogućnost primene metoda kulture tkiva u oplemenjivanju topola. *Topola* 155-156, 47-56
- Kališova-Špirochova I., Punčocharova J., Kafka Z., Kubal M., Soudek P., Vanek T. (2003): Accumulation of heavy metals by *in vitro* cultures of plants. *Water, Air, and Soil Pollution. Focus* 3: 269-276
- Katanić M., Tomović Z., Pilipović A., Orlović S. (2006): Uticaj kadmijuma na rast izdanaka topola sekcije *Leuce* u kulturi tkiva. *Topola* 177/178: 88-105
- Kolevska-Pletikapić B., Tomović Z. (1988): Mikropropagacija bagrema. *Šumarstvo*, 5-6, 29-35
- Kovačević B., Kevrešan S., Ćirin-Novta V., Kuhajda K., Kandrač K., Vasić D. (2005): Uticaj naftenskih kiselina na ožiljavanje bele topole (*Populus alba*) u kulturi tkiva. Program i izvodi saopštenja XVI Simpozijuma Društva za fiziologiju biljaka SCG, Bajina Bašta, 13-17 juni. p. 36.

- Pilipović A. (2005): Uloga topola (*Populus sp.*) u fitoremedijaciji voda zagađenih nitratima, magistarska teza odbranjena na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu, Novi Sad, 2005
- Pilipović A., Klačnja B., Orlović S. (2002) : Uloga topola u fitoremedijaciji zemljišta i podzemnih voda. Topola 169/170: 56-66
- Pilipović A., Nikolić N., Orlović S., Krstić B. (2006): Review of researches conducted on heavy metal and nitrate phytoremediation with use of poplars. Scientific gathering with international participation: Implementation of remediation in environmental quality improvement, Belgrade, 27 November 2006.
- Pilipović A., Nikolić N., Orlović S., Petrović N., Krstić B. (2005): Cadmium phytoextraction potential of poplar clones (*Populus spp.*). Z. Naturforsch. 60 c, 247-251.
- Salt D. E., Smith R. D., Raskin I. (1998): Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49, 643-68
- Sarvari E., Gaspar L., Fodor F., Cseh E., Kroepfl K., Varga A., Baron M. (2002): Comparison of the effect of Pb treatment on thylacoid development in poplar and cucumber plant. Acta Biologica Szegediensis Volume 46 (3-4): 163-165
- Seregin I. V. and Ivanov V. B. (2001): Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology, Vol. 48, No. 4
- Stat Soft Inc. (2006) STATISTICA (data analysis software system), version 7.1
- Van Assche F., Clijsters H. (1990): Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant Cell Environ. 13, 195-206
- Wettstein D. (1957): Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exp. Cell. Res. 12, 427-506
- Zengin F. K. And Munzuroglu O. (2005): Effect of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris L.*) seedlings. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47/2:157-164

Summary

THE INFLUENCE OF LEAD ON THE SHOOT GROWTH AND CONCENTRATION OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN LEAVES OF THE WHITE POPLAR (*Populus alba*) CLONES IN VITRO

by

Katanić Marina, Pilipović Andrej, Orlović Saša, Krstić Borivoj

Heavy metal pollution has become one of the most serious environmental problems today. When heavy metal enters the cell it interacts with SH groups and inactivates many enzymes and disturb many metabolic processes. HMs can not be degraded and thus should be extracted from contaminated site. Poplars are tree species that are often used in HMs phytoremediation of contaminated soils.

This research deals with the effect of lead presence in growth medium on some growth parameters and concentration of photosynthetic pigments in leaves of shoots of four poplar clones from section Leuce cultivated in vitro.

Shoots of clones L-12, L-80, L-111/81 and LBM were gained by micropropagation on ACM (Aspen Culture Medium) with 0,5 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP), 0,02 mg/l α -naphthaleneacetic acid (NAA), 20 mg/l adenine sulphate and 100 mg/l myoinozitole. The cultures were kept at 26 ± 3 °C in the white fluorescent light with a 16 hour photoperiod. Then, microshoots were cultivated five weeks on solid ACM medium with addition of lead in form of Pb EDTA in different concentration (0, 10^{-5} and 10^{-4} M).

The investigated parameters included: length of the main shoot, fresh mass, multiplication (number of axillary shoots per explantat) and concentration of photosynthetic pigments in leaves (chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids).

Lead decreased fresh mass and hight of all investigated clones shoots in concentration of 10^{-5} M and 10^{-4} M respectively. Differences of shoots multiplication between treatments with lead and control were not statistically significant. In total, differences in photosynthetic pigments concentration between treatments with lead and control were not statistically significant. In the treatment with lead in concentration of 10^{-5} M content of chlorophyll a and carotenoids in leaves decreased in clone LBM, but increased in clone L-12 compared to control. Investigated clones differed in their reactions on lead presence in growth medium.