

UDK: 582.682:575.113(497.11)

Prethodno saopštenje *Preliminary report*

**RESTORACIJA AUTOHTONIH VRSTA TOPOLA (*POPULUS SP.*) U
ALUVIJALNIM PODRUČJIMA – FORMIRANJE GENOFONDA**

Kovačević Branislav¹, Tomović Zoran², Štajner Dubravka³, Katanić Marina¹,
Drekić Milan¹, Stojnić Srđan¹

Abstrakt: Evropska crna topola (*Populus nigra* L.) i bela topola (*Populus alba* L.) su među dominantnim drvenastim vrstama autohtonih biocenoza aluvijalnih područja u Srbiji. Ove vrste su postale retke, pa čak i ugrožene, pogotovo u slučaju evropske crne topole. Oko 50 genotipova evropske crne i bele topole iz 12 populacija Srbije, uglavnom sa područja Vojvodine, su sakupljeni i umnoženi mikropropagacijom preko aksilarnih pupova, kako bi se smanjila mogućnost somaklonalne varijabilnosti. Zbirka genotipova će biti osnova za formiranje matičnjaka genofonda i dalju proizvodnju repro i sadnog materijala namenjenog rasadničkoj proizvodnji i pošumljavanju, uglavnom u zaštićenim područjima.

Ključne reči: Evropska crna topola, bela topola, mikropropagacija

**RESTORATION OF AUTOCHTHONOUS POPLAR SPECIES (*POPULUS SP.*) IN
RIPARIAN ZONE – GENOFOND ESTABLISHMENT**

Abstrakt: *European black poplar (Populus nigra L.) and white poplar (Populus alba L.) are among dominant tree species in autochthonous biocenoses of riparian zones in Serbia. These species become rare and even endangered, especially European black poplar. About 50 genotypes of European black and white poplar from 12 Serbian populations, mostly from Vojvodina, are collected and propagated by means of micropropagation. The genotypes are propagated by axillary buds to reduce chances for somaclonal variation. The genotype collection would be the basis for stoolbed establishment and further production of propagation and planting material for nursery production and afforestation, presumably in protected areas.*

Key words: *European black poplar, White poplar, micropropagation*

¹ Dr Kovačević Branislav, naučni saradnik, dipl. biol. Katanić Marina, istraživač saradnik, dipl. inž. Drekić Milan, istraživač saradnik, dipl. inž. Stojnić Srđan, istraživač: Istraživačko-razvojni institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad

² Dr Tomović Zoran, viši naučni saradnik, JP „Vojvodinašume“, Petrovaradin

³ Prof. dr. Dubravka Štajner, redovan profesor, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu

UVOD

Evropska crna topola (*Populus nigra* L.) i domaća bela topola (*Populus alba* L.) su među reprezentivnim drvenastim vrstama starih autohtonih biocenoza poplavnih područja Srbije. Ove vrste su zastupljene u celokupnom aluvijalno-higrofilnom kompleksu, a dominiraju u asocijacijama: *Salici populetum nigrae*, *Populetum nigrae*, *Populetum nigro- albae* i *Populetum albae* (Herpka, 1986).

Ipak, ove asocijacije se danas retko nalaze (Herpka, 1986). Posebno se evropska crna topola smatra ugroženom vrstom. Na primer, u Velikoj Britaniji i Irskoj je pronađeno svega 7000 stabala crne topole, među kojima je bilo dosta primeraka istog genotipa, s malim udelom ženskih stabala. U velikom broju zemalja Evropskog kontinenta, pa i u našoj, značajne površine koje su bile stanište ove dve vrste su izgubljene u korist zasada američke i eurameričke topole, s obzirom na visoku produktivnost njihovih klonova. Naime, eksploatacijom i zamenom prirodnih autohtonih sastojina topola plantažama produktivnijih američkih i eurameričkih crnih topola, kao i širenjem poljoprivredne proizvodnje, varijabilnost i kvalitet populacija bele i posebno crne topole je značajno oslabljen. Prisustvo američke i eurameričke crne topole stvara osnova i za dobijanje njihovog ili hibridnog potomstva sa domaćom crnom topolom, što domaćoj crnoj topoli dodatno sužava životni prostor. Značajan deo staništa topola iskorišćen za druge namene kao što su: poljoprivredna proizvodnja, urbanizacija, kontrola plavljenja i dr. (Vietto i Chiarabaglio, 2004).

Zato su evropska crna i bela topola od presudnog značaja u procesu regeneracije autohtonih prirodnih biocenoza plavnih područja. One predstavljaju važne indikatore biodiverziteta i time važan element održivosti gazdovanja šumskim ekosistemima plavnih područja. Takođe su značajne i sa socijalnog aspekta, pogotovo njihova uloga u kontroli plavljenja (usporavanja oticanja voda i prebrzog porasta nivoa vodotokova), kontroli visine podzemnih voda i održanju i unapređenju kvaliteta voda (filtriranje hemikalija i neiskorišćenih mineralnih hranljivih materija iz poljoprivrede, hemijske i prehrambene industrije) (Vietto i Chiarabaglio, 2004).

U poslednjih dvadeset godina sprovedeni su značajni projekti ispitivanja i očuvanja varijabilnosti, restoracije i ponovnog pošumljavanja crnim i belim topolama u većem broju evropskih zemalja (Vietto et al., 2008, Smulders et al., 2008). U cilju očuvanja varijabilnosti pokrenuti programi na zaštiti i unapređenju germplazme topola i primeni raznih strategija konzervacije (EUFORGEN Programme, Scattered Broadleaves Network). Tehnike umnožavanja odabranih genotipova putem mikropropagacije u kulturi *in vitro* mogu, u tom smislu da imaju veliki značaj (Naujohs i Wühlisch, 2004). Intenzivniji rad na ovoj problematici kod nas su počeli Orlović i sar. (2005).

Zaštita i restoracija (obnavljanje) biocenoza plavnih područja je značajan zadatak i u Srbiji. Jasno je da obnavljanje sastojina autohtonih vrsta topola proces koji zahteva pomoć čoveka. U tom smislu su i značajne površine stavljene pod režim različitog stepena zaštite, posebno na teritoriji Vojvodine.

Kako evropska crna (*Populus nigra*) i bela topola (*Populus alba*) zauzimaju različite ekološke zone a mogu da čine i mešovite asocijacije, može se reći da među njima nema značajnije konkurencije za rast i razvoj njihovih sastojina. Takođe, obuhvatanjem obe vrste omogućava se pošumljavanje veće površine aluvijuma šumskim drvenastim vrstama (dok crna topola preferira vlažna aerirana zemljišta, bele topole tolerišu suvlja, čak i u izvesnoj meri zaslanjena staništa). Obe vrste, a posebno belu topolu, karakteriše dobra izdanačka moć i mogućnost uspešnog obnavljanja nakon seče. Takođe njihovo obilno plodonošenje omogućava obnavljanje njihovih sastojina i generativnim putem, što je posebno važno sa aspekta očuvanja i unapređenja biodiverziteta i stabilnosti obe vrste (Tucović i sar., 1986). Zato bi buduće sastojine pomenutih vrsta trebalo formirati prvenstveno na područjima koja omogućavaju formiranje generativnog potomstva, uz primenu dodatnih uzgojnih mera koje će taj proces da podrže.

Osnova za formiranje sadnog materijala za zasnivanje novih sastojina bi bilo formiranje matičnjaka genofonda bele i crne domaće topola. Smatramo da će genofond formiran na ovaj način dati značajan doprinos očuvanju varijabilnosti i stabilnosti domaće crne i bele topole, kao i obnovi autohtonih biocenoza u aluvijalnim područjima Srbije.

Zasnivanjem multiklonalnih zasada stvorila bi se osnova za povećanje i unapređenje varijabilnosti, što je osnova i za bolji odgovor topola na nivou populacija i vrsta na napade prevalentnih štetočina i bolesti, kao i na očekivane klimatske promene (Lefevre et al., 2001).

SPROVEDENE MERE I PRIMENJENI METODI

U cilju stvaranja genetičke osnove za dalje postupke rekonstrukcije autohtonih biocenoza poplavnih područja od strane Ministarstva za poljoprivredu, šumarstvo i vodoprivredu podržan je projekat „Restoracija autohtonih vrsta topola (*Populus sp.*) u aluvijalnim područjima“. Projekat je počeo sa realizacijom u junu 2009., koja je obuhvatila prvenstveno odabiranje i sakupljanje genotipova evropske crne topole (*Populus nigra*) i bele topole (*Populus alba*), njihovo uvođenje u kulturu *in vitro*, usavršavanje tehnika vezanih za gajenje u kulturi *in vitro* i mikropropagaciju uvedenih genotipova.

Sve aktivnosti na uvođenju i mikropropagaciji genotipova domaće crne i bele topole izvedene su u Istraživačko-razvojnom institutu za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu Univerziteta u Novom Sadu.

S obzirom na veliki broj i varijabilnost genotipova, ovaj projekat je pružio priliku za unapređenje pojedinih faza uvođenja genotipova u kulturu tkiva i mikropropagacije putem aksilarnih pupova. Takođe je stvorio i osnovu za dalji razvoj tehnologije mikropropagacije u Institutu, kao i za proširenje problematike kojom bi se Institut u budućnosti bavio.

Tokom realizacije projekta javilo se nekoliko objektivnih teškoća koje su do sada prevaziđene. Jedna od teškoća je uvođenje genotipova u kulturu tkiva, što se pokazalo posebno složeno u slučaju evropske crne topole.

Prvo, kraj vegetacionog perioda je doneo probleme sa sterilizacijom eksplantata prilikom njihovog uvođenja u kulturu tkiva. Ovi problemi su posebno bili izraženi u slučaju genotipova domaće crne topole. S tim u vezi bilo je neophodno prilagoditi metode sterilizacije i introdukcije u kulturu tkiva. Posebno su bili problem aksilarni pupovi domaće crne topole koji su obavijeni značajnom količinom eksudata. U tom smislu je modifikovan postupak sterilizacije koji je do sada redovno korišćen, a koji je razvijen za bele topole. Posebno u slučaju crnih topola na kraju vegetacionog perioda, bilo je neophodno da se postupci sterilizacije ponove više puta. Dobijeni rezultati su zadovoljavajući.

Takođe su postojale i razlike u osetljivost eksplantata na primenjene tretmane u kulturi *in vitro*, pa time i potencijal genotipova da budu uspešno uvedeni u kulturu tkiva i umnoženi u uslovima *in vitro* kulture putem aksilarnih pupova. U tom smislu su izvršene izvesne modifikacije mineralnog sastava hranljive podloge, koja je bila bazirana na formulaciji Aspen Culture Medium-a (Ahuja, 1983). Prilikom određivanja balansa hormona i drugih aktivnih materija uzeti su obzir i rezultati Kovačević i sar. (2008). I u slučaju balansa hormona i drugih aktivnih materija su primenjene izvesne modifikacije, koje su imale za cilj unapređenje rasta i razvoja genotipova koje karakterišu problemi prilikom uzgoja *in vitro*. Optimizacija hranljivih podloga tekla je paralelno sa uvođenjem odabranih genotipova, a biće nastavljena i u narednom periodu. Može se, međutim, reći da podloga koja je razvijena do sada daje zadovoljavajuće rezultate sa aspekta ostvarenja ciljeva koji su postavljeni ovim projektom (Tabela 1).

Tabela 1. Sastav podloge za uvođenje i mikropropagaciju evropske crne i bele topole
Table 1. The content of the medium for introduction and micropropagation of European black and White poplar

	mg/l
NH ₄ NO ₃	400
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	556
K ₂ SO ₄	990
CaCl ₂ · 2H ₂ O	96
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
NaFe.EDTA	30
MnSO ₄ · H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,6
H ₃ BO ₃	6,2
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,025
Tiamin	0,1
Nikotinska kiselina	0,5
Piridoksin	0,5
Lizin	100,0
Adenin sulfat	20
Mioinozitol	50
Saharoza	20000
Ph	5,5 – 5,6
	μM
Kinetin	2
BAP	0.5
Ag ⁺	4

U cilju amortizovanja gubitka genotipova nastalih zbog problema prilikom sterilizacije, uvođenja i uzgoja eksplantata u kulturi *in vitro* prikuljen je veći broj genotipova od broja planiranog za zasnivanje matičnjaka. Na svakom lokalitetu je prikupljeno po 10 genotipova.

DOSADAŠNJI REZULTATI I PLANIRANE AKTIVNOSTI

Na osnovu dosadašnjih aktivnosti u našoj kolekciji u kulturi *in vitro* se nalazi oko 50 genotipova evropske crne i bele topole iz 11 populacija, deset sa područja Vojvodine i jedna sa područja centralnog dela Srbije (tab. 1). Genotipovi uvedeni u kulturu tkiva se umnožavaju kulturom aksilarnih izbojaka, koja objektivno daje namanje šanse za pojavu somaklonalne varijabilnosti tj. pojave mutacije prilikom propagacije u kulturi *in vitro*. Na postignute rezultate treba gledati kao na preliminarne. Proces sakupljanja bi trebao da se nastavi i u budućnosti u cilju unapređenja sakupljenog genofonda i po kvalitetu i po kvantitetu.

Najveće područje sa povoljnim uslovima za *in situ* konzervaciju evropske crne topole se nalazi na Dunavu u okolini grada Apatina (Gornje Podunavlje). Prema Orlović i sar. (2005) radi se o površini od oko 200 ha prirodnih populacija ove vrste. Ova površina je danas u sistemu zaštite i isključena je iz komercijalnog gazdovanja.

Sakupljeni genotipovi predstavljaju i važnu osnovu za dalja istraživanja, posebno u domenu proučavanja varijabilnosti svojstava tolerantnosti na biotičke i abiotičke agense. Već u uslovima *in vitro* moguća su ispitivanja tolerantnosti prema visokim koncentracijama teških metala i drugih polutanata, na sušu, zaslanjenost i dr., dok je u uslovima rasadničke proizvodnje moguća efikasna procena tolerantnost prema prevalentnim štetocinima i bolestima.

Tabela 2. Lokacije populacija iz kojih su odabirana stabla za mikropropagaciju

Table 2. Locations of populations from that were selected trees for micropropagation

Lokalitet <i>Location</i>	Koordinate <i>Coordinates</i>	Lokalitet <i>Location</i>	Koordinate <i>Coordinates</i>
Novi Sad	45°14'N 19°50'E	Rohalj baze	45°09'N 19°32'E
Deronje	45°26'N 19°12'E	Daščanske šume	45°09'N 19°36'E
Kovilj	45°12'N 19°58'E	Klenak	44°46'N 19°43'E
Padej	45°51'N 20°05'E	Kupinovo	44°42'N 20°06'E
Babatovo	45°26'N 20°13'E	Vražognac	44°00'N 22°21'E
Vorovo	45°06'N 19°23'E		

Aklimatizacijom ožiljenog materijala i formiranjem matičnjaka genofonda u narednom periodu zaokružio bi se proces formiranja osnove za proizvodnju sadnog materijala koji bi bio namenjen pošumljavanju spomenutih područja autohtonim crnom i belom topolom. Matičnjak bi mogao da bude proširivan novim genotipovima, dok bi očuvanje i unapređenje varijabilnosti na terenu omogućilo generativno potomstvo odabranih genotipova. Poznavajući svojstva spoljne sredine iz koje vode poreklo sakupljeni genotipovi, moguće bi bilo u budućnosti da se preporučuje genotipovi za pošumljavanje datih terena. U tom smislu nastavili bi se i naponi koje su opisivali Orlović i sar. (2005) u pravcu osnivanja zasada za proizvodnju semena kao izvora novih genotipskih kombinacija, kao i zasada tzv. mazer genotipova evropske crne topole. Saznanja i unapređenja do kojih smo došli tokom dosadašnjeg rada će biti važna osnova za dalji rad ovoj problematici.

ZAKLJUČCI

Na osnovu dosadašnjeg rada prikupljena je zbirka oko 50 genotipova bele i crne evropske topole koji se umnožavaju mikropropagacijom u kulturi tkiva. Genotipovi su poreklom sa jedanaest lokaliteta, uglavnom sa područja AP Vojvodine. Tokom rada na projektu „Restoracija autohtonih vrsta topola (*Populus* sp.) u aluvijalnim područjima“ unapređene su procedure vezane za uvođenje i

umnožavanje belih, a posebno evropske crne topole. Sakupljeni genotipovi predstavljaju osnovu za dalji rad na obnavljanju sastojina autohtonih vrsta topola u plavnim područjima, očuvanju i unapređenju diverziteta ove dve vrste, ako i istraživanja u ovom domenu.

LITERATURA

- Ahuja, M. R. (1983): Somatic cell differentiation and rapid clonal propagation of aspen, *Silvae Genetica* 32, 3-4
- Herpka I. (1986): Prirodne šume autohtonih topola i vrba. U: Topole i vrbe u Jugoslaviji Urednik: Guzina V. Institut za topolarstvo, Novi Sad. 21-36
- Kovačević B, Orlović S, Katanić M, Miladinović D, Kebert M (2008): Influence of kinetin, 6-benzylaminopurine, silver ion and myoinositol on growth and development of white poplar microshoots in vitro. Proceedings of International Scientific Conference „Forestry in Achieving Millennium Goals“, 13-15 November 2008, Novi Sad: 219-224
- Lefevre F., Barsoum, N., Heinze, B., Kajba, D., Rotach, P., De Vries, S.M.G., Turok, J. (2001): EUFORGEN Technical Bulletin: In situ conservation of *Populus nigra*. International Plant genetic resources Institute, Rome, Italy. pp. 58
- Naujoks G., von Wühlisch G. (2004): Micropropagation of *Populus nigra* L.: a potential contribution to gene conservation and tree improvement. In: *Populus nigra* network. Ed. Koskela J., de Vries S.M.G., Kajba D., von Wühlisch. International Plant genetic resources Institute, Rome: 123-124
- Orlović, S., Pilipović A., Pap P., Radosavljević, N., Drekić M. (2005): Genetički resursi evropske crne topole (*Populus nigra* L.) i topola iz sekcije Leuce DUBY u prirodnim populacijama u Srbiji i Crnoj Gori. *Topola*: 5-8
- Smudlers, M.J.M, Cotterll, J.E., Lefevre, F; Schoot, J.van der; Arens, P., Vosman, B., Tabbener, H.E., Grassi, F., Fossati, T., Castiglione, S., Krystufek, V., Fluch, S., Burg, K., Vornam, B., Pohl, A., Gebhardt, K., Alba, N., Agundez, D., Maestro, C., Notivol, E., Volosyanchuk, R., Pospiskova, M., Bordacs, S., Bovenschen, J. van, Vanden Broeck, A., Storme, V., Boerjan, W. (2008): Structure of biodiversity in black poplar (*Populus nigra* L.) populations across European river systems: Consequences for conservation and restoration. *Forest ecology and management*: 255: 1388-1399
- Tucović A., Guzina V., Božić J., Krstinić A. (1986): Autohtone topole i vrbe. U: Topole i vrbe u Jugoslaviji Urednik: Guzina V. Institut za topolarstvo, Novi Sad. 9-20
- Vietto L., Chiarabaglio, P.M. (2004): Restoration of floodplain woodlands with native Poplars (*Populus nigra* and *Populus alba*) in Italy: some case studies on Po river. Proceedings of 3rd ECRR International Conference on river restoration in Europe, 17-21 May 2004, Zagreb, Croatia: 375-381

Vietto L., Van den Broeck, A., Van Looy K., Tautenhahn M., Chiarabaglio P.M. (2008): Matching the needs for European black poplar (*Populus nigra* L.) gene conservation and river restoration: Case studies in Italy, Belgium and Germany. Proceedings of 4th ECRR International Conference on river restoration 2008, 16-21 June 2008, Venice, Italy: 157-166

Summary

*RESTORATION OF AUTOCHTHONOUS POPLAR SPECIES (POPULUS SP.) IN
RIPARIAN ZONE – GENOFOND ESTABLISHMENT*

by

*Branislav Kovačević, Tomović Zoran, Dubravka Štajner, Katanić Marina, Drekić Milan,
Srđan Stojnić*

*European black poplar (*Populus nigra* L.) and white poplar (*Populus alba* L.) are among dominant tree species in autochthonous biocenoses of riparian zones in Serbia. However, these species become rare and even endangered, especially in case of European black poplar. Their habitats are used for the establishment of plantations of more productive poplar species euramerican (poplar and eastern cottonwood), as well as for other purposes like: agriculture, urbanization, flooding control etc.*

The protection of habitats and reforestation by these species are of crucial importance in restoration of autochthonous biocenoses in riparian zones. Beside the preservation of biodiversity, they are important in flooding control, control of underground water level, water quality, etc.

About 50 genotypes of European black poplar and white poplar from 12 Serbian populations, mostly from Vojvodina, are collected and propagated by means of micropropagation. The ACM medium (Ahuja, 1983) was used supplemented with BAP, kinetin and silver ions in order to establish tissue culture and micropropagate chosen genotypes. The genotypes are propagated by axillary buds to reduce chances for somaclonal variation. The genotype collection will be the base for the stoolbed establishment and further production of planting material for nursery production and afforestation, presumably in protected areas.

Key words: European black poplar, White poplar, micropropagation