

UTICAJ KADMIJUMA NA RAST IZDANAKA TOPOLA SEKCIJE *LEUCE* U KULTURI TKIVA

Katanić M.¹, Tomović Z.², Pilipović A.¹, Orlović S.¹, Krstić B.^{3*}

Izvod: U radu je prikazan uticaj kadmijuma na rast izdanaka četiri klona topola iz sekcije *Leuce* u kulturi tkiva. Izdanci klonova L-12, L-80, L-111/81 i LBM su metodom mikropropagacije umnoženi na ACM (Aspen Culture Medium), sa 0,5 mg/l 6-benzilaminopurina (BAP) i 0,02 mg/l α -naftilsirćetne kiseline (NAA). Vršni izdanci, dužine oko 1,5cm, su kultivisani 30 dana na ACM uz dodatak 0,1 i 0,5 mM kadmijuma. Mereni su sledeći parametri: visina glavnog izdanka, multiplikacija (broj aksilarnih izdanaka po eksplantatu) i sveža masa. Utvrđeno je da je kadmijum u koncentraciji od 0,5 mM bio toksičan za izdanke ispitivanih klonova. Simptomi su uključivali inhibiciju rasta izdanaka i hlorozu listova. Postignuta je u totalu manja visina, sveža masa i multiplikacija izdanaka u odnosu na kontrolu. Pri manjoj koncentraciji (0,1 mM) kadmijum je imao u totalu stimulatívno dejstvo na svežu masu izdanaka ispitivanih klonova, posebno kod klona L-111/81. Dobijeni

* ¹ Dipl. biolog Marina Katanić, istraživač pripravnik; Mr Andrej Pilipović, istraživač saradnik; Dr Saša Orlović, naučni savetnik, Istraživačko razvojni institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Novi Sad

² Dr Zoran Tomović, viši naučni saradnik, JP "Vojvodinašume", Novi Sad

³ Dr Borivoj Krstić, redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet, departman za biologiju i ekologiju, Novi Sad

podaci ukazuju na mogućnost korišćenja ispitivanih klonova u fitoremedijaciji zemljišta koja sadrže manje koncentracije kadmijuma, naročito klona L-111/81 koji se pokazao kao najprikladniji za ovu namenu.

Ključne reči: fitoremedijacija, topole, klon, rast, kadmijum, *in vitro*

***THE INFLUENCE OF CADMIUM ON THE IN VITRO GROWTH OF POPLAR
SHOOTS FROM THE LEUCE SECTION***

Abstract: *The influence of cadmium presence on growth of shoots of four poplar clones from section Leuce cultivated in tissue culture is presented in this work. Shoots of clones L-12, L-80, L-111/81 and LBM were multiplied by micropropagation on ACM (Aspen Culture Medium) with 0,5 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP) and 0,02 mg/l α -naphthaleneacetic acid (NAA). Terminal shoots, about 1,5cm long, were cultivated 30 days on the ACM medium with addition of 0,1 mM and 0,5 mM of Cd. Parameters examined in shoot cultures included: length of the main shoot, shoot multiplication (number of axillary shoots per explant) and fresh mass. It was observed that the addition of 0,5 mM Cd (here considered as high concentration) was toxic for shoots of all investigated clones. The symptoms included were decrease of growth vigor and leaf chlorosis. Length, fresh mass and shoot multiplication were decreased compared to control. Low concentration of cadmium (0,1 mM) had stimulatory effects on fresh mass (in total) of investigated clones, especially for clone L-111/81. These results indicate possible use of investigated clones in phytoremediation of soils that contain lower concentration of cadmium, especially clone L-111/81 which was assumed as the most suitable for this purpose.*

Keywords: *phytoremediation, poplars, clon, growth, cadmium, in vitro*

1. UVOD

Kadmijum dospeva u životnu sredinu iz industrijskih procesa, grejnih sistema, gradskog saobraćaja i fosfatnih đubriva, kao i mineralizacijom stena (Kastori et al., 2001).

Retko se javlja u prirodi i nema ni jednu poznatu esencijalnu ili korisnu biološku ulogu (Eisler, 1985) (EPA, 2005). Ovaj element se smatra za jedan od najopasnijih teških metala i ima toksično dejstvo na biljke i životinje. Biljke usvajaju ovaj element preko korena i akumuliraju ga u svim svojim organima (Page et al., 1981). Kadmijum utiče direktno ili indirektno na brojne fiziološke procese u biljkama. Fitotoksičnost kadmijuma je vezana za njegovu hemijsku reaktivnost sa ligandima koji sadrže S, N i O atome (Van Assche and Clijsters, 1990). Tipični simptomi kadmijumove fitotoksičnosti su hloroza, inhibicija rasta, promene u respiraciji i metabolizmu nitrata, kao i smanjenje biomase. Takođe, izlaganje kadmijumu uslovljava redukciju usvajanja vode i hranljivih materija, kao i redukciju fotosinteze (Sanita di Toppi and Gabbrielli, 1999). U nižim koncentracijama je utvrđeno da kadmijum ima stimulatívni efekat na rast korena kod *Allium sativum* (Liu and Kottke, 2003) dok je pri većim koncentracijama ekstremno toksičan za većinu biljaka.

Prvi razlog toksičnosti kadmijuma je doprinos formiranju slobodnih radikala čime može da izazove oksidativni stres. Drugi razlog njegove toksičnosti bi mogao da bude zamena esencijalnih metala u pigmentima ili enzimima čime se ometa njihova funkcija (Ghosh and Singh, 2005).

Tokom 80-tih godina 20. veka u SAD su započela istraživanja vezana za uticaj biljaka na kontaminirana zemljišta (Ghosh and Singh, 2005; Salt et al., 1998; Barcelo and Poschenrieder, 2003; EPA, 2001). Utvrđeno je da biljke mogu da utiču na smanjenje koncentracije kontaminanata u zemljištu i podzemnim vodama.

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 što je veoma važno 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.

Dokazano je da se topole sa uspehom mogu koristiti za usvajanje teških metala (Kališova - Špirochova et al., 2003; Pilipović et al., 2005).

Cilj istraživanja je bio da se ispita uticaj kadmijuma na rast izdanaka četiri klona belih topola u kulturi tkiva u zavisnosti od primenjene koncentracije kadmijuma u podlozi.

2. MATERIJAL I METODE RADA

Za ogled su izabrani klonovi belih topola L-12, L-80, L-111/81 i LBM (sekcija *Leuce*) zato što je za njih već dokazano 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. Pupoljci su sterilisani u 1,5% perhlornom preparatu u trajanju od 10 minuta. Posle sterilizacije je vršeno odstranjivanje spoljnih ljuspi tako da su na podlogu nasejani apikalni meristemi obavijeni sa nekoliko listića. U svim fazama istraživanja je korišćen je Aspen Culture Medium (Ahuja, 1984) kome je dodavano 20 mg/l adenin-sulfata, 100 mg/l myo-inozitola, 0,5 mg/l benzilaminopurina (BAP), 0,02 mg/l α -naftilsirćetne kiseline (NAA), 20g/l saharoze i 9g/l agara (prema Pletikapić-Kolevska 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.

Posle razvoja primarnih eksplantata izvršeno je njihovo presađivanje u prvu subkulturu. Umnožavanje materijala je vršeno mikropropagacijom.

Vrhovi izdanaka dužine oko 1,5 cm su posađeni na podlogu sa kadmijumom kojoj je ovaj teški metal dodat u formi kadmijum hlorid hidrata.

Eksperiment je postavljen kao dvofaktorijski, a faktore su predstavljali koncentracija kadmijuma i klon topola. Prvi faktor, koncentracija kadmijuma je imao tri tretmana: kontrolu bez kadmijuma i dve koncentracije kadmijuma od 0,1mM i 0,5 mM , dok je drugi faktor imao četiri tretmana: klonove belih topola L-12, L-80, L-111/81 i LBM. Ogljed je uključivao 5 teglica po tretmanu sa 5 eksplantata po teglici. Korišćene su teglice zapremine 200 ml koje su sadržale po 30 ml podloge. Posle 30 dana rasta na pomenutim podlogama izmereni su sveža masa izdanaka (u g), visina glavnog izdanka (u mm) i broj aksilarnih izdanaka po eksplantatu (multiplikacija izdanaka). Visina i multiplikacija su određivane za svaki izdanak pojedinačno, dok je sveža masa merena po ponavljanju tj. izdanci iz jedne bočice su mereni zajedno. Podaci su analizirani u statističkom programu MSTAT-u. Dobijeni rezultati su obrađeni dvofaktorijskom analizom varijanse, a razlike između pojedinih tretmana, klonova i njihove interakcije su utvrđene i prikazane Dankanovim testom .

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Nakon 30 dana rasta na ispitivanim podlogama moglo se uočiti da između izdanaka koji su rasli na podlozi sa 0,1 mM Cd i kontrole nije bilo vidljivih razlika, tj. izdanci su bili slične boje i visine. Izdanci koji su rasli na podlozi sa dodatkom 0,5mM Cd su dostigli vidljivo manju visinu u odnosu na izdanke u kontrolnom tretmanu i tretmanu sa 0,1mM Cd. Imali su najčešće smeđe pege po donjim listovima, ponegde su listovi bili svetlo zeleni ili normalno zeleni, a u nekim slučajevima čak i potpuno smeđi.

Slika 1. Uticaj različitih koncentracija kadmijuma na izdanke klona L-12

Figure 1. Influence of different cadmium concentrations on shoots of clone L-12



Slika 2. Uticaj različitih koncentracija kadmijuma na izdanke klona L-80

Figure 2. Influence of different cadmium concentrations on shoots of clone L-80



Slika 3. Uticaj različitih koncentracija kadmijuma na izdanke klona L-111/81

Figure 3. Influence of different cadmium concentrations on shoots of clone L-111/81



Slika 4. Uticaj različitih koncentracija kadmijuma na izdanke klona LBM

Figure 4. Influence of different cadmium concentrations on shoots of clone LBM



Visina izdanaka između tretmana sa 0,1 i 0,5 mM kadmijuma se statistički značajno razlikovala kod svih klonova, kao i u totalu. Pri tretmanu sa većom koncentracijom Cd postignuta je u totalu značajno manja visina u odnosu na druga dva tretmana. Razlike u visini izdanaka između ispitivanih klonova nisu bile statistički značajne. Najveća visina izdanaka je utvrđena kod klona L-80 pri kontrolnom tretmanu, a najmanja kod klona LBM pri tretmanu sa 0,5 mM Cd. U tretmanu sa 0,1mM Cd kod klonova L-12, L-111/81 i LBM su izmerene veće visine izdanaka nego u kontrolnom, dok su pri koncentraciji Cd od 0,5mM kod svih klonova izdanci bili niži nego u kontroli, međutim samo u slučaju klona L-80 je ta razlika bila statistički značajna. (tabela 1).

Tabela 1. Efekat različitih koncentracija kadmijuma na visinu (mm) izdanaka klonova topola

Table 1. Effect of different cadmium concentrations on the height (mm) of poplar clone shoots

Klon <i>Clone</i>	Koncentracija Cd u mM <i>Concentration of Cd in mM</i>			Prosek <i>Average</i>
	K	0,1	0,5	
L-12	32,320 abc	36,280 ab	24,520 cd	31,040 a
L-80	41,480 a	38,200 a	22,840 cd	34,173 a
L-111/81	32,480 abc	37,760 ab	23,240 cd	31,160 a
LBM	26,280 bcd	32,160 abc	20,440 d	26,293 a
Prosek <i>Average</i>	33,140 a	36,100 a	22,760 b	
	Klon <i>Clone</i>	Koncentracija <i>Concentration</i>	Interakcija <i>Interaction</i>	
LSD (0,05)	8,134 (mm)	9,523 (mm)	10,83 (mm)	

Sveža masa izdanaka između tretmana sa 0,1 i 0,5 mM kadmijuma se značajno razlikovala kod svih klonova. Razlike u svežoj masi između tretmana u totalu su bile veoma značajne. Najveća sveža masa je postignuta u tretmanu sa manjom koncentracijom kadmijuma, dok je najmanja sveža masa izmerena u tretmanu sa većom koncentracijom kadmijuma. U pogledu sveže mase po klonu bez obzira na tretman, razlike su bile statistički značajne između klonova L-80 i LBM. Najveću svežu masu je imao klon L-111/81 pri tretmanu sa 0,1mM Cd, a najmanju klon LBM pri 0,5 mM Cd. Kod klona L-111/81 je utvrđeno stimulativno dejstvo kadmijuma na svežu masu izdaka pri koncentraciji od 0,1 mM što se ogleda u postizanju statistički značajno veće mase u odnosu na kontrolu. Pri većoj koncentraciji ovog teškog metala kod klonova L-80 i L-111/81 je utvrđen inhibitorski efekat na svežu masu (tabela 2).

Tabela 2. Efekat različitih koncentracija kadmijuma na svežu masu (g) izdanaka klonova topola

Table 2. Effect of different cadmium concentrations on fresh mass (g) of poplar clone shoots

Klon <i>Clone</i>	Koncentracija Cd u mM <i>Concentration of Cd in mM</i>			Prosek <i>Average</i>
	K	0,1	0,5	
L-12	1,087 cde	1,647 abc	0,489 ef	1,074 ab
L-80	1,190 bcd	1,703 ab	0,517 ef	1,136 a
L-111/81	1,025 de	1,926 a	0,378 f	1,110ab
LBM	0,736 def	1,128 bcd	0,262 f	0,709 b
Prosek <i>Average</i>	1,009 b	1,601 a	0,412 c	
	Klon <i>Clone</i>	Koncentracija <i>Concentration</i>	Interakcija <i>Interaction</i>	
LSD (0,05)	0,4254 (g)	0,4981 (g)	0,5665 (g)	

Razlike u multiplikaciji između tretmana sa 0,1 i 0,5 mM kadmijuma su statistički značajne kod svih klonova. Vrednost multiplikacije izdanaka je bila značajno veća kod klona L-111/81 nego kod LBM. U pogledu multiplikacije po tretmanu bez obzira na klon pri tretmanu sa većom koncentracijom kadmijuma je utvrđeno značajno smanjenje multiplikacije. Najveća vrednost multiplikacije izdanaka je imao klon L-12 u kontroli, a najmanju klon LBM pri tretmanu sa 0,5 mM Cd. U oba tretmana kadmijum je inhibitorno uticao na multiplikaciju izdanaka, ali je razlika statistički značajna samo kod tretmana sa većom koncentracijom (tabela 3).

Tabela 3. Efekat različitih koncentracija kadmijuma na formiranje aksilarnih izdanaka klonova topola

Table 3. Effect of different cadmium concentrations on the formation of axillary shoots of poplar clones

Klon <i>Clone</i>	Koncentracija Cd u mM <i>Concentration of Cd in mM</i>			Prosek <i>Average</i>
	K	0,1	0,5	
L-12	4,040 ab	3,400 abc	0,840 de	2,760 ab
L-80	3,200 abc	2,760 bc	0,280 e	2,080 ab
L-111/81	3,880 ab	4,640 a	0,840 de	3,120 a
LBM	2,040 cd	2,640 bc	0,120 e	1,600 b
Prosek <i>Average</i>	3,290 a	3,360 a	0,520 b	
	Klon <i>Clone</i>	Koncentracija <i>Concentration</i>	Interakcija <i>Interaction</i>	
LSD (0,05)	1,199	1,404	1,597	

Značajno manje vrednosti sveže mase, visine i multiplikacije kod izdanaka koji su rasli na podlozi sa 0,5 mM Cd u odnosu na kontrolu ukazuju na inhibitorni efekat ovog tretmana. Dobijeni efekat je u skladu sa dosadašnjim istraživanjima koja su pokazala da kadmijum u visokim koncentracijama može da negativno deluje na parametre rasta kod biljaka.

Robinson et al. (2000) su proučavali prirodnu i indukovanu akumulaciju kadmijuma kod topola i vrba. Visoke koncentracije kadmijuma u zemljištu od 20,6 i 60,6 $\mu\text{g/g}$ suve mase su uslovia vidljive efekte na biljkama, a to su bili kraći izdanci, povećano grananje i hloroza listova. Kadmijum nije uticao na rast biljaka pri koncentracijama manjim od 5,6 $\mu\text{g/g}$.

Fodor et al. (2005) smatraju da bi efekat kadmijuma na biljke mogao da se poredi sa efektom koji izaziva gubitak gvožđa. U njihovim ogledima kadmijum je uslovio smanjenje koncentracije hlorofila u listovima kao i manji intenzitet

fotosinteze, što je bilo više izraženo kod biljaka koje su rasle sa Fe- citratom nego sa Fe-EDTA.

Izostanak negativnog efekta pa čak i stimulatívno dejstvo kadmijuma na ispitivana svojstva, utvrđeno pri tretmanu sa 0,1mM Cd kod nekih klonova, takođe potvrđuje ranije rezultate, koji pokazuju da topole mogu da budu tolerantne na prisustvo kadmijuma i da imaju dobre parametre rasta.

Lux et al. (2000) su ispitivali uticaj kadmijuma u koncentracijama od 1 i 0,1 mM na kaluse i izbojke vrsta i klonova topola i vrba gajenih u kulturi tkiva. Utvrdili su da je kalus topole *Populus alba* L . *Pyramidalis* bio vrlo tolerantan prema kadmijumu sa dobrim parametrima rasta.

Pilipović et al. (2005) su proučavali uticaj koncentracija kadmijuma od 10^{-5} i 10^{-7} na rast i fiziološke parametre topola gajenih u vodenim kulturama. Ustanovili su da prisustvo kadmijuma nije ozbiljno narušilo rast i fiziološke parametre kod proučavanih klonova, čak je kod nekih klonova u prisustvu kadmijuma postignuta veća masa i lisna površina. Koncentracija kadmijuma u biljnom tkivu je odražavala spoljašnje koncentracije.

Metoda *in vitro* omogućava brzo testiranje tolerancije genotipova belih topola prema toksičnom efektu kadmijuma. Posebna pogodnost ove metode je što se rezultati dobijaju u kontrolisanim uslovima. U kasnijima istraživanjima bi trebalo ispitati mogućnost usvajanja kadmijuma. Genotipovi koje karakteriše tolerantnost prema kadmijumu i mogućnost njegove akumulacije mogli da budu korišćeni u projektima fitoremedijacije zemljišta kontaminiranih kadmijumom. Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu značajnom tolerantnošću prema kadmijumu ističe se klon L-111/81.

4. ZAKLJUČAK

U većoj koncentraciji kadmijum je imao toksičan efekat na rast izdanaka, dok je pri manjoj koncentraciji ovaj teški metal imao stimulatívno dejstvo na parametre rasta kod ispitivanih klonova.

Pri tretmanu sa 0,1mM Cd utvrđeno je postizanje statistički značajno veće sveže mase izdanaka kod klona L-111/81 u odnosu na kontrolu. Pri istom tretmanu kod ispitivanih klonova utvrđeno je u totalu stimulatívno dejstvo kadmijuma na visinu, svežu masu i multiplikaciju, ali su ove razlike bile statistički značajne samo za svežu masu.

Pri tretmanu sa 0,5 mM Cd kod ispitivanih klonova je u totalu utvrđeno postizanje značajno manje prosečne visine, sveže mase kao i manja vrednost multiplikacije u odnosu na kontrolu.

Dobijeni podaci ukazuju na mogućnost korišćenja ispitivanih klonova u fitoremedijaciji zemljišta koja sadrže manje koncentracije kadmijuma, pri čemu se ističe klon L-111/81 kao najpogodniji za ovu namenu.

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
- Eisler R. (1985): Cadmium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a Synoptic Review. U. S. Dep Int. Biological Report 85 (1. 2) Contaminant Hazard Reviews Report 2
- EPA, (2005): Ecological soil screening levels for cadmium. U. S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC
- 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

- Fodor F., Gaspar L., Morales F., Gogorcena Y., Lucena J. J. , Cseh E., Kropfl K., Abadia J., Sarvari E. (2005): Effects of two iron sources on iron and cadmium allocation in poplar (*Populus alba*) plants exposed to cadmium. *Tree Physiology* **25**, 1173-1180
- 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
- <http://toxnet.nlm.nih.gov>. National Library of Medicine. Hazardous Substances Database (HSBD)
- 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
- Kastori R., Sakač Z., Petrović N., Arsenijević-Maksimović I., Plesničar M. and Pankovic D. (2001): Interaction between cadmium and nitrogen and its effects on growth and photosynthetic pigments of young sunflower plants, *Proc. Nat. Sci., Matica Srpska, Novi Sad*, **100**, 51-58
- 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.
- Liu D., Kottke I. (2003): Subcellular localisation of Cd in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy. *I. Biosci.* **28** (4) 471-478
- Lux A., Masarovicova E., Liskova D., Kralova K., Varga L. (2000): Study of woody plants utilizable for phytoremediation in Slovakia. *Ecosystem Service and Sustainable Watershed Management in North China International Conference*, Beijing, P.R. China, August 23-25

- Page A. L., Bingham F. T. and Chang A. C. (1981): Cadmium. In: Effect of heavy metal pollution on plants, Vol. 1: Effects of trace metals on plant function (Leep N. W., ed.). Applied Science Publishers, Barking, Essex, England, pp. 77-109
- 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
- Robinson B. H., Mills T. M., Petit D., Fung L. E., Green S. R., Clothier B. E. (2000): Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow: Implication for phytoremediation. *Plant and Soil* **227**: 301-306
- Salt D. E., Smith R. D., Raskin I. (1998): Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643-68
- Sanita di Toppi L., Gabbrielli R. (1999): Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.* **41**, 105-130
- Van Assche F., Clijsters H. (1990): Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* **13**, 195-206

Summary

**THE INFLUENCE OF CADMIUM ON THE IN VITRO GROWTH OF POPLAR
SHOOTS FROM THE LEUCE SECTION**

by

Katanić M., Tomović Z., Pilipović A., Orlović S., Krstić B.

Cadmium is considered as one of the most dangerous heavy metals which is toxic for plants and animals. Poplars are tree species that are often used in phytoremediation of contaminated soils. In this work is investigated the influence of cadmium presence on growth of section Leuce poplar clone shoots cultivated in vitro. Shoots of clones L-12, L-80, L-111/81 and LBM were multiplied 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 myoinositol. The cultures were kept at 26 ± 3 °C in the white fluorescent light with a 16 hour photoperiod. After the development of primary explants, they were transplanted to the first subculture. The material was multiplied by micropropagation, in which the same growth medium was used as in the introduction to tissue culture. When a satisfactory number of explants were achieved, the shoots about 1.5 cm long were planted on the medium with cadmium. Cadmium was added to the ACM in the form of cadmium chloride monohydrate in two concentrations 0.1 and 0.5 mM. The experiment was established as two-factorial, and the factors were the cadmium concentration and the poplar clones. The first factor, cadmium concentration, had three treatments: control without cadmium and two cadmium concentrations of 0.1mM and 0.5 mM, while factor clone had four treatments: clones L-12, L-80, L-111/81 and LBM. The experiment

consisted of 5 jars per treatment with 5 explants per jars. The volume of the jars was 200 ml, and they contained 30 ml of medium each. After 30 days of growth, next parameters were measured : length of the main shoot, shoot multiplication (number of axillary shoots per explant) and fresh mass. It was observed that the addition of 0,5 mM Cd (here considered as high concentration) was toxic for shoots of all investigated clones. The symptoms included were decrease of growth vigor and leaf chlorosis. Length, fresh mass and shoot multiplication were decreased compared to control. Low concentration of cadmium (0,1 mM) had stimulatory effects on fresh mass (in total) of examined clones, especially for clone L-111/81. These results suggest possible use of examined clones in phytoremediation of soils that contain lower concentration of cadmium. Clone L-111/81 which had the best measured parameters could be considered to be the most suitable for phytoremediation of soils with concentration of cadmium less than 0,1 mM.