

UTICAJ 2,3,5-TRIJODBENZOEVE KISELINE I JONA SREBRA NA OŽILJAVANJE *ROBINIA SP. IN VITRO*

Branislav Kovačević¹, Saša Orlović¹, Marina Katanić¹, Sreten Vasić¹

Izvod: Pored značajne uloge bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.) u proizvodnji biomase i pčelarenju, brojne vrste i genotipovi roda *Robinia sp.* se koriste i u oplemenjivanju prostora. Ovakvi genotipovi su posebno interesantni za umnožavanje u kulturi tkiva gde je formiranje korenovog sistema značajna faza. U radu su prikazani rezultati primene 2,3,5-trijodbenzojeve kiseline (TIBA), poznatog inhibitora polarnog transporta indolsirćetne kiseline (IAA), i jona srebra (Ag^+), za koje je poznato da ostvaruju negativan efekat na aktivnost etilena. Ispitana su dva genotipa: *Robinia pseudoacacia* L. cl. RP, koji se dobro ožiljava na podlozi bez hormona i *R. pseudoacacia x R. luxurians* cl. Rózsaszín AC, koji se teško ožiljava na podlozi bez hormona u kulturi tkiva. Rezultati dobijeni nakon šest nedelja gajenja ukazuju na značajan uticaj koncentracije TIBA na broj korenova i interakcije genotip x TIBA na broj korenova i procenat ožiljavanja. Efekat jona srebra izražen je preko značajne interakcije genotip x $c(Ag^+)$ za broj korenova. U radu je diskutovan značaj efekata dobijenih rezultata za dalji rad na ožiljavanju izbojaka bagrema u kulturi *in vitro*.

Ključne reči: Robinia, mikropropagacija, ožiljavanje

INFLUENCE OF 2,3,5-TRIIODOBENZOIC ACID AND SILVER IONS ON ROOTING IN ROBINIA SP. IN VITRO

Abstract: Beside well known utilization of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) in biomass production and bee-keeping, there are numerous *Robinia* species and genotypes of ornamental value. They are of particular interest to be propagated by means of tissue culture, where the shoot rooting is a significant phase. Results of the research of the influences of 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA), well known inhibitor of indolacetic acid (IAA) polar transport and silver ions (Ag^+), known to suppress the activity of ethylene were examined in this work. Two genotypes were examined: *Robinia pseudoacacia* L. cl. RP, the genotype of good rooting ability on medium without growth regulators *in vitro* and *R. pseudoacacia x R. luxurians* cl. Rózsaszín AC, whose rooting is poor on such a medium.

¹ Branislav Kovačević, viši naučni saradnik, Saša Orlović, naučni savetnik, Marina Katanić, istraživač saradnik, dipl. inž. Sreten Vasić, Univerzitet u Novom Sadu, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Antona Čehova 13, 21000 Novi Sad, Srbija

Results gained after six weeks of cultivation suggest the significant effect of the concentration of TIBA on number of roots and significant effect of the interaction genotype x c(TIBA) on number of roots and percentage of rooted shoots. The presence of silver ions effected significantly number of roots per shoot through the interaction genotype x c(Ag⁺). The significance of gained results for further work on rooting Robinia shoots in vitro was discussed.

Key words: *Robinia, micropropagation, rooting*

UVOD

Bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.) je drvenasta vrsta poreklom iz Severne Amerike. U Evropu je introdukovana 1601.godine. Interesantna je zbog visoke tolerantnosti prema suši, visokog potencijala za generativno (obilna produkcija semena visoke klijavosti) i vegetativno umnožavanje (dobra izdanačka moć, visok potencijal za umnožavanje korenovim reznicama), visoke adaptabilnosti, ranog i obilnog cvetanja sa visokom produkcijom nektara, brzog rasta i relativno visoke produkcije drvene mase, kao i tolerantnosti prema bolestima i štetočinama. Uglavnom se koristi za stabilizaciju peskova, pošumljavanje napuštenih poljoprivrednih zemljišta, proizvodnju drveta za mehaničku preradu i energiju kao i pčelinju pašu (Guzina, 1987; Guzina i Tomovic, 1997; Redei, 2003).

U istraživanjima iz domena biotehnologije bagrem je počeo da se koristi relativno rano. Predstavlja vrstu koja je interesantna za rad u kulturi tkiva i često se koristi kao model među drvenastim vrstama. Jedna od značajnih faza u mikropropagaciji bagrema je ožiljavanje izbojaka (Kolevska-Pletikapić i Tomović, 1988).

Auksini i etilen su poznati hormoni biljaka povezani sa formiranjem korenovog sistema. Nakupljanje auksina i povećanje osetljivosti tkiva prema auksinima u prisustvu etilena su veoma značajni preduslovi za inicijaciju, formiranje i aktivaciju korenovih primordija. Mogućnost manipulacije nagomilavanjem auksina na određenom mestu i osetljivošću na auksine mogla bi usloviti povećanje intenziteta formiranja korenovog sistema (McNamara i Mitchell, 1991).

2,3,5-trijodbenozoeve kiseline (TIBA) je poznata kao inhibitor polarnog transporta auksina kod biljaka i obično se koristi u toj funkciji u raznim istraživanjima, kojima se ukazuje na njen negativan efekat na proces ožiljavanja (McNamara i Mitchell, 1991). Ipak, pojava da se zaustavljanjem polarnog transporta auksina poboljšava ožiljavanje je slabo ispitana.

Joni srebra zajedno sa Na₂S₂O₃ daju STS (srebro tiosulfat) koji je poznat kao inhibitor efekta etilena (McDaniel i Binder, 2012). Naime, etilen je povoljan za ožiljavanje u malim koncentracijama, ali u visokim koncentracijama može da inhibira formiranje korena (Mudge, 1988). Pojačana akumulacija auksina stimulatивно deluje na sintezu etilena što može da dovede do obustavljanja rasta, pa i nekroze (Yang i Hofman, 1984; Hansen i Grossmann, 2000).

Cilj ovog rada je da se ispita uticaj 2,3,5-trijodbenzoeve kiseline (TIBA) i jona srebra (Ag^+) na ožiljavanje jednog genotipa koji se dobro ožiljava i jednog genotipa koji se slabo ožiljava na podlozi bez hormona, u kulturi *in vitro*.

MATERIJAL I METODE

Ispitana su dva genotipa: *Robinia pseudoacacia* L. cl. RP i *R. pseudoacacia* x *R. luxurians* cl. Rózsaszín AC. Genotip RP je vitalan, genotip sa izraženim vigorom, piramidalne krošnje i tolerantan prema prevalantnim bolestima i štetočinama bagrema. Karakteriše ga zadovoljavajuće ožiljavanje u kulturi *in vitro*. Selektovan je u Institutu za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu Univerziteta u Novom Sadu. Genotip Rózsaszín AC je selektovan u Mađarskoj i unešen u Srbiju pod šifrom R-56. Ima karakteristične roze aromatične cvetove, sa relativno kasnim rokom cvetanja, što ga čini interesantnim za zasnivanje medonosnih plantaža, ali i u hortikulturi. Karakteriše ga slabo ožiljavanje u kulturi *in vitro*.

U cilju održanja genotipske konzistencije oba ispitivana genotipa su umnoženi grananjem ožiljenih izbojaka na standardnoj podlozi za ožiljavanje (K1). Ova podloga ne sadrži regulatore rasta, a zasnovana je na ACM mineralnoj podlozi (Aspen Culture Medium, prema Ahuja, 1983). Izbojci dobijeni grananjem ožiljenih izbojaka su korišćeni za dalje subkulture. Subkulture su postavljane svakih 4 nedelje, uzgoj je vršen u kontrolisanim uslovima sa temperaturom 26 ± 2 °C, i režimom dugog dana (16h dan/ 8h noć), uz svetlost hladnih belih fluorescentnih lampi (3500 lx).

Mineralnoj podlozi ACM, dodati su 9gl^{-1} agar, 10gl^{-1} saharoze i $30\text{mg}\text{l}^{-1}$ mioinozitola. Ispitivane aktivne materije: 2,3,5-trijodbenzoeva kiselina i srebro (dodato u formi AgNO_3), su testirane u koncentracijama datim u tab 1. pH podloge je podešen pre sterilizacije na pH 5.5.

Tabela 1. Koncentracije TIBA i Ag^{2+} u ispitivanim podlogama

Table 1. TIBA i Ag^{2+} concentrations in examined media

Podloga <i>Medium</i>	TIBA (μM)	Ag^+ (μM)
K1		
K2		0.1
K3	0.1	
K4	0.1	0.1
K5	0.3	
K6	0.3	0.1
K7	1	
K8	1	0.1

Podloge su sterilisane u autoklavu pri temperaturi od 120°C i na pritisku od 1.1 bar 20 min.

Na ispitivane podloge su postavljeni vrhovi izbojaka, visine 1,5 do 2 cm. Postavljeno je pet vrhova u teglice zapremine 190 ml, sa po 25 ml podloge. Nakon četiri i šest nedelja određeni su broj korenova po izbojku i udeo izbojaka na kojima je formiran korenov sistem.

Statistička analiza

Polazni podaci za statističku obradu su bili srednja vrednost broja korenova po izbojku na nivou teglice i procenat preživljavanja na nivou teglice. Broj korenova po izbojku je transformisan kvadratnom transformacijom $(\sqrt{X+1})$, a procenat preživljavanja arcsin transformacijom $(\arcsin \sqrt{X})$ kako bi distribucija frekvencija bila normalna, što je uslov za korišćenje primenjenih statističkih metoda. Izvršena je analiza varijanse i analiza varijanse ponovljenih merenja, kao i test najmanje značajne razlike korišćenjem programskog paketa STATISTICA 12 (StatSoft Inc., 2012). Parcijalni η^2 je izračunat kao mera uticaja posmatranog izvora variranja A na variranje datog svojstva X, po formuli: $Parcijalni \eta^2 = \frac{SS_A}{SS_A + SS_{Err}}$, gde je SS_A suma kvadrata izvora variranja A, a SS_{Err} suma kvadrata odgovarajuće pogreške.

REZULTATI I DISKUSIJA

Dobijeni rezultati za oba termina merenja (četvrta i šesta nedelja uzgoja) su prvo obrađeni analizom varijanse ponovljenih merenja (Tabela 2 i 3) u cilju utvrđivanja značajnosti razlika između termina merenja, što bi moglo da bude od značaja za daljnja istraživanja. Za broj korenova po izbojku, kao i za procenat ožiljenih izbojaka je dobijeno da su razlike između dva merenja statistički veoma signifikantne. Zato se za pravilnu ocenu formiranja korenovog sistema bagrema u kulturi tkiva može preporučiti da uzgoj traje šest nedelja. Parcijalni η^2 za ponovljeno merenje, kao i F-vrednosti ukazuju da efekat ovog izvora variranja dominira među ostalim ispitivanim izvorima variranja kod oba ispitivana svojstva. Ostvaren efekat je značajan s obzirom da je prosečan broj korenova po izbojku porastao sa 0,32 na 0,50 a procenat ožiljavanja sa 12,2% na 20,4% (podaci nisu prikazani). Zbog toga je dalja analiza izvršena samo za podatke dobijene nakon šest nedelja uzgoja.

Prema podacima dobijenim nakon šest nedelja uzgoja na ispitivanim podlogama jasne su razlike između dva ispitivana genotipa. Genotip RP je pokazao generalno viši potencijal za ožiljavanje od genotipa R-56. Pored toga ispitivane koncentracije TIBA-e su ostvarile značajan uticaj na variranje broja korenova, ali ne i procenat ožiljavanja. Međutim, prema NZR testu nije ostvareno statistički značajno variranje kod genotipa R-56, dok su kod oba ispitivana svojstva niže koncentracije ostvarile inhibitorni efekat (Tabela 6).

Tabela 2. Analiza varijanse ponovljenih merenja za broj korenova po izbojku kod ispitivanih genotipova RP i Rózsaszín AC (R-56) nakon četiri i šest nedelja uzgoja u kulturi *in vitro*

Tabela 2. Repeated measures ANOVA for number of roots per shoot in examined genotypes RP and Rózsaszín AC (R-56) after four and six weeks of cultivation *in vitro*

Izvor variranja <i>Source of variation</i>	Suma kvadrata <i>Sum of squares</i>	Stepeni slobode <i>Degrees of freedom</i>	Sredina kvadrata <i>Mean square</i>	F-test <i>F-test</i>	Parcijalni η^2 <i>Partial η^2</i>
Genotip (A) <i>Genotype (A)</i>	0.607	1	0.607	22.051**	0.256
Podloga (B) <i>Medium (B)</i>	0.795	7	0.114	4.127**	0.311
Interakcija A x B <i>Interaction A x B</i>	0.675	7	0.096	3.499**	0.277
Pogreška 1 <i>Error 1</i>	1.762	64	0.028		
Ponovljna merenja (R) <i>Repeated measures (R)</i>	0.232	1	0.232	81.413**	0.560
Interakcija R x A <i>Interaction R x A</i>	0.006	1	0.006	1.975	0.030
Interakcija R x B <i>Interaction R x B</i>	0.066	7	0.009	3.304**	0.265
Interakcija R x A x B <i>Interaction R x A x B</i>	0.020	7	0.003	1.000	0.099
Pogreška 2 <i>Error 2</i>	0.182	64	0.003		

Tabela 3. Analiza varijanse ponovljenih merenja za procenat ožiljenih izbojaka kod ispitivanih genotipova RP i Rózsaszín AC (R-56) nakon četiri i šest nedelja uzgoja u kulturi *in vitro*

Tabela 3. Repeated measures ANOVA for percentage of rooted shoots in examined genotypes RP and Rózsaszín AC (R-56) after four and six weeks of cultivation *in vitro*

Izvor variranja <i>Source of variation</i>	Suma kvadrata <i>Sum of squares</i>	Stepeni slobode <i>Degrees of freedom</i>	Sredina kvadrata <i>Mean square</i>	F-test <i>F-test</i>	Parcijalni η^2 <i>Partial η^2</i>
Genotip (A) <i>Genotype (A)</i>	3082.5	1	3082.54	14.063**	0.180
Podloga (B) <i>Medium (B)</i>	2999.0	7	428.43	1.955	0.176
Interakcija A x B <i>Interaction A x B</i>	3496.7	7	499.53	2.279*	0.200
Pogreška 1 <i>Error 1</i>	14028.5	64	219.20		
Ponovljna merenja (R) <i>Repeated measures (R)</i>	1635.5	1	1635.49	36.452**	0.363
Interakcija R x A <i>Interaction R x A</i>	249.4	1	249.40	5.559*	0.080
Interakcija R x B <i>Interaction R x B</i>	522.9	7	74.70	1.665	0.154
Interakcija R x A x B <i>Interaction R x A x B</i>	777.6	7	111.08	2.476*	0.213
Pogreška 2 <i>Error 2</i>	2871.5	64	44.87		

U slučaju najviše koncentracije TIBA-e (1 μ M) dobijen je stimulativan efekat za broj korenova po izbojku, dok procenat ožiljavanja nije bio značajno veći nego kod kontrole. Razlika u reakciji ispitivanih genotipova, prema interakciji genotip \times c(TIBA), je statistički signifikantna.

Za oba genotipa i oba ispitivana svojstva značajna razlika između dva termina je bila samo za podlogu K7, tj. podlogu sa 1 μ M TIBA, bez prisustva srebra, dok ovaj efekat nije bio značajan kod većine drugih podloga (podaci nisu predstavljani). Ova činjenica je interesantna jer je genotip R-56, koji je pokazao slabo ožiljavanje na kontrolnoj podlozi (K1), na ovoj podlozi ostvario najbolje rezultate, pogotovo u pogledu broja korenova, što ukazuje da je taj efekat ostvaren dodatnim formiranjem korenova u periodu između četvrte i šeste nedelje. Ovaj dodatni efekat je nešto na čega bi moglo da se računa u daljim istraživanjima. Izostanak efekta u prisustvu srebra daje osnova za pretpostavku o slabijoj osetljivosti genotipa R-56 prema etilenu.

Ispitivane koncentracije jona srebra nisu ostvarile značajan direktan efekat ni kod jednog ispitivanog svojstva. Međutim, značajna je interakcija c(TIBA) \times c(Ag⁺) za broj korenova, što ukazuje na razlike u efektu prisustva srebra u zavisnosti od koncentracije TIBA u podlozi. Prema NZR testu, jedini značajan pozitivan efekat unutar ispitivanih koncentracija TIBA, srebro je postiglo u odsustvu TIBA na broj korenova i to prvenstveno zahvaljujući jasnom efektu kod genotipa RP. Sa druge strane, prisustvo srebra je ostvarilo negativan efekat na broj korenova kod klonu R-56 pri 1 μ M TIBA u podlozi.

Table 4. Analiza varijanse za broj korenova po izbojku kod ispitivanih genotipova RP i Rózsaszín AC (R-56) nakon šest nedelja uzgoja u kulturi *in vitro*

Tabela 4. ANOVA for number of roots per shoot in examined genotypes RP and Rózsaszín AC (R-56) after six weeks of cultivation *in vitro*

Izvor variranja <i>Source of variation</i>	Suma kvadrata <i>Sum of squares</i>	Stepeni slobode <i>Degrees of freedom</i>	Sredina kvadrata <i>Mean square</i>	F-test <i>F-test</i>	Parcijalni η^2 <i>Partial η^2</i>
Genotip (A) <i>Genotype (A)</i>	0.248	1	0.248	13.681**	0.176
c(TIBA) (B) <i>c(TIBA) (B)</i>	0.343	3	0.114	6.316**	0.228
c(Ag ²⁺) (C) <i>c(Ag²⁺) (C)</i>	0.018	1	0.018	1.009	0.016
Interakcija A \times B <i>Interaction A \times B</i>	0.194	3	0.065	3.574*	0.144
Interakcija A \times C <i>Interaction A \times C</i>	0.168	1	0.168	9.244**	0.126
Interakcija B \times C <i>Interaction B \times C</i>	0.127	3	0.042	2.344	0.099
Interakcija A \times B \times C <i>Interaction A \times B \times C</i>	0.019	3	0.006	0.358	0.017
Pogreška <i>Error</i>	1.160	64	0.018		

Joni srebra su u ovom istraživanju korišćeni radi ublažavanja efekta etilena (McDaniel i Binder, 2012). Etilen je poznat kao promotor ožiljavanja putem povećanja senzitivnosti tkiva prema IAA (Visser et al., 1996), ali u visokim koncentracijama može da pokrene usporavanje rasta do nekroze tkiva (Mudge,

1988; Hansen i Grossmann, 2000). Na značaj negativnog uticaja etilena na ožiljavanje ukazuju i pozitivni rezultati folijarne primene 100 μM CoCl_2 , inhibitora sinteze etilena, na formiranje korenovog sistema kod ožiljenica *Populus deltoides* (Kovacevic et al., 2012).

Table 5. Analiza varijanse za procenat ožiljenih izbojaka kod ispitivanih genotipova RP i Rózsaszín AC (R-56) nakon šest nedelja uzgoja u kulturi *in vitro*

Tabela 5. ANOVA for percentage of rooted shoots in examined genotypes RP and Rózsaszín AC (R-56) after six weeks of cultivation *in vitro*

Izvor variranja <i>Source of variation</i>	Suma kvadrata <i>Sum of squares</i>	Stepeni slobode <i>Degrees of freedom</i>	Sredina kvadrata <i>Mean square</i>	F-test <i>F-test</i>	Parcijalni η^2 <i>Partial η^2</i>
Genotip (A) <i>Genotype (A)</i>	789.17	1	789.17	7.419**	0.104
c(TIBA) (B) <i>c(TIBA) (B)</i>	864.12	3	288.04	2.708	0.113
c(Ag^{2+}) (C) <i>c(Ag²⁺) (C)</i>	286.53	1	286.53	2.694	0.040
Interakcija A x B <i>Interaction A x B</i>	1213.69	3	404.56	3.803*	0.151
Interakcija A x C <i>Interaction A x C</i>	232.23	1	232.23	2.183	0.033
Interakcija B x C <i>Interaction B x C</i>	155.21	3	51.74	0.486	0.022
Interakcija A x B x C <i>Interaction A x B x C</i>	160.37	3	53.46	0.503	0.023
Pogreška <i>Error</i>	6807.65	64	106.37		

Dobijeni rezultati ukazuju na značajno manji procenat ožiljavanja i broj korenova pri najnižoj ispitivanoj koncentraciji TIBA (0.1 μM) dok je na podlogama sa najvećom ispitivanom koncentracijom TIBA (1 μM) procenat ožiljavanja bio na nivou kontrole, a broj formiranih korenova značajno viši. Efekat pada broja korenova pri 0.1 i 0.3 μM TIBA je posebno izražen kod genotipa RP. Inhibitorni uticaj niskih koncentracija TIBA je u skladu sa važećim stavom o negativnom dejstvu inhibicije polarnog transporta auksina na formiranje korena (McNamara i Mitchell, 1991). Značajan porast broja korenova pri 1 μM TIBA kod genotipa R-56, pa i nominalno veći, iako ne i signifikantno značajan, porast procenata ožiljavanja pri 1 μM TIBA u odnosu na kontrolu kod RP ukazuje na potrebu nastavka istraživanja.

Pozitivan efekat prisustva jona srebra, koji je jasan kod genotipa RP za oba ispitivana svojstva ukazuje da akumulacija etilena jeste ograničavajući faktor kod ovog genotipa. Efekat je najjasniji u odsustvu TIBA (podloga K2). Međutim, kod genotipa R-56, izostao je pozitivan efekata srebra pri niskim koncentracijama TIBA i u odsustvu TIBA, dok je pri 1 μM TIBA prisustvo srebra ostvarilo značajan negativan efekat. Ovi rezultati ukazuju na razliku u osetljivosti tkiva prema etilenu u smislu njegove funkcije povećanja osetljivosti tkiva prema auksinima. Takođe, razlike u reakcijama dva ispitivana genotipa ukazuju na potrebu prilagodavanja tehnike uzgoja u kulturi *in vitro* specifičnostima genotipa. Pozitivan uticaj viših koncentracija TIBA na ožiljavanje genotipa R-56 ukazuju na mogućnost

unapređenja ožiljavanja ovog genotipa, koji se inače slabo ožiljava u kulturi *in vitro*, i potrebu nastavka istraživanja.

Tabela 6. Test najmanje značajne razlike za ispitivana svojstva kod ispitivanih genotipova RP i Rózsaszín AC (R-56)

Table 6. Least significance test for examined characters in examined genotypes RP and Rózsaszín AC (R-56)

c(TIBA) (μ M)	c(Ag ²⁺) (μ M)	Genotip	Broj korenova po izbojku	Homogene groupe						Procenat ožiljenih izbojaka	Homogene groupe									
				1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6				
		RP	0.636	*						25.00		*								
		R-56	0.363	*						16.18		*								
	0		0.523	*						23.48		*								
	0,1		0.309	*						14.12		*								
	0,3		0.422	*	*					18.84		*	*							
	1,0		0.749			*				26.01		*								
	0		0.460	*						17.82		*								
	1		0.534	*						23.14		*								
	0	0	0.360	*						21.49		*	*							
	0	1	0.695	*	*					25.54		*	*							
	0,1	0	0.380	*						13.51		*								
	0,1	1	0.239	*						14.74		*								
	0,3	0	0.331	*						13.44		*								
	0,3	1	0.516	*	*					24.91		*	*							
	1,0	0	0.790	*						23.78		*	*							
	1,0	1	0.708	*						28.30		*								
	0	RP	0.804	*						30.45		*	*							
	0,1	RP	0.340	*						16.30		*								
	0,3	RP	0.422	*						15.97		*								
	1,0	RP	1.024	*	*					39.87		*		*						
	0	R-56	0.266	*						17.17		*	*							
	0,1	R-56	0.278	*						12.08		*								
	0,3	R-56	0.422	*						21.89		*	*							
	1,0	R-56	0.494	*						14.24		*								
	0	RP	0.484	*						19.78		*								
	1	RP	0.795	*	*					30.62		*	*							
	0	R-56	0.436	*						15.94		*								
	1	R-56	0.293	*						16.43		*								
	0	0	RP	0.536	*	*	*	*	*	29.40		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0	1	RP	1.094					*	31.51		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,1	0	RP	0.334	*	*	*	*	*	12.91		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,1	1	RP	0.345	*	*	*	*	*	20.00		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,3	0	RP	0.237	*	*	*	*	*	8.02		*								
	0,3	1	RP	0.621		*	*	*	*	25.99		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	1,0	0	RP	0.865				*	*	33.37		*						*	*	
	1,0	1	RP	1.189					*	46.56		*						*	*	
	0	0	R-56	0.195	*	*				14.52		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0	1	R-56	0.338	*	*	*	*	*	20.00		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,1	0	R-56	0.426	*	*	*	*	*	14.12		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,1	1	R-56	0.138	*					10.17		*	*							
	0,3	0	R-56	0.430	*	*	*	*	*	20.00		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,3	1	R-56	0.415	*	*	*	*	*	23.84		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	1,0	0	R-56	0.716	*	*	*	*	*	15.38		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	1,0	1	R-56	0.287	*	*	*			13.14		*	*	*	*	*	*	*	*	*

Zahvalnica

Ovaj rad je realizovan u okviru projekta „Istraživanje klimatskih promena na životnu sredinu: praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“ (43007) koji finansira Ministarstvo za prosvetu i nauku Republike Srbije u okviru programa Integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja za period 2011-2014. godine.

LITERATURA

- Ahuja, M. R. (1984): A commercially feasible micropropagation method for aspen. *Silvae Genetica* 32, 174-176.
- McDaniel, B.K., Binder, B.M. (2012): Ethylene receptor 1 (ETR1) is sufficient and has the predominant role in mediating inhibition of ethylene responses by silver in *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of Biological Chemistry*, 287 (31): 26094–26103.
- Guzina V. (1986) Bagrem – “drvo peščara“. In: „Proleće na Čenejskim salašima – Pčesa ’86“. Editor: Lazic V. p. 6-11.
- Guzina, V., Tomovic, Z. (1997): Rezultati proučavanja cvetanja bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), *Šumarstvo*, br. 4-5: 45-52.
- Hansen, H., Grossmann, K. (2000): Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition. *Plant Physiology*, 124: 1437-1448.
- Kolevska-Pletikapić B., Tomović Z. (1988): Mikropropagacija bagrema. *Šumarstvo* br. 5-6: 29-35.
- Mudge K. W. (1988). Effect of ethylene on rooting. In: Davis T. D., Haissig B. E., Sankhla N. (Eds). *Root formation in cuttings*. Dioscorides Press, Portland, Oregon, USA: 150-161.
- Redei K. (2003). *Black locust growing in Hungary*. Forest Research Institute, Budapest, Hungary, pp. 69
- StatSoft Inc. (2012): STATISTICA (data analysis software system), version 12
- Visser, E.J.W., Cohen, J.D., Barendse, G.W.M., Blom, C.W.P.M., Voesenek, L.A.C.J. (1996): An ethylene-mediated increase in sensitivity to auxin induces adventitious root formation in flooded *Rumex palustris* Sm. *Plant Physiology*, 112, 1687-1692.
- Yang, S.F., Hoffman, N.E. (1984) Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu.Rev.Plant Physiol.* 35:155-189.

Summary

INFLUENCE OF 2,3,5-TRIODOBENZOIC ACID AND SILVER IONS ON ROOTING IN ROBINIA SP. IN VITRO

Branislav Kovačević, Saša Orlović, Marina Katanić, Sreten Vasić

Beside well known utilization of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) in biomass production and bee-keeping, there are numerous *Robinia* species and genotypes of ornamental value. They are of particular interest to be propagated by means of tissue culture, where the shoot rooting is a significant phase. Results of the research of the influences of 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA), well known inhibitor of indolacetic acid (IAA) polar transport and silver ions (Ag^+), known to suppress the activity of ethylene were examined in this work. Two genotypes were examined: *Robinia pseudoacacia* L. cl. RP, the genotype of good rooting ability on medium without growth regulators in vitro and *R. pseudoacacia* x *R. luxurians* cl. Rózsaszín AC, whose rooting is poor on such a medium. After six weeks of cultivation there has been found significant effect of differences between two *Robinia* genotypes, as well as of genotypes interaction with other controlled sources of variation on number of roots and percentage of rooted shoots. Gained results suggest the significant effect of the concentration of TIBA on number of roots and significant effect of the interaction genotype x c(TIBA) on number of roots and percentage of rooted shoots. The presence of silver ions effected significantly number of roots per shoot through the interaction genotype x c(Ag^+). By this work we expected that presence of TIBA will provoke IAA accumulation by inhibition of its polar transport at the basal part of shoots, as well as suppression of ethylene action by silver ions, whose accumulation follow the accumulation of IAA. In this way the chances for *Robinia* shoot rooting improvement in vitro would be higher. Results we gained suggest that TIBA and silver ions could be implemented in further micropropagation practice and research in *Robinia* species.