



**UNIVERZITET U  
NOVOM SADU  
POLJOPRIVREDNI  
FAKULTET**



**TOLERANTNOST SELEKCIJA  
BELE TOPOLE PREMA  
ABIOTIČKIM ČINIOCIMA U  
USLOVIMA *IN VITRO***

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Mentori:**

**dr Branislav Kovačević**

**prof. dr Saša Orlović**

**Kandidat:**

**mast. inž. Vanja Vuksanović**

**Novi Sad, 2019. godine**

# UNIVERZITET U NOVOM SADU

## POLJOPRIVREDNI FAKULTET

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Vanja Vuksanović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	dr Branislav Kovačević, viši naučni saradnik, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerzitet u Novom Sadu prof. dr Saša Orlović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Tolerantnost selekcija bele topole prema abiotičkim činiocima u uslovima <i>in vitro</i>
Jezik publikacije: JP	srpski
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija

Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2019.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića br. 8. 21000, Novi Sad.

Fizički opis rada: FO	(8 poglavlja / 143 stranica / 30 slika / 82 grafikona / 141 referenci / 49 tabela, 1 priloga)
Naučna oblast: NO	Biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Hortikultura
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Tolerantnost, bela topola, abiotički stres, kultura tkiva, ocena genotipova
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića br 8, 21000 Novi Sad.
Važna napomena: VN	Ovaj rad je realizovan u okviru projekata: „Istraživanje klimatskih promena i njihovog uticaja na životnu sredinu: praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“ (III43007) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u okviru programa Integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja.

<p>Izvod: IZ</p>	<p>Kultura tkiva se široko koristi u proceni tolerantnosti na abiotičke činioce kod velikog broja biljnih vrsta. Osnovi cilj ovog istraživanja bila je procena tolerantnosti genotipova bele topole prema reakciji podloge, zaslanjenosti i suši u <i>in vitro</i> uslovima, a sve u cilju potrebe očuvanja i unapređenja biodiverziteta ove vrste i njenog korišćenja u pejzažnoj arhitekturi i proizvodnji drveta. U ovom radu istraživana je tolerantnost pet genotipova bele topole: srpske selekcije u eksperimentalnoj fazi L-80, L-12, LCM i LBM i jedna italijanska sorta: <i>cl. Villafranca</i>. Tolerantnost genotipova procenjena je prema skupu od ukupno 27 parametara uključujući morfološke, parametre biomase, fotosintetičkih pigmenata i biohemijske parametre. Na osnovu primenjenih statističkih testova izdvojene su podloge koje su se pokazale najprikladnijim za diferencijaciju istraživanih genotipova po istraživanim abiotičkim činiocima. Rezultati istraživanja ukazuju da postoji značajna varijabilnost u reakciji istraživanih genotipova prema reakciji podloge, zaslanjenosti i suši. Genotip L-80 se pokazao kao dobar kandidat za gajenje na područjima opterećenim nekim od istraživanih abiotičkih činilaca. Rezultati takođe ukazuju na značajan potencijal uzgoja bele topole u kulturi tkiva kao pouzdane metode u proceni tolerantnosti prema ispitivanim abiotičkim činiocima i da primenjeni testovi mogu biti od velikog značaja za selekciju genotipova u <i>in vitro</i> uslovima. Buduća istraživanja treba usmeriti na ispitivanje uticaja kombinacije abiotičkih činioaca i veći broj genotipova. U tom smislu bi istraživanja trebalo proširiti i na reakciju ispitivanih genotipova na abiotičke činioce u poljskim uslovima.</p>
----------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	31.01.2019.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<p style="text-align: center;">Predsednik:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">prof. dr Emina Mladenović, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p style="text-align: center;">Mentor:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">dr Branislav Kovačević, viši naučni saradnik, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p style="text-align: center;">Mentor:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">prof. dr Saša Orlović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p style="text-align: center;">Član:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">prof. dr Mirjana Ljubojević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p style="text-align: center;">Član:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">prof. dr Mirjana Ocokoljić, redovni profesor, Šumarski fakultet, Beograd.</p>

University of Novi Sad  
Faculty of Agriculture  
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Vanja Vuksanović
Mentor: MN	PhD Branislav Kovačević, senior research associate, Institute of Lowland Forestry and Environment, Novi Sad. PhD Saša Orlović, professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad.
Title: TI	Tolerance of white poplar assortments against abiotic factors <i>in vitro</i>
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina

Publication year: PY	2019.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Dositeja Obradovića sq. 8, 21000 Novi Sad

Physical description: PD	8 chapters/ 143 pages/ 30 photos/ 82 graphs/ 49 tables/ 141 references/ 1 biography
Scientific field SF	Biotechnical Sciences
Scientific discipline SD	Horticulture
Subject, Key words SKW	Tolerance, white poplar, abiotic stress, tissue culture, genotype evaluation
UC	
Holding data: HD	Library, Faculty of Agriculture, Dositeja Obradovića sq. 8, 21000 Novi Sad
Note: N	This paper was realized as a part of the projects “Studying climate change and its influence on the environment: impacts, adaptation and mitigation” (43007) financed by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia

Abstract:  
AB

Tissue culture is widely used in assessment of tolerance against abiotic factors in many plant species. The main aim of this study was the evaluation of tolerance against medium reaction, salinity and drought of white poplar genotypes *in vitro*, in course of necessity of preservation and improvement of biodiversity of this species and its use in land architecture and wood production. In this work, tolerance of five genotypes of white poplar was examined, Serbian assortments in experimental phase: L-80, L-12, LCM and LBM, and one Italian cultivar: *cl. Villafranca*. Tolerance of genotypes was evaluated according to group of 27 parameters in total, including morphological, biomass, photosynthetic pigments' and biochemical parameters. Based on applied statistical tests media were found to be the most appropriate for selection for differentiation of examined by examined abiotic factors. Results of study suggest that there is considerable variability in reaction of examined genotypes against media reaction, salinity and drought. Genotype L-80 was found to be good candidate for cultivation on areas burdened with some of examined abiotic factors. Results also showed considerable potential of white poplar tissue culture as reliable method in tolerance assessment of examined abiotic factors and that applied tests could be of great importance in genotype selection *in vitro*. Further research should be directed on study of influence of combination of abiotic factors and larger number of genotypes. In that sense investigation should be expended on reaction of examined genotypes in field conditions.



Accepted on Senate on: AS	31.01.2019.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p style="text-align: center;">President:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">PhD Emina Mladenović, associate professor Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <p style="text-align: center;">Mentor:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">PhD Branislav Kovačević, senior research associate, Institute of Lowland Forestry and Environment, Novi Sad.</p> <p style="text-align: center;">Mentor:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">PhD Saša Orlović, full professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad,</p> <p style="text-align: center;">Member:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">PhD Mirjana Ljubojević, associate professor Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <p style="text-align: center;">Member:</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">PhD Mirjana Ocokoljić, full professor, Faculty of Forestry, Belgrade</p>

## SADRŽAJ:

1	UVOD .....	1
2	PREGLED VLADAJUĆIH STAVOVA U LITERATURI.....	3
2.1	Rod <i>Populus</i> .....	3
2.2	Abiotički činioci .....	4
2.2.1	Kiselost .....	4
2.2.2	Zaslanjenost .....	6
2.2.3	Suša.....	7
2.3	Mikropropagacija.....	9
3	CILJ ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA .....	11
4	MATERIJAL I METODE.....	12
4.1	Biljni materijal .....	12
4.2	Program istraživanja .....	12
4.3	Priprema ekstrakta .....	16
4.4	Istraživani parametri .....	17
4.4.1	Parametri biomase .....	18
4.4.2	Sadržaj fotosintetičkih pigmenata .....	19
4.4.3	Određivanje sadržaja natrijuma, kalijuma i magnezijuma .....	21
4.4.4	Određivanja sadržaja ukupnih fenola .....	23
4.4.5	Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida .....	24
4.4.6	Određivanje redukcijske sposobnosti ekstrakta FRAP testom.....	25
4.4.7	Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH <sup>+</sup> radikala .....	26
4.4.8	Određivanje sposobnosti neutralizacije ABTS <sup>+</sup> radikala .....	27
4.4.9	Određivanje sadržaja glicin betaina (glycine betaine GB) .....	28
4.4.10	Određivanje sadržaja prolina .....	29
4.5	Statistička obrada podataka.....	31
5	REZULTATI ISTRAŽIVANJA .....	32
5.1	Rezultati istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge u <i>in vitro</i> uslovima .....	32
5.1.1	Rezultati morfoloških parametara .....	32
5.1.2	Rezultati parametara biomase.....	36
5.1.3	Rezultati sadržaja fotosintetičkih pigmenata .....	40

5.1.4	Rezultati biohemijskih parametara .....	44
5.1.5	Korelaciona analiza .....	51
5.1.6	Analiza glavnih komponenti (PCA) .....	54
5.2	Rezultati istraživanja tolerantnosti genotipova prema zaslanjenoj podlozi u <i>in vitro</i> uslovima .....	56
5.2.1	Rezultati morfoloških parametara .....	56
5.2.2	Rezultati parametara biomase.....	61
5.2.3	Rezultati sadržaja fotosintetičkih pigmenata.....	65
5.2.4	Rezultati biohemijskih parametara .....	69
5.2.5	Korelaciona analiza .....	81
5.2.6	Analiza glavnih komponenti (PCA) .....	83
5.3	Rezultati istraživanja tolerantnosti genotipova bele topole prema suši izazvanoj PEG 6000 u <i>in vitro</i> uslovima.....	85
5.3.1	Rezultati morfoloških parametara .....	85
5.3.2	Rezultati parametara biomase.....	88
5.3.3	Rezultati sadržaja fotosintetičkih pigmenata.....	93
5.3.4	Rezultati biohemijskih parametara .....	96
5.3.5	Korelaciona analiza .....	108
5.3.6	Analiza glavnih komponenti (PCA) .....	110
6	DISKUSIJA.....	112
6.1	Tolerantnost istraživanih genotipova prema reakciji podloge .....	112
6.2	Tolerantnost istraživanih genotipova prema različitim koncentracijama NaCl 116	
6.3	Tolerantnost israživanih genotipova prema suši.....	123
7	ZAKLJUČCI.....	128
8	LITERATURA.....	130

## 1 UVOD

Stres se obično definiše kao svako stanje u koje biološki sistem ulazi kada se nađe u uslovima koji značajno odstupaju od optimalnih za život. Tokom vegetacionog perioda biljke su izložene različitim uslovima sredine koji mogu nepovoljno da utiču na rast, razvoj i na kraju na prinos biljaka. Stresni faktori se mogu grupisati u biotičke koji su u osnovi biološke i abiotičke koji su u osnovi fizičko hemijske prirode. U procesu razvoja ljudske civilizacije promene u životnoj sredini su bile neminovne, ali je time rasla i opasnost da se sa pojedinim promenama pokrenu i procesi degradacije životne sredine. Rezultati naučnih istraživanja, ukazuju na to, da se poslednjih decenija značajno povećava površina degradiranog zemljišta, čime se u značajnoj meri umanjuje njegov potencijal, a time i količina proizvedenih upotrebnih dobara (Oldeman, 1985). Isti rezultati ukazuju da će se takav trend nastaviti ukoliko se ne nađu odgovarajuća rešenja. Takođe, i povećanje gajenih površina sve više zavisi od privođenja kulturi zemljišta opterećenih nekim nepovoljnim abiotičkim činiocima. Faktori koji doprinose degradaciji zemljišta su brojni, bilo prirodni, bilo antropogeni, a kao najznačajniji su: erozija, smanjenje organske materije, povećana količina štetnih i opasnih materija, salinizacija i alkalizacija, zakišeljavanje, plavljenje, promene namene korišćenja, nekontrolisano krčenje šuma i gubitak biodiverziteta.

Reynolds i Tuberosa (2008) smatraju da su abiotički stresovi glavni činioci koju utiču na ekonomske gubitke. Suša, zaslanjenost i kisela zemljišta su među glavnim činiocima koji ograničavaju poljoprivrednu proizvodnju. Procenjuje se da suša na globalnom nivou umanjuje prinos za 17%, zaslanjenost za 20%, visoke temperature za 40%, niske temperature za 15% i ostali faktori za 8% (Ashraf i Foolad, 2007).

U ovom slučaju šume imaju meliorativnu funkciju, gde bi se podizanjem odgovarajućih zasada drveća, bilo u obliku linijskih ili prstenastih površina, te formiranjem tampon zone, oplemenilo degradirano i zaštitilo okolno zemljište. Važan deo ovog procesa je i izbor drvenastih vrsta, koje će moći da podnesu značajan broj nepovoljnih fizičkih i hemijskih karakteristika navedenih zemljišta, a pri tome da daju doprinos ublažavanju degradacionih procesa (Kadović, 1983; Ivanišević i sar., 2013).

Bela topola (*Populus alba* L.) je autohtona vrsta naših područja i pripada sekciji *Leuce*. U prošlosti na području nekadašnje Jugoslavije autohtone bele topole korišćene su za zasnivanje različitih oblika zasada. Zasadi belih topola su uglavnom bili zasnovani uz rečne nasipe i imali zaštitnu funkciju kao i u svrhu vetrobranih pojaseva na područjima Panonske nizije. Godine 1920. na Deliblatskoj peščari osnovane su prve veće kulture topola na području bivše Jugoslavije. Pored zaštitne funkcije bele topole su sve više nalazile primenu u pejzažnoj arhitekturi i hortikulturi, te su početkom 20. veka ove vrste bile sađene kao dekorativne u parkovima i drvoredima. U istom vremeskom periodu započinje i industrijska prerada drveta belih topola što uslovljava potrebu za proizvodnjom kvalitetnih sortimenata. Značajnije povećanje obima zasada topola počinje posle prvog svetskog rata (Guzina, 1986).

U procesu regeneracije autohtonih prirodnih biocenoza plavnih područja bela i crna topola su od presudnog značaja zato što predstavljaju važne indikatore biodiverziteta. Ništa manje bitna je i njihova uloga u kontroli plavljenja, kontroli visine podzemnih voda kao i unapređenju kvaliteta voda (Vietto i Chiarabaglio, 2004). Poslednjih godina sprovedeni su značajni projekti istraživanja i očuvanja varijabilnosti, restoracije i ponovnog pošumljavanja crnim i belim topolama u većem broju evropskih zemalja (Vietto i sar., 2008). U cilju očuvanja varijabilnosti pokrenuti su programi na zaštiti i unapređenju germplazme topola i primeni raznih strategija konzervacije (EUFORGEN Programe, Scattered Broadleaves Network).

Rezultati istraživanja mikrovegetativnog razmnožavanja topola iz sekcije *Leuce* putem kulture tkiva pobudili su interes istraživača koji se bave oplemenjivanjem ovih vrsta, jer se ovom metodom stvaraju realnije mogućnosti za masovnu reprodukciju selekcionisanih formi ovih vrsta topola (Guzina, 1986).

Ispitivanje tolerantnosti prema abiotičkim činiocima u uslovima *in vitro* pruža mnoge prednosti, s' obzirom da se radi o relativno brzom metodi, koja omogućava veći broj ponavljanja u kontrolisanim uslovima, bez uticaja drugih činilaca spoljne sredine (Cui i sar., 2010; Kovačević i sar., 2013a; Kovačević i sar., 2013b).

## 2 PREGLED VLADAJUĆIH STAVOVA U LITERATURI

### 2.1 Rod *Populus*

*Populus* je rod listopadnih drvenastih biljaka. Šume topole se obično javljaju pored obala reka i poznate su po brzom rastu. Topole su rasprostranjene od suptropske Kine do borealskih šuma na severu. U Severnoj Americi topole rastu sve do Meksika. Vrsta *Populus ilicifolia* Engl. je karakteristična za istočnu Afriku. U srednjoj Evropi se javljaju crna topola (*Populus nigra* L.), bela topola (*Populus alba* L.) i jasika (*Populus tremula* L.).

*Populus alba* L. (bela topola) je visoko drvo centralne, istočne, jugozapadne Evrope, jugozapadne i centralne Azije, Kine i Japana. U visinu poraste do 35 m (Slika 2.1.1.). Krošnja je okrugla, retko piramidalna. Kora mladog stabla ima pepeljasto belu boju. Brzorastuća je vrsta, naročito u prvih 10 - 15 godina. Razvija vrlo moćan korenov sistem. Može da podnese neznatnu količinu soli u zemljištu, otporna je na dim i štetne gasove u vazduhu.



Slika 2.1.1. *Populus alba* L. – bela topola (izvor: [www.gobotany.com](http://www.gobotany.com))

Uprkos svojoj visokoj prilagodljivosti, bela topola se u Srbiji smatra ugroženom vrstom što korišćenju ove vrste daje poseban značaj sa aspekta održanja i očuvanja biodiverziteta (Kovačević i sar., 2010a). Pored zasnivanja zasada namenjenih proizvodnji drveta (Rédei i sar., 2013), ova vrsta se koristi i u hortikulturi i pejzažnoj arhitekturi, posebno genotipovi sa piramidalnom krošnjom (Kovačević i sar., 2010b). U

biotehnološkim istraživanjima, bela topola ima značajno mesto i smatra se model drvenastom vrstom (Confalonieri i sar., 2000). Generalno, može se reći da su topole dobri kandidati za ovakva istraživanja s' obzirom na činjenicu da je genom *Populus trichocarpa* (Hook.) potpuno sekvencionisan.

## 2.2 Abiotički činioci

Imajući u vidu da stresni abiotički činioci izazivaju sve veće štete i smanjuju produktivnost biljaka, poznavanje tolerantnosti biljaka prema abiotičkim činiocima može u mnogome da pomogne prilikom izbora vrste, naročito pri podizanju višegodišnjih zasada. S' obzirom da je bela topola ugožena vrsta koja se u biotehnološkim istraživanjima smatra model vrstom i da je reč o adaptabilnoj vrsti, tolerantnoj prema mnogim abiotičkim činiocima, izuzev prema plavljenju i hipoksiji, testiranje ove vrste prema abiotičkim činiocima u kontrolisanim uslovima imalo bi veliki značaj u cilju njenog korišćenja za zasnivanje zasada u uslovima opterećenim abiotičkim stresom, kao i unapređenja i očuvanja diverziteta vrste, a i biodiverziteta u celini.

### 2.2.1 Kiselost

Mera za aktivnost vodonikovih jona ( $H^+$ ) u rastvoru naziva se pH vrednost. Ovom vrednošću određuje se da li je dati rastvor kiselog ili baznog karaktera. Vrednost pH je broj bez jedinica, i za poređenje se koristi pH skala koja obuhvata vrednosti od 0 do 14. Za kisele rastvore pH vrednost je manja od sedam ( $pH < 7$ ), a za bazne je veća od sedam ( $pH > 7$ ). Za neutralan rastvor pH je jednako sedam.

Osman (2018) navodi da se zemljišta čija je pH vrednost ispod 4 nazivaju ekstremno kisela zemljišta.

U svetu kisela zemljišta ograničavaju biljnu proizvodnju u manjoj ili većoj meri na oko 30 do 40% obradivih površina kao i na oko 70% potencijalno obradivih površina (Kastori i Milošević, 2011). S' obzirom da površina pod kiselim zemljištem iznosi skoro 4000 miliona hektara, ovaj problem je globalan i predstavlja veliki ekonomski gubitak u proizvodnji (Marschner i Rengel, 2007). Dugogodišnja istraživanja pokazuju da u Srbiji ima preko 60% kiselih zemljišta i da svojom produktivnošću sve više postaju ograničavajući faktor biljne proizvodnje. Ministarstvo zaštite životne sredine Republike Srbije u svom izveštaju za 2016/2017 godinu navodi da su na području centralne Srbije

zemljišta slabo kisele (pH 5,5-6,5) i kisele (pH 4,5-5,5) reakcije. Najveći procenat ovakvih zemljišta nalazi se u šumadijskom regionu i južno od reke Save. Ličina i sar., (2011) navode da od ukupno ispitanih površina zemljišta u Srbiji, 43% (1.197,000 ha) pripada klasi visoko kiselih do kiselih zemljišta, 20% zauzimaju kisela do slabo kisela zemljišta, 35% pripada slabo kiselom do neutralnom tipu zemljišta, dok je samo 2% zemljišta u Srbiji alkalno.

Pored smanjenja pristupačnosti nekih elemenata pri niskoj vrednosti pH dolazi i do povećanja pristupačnosti brojnih teških metala (Vuksanović i sar., 2017a) i toksičnog delovanja drugih jona. Među njima najznačajniji su: povećanje koncentracije  $H^+$  jona u zemljištu i time fitotoksično dejstvo  $H^+$ , Al i Mn, smanjenje koncentracije Mg, Ca i K u zemljištu, inhibicija usvajanja Mg, Ca i K od strane biljaka, smanjenje pristupačnosti P i Mo u zemljištu za biljke, inhibicija rasta korena i sa time u vezi nedostatak vode i mineralnih hraniva kod biljaka i povećanje ispiranja hraniva iz zemljišta i time njihov nedostatak kod biljaka (Kastori i Milošević, 2011). Do sada su uloženi značajni napori za stvaranje sorti biljaka koje su tolerantne prema kiselim zemljištima obzirom da je tradicionalna praksa melioracije upotrebom kreča prilično skupa metoda.

Vrednost pH podloge je od velikog značaja za biljni svet, pošto neposredno i/ili posredno utiče na promet materije i energije biljaka, a time na njihovo rastanje i razviće i konačno na organsku produkciju tj. prinos (Kastori i Milošević, 2011). Reakcija sredine utiče na sve fiziološke i biohemijske procese koji se odigravaju u ćelijama (Kurkdjian i sar., 1989).

pH vrednost hranljive podloge utiče na rastvorljivost soli, pristupačnost aktivnih materija, adsorpciju hranljivih materija, hemijske reakcije i geliranje agara, što ukazuje da je opseg optimalnih pH vrednosti podloge ograničen. Međutim, većina hranljivih podloga za kulturu tkiva je slabo puferisana (Martin, 1980; Skirvin i sar., 1986) i kao takva podložna je stalnim promenama u pH. Na promene pH utiče sastav hranljive podloge, metoda sterilizacije i vrsta biljnog materijala koji se uzgaja. Temperatura sterilizacije može značajno uticati na promenu početne pH vrednosti hranljive podloge, utiče na denaturaciju proteina, hidrolizu ugljenih hidrata (Schenk i sar., 1991) i rastvorljivost soli (Behagel, 1971). Vrednost pH se menja i u kulturi tokom gajenja, te pojedini autori predlažu povećanje puferne sposobnosti hranljivih podloga (Skirvin,



1986, Vuksanović i sar., 2016a). Pufferi (puferske smeše ili regulatori pH) predstavljaju takve sisteme koji su sposobni da se odupiru promeni pH u rastvorima. Pufferi imaju važnu ulogu u održavanju određenog nivoa kiselosti u biološkim sistemima. Delovanje puferskih smeša može se predstaviti kao poseban slučaj delovanja zajedničkog jona u rastvorima slabih elektrolita (Popović, 2005).

Iako je kalcifikacija uobičajena praksa na kiselim zemljištima, smatra se da je sadnja biljaka tolerantnih na niske pH vrednosti najbolje rešenje. Savremena istraživanja o tolerantnosti biljaka na nisku pH vrednost uglavnom se odnose na tolerantnost biljaka prema aluminijumu, koji postaje naročito mobilan i toksičan pri niskom pH. Ipak, i sama niska pH vrednost može biti ograničavajući činilac posebno kod ekstremno kiselih zemljišta. Zato je poznavanje genotipova tolerantnih prema kiselim zemljištima od velikog značaja.

### **2.2.2 Zaslanjenost**

Pored niske vrednosti pH, zaslanjenost zemljišta predstavlja sve veći problem na našoj planeti. Prema podacima Flowers, (2004) oko 6% ukupne površine zemljišta je zaslanjeno. U literaturi se navodi da se u svetu godišnje u proseku oko 1% poljoprivrednog zemljišta zaslani. Procenjuje se da je oko 20% navodnjavanog zemljišta pogođeno zaslanjivanjem, što dovodi do velikih smanjenja prinosa (Munns, 2002; Flowers, 2004). Usled smanjenog kvaliteta vode za navodnjavanje zaslanjenost zemljišta postaje sve akutniji problem u svetu, naročito u sušnim područjima. Nešić i sar., (2003) navode da upotreba neadekvatne vode za navodnjavanje može prouzrokovati zaslanjivanje zemljišta u Vojvodini. Na akumulaciju soli u zemljištu utiče mala količina padavina, visok nivo površinskog isparavanja i navodnjavanje vodom lošeg kvaliteta.

Površina slatinastih primarnih poljoprivrednih zemljišta u Vojvodini iznosi oko 108.000 ha, od čega na zemljišta u zaslanjivanju otpada 78.205 ha ili 3,63%, odnosno na površine zahvaćene alkalizacijom 29.798 ha ili 1,3%. Prema Ivanišević i saradnicima (2011) alkalizacija, kao degradacioni proces ugrožava obodne delove primarnih poljoprivrednih zemljišta, od čega 17.474 ha černozema, ili 0,81%, zatim 957 ha livadskih crnica, ili 0,05%, odnosno 16.270 ha ritskih crnica, ili 0,75%, odnosno 34.701 ha, ili 1,61% ukupne površine Vojvodine.

Grupa autora (Kadović, 1983; Ivanišević i sar., 2013) smatra da bi se podizanjem odgovarajućih zasada drveća, bilo u obliku linijskih ili prstenastih površina, formirajući tampon zonu oko pravih slatina, oranice zaštitile od različitih degradacionih procesa, među kojima je i salinizacija. U ovom slučaju šume imaju semimeliorativnu funkciju, smanjujući evaporaciju, štetno dejstvo vetra, poboljšavajući mikroklimu, čime sprečavaju ugrožavajući efekat štetnih soli u zemljištu. Važan deo ovog procesa je i izbor drvenastih vrsta, koje će moći da podnesu značajan broj nepovoljnih fizičkih i hemijskih karakteristika navedenih zemljišta i pri tome doprineti ublažavanju degradacionih procesa (Kadović, 1983; Ivanišević i sar., 2013).

Rončević i saradnici (2014) su ispitivanjem, mogućnosti preživljavanja sadnog materijala drvenastih vrsta u alkalnim uslovima, došli do saznanja da i pored činjenice da su istraživanja sprovedena na zemljištu izuzetno nepovoljnih fizičkih i hemijskih osobina sistematske jedinice solonjec, rezultati ukazuju da u uslovima obezbeđenosti dovoljnim količinama vlage može da se ostvari zadovoljavajući prijem sadnica ispitivnih drvenastih vrsta. Posebno se ističu poljski jasen i domaća bela topola (preko 90%). Pomenuti autori smatraju da bi i jaka izdanačka moć bele topole mogla biti poželjna osobina prilikom izbora vrste.

Natrijum hlorid (NaCl) predstavlja značajnu pretnju, posebno u blizini saobraćajnica u gradskim sredinama. Biljke koje su izložene stresom izazvanim NaCl pokazuju usporeni rast, smanjeno grananje i prinos.  $\text{Na}^+$  je posebno štetan u visokim koncentracijama u listu, jer  $\text{Na}^+$  ometaju metaboličke procese u listu kao što je fotosinteza (Schmöckel i Jarvis, 2017). Neke biljke razvile su posebne mehanizme tolerancije kako bi sprečile visoke koncentracije  $\text{Na}^+$  u listovima.

Srivastava (2019) navodi da se odgovor biljaka na stres soli javlja u dve faze. U prvoj fazi koja se javlja nakon nekoliko sati ili dana nakon stresa dolazi do zatvaranja stoma i inhibira se rast lista. Opadanje listova, smanjen prinos i hloroza su simptomi koji se javljaju u drugoj fazi koja nastaje u periodu od nekoliko dana do nekoliko meseci nakon izlaganja visokim koncentracijama soli.

### 2.2.3 Suša

Nedovoljna dostupnost vode može značajno da ograniči produktivnost biljaka. U uslovima neadekvatnog snabdevanja vodom suša utiče na rast i fiziološke procese u

biljkama (Lambers i sar., 2008). Suša se definiše kao odsustvo adekvatne količine vode neophodne za normalno rastenje biljaka i završavanje njihovog životnog ciklusa (Zhu, 2002).

Klimatske promene koje karakterišu, povećani trend ekstremnih temperatura, a praćene su smanjenom količinom padavina mogu izazvati jaku sušu sa drastičnim ekonomskim i ekološkim posledicama (IPCC, 2007). Suša je važan abiotički činilac, a gubici u proizvodnji drvenih vrsta usled suše se povećavaju. Prilikom utvrđivanja optimalnih ekoloških uslova (Herpka, 1979) za gajenje zasada selekcionisanih topola neophodno je, pored opšteg potencijala staništa ustanoviti uticaj režima vlaženja i ocedivanja fiziološki aktivnog profila zemljišta, koji je u pojedinim razdobljima rasta i razvoja zasada dominantan.

Suša je jedan od vodećih abiotičkih činilaca koji negativno utiču na rast i produktivnost biljnih vrsta. Usled suše dolazi do brojnih poremećaja u metabolizmu biljnih vrsta. Određivanje tolerantnosti biljaka prema abiotičkim činilcima je veoma kompleksan zbog različitih interakcija između faktora stresa i različitih fizioloških i biohemijskih pojava koje utiču na rast i razvoj biljaka (Razmjoo i sar., 2008). Veliki broj istražiča smatra da je osnovni pristup za prevazilaženje problema klimatskih promena, a time i suše kao vodećeg abiotičkog činilca upravo izbor vrste i stvaranje otpornih sorti i hibrida. Zato je veoma važno poznavati osnovne mehanizme tolerantnosti biljaka, a naročito šumskih drvenastih vrsta prema suši. Rubio i saradnici (2002) navode da se efekti suše mogu javiti i kod drugih abiotičkih činilaca, kao što su zaslanjenost, visoka i niska temperatura. U tom smislu, ogledi u kontrolisanim uslovima imaju velike prednosti u odnosu na ogledu u polju.

Polietilen glikol (PEG 6000) se najčešće koristi za indukovanje suše u kontrolisanim uslovima (Murillo-Amador i sar., 2002).

Pratilac stresogenih faktora je i oksidativni stres nastao kao rezultat poremećaja oksido-redukcionog statusa biljke. Usled oksidativnog stresa dolazi do neravnoteže između proizvodnje reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i mehanizma antioksidativne odbrane. Za procenu intenziteta oksidativnog stresa, razvijeni su mnogi testovi. Iako su reaktivne vrste kiseonika normalni nus-produkti oksidativne respiracije, činilci

abiotičkog stresa mogu dovesti do povećanja njihove koncentracije i na taj način izazovu oksidativni stres. Za prevazilaženje oksidativnog stresa, biljke aktiviraju različite zaštitne mehanizme odbrane (Zhu, 2002).

Slobodni prolin se može smatrati najznačajnijim indikatorom suše, jer je to intracelularni kompatibilni osmolit koji štiti makromolekule pod osmotskim stresom (Kishore i sar., 2005). Prolin je pokazao da funkcioniše kao molekulski čuvar (franc. chaperon) i signalni molekul sposoban da štiti integritet proteina i poveća aktivnost različitih enzima pa čak i da reguliše ekspresiju gena (Szabados i Savoure, 2010). Osim ovih uloga prolin se pokazao kao efikasan "hvatač" ROS-a i "pokretač" aktivnosti enzima za uklanjanje ROS-a. Takođe, prolin igra važnu ulogu i u zaštiti fotosintetičke aktivnosti (Matysik i sar., 2002).

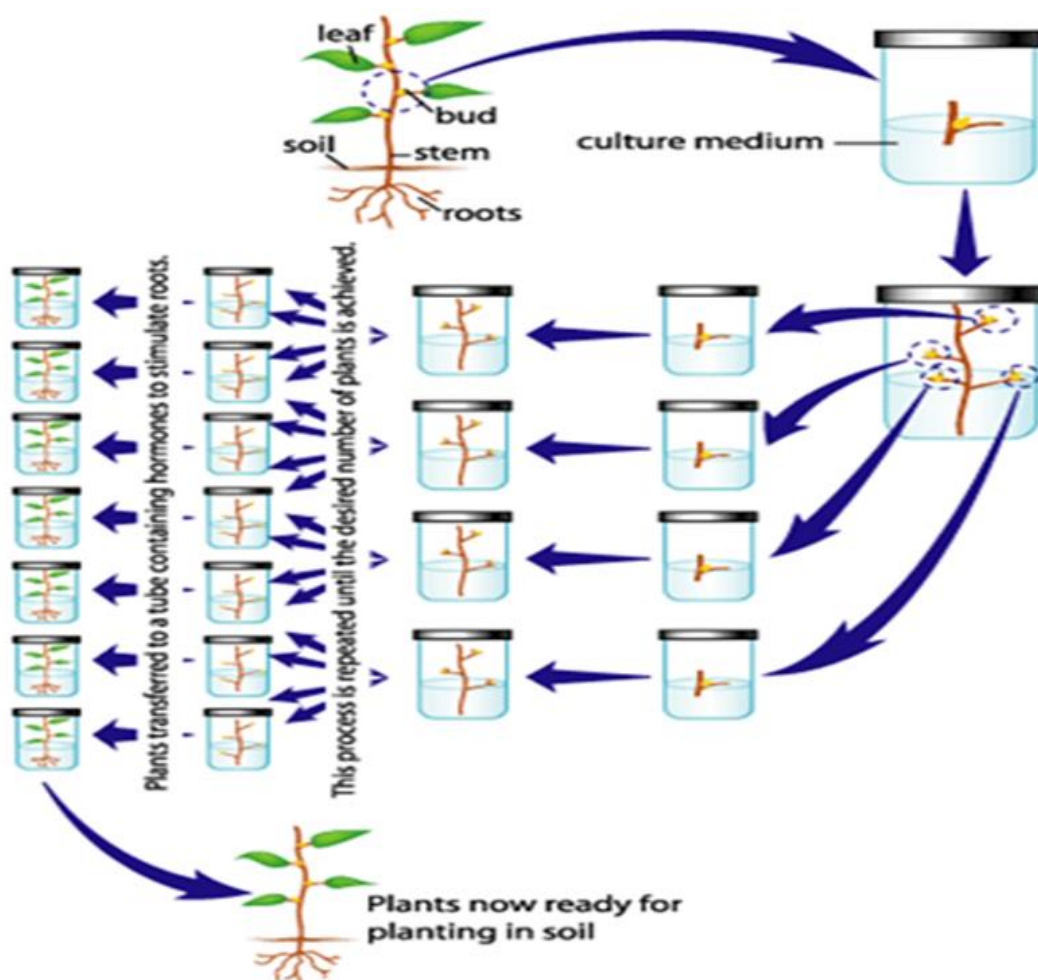
Među mnogim kvaternarnim amonijumovim jedinjenjima najveća pažnja je posvećena glycine betaine (GB) (Rhodes i Hanson, 1993; Chen i Murata, 2011). Najveći sadržaj GB indentifikovan je u hloroplastima, pa se pretpostavlja da je biosinteza glicin betaina najizraženija upravo u hloroplastima zbog zaštitne uloge GB prema proteinima unutar tilakoidnih membrana fotosistema (Chen i Murata, 2011). Rhodes i Hanson (1993) smatraju da ne postoji dovoljno podataka i saznanja o proizvodnji glicin betaina kod drvenastih vrsta.

### **2.3 Mikropropagacija**

Proizvodnja sortno ispravnog, zdravog sadnog materijala u matičnim zasadima koji su isključivo namenjeni za proizvodnju reproduktionog i sadnog materijala predstavlja osnovni preduslov za efikasnu i rentabilnu rasadničku proizvodnju selekcionisanih genotipova domaće bele topole. Jedna od metoda koja to obezbeđuje je i mikropropagacija *in vitro* (Slika 2.3.1.).

Mikropropagacija je efikasan metod vegetativnog umnožavanja biljaka i kao takva je od velikog značaja u oblasti biljne proizvodnje i očuvanja biodiverziteta šumskih i hortikulturnih drvenastih vrsta. Za hortikulturu ima poseban značaj kao način vegetativnog umnožavanja genotipova posebnih estetskih vrednosti, tokom procesa oplemenivanja, ali i zbog očuvanja genetske čistoće i proizvodnje sadnog materijala.

Metoda kulture tkiva omogućava regeneraciju biljaka iz izolovanih biljnih organa, tkiva i pojedinačnih ćelija, u uslovima *in vitro*, na sterilnoj hranljivoj podlozi. Promenom sastava hranljive podloge i drugih fizičkih faktora, razviće tkiva, koje se gaji u sterilnim uslovima, može se usmeravati u željenom pravcu (Bonga, 1982).



Slika 2.3.1. Mikropropagacija (izvor: [www.youthrainbow.com](http://www.youthrainbow.com))

Pored umnožavanja, kultura *in vitro* omogućava da se u kontrolisanim uslovima vrši ispitivanje efekta raznih aktivnih materija, i drugih abiotičkih činilaca na rast i razvoj biljaka. Testiranje i selekcija genotipova u kulturi tkiva ima određene prednosti u odnosu na višegodišnje oglede u poljskim uslovima, a to su: brz odgovor, veći broj generacija, veći broj ponavljanja, kontrolisani uslovi. Kultura tkiva u ovom istraživanju je iskorišćena kao model za ispitivanje tolerantnosti genotipova prema abiotičkim činiocima u kontrolisanim uslovima.

### 3 CILJ ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA

Cilj ovog istraživanja bila je procena varijabilnosti parametara tolerantnosti genotipova bele topole (L-80, L-12, LCM, LBM i Villafranca) u uslovima *in vitro* prema abiotičkim činiocima (reakcija podloge, zaslanjenost i suša), a u cilju potrebe očuvanja i unapređenja biodiverziteta i oplemenjivanja prostora. Dobijeni rezultati iz ovog istraživanja biće od značaja u procesu selekcije genotipova bele topole za njihovo gajenje na različitim zemljištima i unapređenja metodologije testiranja genotipova *in vitro*. Ovakva istraživanja mogu biti osnov za postavku testova tolerantnosti i adaptibilnosti genotipova bele topole na uticaj abiotičkih činilaca u poljskim uslovima.

U istraživanju se pošlo od hipoteze da će se na osnovu dobijenih rezultata istraživanja morfoloških, fizioloških i biohemijskih parametara u ogledima koji su osnovani od genotipova belih topola u *in vitro* uslovima, utvrditi uticaj abiotičkih činilaca na genotipove bele topole kao i njihova reakcija na primenjene tretmane, odnosno da će se moći odabrati genotipovi koji su tolerantni na nisku pH vrednost podloge, zaslanjivanje i sušu.

Selekcija genotipova koji su tolerantni prema abiotičkim činiocima je jedan od načina rešavanja problema korišćenja zemljišta opterećenih nekim abiotičkim činiocem. Odabrani genotipovi bi se koristili bilo direktno za zasnivanje zasada na degradiranim zemljištima, bilo kao roditelji u procesu oplemenjivanja.

## 4 MATERIJAL I METODE

### 4.1 Biljni materijal

Za ogled je odabrano pet genotipova bele topole (*Populus alba* L.): srpski genotipovi u eksperimentalnoj fazi: L-80, L-12, LCM i LBM i rasprostranjeni italijanski genotip Villafranca. Izbor genotipova izvršen je po principu taksonomske i genetičke varijabilnosti. Odabrane genotipove karakteriše dobar rast u kulturi tkiva i genetička divergentnost (Guzina i Tomović, 1989; Kovačević i sar., 2013b) (Tabela 4.1.1.). Mesto ekperimentalnog rada bila je Laboratorija za mikropropagaciju i Laboratorija za fiziologiju i biohemiju Instituta za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu Univerziteta u Novom Sadu. U periodu mirovanja vegetacije, iz zbirke genotipova bele topole Instituta za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu u Novom Sadu, inicirana je kultura vrhova izbojka na osnovu apikalnog meristema aksilarnih pupova.

**Tabela 4.1.1.** Istraživani genotipovi bele topole

Naziv genotipa	Poreklo <sup>a)</sup>	Opis
<b>Villafranca</b>	Italija	Model genotip, pravo stablo uzane krošnje
<b>L-12</b>	Srbija	Eksperimentalni klon, vigorozno pravo stablo
<b>L-80</b>	Srbija	Eksperimentalni klon, vigorozno pravo stablo
<b>LCM</b>	Srbija	Genotip hortikulturnog značaja, "Boleana" oblik krošnje
<b>LBM</b>	Srbija	Genotip hortikulturnog značaja, pravo piramidalno stablo

*Legenda: <sup>a)</sup> Svi istraživani genotipovi su selektovani u Institutu za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Novi Sad, Srbija, osim klona "Villafranca" koji je selektovan u Poplar Research Institute in Casale Monferrato, Italija*

### 4.2 Program istraživanja

Na samom početku istraživanja pristupilo se umnožavanju biljnog materijala, mikropropagacijom aksilarnim pupovima. Izbojci visine 10-15 mm (Slika 4.2.1.) su 35 dana gajeni na modifikovanoj Aspen Culture Medium (Ahuja, 1984) za umnožavanje sa dodatkom 9 g/L agara i 20 g/L saharoze, 1 $\mu$ M kinetina, 1 $\mu$ M BAP i 100 mg mioinozitola (Tabela 4.2.1.). Reakcija hranljive podloge u ovom delu istraživanja je podešena na pH 5,5. Podešavanje vrednosti pH podloge je izvedeno upotrebom 1M rastvora natrijum hlorida (NaOH) i hlorovodonične kiseline (HCl).



**Slika 4.2.1.** Manipulacija biljnim materijalom u laminarnoj komori (foto: V. Vuksanović)

U ovom delu istraživanja podloga za umnožavanje je sterilisana je u autoklavu (ST-50G) na 120°C u trajanju od 25 minuta. Kulture su uzgajane na temperaturi  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  i bile izlagane na beloj svetlosti LED lampi od 3500 lx u trajanju od 16 časova dnevno. Nakon umnožavanja dobijeni izbojci visine 15-20 mm su korišćeni za postavku ogleda na eksperimentalnim podlogama za ožiljavanje. Osnova eksperimentalnih podloga bila je modifikovana Aspen Culture Medium (ACM) podloga za ožiljavanje bez hormona.



**Tabela 4.2.1.** Sastav hranljive podloge

Supstanca	Umnožavanje (mg/L)	Ožiljavanje (mg/L)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	400	400
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	556	556
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	990	990
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	96	96
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	360	360
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	170
NaFe · EDTA	40	40
MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	22,3	22,3
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	8,6	8,6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6,2
KI	0,83	0,83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
Tiamin	0,1	0,1
Nikotinska kiselina	0,5	0,5
Piridoksin	0,5	0,5
Lizin	100,00	-
NAA	0,02	-
BAP	0,5	-
Adenin sulfat	20	-
Mioinozitol	100	-
Saharoza	20000	20000
Agar	9000	9000
pH	5,5 – 5,6	5,5 – 5,6

➤ **Postavka ogleda za istraživanje tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge**

Nakon multiplikacije biljnog materijala postavljen je ogled za istraživanje tolerantnosti genotipova bele topole prema reakciji podloge. U ovom delu ogleda korišćena je modifikovana ACM podloga (Aspen Culture Medium) po Ahuja, (1984) sa dodatkom 9 g/L agara i 20 g/L saharoze i bez hormona rasta. Ova podloga se uobičajeno koristi za ožiljavanje izbojaka bele topole (Kovačević i sar., 2013a). Istraživane su tri eksperimentalne podloge pH 3,0, pH 4,0 i pH 5,5 čija je vrednost pH podešena pre

sterilizacije korištenjem limunske kiseline u cilju poboljšanja puferskog kapaciteta ovih podloga tokom kultivacije (Skirvin i sar., 1986) kao i kontrolna podloga. Limunska kiselina u monohidratnoj formi dodata je u količini od 1,2 g/L i na pH-metru su podešavane vrednosti pH korišćenjem 1M rastvora NaOH. Vrednost pH kontrolne podloge je podešena na 5,5 korišćenjem NaOH i HCl. Zbog dobro poznatih problema sa sterilizaciom podloga sa niskom pH (Kovačević i sar., 2013a; Vuksanović i sar., 2017b) podloga je u ovom delu istraživanja sterilisana u mikrotalasnoj pećnici do početka ključanja (opciono 3-5 minuta). Nakon sterilizacije podloge u mikrotalasnoj pećnici u sterilne staklene posude zapremine 190 mL razliveno je u laminarnoj komori po 25 mL modifikovane ACM podloge. Na ovaj način potencijal zgrušavanja agara je ispoljen i u podlogama sa pH 3,0 i pH 4,0.

➤ **Postavka ogleda za istraživanje tolerantnosti genotipova na prisustvo različitih koncentracija NaCl u podlozi**

Istraživana je tolerantnost genotipova bele topole na prisustvo šest različitih koncentracija soli u podlozi za ožiljavanje. Korišćena je modifikovana ACM podloga sa dodatkom 9 g/L agara i 20 g/L saharoze i bez hormona. So je u podlogama za ožiljavanje dodata u formi natrijum hlorida (NaCl) i to u koncentracijama od: 1 mM, 3mM, 10 mM, 33 mM, 100 mM i 150 mM (Slika 4.2.2.). Kao kontrolni tretman korišćena je podloga za ožiljavanje bez dodatka NaCl. Vrednost pH (5,5) podloge je kod svih istraživanih podloga u ovom delu istraživanja podešavana pre sterilizacije podloge upotrebom 1M NaOH i 1M HCl. U laminarnoj komori u sterilne staklene posude razliveno je po 25 mL podloge koja je predhodno sterilisana u mikrotalasnoj pećnici do početka ključanja.



**Slika 4.2.2.** Ogled istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo različitih koncentracija NaCl u podlozi (foto: V. Vuksanović)

➤ **Postavka ogleda za istraživanje tolerantnosti genotipova prema suši izazvanoj dodavanjem različitih koncentracija PEG 6000 u podlozi**

Korišćena je modifikovana ACM podloga sa dodatkom 9 g/L agara i 20 g/L saharoze i bez hormona. Istraživan je efekat četiri koncentracije polyeten glycola (PEG 6000): 1 g/L, 10 g/L, 20 g/L i 50 g/L u podlozi za ožiljavanje, kao i podloga za ožiljavanje bez PEG-a (kontrolna podloga).

U svim ogledima kulture su uzgajane u sterilnim staklenim bočicama zapremine 120 mL sa po 25 mL podloge na temperaturi  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  i bile izložene beloj svetlosti LED lampi od 3500 lx u 16h/8h režimu dan/noć u periodu od 35 dana.

#### **4.3 Priprema ekstrakta**

Za određivanje sadržaja fotosintetičkih pigmenata i biohemijskih parametara u ogledima istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji i zaslanjenosti podloge etanolni ekstrakti dobijeni su ekstrakcijom 100 mg svežeg biljnog materijala (izbojak) sa 2 mL 96% etanola, dok su etanolni ekstrakti u ogledu istraživanja tolerantnosti

genotipova prema suši dobijeni ekstrakcijom 10 mg liofilizovanog biljnog materijala (izbojak) u 96% etanolu. Izmerene mase uzorka su izmacerirane tučkom u avanu bez dodatka kvarcnog peska. Maceriranje je obavljeno brzo uz dodatak 1 mL etanola, nakon čega je sadržaj iz avana kvantitativno prenet u sterilne ependorfice zapremine 2,5 mL (Slika 4.3.1.). Avan je nekoliko puta ispran etanolom, nakon čega su ependorfice napunjene do 2 mL ukupne zapremine. Ependorfice su snažno promešane na vorteks aparatu, potom ostavljene u ultrazvučnom kupatilu 10 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim je homogenat centrifugiran 30 minuta na 16000 obrtaja/min. na temperaturi 4°C. Dobijeni supernatant korišćen je za određivanje sadržaja fotosintetičkih pigmenata, fenola i flavonoida, FRAP, ABTS i DPPH testa.

Nakon liofilizacije samleveni liofilizati su korišćeni za određivanje fotosintetičkih pigmenata i biohemijskih parametara (sadržaja ukupnih fenola, ukupnih flavonoida, FRAP test, DPPH test, ABTS test, određivanje sadržaja prolina i glicin betaina) u ogledu u kojem je istraživana tolerantnost genotipova bele topole prema suši izazvanoj dodavanjem različitih koncentracija polietilen glikola (PEG 6000) u podlozi.



Slika 4.3.1. Priprema etanolinog ekstrakta (foto: V. Vuksanović)

#### 4.4 Istraživani parametri

Na kraju uzgoja svakog ogleda pristupilo se merenju morfoloških, parametara biomase, fotosintetičkih i biohemijskih parametara biljaka.

Istraživana su sledeća svojstva:

- **morfološki parametri:** visina izbojka (mm) (VI), broj novih korenova prvog reda (BK), dužina najdužeg korena (mm) (DK), procenat

preživljavanja (%) (PP) i procenat ožiljavanja (%) (PO), pri čemu se procenat ožiljavanja odnosio na procenat ožiljavanja preživelih eksplantanata,

- **parametri biomase:** sveža masa izbojaka (g), suva masa izbojaka (g), sveža masa korenova (g), suva masa korenova (g), sadržaj vlage u izbojku i odnos suve mase korena i izbojka,
- **sadržaj fotosintetičkih pigmenta:** sadržaj hlorofila a u svežoj masi izbojaka (mg/g), sadržaj hlorofila b u svežoj masi izbojaka (mg/g), sadržaj karotenoida u svežoj masi izbojaka (mg/g), sadržaj hlorofila a+b u svežoj masi izbojaka (mg/g) i odnos hlorofila a i b,
- **biohemijski parametri:** sposobnost neutralizacije radikala DPPH i ABTS test (RSC-radical scavenger capacity), određivanje redukcionne sposobnosti ekstrakta FRAP-testom, određivanje sadržaja ukupnih fenola i određivanje sadržaja ukupnih flavonoida.

U ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova bele topole na prisustvo različitih koncentracija NaCl u podlozi osim gore navedenih parametara istraživani su i sadržaj natrijuma, kalijuma i magnezijuma kao i odnos kalijuma i natrijuma, dok je u ogledu u kojem je istraživani uticaj suše pored navedenih biohemijskih parametara određen je i sadržaj prolina i glicin betaina.

#### 4.4.1 Parametri biomase

Masa svežih listova po teglici i masa svežih korenčića po teglici je izmerena na analitičkoj vagi. Odmah nakon merenja uzorci sveže mase su upakovani u papirne vrećice kako bi se sprečio ulazak vlage (Slika 4.4.1.1.). Tako upakovani i obeleženi uzorci su ostavljeni na sušenje u sušnici na 105°C kako bi se zaustavila enzimaska aktivnost. Nakon 24h sušenja uzorci su ponovo izmereni na analitičkoj vagi.



**Slika 4.4.1.1.** Pakovanje i merenje biljnog materijala (foto: V. Vuksanović)

U okviru oglada istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši, sušenje uzoraka je obavljeno postupkom liofilizacije (engl. Freeze Drying), koji podrazumeva uklanjanje vode iz zamrznutog uzorka procesom sublimacije i desorpcije, pod vakuumom (Nakagawa i sar., 2011). Uzorci su podvrgnuti procesu liofilizacije u laboratorijskim uslovima Prirodno matematičkog fakulteta u zamrznutom stanju ( $-30^{\circ}\text{C}$ ). Pri temperaturnom gradijentu od  $-30^{\circ}\text{C}$  do  $+30^{\circ}\text{C}$  proces liofilizacije je trajao 72h.

#### 4.4.2 Sadržaj fotosintetičkih pigmenata

Hlorofili su pigmenti koji biljkama daju zelenu boju, predstavljaju esencijalne komponente za fotosintezu i nalaze se u hloroplastima (Davies, 2004). Hlorofil a i hlorofil b su glavni tipovi hlorofila koji se nalaze u višim biljkama i imaju ključnu ulogu u usvajanju sunčeve energije u procesu asimilacije organske materije. Karotenoidi su velika grupa u prirodi rasprostranjenih pigmenata prisutnih u svim zelenim tkivima, gde su konstituenti hloroplasta, a odgovorni su i za žutu i crvenu boju voća i povrća (Popović, 2005). U fotosintetičkim tkivima karotenoidi imaju fotozaštitnu ulogu, takođe učestvuju kao pomoćni pigmenti u asimilaciji svetlosti i konačno, oni su prekursori u biosintezi esencijalnog biljnog hormona absicinske kiseline (Popović, 2005).

Određivanje sadržaja fotosintetičkih pigmenata je obavljeno putem spektrofotometrije. Spektrofotometrija je optička metoda kojom je moguće vršiti kvalitativne i kvantitativne analize supstance u rastvoru na osnovu apsorpcije

monohromatskog elektromagnetnog zračenja koje prolazi kroz nju. Nakon ekstrakcije fotosintetičkih pigmenata u etanolu pristupilo se merenju apsorpcije svetlosti na spektrofotometru MultiScan (Thermo Fisher Scientific, model Multiscan GO, USA) (Slika 4.4.2.1.).



**Slika 4.4.2.1.** Merenje fotosintetičkih pigmenata pomoću spektrofotometra (foto: V. Vuksanović)

Merenje je vršeno u odnosu na referentni uzorak - "slepa proba" za šta je korišćen čist rastvarač (96% etanol). Na početku rada sa spektrofotometrom izvršena je kalibracija instrumenta koja podrazumeva podešavanje nulte vrednosti apsorpcije (100% transmisija) za slepu probu kako bi se otklonila greška u izmerenoj apsorpciji koja potiče od apsorpcije čistog rastvarača. Za merenje apsorpcije etanolnih ekstrakta korišćena je staklena kiveta sa zapreminom uzoraka i slepe probe od 1 mL. Vrednosti apsorpcije na određenim talasnim dužinama su korišćene za izračunavanje sadržaja pojedinih fotosintetičkih pigmenata u uzorku, po formulama prema Lichtenthaler i Wellbum (1983):

$$\text{hlorofil a: } Chla = 13,95 \cdot A_{665} - 6,88 \cdot A_{649},$$

$$\text{hlorofil b: } Chlb = 24,96 \cdot A_{649} - 7,32 \cdot A_{665}$$

$$\text{karotenoidi: } Car = (1000 \cdot A_{470} - 2,05 \cdot Chla - 114,8 \cdot Chlb) / 245.$$

Dobijeni rezultati su izraženi u miligramima po gramu sveže mase izbojaka kod istraživanja uticaja kiselosti i zalanjenosti, dok su kod istraživanja uticaja suše rezultati izraženi u miligramima po gramu suve mase izbojaka.

#### 4.4.3 Određivanje sadržaja natrijuma, kalijuma i magnezijuma

Za određivanje sadržaja natrijuma, kalijuma i magnezijuma korišćen je atomski apsorpcioni spektrofotometar proizvođača Varian (Slika 4.4.3.1.). Atomska apsorpciona spektrofotometrija (AAS) je metoda koja se zasniva na pojavi da atomi jednog elementa apsorbuju zračenje tačno određene talasne dužine. Kvantitativna analiza se jednostavno vrši merenjem zračenja apsorbovanog od strane uzorka u plamenu. Izbor metode pripreme uzorka direktno utiče na tačnost kvantitativne analize. U ovom istraživanju uzorci za određivanje sadržaja Na, K i Mg su pripremljeni metodom mikrotalasne digestije (eng. microwave assisted digestion). Najvažnija prednost digestije potpomognute mikrotalasima je što omogućavaju razvijanje temperature digestije daleko veće nego što su tačke ključanja datih kiselina što dodatno ubrzava digestiju (Kebert, 2014).



**Slika 4.4.3.1.** Priprema uzoraka za atomsku apsorpcionu spektrofotometriju (foto: V. Vuksanović)



Matični rastvori za AAS pripremljeni su tako što je na analitičkoj vagi izmereno po 0,03 g osušenog i prašenog biljnog materijala. Izmereni biljni materijal prebačen je u kivete u koje je pipetom dodato po 10 mL  $\text{ccHNO}_3$  i 2 mL  $\text{ccH}_2\text{O}_2$ . Kivete su zaptivane prstenom i zaključavane imbus torzionim zavrtnjem momenta sile 10 Nm, kako bi se u svakoj kiveti uspostavio isti pritisak (Slika 4.4.3.2.). Nakon zatvaranja kivete su postavljane u rotor unutar peći za mikrotalasnu digestiju koja je podešena na temperaturni program prikazan u Tabeli 4.4.3.1.



**Slika 4.3.1.2.** Priprema matičnih rastvora mikrotalasnom digestijom (foto: V. Vuksanović)

**Tabela 4.4.3.1.** Program tretmana uzoraka prilikom digestije u mikrotalasnoj pećnici

Vreme [min]	Temperatura [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Snaga grejača [W]
10	180	900
10	180	900
15	Provetranje	

Legenda: Izvor: Kebert, 2014.

#### 4.4.4 Određivanja sadržaja ukupnih fenola

Fenoli su hemijska jedinjenja koje karakteriše najmanje jedan aromatični prsten (C6). Nalaze se u vakuolama i lako se oksiduju (Kebert, 2014). Prema Tsai i sar., (2006) vrste roda *Populus* sadrže veliku količinu fenola.

Sadržaj ukupnih fenola određen je po metodi Kim i sar., (2003) koja se zasniva na reakciji fenolnih jedinjenja sa FolinCiocalteu-ovim reagensom (FC). Metod je spektrofometrijski i zasnovan je na oksidaciji molekula koji sadrže fenolne funkcionalne grupe (Kebert, 2014). Neredukovani FCR je žute boje, dok redukovani ima stabilnu plavu boju. Intenzitet bojenja meri se određivanjem absorbance u odnosu na slepu probu (Kebert, 2014). Prilikom određivanja sadržaja ukupnih fenolna koršćeni su sledeći reagensi:

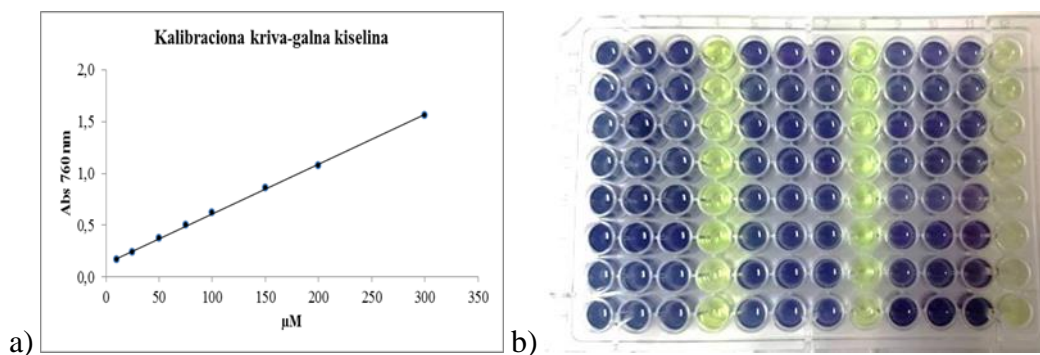
- 0,1 mol/L Folin-Ciocalteu reagens (FC reagens): dobijen je rastvaranjem 2,5 mL 2M FC reagensu u 50 mL destilovane vode,
- 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dobijen rastvaranjem 7,5 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> u 100 mL destilovane vode.
- Za formiranje krive korišćen je rastvor galne kiseline (1 mg/mL).

Radne probe su pripremljene za svaki uzorak u tri ponavljanja (Slika 4.4.4.1.a; 4.4.4.1.b) prema sledećem rasporedu:

- 25 µL istraživanog etanolnog ekstrakta ili standarda (galna kiselina u rasponu koncentracija od 50 do 500 mg/mL ) dodato je 125 µL 0,1 mol/L FC reagensu i reakciona smeša je inkubirana na sobnoj temperaturi 2 minuta, potom je dodato 100 µL 7,5% rastvora Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

Reakciona smeša je inkubirana 10 minuta na sobnoj temperaturi, a potom je absorbancia očitavana na talasnoj dužini od  $\lambda=760$  nm.

Dobijeni rezultati su izraženi u miligramima ekvivalenta galne kiseline po gramu sveže (kod istraživanja uticaja niske pH i zaslanjenosti) odnosno suve (kod istraživanja uticaja suše) mase izbojaka (mg GAE/g).



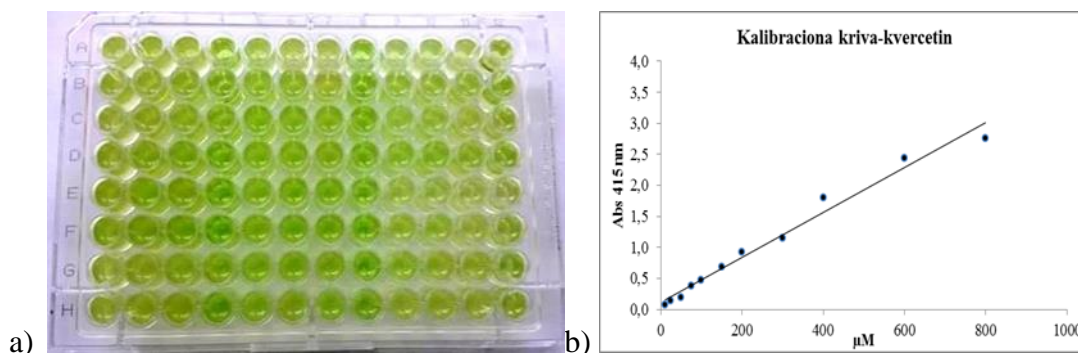
**Slika 4.4.4.1.** a) Kalibraciona kriva galne kiseline, b) izgled mikrotitar ploče nakon određivanja sadržaja ukupnih fenola (foto: V. Vuksanović)

#### 4.4.5 Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

Flavonoidi i njihovi glikozidi imaju osobinu da sa metalima grade odgovarajuće metalne komplekse (Jia i Zhang 1999). Naročito je važan kompleks sa  $Al^{3+}$ . Sadržaj flavonoida određen je primenom  $AlCl_3$  kao reagensa spektrofotometrijskom metodom (Chang i sar., 2002). U postupku određivanja sadržaja ukupnih flavonoida korišćeni su sledeći reagensi:

- 1 M  $NaCH_3COO$  (4,1g  $NaCH_3COO_3 \cdot H_2O$  rastvoreno u 50 mL destilovane vode),
- 0,75 M  $AlCl_3$  (5.0025 g  $AlCl_3 \cdot 3H_2O$  rastvoreno u 50 mL destilovane vode)

U 30  $\mu L$  biljnog ekstrakta u mikrotitar ploči ispipetirano je 90  $\mu L$  MeOH, 6  $\mu L$   $NaCH_3COO$ , 6  $\mu L$   $AlCl_3$  i 150  $\mu L$  destilovane vode u tri ponavljanja (Slika 4.4.5.1.a; 4.4.5.1.b). Apsorbanca je nakon 10 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi izmerena na talasnoj dužini od  $\lambda=415$  nm. Sadržaj flavonoida izražen je u miligramima ekvivalenta kvercetina (QE) po gramu sveže (kod istraživanja uticaja niske pH i zaslanjenosti) odnosno suve (kod istraživanja uticaja suše) mase izbojaka izračunatog na osnovu kalibracione krive, konstruisane kao zavisnost apsorbance i serije koncentracije rastvora kvercentina.



**Slika 4.4.5.1. a)** Izgled mikrotitar ploče nakon određivanja sadržaja ukupnih flavonoida, **b)** kalibraciona kriva (foto: V. Vuksanović)

#### 4.4.6 Određivanje redukcionne sposobnosti ekstrakta FRAP testom

Metoda FRAP testa (ferric reducing ability of plasma) je spektrofometrijska metoda koja se zasniva na nespecifičnoj reakciji po kojoj svaki sistem koji ima manje pozitivan redoks potencijal od sistema  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ/ $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ dovodi do redukcije  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ (Benzie, 1996). U ovoj proceduri korišćeni su sledeći reagensi:

- FRAP reagens

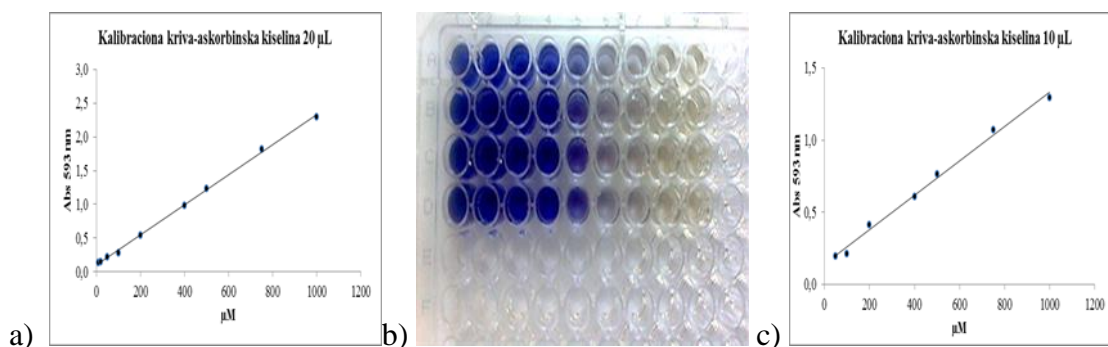
Za dobijanje FRAP reagensa neophodno je bilo pripremiti tri različita rastvora koji se mešaju u odnosu 10:1:1 (Acetatni pufer: TPTZ:  $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Acetatni pufer je dobijen rastvaranjem 0,31 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$  i 1,6 mL  $\text{ccCH}_3\text{COOH}$  u 100 mL destilovane vode. Vrednost pH acetatnog pufera iznosi 3,6. Rastvor 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , dobijen rastvaranjem 0,0541 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  u 10 mL destilovane vode. TPTZ rastvor je dobijen rastvaranjem 0,0312 g TPTZ u 10 mL 40 mM HCl, rastvaranjem 0,086 mL koncentrovane HCl u 25 mL destilovane vode dobija se razblažena HCl (40 mM).

- Rastvor askorbinske kiseline

Za konstruisanje standardne krive korišćen je rastvor askorbinske kiseline dobijen rastvaranjem 0,017613 g askorbinske kiseline (ASC) u 100 mL destilovane vode.

Kod istraživanja uticaja niskog pH i suše radne probe su se sastojale iz 20  $\mu\text{L}$  istraživanog ekstrakta ili standarda, 225  $\mu\text{L}$  FRAP reagensa i 15  $\mu\text{L}$  destilovane vode, dok su se radne probe u ogledu istraživanja tolerantnosti prema zaslanjenosti podloge sastojale iz 10  $\mu\text{L}$  istraživanog ekstrakta ili standarda, 225  $\mu\text{L}$  FRAP reagensa i 25  $\mu\text{L}$  destilovane vode.

Tamno plavo obojenje nastalo je nakon 5 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi (Slika 4.4.6.1.b). Apsorbance su očitavane na talasnoj dužini od  $\lambda=593$  nm. Vrednost FRAP-a je izračunata na osnovu standardne kalibracione krive sa askorbinskom kiselinom (Slika 4.4.6.1.a; 4.4.6.1.c) i izražena kao ekvivalent askorbinske kiseline po gramu sveže (kod istraživanja uticaja niske pH i zaslanjenosti) odnosno suve (kod istraživanja uticaja suše) mase izbojaka (mg ASC/g).



**Slika 4.4.6.1.** a) Kalibraciona kriva korišćena u ogledima istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge i suši, b) izgled mikrotitar ploče nakon određivanja redukcione sposobnosti ekstrakta, c) kalibraciona kriva korišćena u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema zaslanjenosti (foto: V. Vuksanović)

#### 4.4.7 Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala

Antioksidativna sposobnost etanolnih ekstrakta određena je DPPH testom po metodi Arnao (2000). Metoda se zasniva na spektrofometrijskom praćenju transformacije ljubičasto obojenog, stabilnog, azot centriranog DPPH<sup>+</sup> radikala (2,2'-difetil-1-pikrilhidrazila) u redukovanu, žuto obojenu formu DPPH-H (Kebert, 2014). Apsorpcioni maksimum DPPH se nalazi na 515 nm. U prisustvu potencijalnih donora elektrona dolazi do neutralizacije radikala i prelaska u neutralni oblik, što je praćeno promenom apsorbance i iščezavanjem ljubičaste boje rastvora (Kebert, 2014).

U postupku određivanja korišćen je 0,4 mM osnovni rastvor DPPH koje je dobijen rastvaranjem 0,0157 g DPPH u 100 mL 96% etanola. Radni rastvor dobijen je rastvaranjem 22,5 mL osnovnog rastvora DPPH u 100 mL metanola na dan očitavanja.

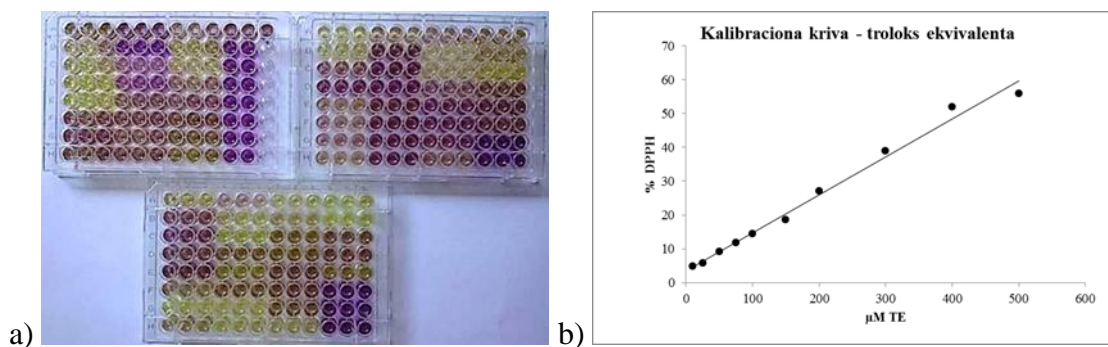
U 10 µL ekstrakta dodato je 270 µL DPPH reagensa smeša je inkubirana 5 minuta na sobnoj temperaturi (Slika 4.4.7.1.a), a potom je apsorbance očitavana na

talasnoj dužini od  $\lambda=515$  nm. Procenat inhibicije DPPH<sup>+</sup> radikala određen je prema formuli:

$$\text{RSC [\%]} = (A_{\text{radne probe}} - A_{\text{korekcije}}) / A_{\text{kontrolne}} \cdot 100\%$$

Gde  $A_{\text{kontrolne}}$  predstavljaju slepe probe, koje sadrže samo DPPH (280  $\mu\text{L}$ ).

Sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala u ogledima istraživanja tolerantnosti genotipova bele topole prema reakciji podloge i zaslanjenosti podloge izražena je brojem troloks ekvivalenata (TE-trolox equivalnt) po gramu svežeg biljnog materijala dobijenih ekstrapolacijom sa standardne kalibracione krive (Slika 4.4.7.1.b).



**Slika 4.4.7.1. a)** Izgled mikrotitar ploče nakon određivanja sposobnosti neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala; **b)** kalibraciona kriva troloks ekvivalenata (foto: V. Vuksanović)

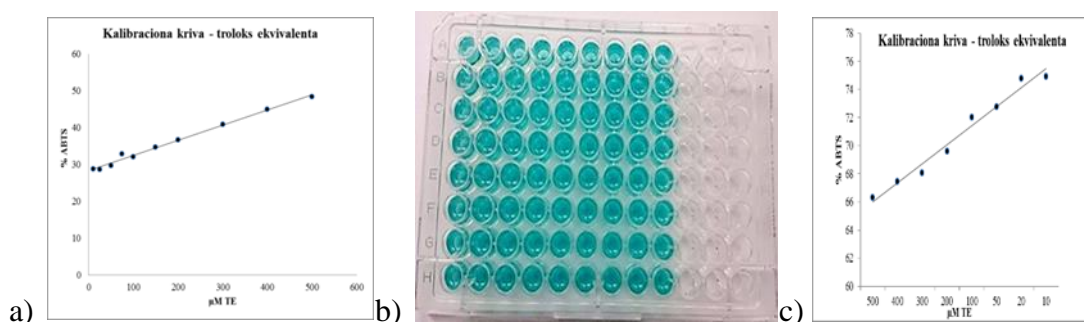
#### 4.4.8 Određivanje sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala

Test za merenje sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala je spektrofotometrijski metod izražen troloks ekvivalentima (Miller, 1997).

Postupak određivanja obuhvatao je najpre pripremu osnovnog 7 mM ABTS rastvora koji je pripremljen 16h pre početka merenja, rastvaranjem 38,4 mg ABTS-a u 10 mL H<sub>2</sub>O) pomešan sa 2,45 mM kalijum persulfata (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), ova smeša je razvila tamno plavo obojenje. Na dan korišćenja, osnovni rastvor je razblažen sa 96% etanolom (600 $\mu\text{L}$  ABTS u 40 mL etanola), kako bi se postigla apsorbanca osnovnog rastvora između 0,8-0,9 na  $\lambda=734$  nm.

Reakciona smeša dobijena je mešanjem 10  $\mu\text{L}$  ekstrakta u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge i suši odnosno 5  $\mu\text{L}$  u ogledu istraživanja tolerantnosti prema zaslanjenoj podlozi sa radnim rastvorom ABTS-a tako

da ukupna zapremina ekstrakta i rastvora bude 280  $\mu\text{L}$ . Smeša je inkubirana na sobnoj temperaturi a potom absorbance očitane na spektrofotometru (Slika 4.4.8.1.b). Sposobnost neutralizacije  $\text{ABTS}^+$  radikala u oglelima istraživanja tolerantnosti genotipova prema niskoj pH i zaslanjenosti izražena je brojem troloks ekvivalenata (TE) po gramu sveže mase izbojaka na osnovu konstruisanih kalibracionih kriva (Slika 4.4.8.1.a i 4.4.8.1.c), dok je sposobnost neutralizacije  $\text{ABTS}^+$  radikala u oglelu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši izražen u procentima.



**Slika 4.4.8.1.** a) Kalibraciona kriva (10  $\mu\text{L}$  ekstrakta); b) izgled mikrotitar ploče nakon određivanja sposobnosti neutralizacije  $\text{ABTS}^+$  radikala; c) kalibraciona kriva (5  $\mu\text{L}$  ekstrakta) (foto: V. Vuksanović)

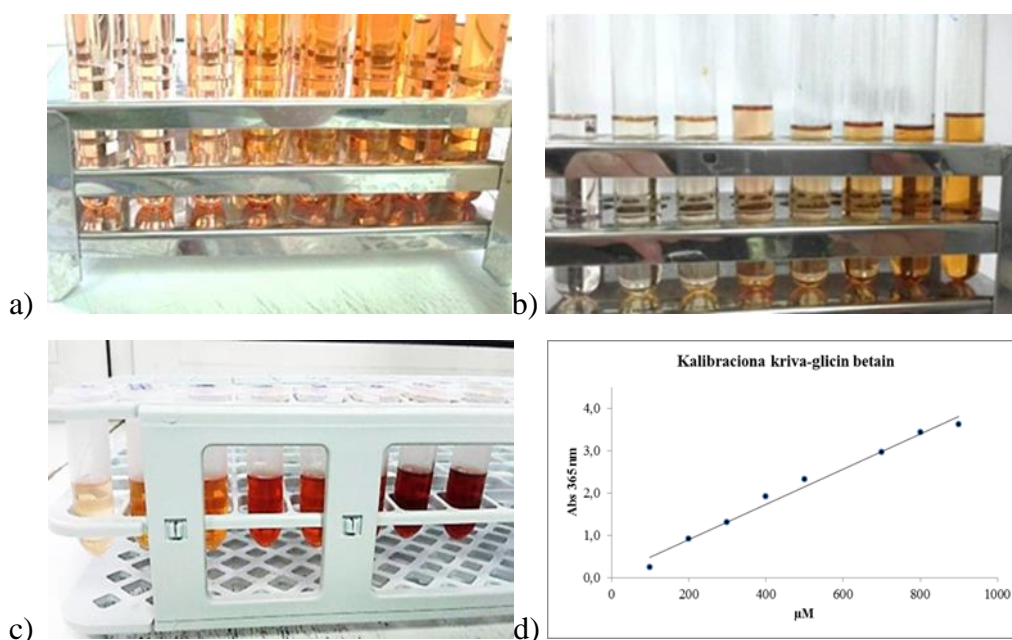
#### 4.4.9 Određivanje sadržaja glicin betaina (glycine betaine GB)

Veliki broj istraživača smatra da se glicin betain javlja kao odgovor na stres suše (Mansour, 2000; Mohanty i sar., 2002; Yang i sar., 2005). Nalazi se uglavnom u hloroplastima gde ima funkciju zaštite tilakoidne membrane i time održava fotosintetičku aktivnost. Glicin betain se akumulira kao odgovor na stres kod mnogih biljnih vrsta kao što su šećerna repa, pšenica, španać i sirak (Ashraf i Foolad 2007). Najčešće na stres tolerantni genotipovi akumuliraju više glicin betaina od osetljivih genotipova.

Sadržaj glicin betaina određen je modifikovanom metodom Grieve i Grattan (1983). Oko 10 mg liofilizovanog biljnog materijala homogenizovano je sa 500  $\mu\text{L}$  1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Homogenat je snažno promešan na vorteks aparatu 5 minuta, a potom je smeša tretirana ultrazvukom u ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 10 minuta. Nakon mešanja, homogenat je centrifugiran na 13200 obrtaja/min. na  $0^\circ\text{C}$  u trajanju od 30 minuta. Nakon centrifugiranja odvojeno je 250  $\mu\text{L}$  supernatanta i dodato 100  $\mu\text{L}$  hladnog  $\text{KI/I}_2$  rastvora (pripremljenog rastvaranjem 20 g kalijum jodida i 17,5 g joda u 100 mL

destilovane vode). Smeša je ostavljena 16h u frižideru na temperaturi od 4°C. Posle drugog centrifugiranja na 13200 obrtaja/min. na temperaturi 0°C u trajanju od 30 minuta supernatant je pažljivo usisan pipetom, a trijodidni kristali su rastvoreni u 9 mL 1,2-dihloretana (Slika 4.4.9.1.a i b) korišćenjem ultrazvučnog kupatila i apsorbancu smeše je očitavana na talasnoj dužini od  $\lambda=365$  nm na MultiScan spektrofotometru.

Glicin betain je korišćen kao kalibrator za konstruisanje standardne krive u opsegu koncentracija između 50-200  $\mu\text{g/mL}$  (Slika 4.4.9.1.c i 4.4.9.1.d).



**Slika 4.4.9.1.** a) i b) Pripremljeni uzorci za određivanje sadržaja glicin betaina; c) različite koncentracije glicin betaina za konstruisanje kalibracione krive; d) izgled kalibracione krive (foto: V. Vuksanović)

#### 4.4.10 Određivanje sadržaja prolina

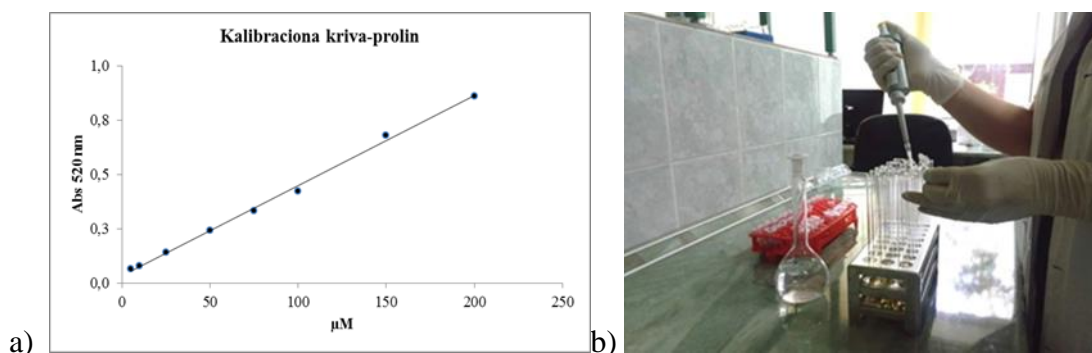
Sadržaj slobodnog prolina u ekstraktima određen je spektrofotometrijski, metodom prema Bates i sar., (1973), koja se zasniva na reakciji prolina i ninhidrina. Prilikom određivanja sadržaja prolina korišćeni su sledeći reagensi;

- 3% sulfosalicilna kiselina (dobijena rastvaranjem 3 g sulfosalicilne kiseline u 100 mL destilovane vode),



- 1,5 g ninhidrina rastvoreno u 60 mL rastvarača (60 mL rastvarača dobijeno mešanjem 36 mL glacijalne sirćetne kiseline + 18 mL destilovane vode i 6 mL ortofosforne keseline)
- toluen.

Reakciona smeša dobijena je rastvaranjem 20 mg liofilizovaog biljnog materijala sa 1 mL 3% sulfosalicilne kiseline, zatim je smeša izmešana na vorteks aparatu i centrifugirana 10 minuta na 13200 obrtaja/min., nakon centrifugiranja pažljivo je odvojen supernatant. U sterilne staklene epruvete pipetirano je 700  $\mu$ L supernatanta, 700  $\mu$ L glacijalne sirćetne kiseline i 700  $\mu$ L rastvora ninhidrina (Slika 4.4.10.1.b). Ovako pripremljeni uzorak je inkubiran 1h u vodenom kupatilu na temperaturi od 95°C, nakon čega nastaje obojeni kompleks. Reakcija je zaustavljena premeštanjem uzorka u ledeno kupatilo. Bojeno jedinjenje koje je nastalo kao rezultat reakcije prolina i ninhidrida je estrahovano sa 2 mL toluena uz energično mešanje na vorteks aparatu. Kada su se slojevi razdvojili gornji toluenski sloj je pipetiran u kivete i nakon dovođenja rastvora na sobnu temperaturu apsorbancija je očitavana na spektrofotomeru na talasnoj dužini od  $\lambda=520$  nm. Koncentracija prolina je izračunata na osnovu prethodno formirane standardne krive u rasponu koncentracija od 1 do 500  $\mu$ M standardnog prolina (Slika 4.4.10.1.a).



**Slika 4.4.10.1.** a) Kalibraciona kriva različitih koncentracija prolina; b) priprema uzoraka za određivanje sadržaja prolina

#### 4.5 Statistička obrada podataka

Ogled je koncipiran po dizajnu potpuno slučajnog rasporeda, sa po pet ponavljanja kod morfoloških i parametara biomase, a sa po četiri ponavljanja kod fotosintetičkih i biohemijjskih parametara i sa po tri ponavljanja kod određivanja sadržaja prolina, glicin betaina, natrijuma, kalijuma i magnezijuma. Kod morfoloških parametara jedno ponavljanje je činila srednja vrednost po biljci, a kod parametara biomase jedno ponavljanje je činila srednja vrednost po teglici. U istraživanjima u ovoj disertaciji došlo je do značajnog citotoksičnog efekta koji se manifestovao pojavom hloroze i nekroze i odsustvom formiranja korena kod genotipova koji su rasli na podlogama u kojima je koncentracija soli bila 150 mM NaCl te su ovi rezultati isključeni iz dalje statističke analize. U svakoj teglici postavljeno je po pet vrhova izbojaka. Dobijeni rezultati su obrađeni metodom dvofaktorijalne analize varijanse, a značajnost razlike između pojedinih tretmana, genotipova i njihovih interakcija su testirane testom najmanje značajne razlike (NZR test) za nivo značajnosti  $p < 0,05$ . Broj korenova je transformisan kvadratnom transformacijom ( $\sqrt{X+1}$ ), a procenat preživljavanja i procenat ožiljavanja arcsin transformacijom ( $\arcsin \sqrt{X}$ ), kako bi se dobila normalna distribucija frekvencija, što je uslov za primenu korišćenih testova parametarske statistike. Odnos između istraživanih parametara opisan je primenom Pirsonovog koeficijenta korelacije i analize glavnih komponenti (Principal component analysis–PCA). U analizi glavnih komponenti korišćena je korelaciona matrica za unos podataka, a odnos između svojstava je sagledavan na osnovu opterećenja prve dve glavne komponente. Za obradu podataka korišćen je programski paket STATISTICA 13 (TIBCO, 2017).

## 5 REZULTATI ISTRAŽIVANJA

### 5.1 Rezultati istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge u *in vitro* uslovima

#### 5.1.1 Rezultati morfoloških parametara

Rezultati analize varijanse nakon 35 dana kultivacije *in vitro* su pokazali da je kod svih istraživanih morfoloških parametara uticaj istraživanih podloga kao faktora variranja statistički visoko značajan. Takođe, dobijeni rezultati kod većine istraživanih parametara, pokazuju da je i uticaj istraživanih genotipova kao faktora variranja statistički značajan. Interakcija genotip  $\times$  podloga, koja opisuje razlike u reakciji genotipova na istraživane podloge, nije pokazala statistički značajan uticaj samo kod procenta preživljavanja (Tabela 5.1.1.1.).

**Tabela 5.1.1.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A $\times$ B
Visina izbojka (mm)	11,82 <sup>b)**</sup>	40,55 **	3,83 **
Broj korenova	7,70 **	29,62 **	4,45 **
Dužina najdužeg korena (mm)	8,16 **	34,04 **	6,35 **
Preživljavanje (%)	1,42	4,99 **	0,80
Ožiljavanje (%)	2,11	9,22 **	2,45 **

Legenda: <sup>a)</sup> Stepni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepni slobode za podlogu:  $df_B = 3$ ; stepni slobode za interakciju A  $\times$  B:  $df_{A \times B} = 12$ ; stepni slobode za pogrešku:  $df_{ERR} = 74$  i stepni slobode totala  $df_T = 93$ . <sup>b)</sup> \* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

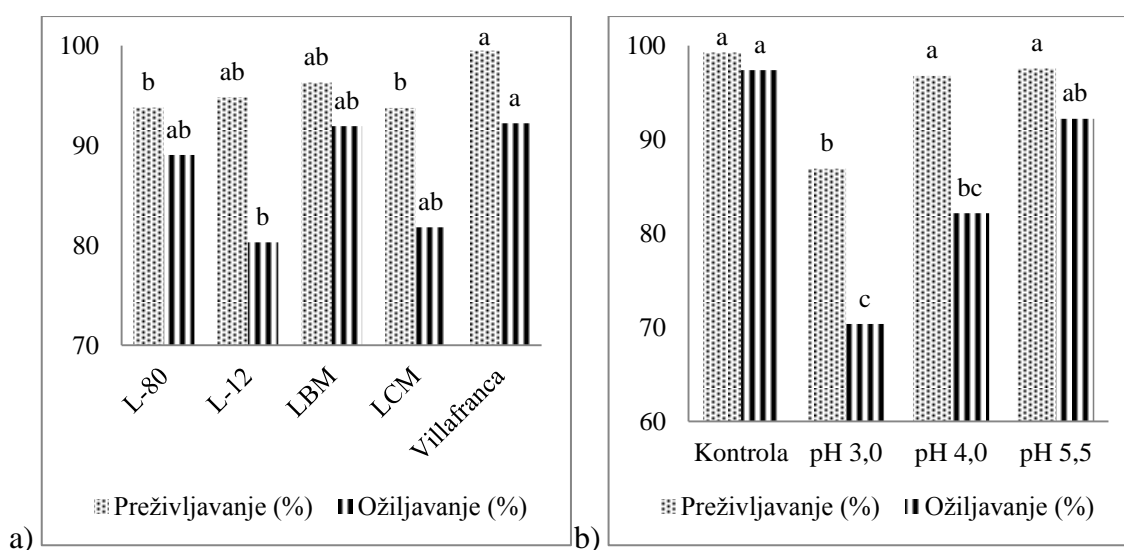
Prema F vrednostima dobijenim dvofaktorijalnom analizom varijanse, najjači efekat na variranje kod istraživanih morfoloških parametara je ostvaren razlikama u vrednosti pH podloge.

Ukupno gledano najbolji rezultati rasta izbojka su ostvareni kod genotipa L-80 (Tabela 5.1.1.2), a najbolji rezultat preživljavanja i ožiljavanja je dobijen kod genotipa Villafranca (Grafikon 5.1.1.1.a). Najlošije rezultate za istraživane morfološke parametre ostvario je genotip LCM. Takođe, ukupno gledano, sva morfološka svojstva su pokazala značajnu razliku između pH 3,0 i podloge pH 5,5 (sa dodatkom limunske kiseline), pri čemu su posebno jasno reagovali svojstva korena i visina izbojka (Tabela 5.1.1.2.).

**Tabela 5.1.1.2.** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova i podloga za morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

	Visina izbojka (mm)	Broj korenova	Dužina najdužeg korena (mm)
<b>Genotip</b>			
<b>L-80</b>	25,80 <sup>a*)</sup>	1,07 <sup>b</sup>	27,52 <sup>a</sup>
<b>L-12</b>	18,67 <sup>bc</sup>	0,95 <sup>c</sup>	25,75 <sup>b</sup>
<b>LBM</b>	21,42 <sup>b</sup>	1,18 <sup>a</sup>	20,37 <sup>b</sup>
<b>LCM</b>	16,18 <sup>c</sup>	1,01 <sup>bc</sup>	15,88 <sup>b</sup>
<b>Villafranca</b>	24,96 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>	15,76 <sup>b</sup>
<b>Podloga</b>			
<b>Kontrola</b>	29,17 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	23,39 <sup>a</sup>
<b>pH 3,0</b>	12,45 <sup>c</sup>	0,89 <sup>c</sup>	6,99 <sup>b</sup>
<b>pH 4,0</b>	21,17 <sup>b</sup>	0,98 <sup>c</sup>	25,70 <sup>a</sup>
<b>pH 5,5</b>	23,18 <sup>b</sup>	1,10 <sup>b</sup>	27,17 <sup>a</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti posmatranog parametra obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.1.1.1.** Preživljavanje i ožiljavanje eksplantanata: **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

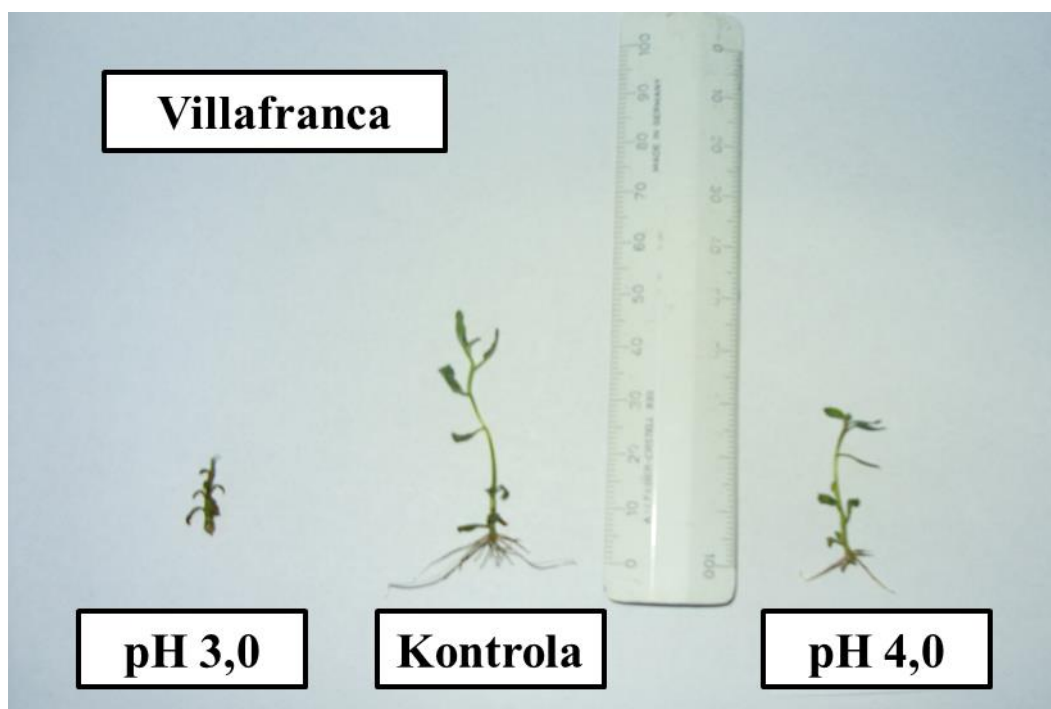
**Tabela 5.1.1.3.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za istraživane morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

Genotip	Podloga	VI (mm)	BK	DK (mm)	PP (%)	PO (%)
L-80	Kontrola	38,16 <sup>a*)</sup>	1,44 <sup>a</sup>	28,39 <sup>bcd</sup>	99 <sup>a</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-12	Kontrola	20,10 <sup>efgh</sup>	1,00 <sup>defghi</sup>	24,30 <sup>def</sup>	100 <sup>a</sup>	80 <sup>cdefg</sup>
LBM	Kontrola	33,12 <sup>abc</sup>	1,42 <sup>ab</sup>	34,61 <sup>bc</sup>	99 <sup>a</sup>	99 <sup>ab</sup>
LCM	Kontrola	17,38 <sup>fghi</sup>	1,12 <sup>cdef</sup>	15,25 <sup>fghi</sup>	95 <sup>abc</sup>	95 <sup>abcd</sup>
Villafranca	Kontrola	35,28 <sup>ab</sup>	1,44 <sup>a</sup>	14,56 <sup>ghi</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-80	pH 3,0	13,85 <sup>hij</sup>	0,82 <sup>hij</sup>	12,39 <sup>hij</sup>	73 <sup>c</sup>	86 <sup>abcdefg</sup>
L-12	pH 3,0	12,09 <sup>ij</sup>	0,89 <sup>ghij</sup>	6,33 <sup>ij</sup>	77 <sup>bc</sup>	64 <sup>fgh</sup>
LBM	pH 3,0	15,03 <sup>ghij</sup>	1,12 <sup>cdef</sup>	8,79 <sup>hij</sup>	93 <sup>abc</sup>	93 <sup>abcde</sup>
LCM	pH 3,0	11,27 <sup>ij</sup>	0,88 <sup>ghij</sup>	5,60 <sup>ij</sup>	89 <sup>abc</sup>	66 <sup>efgh</sup>
Villafranca	pH 3,0	9,80 <sup>j</sup>	0,71 <sup>j</sup>	3,70 <sup>j</sup>	97 <sup>ab</sup>	40 <sup>h</sup>
L-80	pH 4,0	26,94 <sup>cde</sup>	0,93 <sup>fghij</sup>	37,47 <sup>ab</sup>	90 <sup>abc</sup>	77 <sup>defg</sup>
L-12	pH 4,0	19,98 <sup>fgh</sup>	0,82 <sup>hij</sup>	44,30 <sup>a</sup>	99 <sup>a</sup>	80 <sup>cdefg</sup>
LBM	pH 4,0	16,07 <sup>ghij</sup>	1,03 <sup>defgh</sup>	11,56 <sup>hij</sup>	97 <sup>ab</sup>	77 <sup>defg</sup>
LCM	pH 4,0	14,63 <sup>ghij</sup>	0,75 <sup>ij</sup>	17,20 <sup>efgh</sup>	95 <sup>abc</sup>	61 <sup>gh</sup>
Villafranca	pH 4,0	26,91 <sup>cde</sup>	1,26 <sup>bc</sup>	16,25 <sup>efgh</sup>	99 <sup>a</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-80	pH 5,5	23,85 <sup>def</sup>	0,96 <sup>efghij</sup>	25,34 <sup>cde</sup>	100 <sup>a</sup>	85 <sup>bcdefg</sup>
L-12	pH 5,5	22,78 <sup>def</sup>	1,09 <sup>cdefg</sup>	27,76 <sup>cd</sup>	92 <sup>abc</sup>	92 <sup>abcde</sup>
LBM	pH 5,5	21,46 <sup>defg</sup>	1,09 <sup>cdefg</sup>	28,05 <sup>bcd</sup>	95 <sup>abc</sup>	92 <sup>abcdef</sup>
LCM	pH 5,5	20,14 <sup>fgh</sup>	1,15 <sup>cde</sup>	23,69 <sup>defg</sup>	95 <sup>abc</sup>	90 <sup>abcdefg</sup>
Villafranca	pH 5,5	28,55 <sup>bcd</sup>	1,19 <sup>cd</sup>	31,73 <sup>bcd</sup>	100 <sup>a</sup>	99 <sup>abc</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$ ; skraćenice u tabeli: VI - visina izbojka, BK - broj korenova prvog reda, DK – dužina najdužeg korena, PP- procenat preživljavanja eksplantanata, PO – procenat ožiljavanja eksplantanata

Rezultati testa najmanje značajne razlike (NZR) su potvrdili statistički značajan uticaj istraživanih podloga i genotipova (Tabela 5.1.1.3.). Najbolje rezultate kod istraživanog parametra visine izbojka na kontrolnoj podlozi pokazali su genotipovi L-80 i Villafranca. Ovi genotipovi su takođe zabeležili najveći porast izbojka i na podlozi čija je pH 4,0. Najbolje rezultate za procenat ožiljavanja na podlozi pH 3,0 postigli su genotipovi LBM i L-80, dok su ostali genotipovi ostvarili znatno slabije rezultate. Na podlozi sa najnižom istraživanom pH vrednosti (pH 3,0) najbolje rezultate u pogledu

visine izbojka ostvarili su genotipovi LBM (15,03 mm) i L-80 (13,85 mm) dok je najmanja visina izbojka izmerena kod genotipa Villafranca (9,80 mm) (Slika 5.1.1.1.).



**Slika 5.1.1.1.** Morfološke karakteristike ožiljenih izbojaka genotipa Villafranca na istraživanim podlogama (foto: V. Vuksanović)

Italijanski selekcionisani genotip Villafranca je postigao najbolje rezultate u pogledu visine izbojka na puferisanoj podlozi pH 5,5. Dužina najdužeg korena na kontrolnoj podlozi (pH 5,5) imala je vrednost od 14,56 mm do 34,61 mm dok je na podlozi pH 3,0 dužina najdužeg korena varirala u rasponu vrednosti od 3,70 mm do 12,39 mm. Najduži koren na podlozi pH 4,0 izmeren je kod genotipa L-12 dok je genotip L-80 imao najduži koren na podlozi pH 3,0. Najslabiji inhibitorni uticaj podloge sa najnižom testiranom vrednošću reakcije (pH 3,0) na istraživani parametar broj korenova prvog reda u odnosu na kontrolnu podlogu zabeležen je kod genotipa L-12. NZR test je potvrdio da je ova podloga delovala inhibitorno na procenat preživljavanja i procenat ožiljavanja. Najmanji procenat preživljavanja ostvario je genotip L-80, a genotip Villafranca najmanji procenat ožiljavanja na podlozi pH 3,0. Procenat ožiljavanja na podlozi sa pH 3,0 kod genotipa L-80 iznosio je 86 % i nije se značajno razlikovao od kontrolne podloge. Rezultati NZR testa pokazuju da je genotip

Villafranca pretrpeo najslabiji uticaj podloge pH 3,0 na procenat preživljavanja (97%), ali se samo 40% preživelih izbojaka ožililo na ovoj podlozi.

### 5.1.2 Rezultati parametara biomase

Analiza varijanse pokazuje da je na većinu parametara biomase statistički značajan uticaj imao genotip i podloga (Tabela 5.1.2.1.). Interakcija genotip  $\times$  podloga, kao izvor variranja pokazala je statistički značajan uticaj jedino kod sveže mase izbojka. Na sadržaj vlage u izbojku statistički značajan uticaj su ispoljile samo istraživane podloge, dok na odnos suve mase korena i izbojka nije bilo statistički značajnog uticaja ni jednog kontrolisanog izvora variranja.

**Tabela 5.1.2.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane parametre biomase u ogledu istraživanja tolerantnosti prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

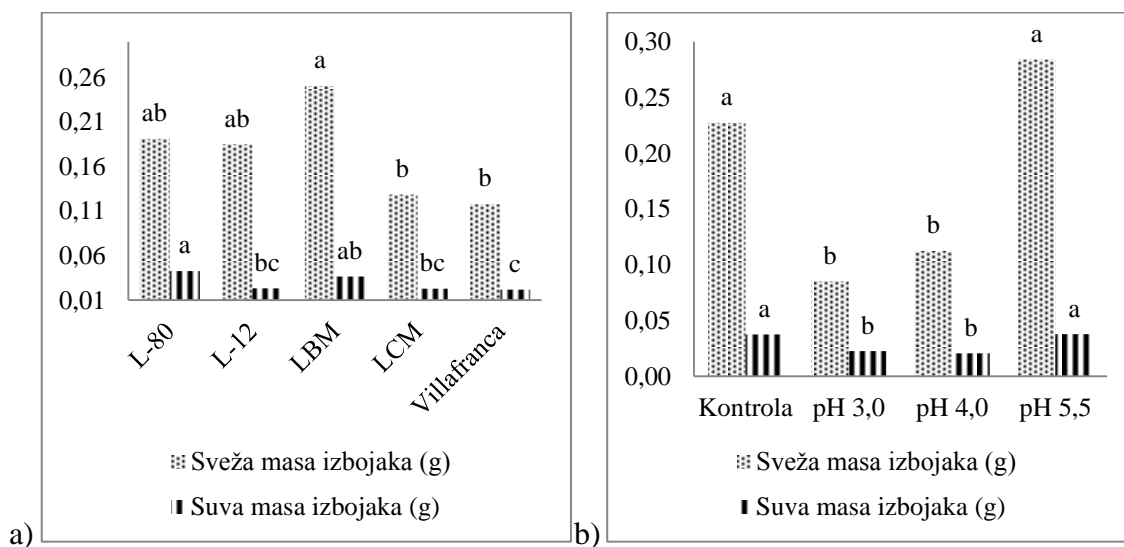
Svojtvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A $\times$ B
Sveža masa izbojaka (g)	4,377 <sup>b)</sup> **	14,257 **	2,180 *
Suva masa izbojaka (g)	3,912 **	4,710 **	0,659
Sveža masa korena (g)	0,008 **	0,000 **	0,222
Suva masa korena (g)	3,397 *	4,316 **	1,374
Sadržaj vlage u izbojku	2,447	3,335 *	1,502
Odnos suve mase korena i izbojka	1,409	0,977	1,002

Legenda: <sup>a)</sup> Stepni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepni slobode za podlogu  $df_B = 3$ ; stepni slobode za interakciju A  $\times$  B:  $df_{A \times B} = 12$ ; stepni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 74$  i stepni slobode totala  $df_T = 93$ . <sup>b)</sup> \* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Ukupno gledano kod genotipa Villafranca je zabeleženo najmanje sveže i suve mase izbojka (Grafikon 5.1.2.1.a), dok su genotipovi LBM, L-12 i L-80 ostvarili veću svežu i suhu masu izbojka u odnosu na ostale istraživane genotipove. Najveći procenat vlage u izbojku ostvario je genotip L-12, a najmanji sadržaj vlage genotip L-80 (Grafikon 5.1.2.3.a). Najviše sveže mase korena izmereno je kod genotipa LBM (0,123 g), a najmanje sveže mase korena kod genotipa LCM (0,031 g) (Grafikon 5.1.2.2.a). Najbolja diferencijacija genotipova ostvarena je na podlozi čija je pH 3,0. Na ovoj podlozi izmereno najmanje sveže i suve mase izbojka i korena (Grafikon 5.1.2.1.b i Grafikon 5.1.2.2.b).

Puferisana podloga sa pH 5,5 nije značajno uticala na svojstva biomase izbojka i korena u odnosu na kontrolnu podlogu (Grafikoni 5.1.2.1.b; 5.1.2.2.b i 5.1.2.3.b).

Sagledavajući rezultate za istraživane parametare biomase može se videti da su genotipovi L-80, L-12 i LBM zabeležili veće prosečne vrednosti za svežu i suhu masu izbojka i korena u odnosu na genotipove LCM i Villafranca (Grafikon 5.1.2.1. a i Grafikon 5.1.2.2. a).

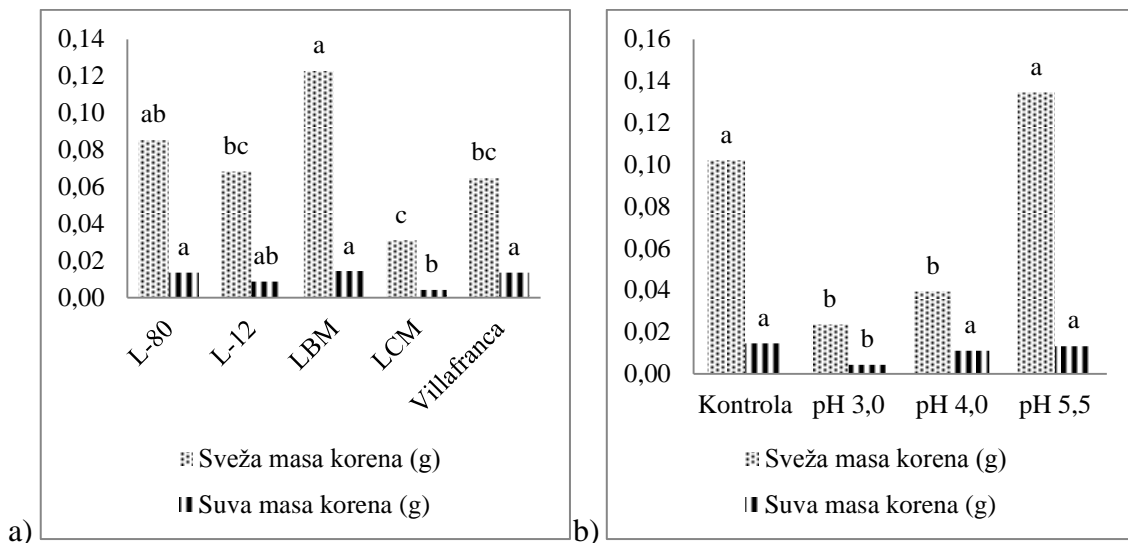


**Grafikon 5.1.2.1.** Sveža i suva masa izbojaka **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

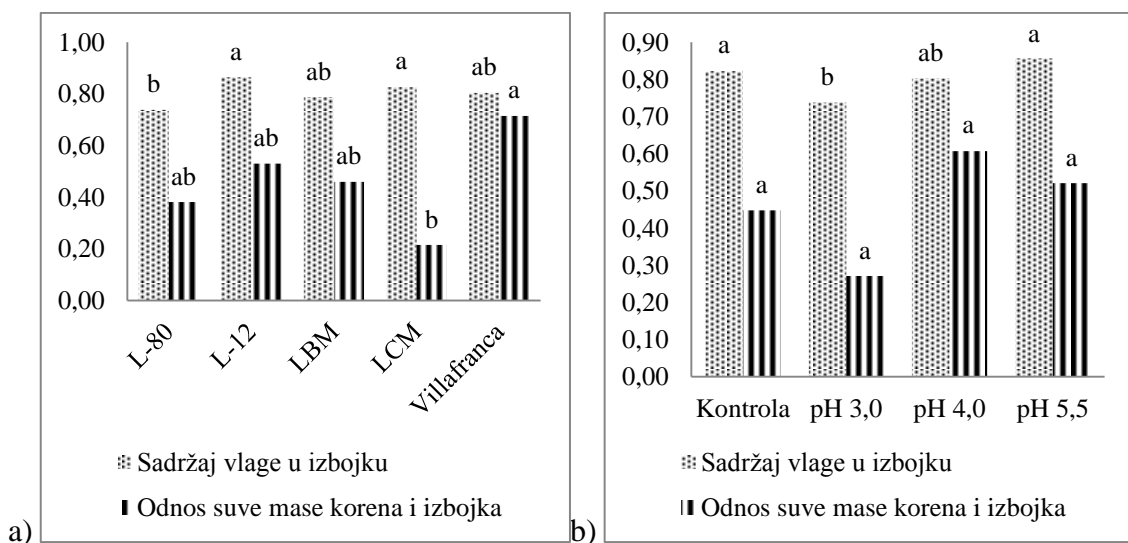
Rezultati prikazani na Grafikonu 5.1.2.3.a. pokazuju da se prema sadržaju vlage u izbojku izdvajaju genotipovi L-80 i LBM sa manjim vrednostima za sadržaj vlage u izbojku u odnosu na ostale istraživane genotipove, dok se na osnovu odnosa suve mase korena i izbojka mogu izdvojiti L-80 i LCM kao genotipovi koji su ostvarili najmanje vrednosti za ovaj parametar.





**Grafikon 5.1.2.2.** Sveža i suva masa korena **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.1.2.3.** Sadržaj vlage u izbojku i odnos suve mase korena i izbojka **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

NZR test je potvrdio uticaj istraživanih podloga i genotipova na istraživana svojstva biomase (Tabela 5.1.2.2). Najviše sveže i suve mase izbojka i korena na kontrolnom tretmanu izmereno je kod genotipova L-80 i LBM. Najviše sveže mase

izbojaka na podlozi pH 3,0 imao je genotip LBM (0,135 g), a najmanje genotip Villafranca (0,046 g). Na istoj podlozi, najviše suve mase izbojaka akumulirao je genotip L-80 (0,040 g), a najmanje genotipovi LCM i Villafranca (0,010 g).

**Tabela 5.1.2.2.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za istraživane parametre biomase u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

Genotip	Podloga	SVMI (g)	SUMI (g)	SVMK (g)	SUMK (g)	SVI	OSUM
L-80	Kontrola	0,289 <sup>b*)</sup>	0,056 <sup>a</sup>	0,145 <sup>abcd</sup>	0,025 <sup>a</sup>	0,815 <sup>abc</sup>	0,554 <sup>bc</sup>
L-12	Kontrola	0,298 <sup>b</sup>	0,036 <sup>abcde</sup>	0,089 <sup>cdef</sup>	0,008 <sup>cde</sup>	0,879 <sup>ab</sup>	0,204 <sup>c</sup>
LBM	Kontrola	0,282 <sup>b</sup>	0,037 <sup>abcde</sup>	0,196 <sup>ab</sup>	0,021 <sup>abcd</sup>	0,864 <sup>abc</sup>	0,542 <sup>bc</sup>
LCM	Kontrola	0,138 <sup>bcde</sup>	0,027 <sup>bcde</sup>	0,025 <sup>f</sup>	0,004 <sup>e</sup>	0,789 <sup>abc</sup>	0,254 <sup>c</sup>
Villafranca	Kontrola	0,143 <sup>bcde</sup>	0,032 <sup>abcde</sup>	0,052 <sup>def</sup>	0,015 <sup>abcde</sup>	0,778 <sup>abc</sup>	0,637 <sup>abc</sup>
L-80	pH 3,0	0,093 <sup>cde</sup>	0,040 <sup>abc</sup>	0,047 <sup>def</sup>	0,005 <sup>e</sup>	0,529 <sup>d</sup>	0,211 <sup>bc</sup>
L-12	pH 3,0	0,080 <sup>de</sup>	0,013 <sup>cde</sup>	0,015 <sup>f</sup>	0,004 <sup>e</sup>	0,839 <sup>abc</sup>	0,387 <sup>bc</sup>
LBM	pH 3,0	0,135 <sup>bcde</sup>	0,039 <sup>abcd</sup>	0,047 <sup>def</sup>	0,007 <sup>e</sup>	0,711 <sup>c</sup>	0,308 <sup>bc</sup>
LCM	pH 3,0	0,070 <sup>de</sup>	0,010 <sup>de</sup>	0,009 <sup>f</sup>	0,001 <sup>e</sup>	0,850 <sup>abc</sup>	0,097 <sup>c</sup>
Villafranca	pH 3,0	0,046 <sup>e</sup>	0,010 <sup>e</sup>	0,007 <sup>f</sup>	0,003 <sup>e</sup>	0,784 <sup>abc</sup>	0,292 <sup>bc</sup>
L-80	pH 4,0	0,170 <sup>bcde</sup>	0,032 <sup>abcde</sup>	0,061 <sup>def</sup>	0,012 <sup>abcde</sup>	0,813 <sup>abc</sup>	0,397 <sup>bc</sup>
L-12	pH 4,0	0,144 <sup>bcde</sup>	0,022 <sup>bcde</sup>	0,043 <sup>ef</sup>	0,008 <sup>de</sup>	0,849 <sup>abc</sup>	0,369 <sup>bc</sup>
LBM	pH 4,0	0,066 <sup>de</sup>	0,016 <sup>bcde</sup>	0,032 <sup>ef</sup>	0,009 <sup>cde</sup>	0,717 <sup>bc</sup>	0,620 <sup>abc</sup>
LCM	pH 4,0	0,089 <sup>cde</sup>	0,014 <sup>bcde</sup>	0,007 <sup>f</sup>	0,001 <sup>e</sup>	0,839 <sup>abc</sup>	0,128 <sup>c</sup>
Villafranca	pH 4,0	0,089 <sup>cde</sup>	0,018 <sup>bcde</sup>	0,047 <sup>def</sup>	0,022 <sup>ab</sup>	0,803 <sup>abc</sup>	1,427 <sup>a</sup>
L-80	pH 5,5	0,217 <sup>bcd</sup>	0,044 <sup>ab</sup>	0,071 <sup>cdef</sup>	0,007 <sup>de</sup>	0,813 <sup>abc</sup>	0,274 <sup>bc</sup>
L-12	pH 5,5	0,241 <sup>bc</sup>	0,025 <sup>bcde</sup>	0,130 <sup>bcde</sup>	0,014 <sup>abcde</sup>	0,894 <sup>a</sup>	1,095 <sup>ab</sup>
LBM	pH 5,5	0,587 <sup>a</sup>	0,059 <sup>a</sup>	0,240 <sup>a</sup>	0,022 <sup>abc</sup>	0,877 <sup>abc</sup>	0,346 <sup>bc</sup>
LCM	pH 5,5	0,197 <sup>bcde</sup>	0,036 <sup>abcde</sup>	0,074 <sup>cdef</sup>	0,009 <sup>bcde</sup>	0,836 <sup>abc</sup>	0,341 <sup>bc</sup>
Villafranca	pH 5,5	0,212 <sup>bcd</sup>	0,030 <sup>abcde</sup>	0,175 <sup>abc</sup>	0,014 <sup>abcde</sup>	0,860 <sup>abc</sup>	0,450 <sup>bc</sup>

<sup>\*)</sup> Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$ ; skraćenice u tabeli: SVMI-sveža masa izbojaka, SUMI-suva masa izbojaka, SVMK-sveža masa korenova, SUMK-suva masa korenova, SVI-sadržaj vlage u izbojku i OSUM-odnos suve mase korena i izbojka

Sveža masa korenova dobijena na podlozi pH 3,0 izdvojila je genotipove L-80 i LBM (0,047 g) sa najvišim i genotipove Villafranca i LCM sa najnižim vrednostima (0,007 i 0,009 g). Istraživani genotipovi nisu pokazali razliku u akumuliranju suve biomase korena na podlozi pH 3,0. Statistički značajno najmanje vlage u izbojku je izmereno kod genotipa L-80 na najnižoj pH (3,0). Genotip LBM se ističe kao genotip

koji je imao najviše sveže mase izbojka kod tetmana pH 5.5 sa dodatkom limunske kiseline.

### 5.1.3 Rezultati sadržaja fotosintetičkih pigmenata

U Tabeli 5.1.3.1. su prikazani rezultati analize varijanse sa dva faktora za istraživane fotosintetičke parametre na osnovu kojih se može videti da su statistički značajan uticaj na sve istraživane fotosintetičke parametre imali i genotip i podloga kao i njihova interakcija (genotip  $\times$  podloga).

**Tabela 5.1.3.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za merene parametre sadržaja fotosintetičkih pigmenata u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Hlorofil a (mg/g SVM)	23,19 <sup>b)</sup> **	35,63 **	7,66 **
Hlorofil b (mg/g SVM)	12,13 **	42,97 **	8,65 **
Karotenoidi (mg/g SVM)	32,48 **	31,79 **	12,75 **
Hlorofil a + b (mg/g SVM)	21,72 **	41,34 **	8,61 **
Hlorofil a/b	16,07 **	4,99 **	6,75 **

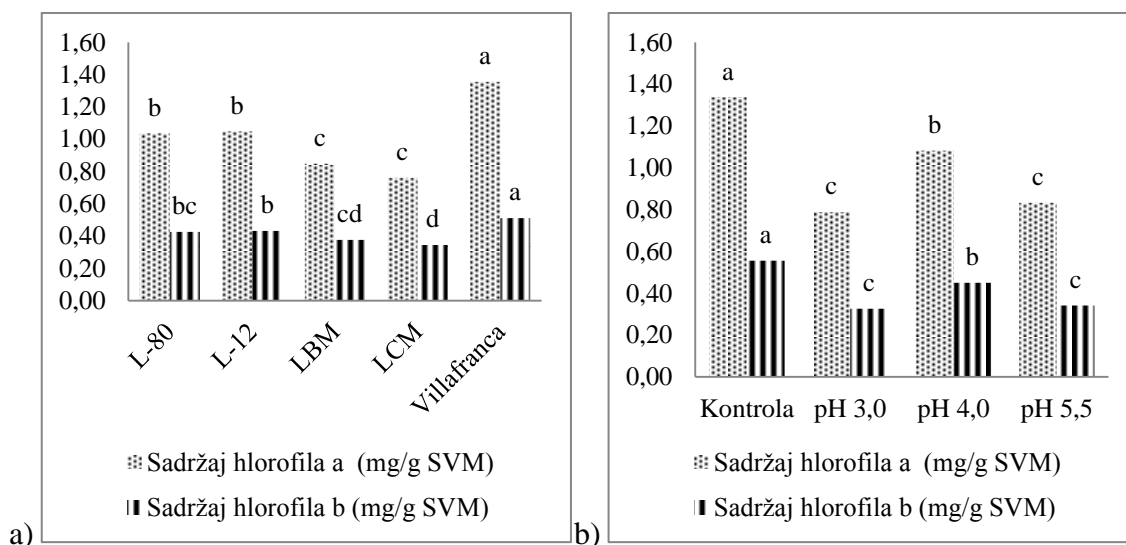
Legenda: <sup>a)</sup> Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za podlogu  $df_B = 3$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 12$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 60$  i stepeni slobode totala  $df_T = 79$ . <sup>b)</sup> \* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Generalno gledano, genotipovi LCM i LBM se mogu se izdvojiti kao genotipovi sa najmanjim sadržajem hlorofila a u svežoj masi izbojaka, dok je genotip Villafranca pokazao najviši sadržaj ovog pigmenta (Grafikon 5.1.3.1.a.). Najveći sadržaj hlorofila a je izmeren je na kontrolnoj podlozi, a najmanji na podlozi pH 3,0.

Na osnovu prosečnih vrednosti za istraživane podloge statistički značajno najmanji sadržaj karotenoida izmeren je na podlozi pH 3,0, a najveći na kontroli, dok se podloge pH 4,0 i pH 5,5 sa dodatkom limunske kiseline nisu međusobno razlikovale (Grafikon 5.1.3.2.b.).

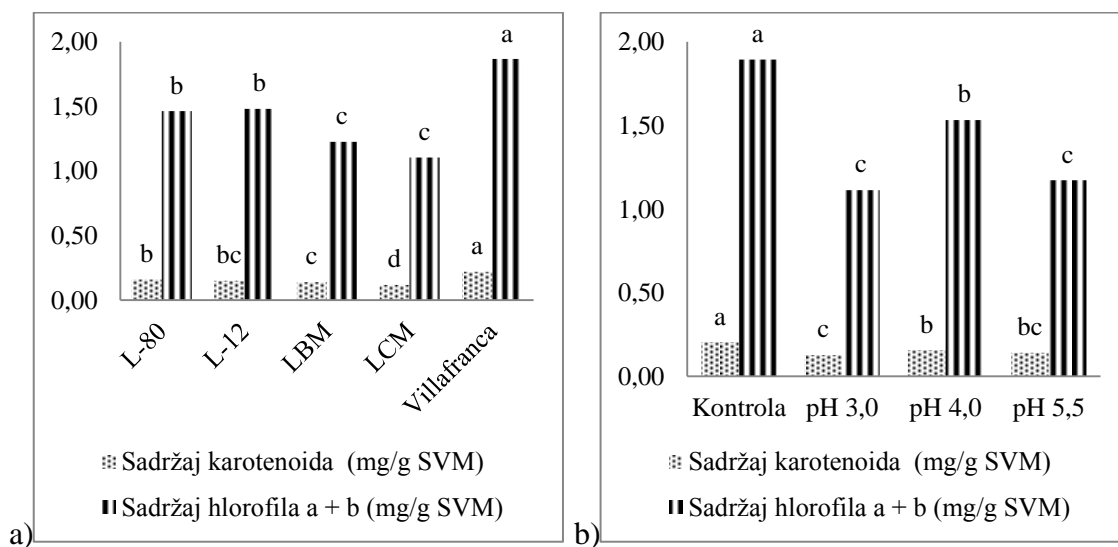
Dobijeni rezultati za odnos hlorofila a i b (Grafikon 5.1.3.3.a.) pokazuju da postoji statistički značajna razlika između istraživanih genotipova. Tako se na osnovu

pomenutog fotosintetičkog parametra mogu izvojiti genotipovi Villafranca sa najvišom i LCM sa najnižom vrednošću.



**Grafikon 5.1.3.1.** Sadržaj hlorofila a i hlorofila b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

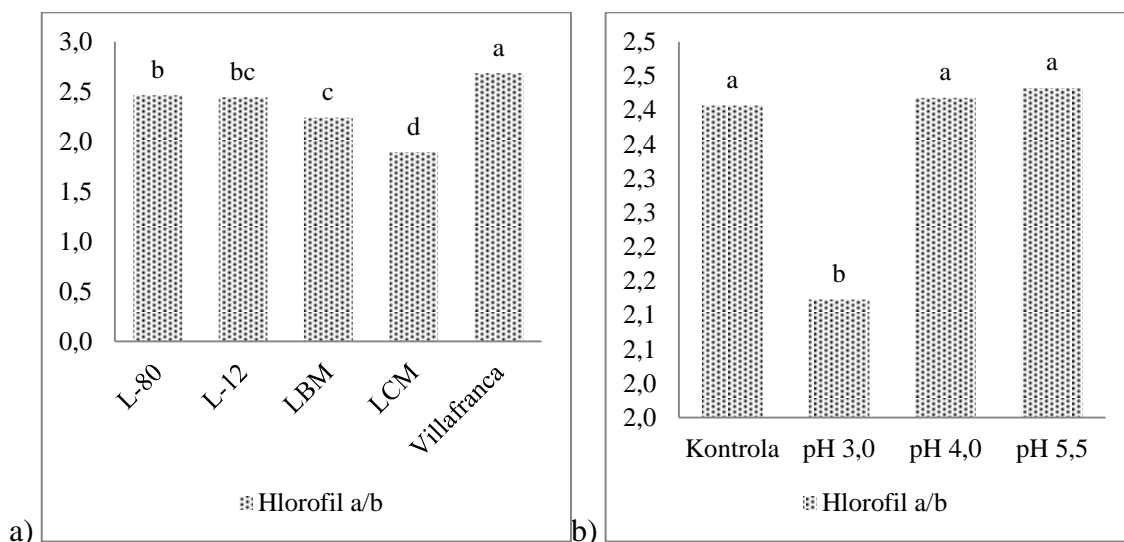
*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*



**Grafikon 5.1.3.2.** Sadržaj karotenoida i hlorofila a+b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Ostala tri genotipa se nisu međusobno razlikovala. Što se tiče istraživanih podloga jedino se podloga čija je vrednost pH bila 3,0 statistički značajno razlikovala u odnosu na ostale podloge i na ovoj podlozi zabeležene su najniže vrednosti odnosa hlorofila a i b (Grafikon 5.1.3.3.b.).



**Grafikon 5.1.3.3.** Odnos hlorofila a i b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Sadržaj hlorofila a je u kontrolama imao vrednosti od 1,66 mg/g SVM (Villafranca) do 1,09 mg/g SVM (L-12). Sadržaj hlorofila a na pH 3,0 je varirao u opsegu vrednosti od 1,30 mg/g SVM (Villafranca) do 0,06 mg/g SVM (LCM) (Tabela 5.3.1.2.). Statistički značajno veći sadržaj hlorofila a na podlozi pH 5,5 sa dodatkom limunske kiseline utvrđen je kod genotipa Villafranca u odnosu na ostale genotipove. Na podlozi čija je vrednost pH iznosila 4,0 najveći sadržaj ovog pigmenta ostvarili su genotipovi Villafranca, L-80 i L-12.

Sadržaj hlorofila b je u kontrolnim podlogama iznosio od 0,67 mg/g SVM (Villafranca) do 0,44 mg/g SVM (L-12). Najniže vrednosti sadržaja hlorofila b izmereni su kod genotipova koji su rasli na podlozi pH 3,0. Najmanji sadržaj hlorofila b na ovoj podlozi imao je genotip LBM (0,08 mg/g SVM) dok je genotip Villafranca zabeležio statistički značajno najviši sadržaj ovog pigmenta (0,052 mg/g SVM). Istraživani genotipovi pokazali su varijabilnost u navedenom parametru na hranljivoj podlozi pH

5,5 sa limunskim kiselinom. Najveći sadržaj hlorofila b na ovoj podlozi je izmeren kod genotipa Villafranca (0,47 mg/g SVM). Genotipovi L-12 (0,53 mg/g SVM) i L-80 (0,50 mg/g SVM) su ostvarili veći sadržaj hlorofila b na podlozi pH 4,0 u odnosu na ostale genotipove.

**Tabela 5.1.3.2.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za mereni sadržaj fotosintetičkih pigmenata u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

Genotip	Podloga	Hlorofil a (mg/g SVM)	Hlorofil b (mg/g SVM)	Karotenoidi (mg/g SVM)	Hlorofil a+b (mg/g SVM)	Odnos hlorofila a i b
L-80	Kontrola	1,22 <sup>bcde*</sup>	0,51 <sup>cd</sup>	0,17 <sup>ef</sup>	1,73 <sup>bcde</sup>	2,39 <sup>bcd</sup>
L-12	Kontrola	1,09 <sup>cdefg</sup>	0,44 <sup>cdefg</sup>	0,15 <sup>fg</sup>	1,53 <sup>cdef</sup>	2,45 <sup>abcd</sup>
LBM	Kontrola	1,27 <sup>bcde</sup>	0,53 <sup>bc</sup>	0,21 <sup>bcd</sup>	1,80 <sup>bcdf</sup>	2,37 <sup>bcd</sup>
LCM	Kontrola	1,45 <sup>ab</sup>	0,63 <sup>ab</sup>	0,21 <sup>bc</sup>	2,08 <sup>ab</sup>	2,33 <sup>bcd</sup>
Villafranca	Kontrola	1,66 <sup>a</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	2,33 <sup>a</sup>	2,50 <sup>abc</sup>
L-80	pH 3,0	1,08 <sup>cdefg</sup>	0,41 <sup>defg</sup>	0,18 <sup>cdef</sup>	1,49 <sup>cdef</sup>	2,65 <sup>ab</sup>
L-12	pH 3,0	1,03 <sup>defg</sup>	0,41 <sup>efg</sup>	0,16 <sup>fg</sup>	1,44 <sup>efg</sup>	2,55 <sup>abc</sup>
LBM	pH 3,0	0,47 <sup>j</sup>	0,22 <sup>i</sup>	0,08 <sup>i</sup>	0,69 <sup>i</sup>	2,16 <sup>cd</sup>
LCM	pH 3,0	0,06 <sup>k</sup>	0,08 <sup>j</sup>	0,00 <sup>j</sup>	0,14 <sup>j</sup>	0,73 <sup>e</sup>
Villafranca	pH 3,0	1,30 <sup>bcd</sup>	0,52 <sup>cd</sup>	0,23 <sup>b</sup>	1,81 <sup>bc</sup>	2,53 <sup>abc</sup>
L-80	pH 4,0	1,17 <sup>cdef</sup>	0,50 <sup>cde</sup>	0,17 <sup>def</sup>	1,67 <sup>cde</sup>	2,33 <sup>bcd</sup>
L-12	pH 4,0	1,20 <sup>bcde</sup>	0,53 <sup>bc</sup>	0,15 <sup>fgh</sup>	1,72 <sup>bcde</sup>	2,28 <sup>bcd</sup>
LBM	pH 4,0	0,91 <sup>fghi</sup>	0,38 <sup>fgh</sup>	0,15 <sup>fg</sup>	1,30 <sup>fgh</sup>	2,37 <sup>bcd</sup>
LCM	pH 4,0	1,01 <sup>efgh</sup>	0,44 <sup>cdefg</sup>	0,16 <sup>fg</sup>	1,45 <sup>defg</sup>	2,26 <sup>bcd</sup>
Villafranca	pH 4,0	1,13 <sup>cdefg</sup>	0,40 <sup>fg</sup>	0,16 <sup>fg</sup>	1,52 <sup>cdef</sup>	2,84 <sup>a</sup>
L-80	pH 5,5	0,69 <sup>ij</sup>	0,28 <sup>hi</sup>	0,13 <sup>gh</sup>	0,97 <sup>hi</sup>	2,48 <sup>abc</sup>
L-12	pH 5,5	0,88 <sup>ghi</sup>	0,35 <sup>gh</sup>	0,14 <sup>fgh</sup>	1,23 <sup>fgh</sup>	2,49 <sup>abc</sup>
LBM	pH 5,5	0,74 <sup>hij</sup>	0,37 <sup>fgh</sup>	0,13 <sup>gh</sup>	1,11 <sup>gh</sup>	2,06 <sup>d</sup>
LCM	pH 5,5	0,52 <sup>j</sup>	0,23 <sup>i</sup>	0,11 <sup>hi</sup>	0,75 <sup>i</sup>	2,26 <sup>bcd</sup>
Villafranca	pH 5,5	1,33 <sup>bc</sup>	0,47 <sup>cdef</sup>	0,20 <sup>bcde</sup>	1,80 <sup>bcd</sup>	2,87 <sup>a</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

Dobijene vrednosti za sadržaj karotenoida u kontrolnoj podlozi su varirale u opsegu od 0,15 mg/g SVM (L-12) do 0,28 mg/g SVM (Villafranca). Genotip LCM (0,001 mg/g SVM) je pokazao statistički značajno najniži sadržaj karotenoida na

najnižoj testiranoj vrednosti pH (3,0). Statistički značajna razlika uočena je kod genotipa Villafranca (0,23 mg/g SVM) te se ovaj genotip izdvojio kao genotip koji ima najveći sadržaj karotenoida na podlozi pH 3,0.

Analizirajući rezultate NZR testa može se videti da se genotip LCM izdvojio kao genotip sa najmanjim sadržajem hlorofila a+b (0,14 mg/g SVM), a genotip Villafranca kao genotip sa najvišim sadržajem ovog parametra (1,81 mg/g SVM) na podlozi pH 3,0. Takođe, isti odnosi među genotipovima su dobijeni i za odnos hlorofila a i b (a/b).

#### 5.1.4 Rezultati biohemijskih parametara

Uticao istraživanih genotipova bele topole nije bio statistički značajan jedino kod parametra sposobnosti redukcije  $\text{Fe}^{3+}$  jona (FRAP test). Istraživane podloge kao i njihove interakcije pokazale su statistički značajan uticaj kod svih istraživanih biohemijskih parametara.

**Tabela 5.1.4.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane biohemijske parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Ukupni fenoli (mg GAE/g SVM)	2,62 <sup>b)</sup> **	12,08 *	2,51 **
Ukupni flavonoidi (mg QE/g SVM)	9,78 **	28,24 **	6,28 **
FRAP (mg ASC/g SVM)	2,31	34,34 **	2,01 *
ABTS <sup>+</sup> (mM TE/g SVM)	9,79 **	31,44 **	2,36 *
DPPH <sup>+</sup> (mM TE/g SVM)	4,59 **	28,38 **	3,20 **

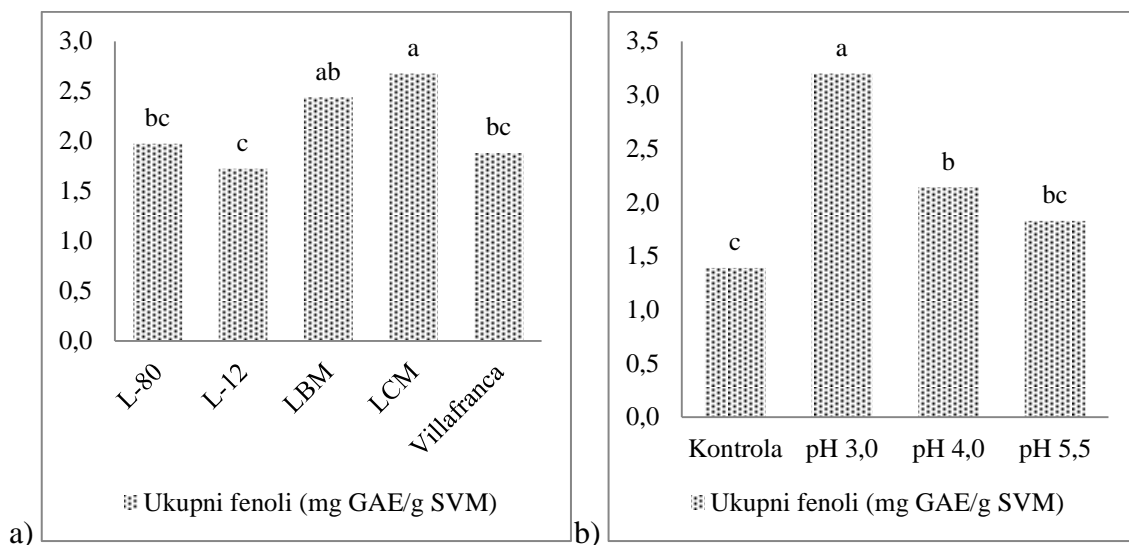
Legenda: <sup>a)</sup>Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za podlogu  $df_B = 3$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 12$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 60$  i stepeni slobode totala  $df_T = 79$ . <sup>b)</sup>\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

##### 5.1.4.1 Rezultati sadržaja ukupnih fenola

Analizirajući sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima bele topole može se videti da njihov sadržaj raste sa smanjenjem vrednosti pH podloge (Grafikon 5.1.4.1.1.b.).

Najveći sadržaj ukupnih fenola izmeren je kod genotipova LBM (2,43 mg GAE/g SVM) i LCM (2,67 mg GAE/g SVM) (Grafikon 5.1.4.1.1.a.).

Na osnovu NZR testa može se videti da je sadržaj ukupnih fenola, u ekstraktima genotipova koji su rasli na podlozi čija je pH vrednost podešena na 3,0, porastao za 50% u odnosu na kontrolnu podlogu.



**Grafikon 5.1.4.1.1.** Sadržaj ukupnih fenola **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.1.4.1.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za izmereni sadržaj ukupnih fenola u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/g SVM)				
Genotip	Podloga			
	Kontrola	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,5
L-80	1,16 <sup>e*)</sup>	2,79 <sup>bcd</sup>	1,70 <sup>cde</sup>	2,25 <sup>bcde</sup>
L-12	1,12 <sup>e</sup>	2,10 <sup>bcde</sup>	1,78 <sup>bcde</sup>	1,89 <sup>bcde</sup>
LBM	1,82 <sup>bcde</sup>	3,14 <sup>b</sup>	2,93 <sup>bc</sup>	1,86 <sup>bcde</sup>
LCM	1,46 <sup>de</sup>	5,67 <sup>a</sup>	1,91 <sup>bcde</sup>	1,67 <sup>cde</sup>
Villafranca	1,39 <sup>de</sup>	2,30 <sup>bcde</sup>	2,38 <sup>bcde</sup>	1,46 <sup>de</sup>

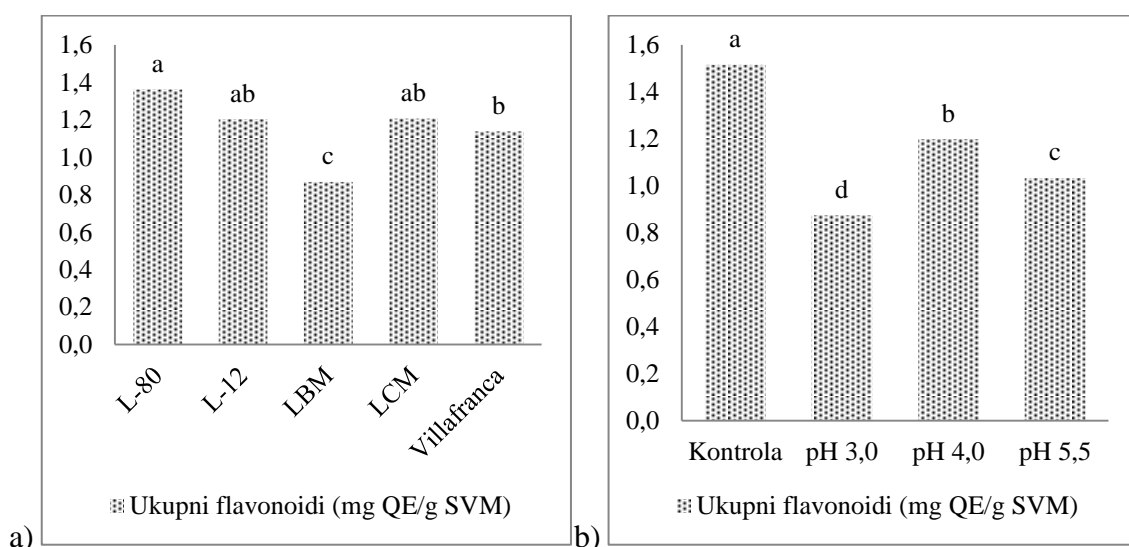
Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

Statistički značajno najviše vrednosti sadržaja ukupnih fenola na podlozi pH 3,0 ostvario je genotip LCM (5,67 mg GAE/g SVM). Na podlozi pH 4,0 nije bilo statistički značajne razlike prema rezultatima NZR testa (Tabela 5.1.4.1.1.). Sadržaj ukupnih fenola na kontrolnoj podlozi bio je u rasponu vrednosti od 1,12 do 1,82 mg GAE/g SVM.



#### 5.1.4.2 Rezultati sadržaja ukupnih flavonoida

Rezultati NZR testa potvrdili su statistički značajan uticaj istraživanih podloga na istraživane genotipove bele topole kod sadržaja ukupnih flavonoida. Na osnovu prosečnih vrednosti za istraživane podloge (Grafikon 5.1.4.2.1.b) može se videti da je sadržaj ukupnih flavonoida opadao sa smanjem pH vrednosti podloge, tako da su najviše vrednosti ovog parametra zabeležene na kontrolnoj podlozi, dok su najniže vrednosti izmerene na najkiselijoj istraživanoj podlozi (pH 3,0). Takođe, na Grafikonu 5.1.4.2.1.a. se može videti da je najmanji sadržaj ukupnih flavonoida ostvario genotip LBM.



**Grafikon 5.1.4.2.** Sadržaj ukupnih flavonoida **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Najviše vrednosti sadržaja ukupnih flavonoida u ekstraktima genotipova bele topole raslih na kontrolnoj podlozi izmerene su kod genotipa LCM (2,05 mg QE/g SVM). Posmatrajući dobijene rezultate na podlozi pH 3,0 može se videti da su najniže vrednosti ostvarili genotipovi LCM (0,43 mg QE/g SVM) i LBM (0,43 mg QE/g SVM), a najviše vrednosti sadržaja ukupnih flavonoida genotipovi L-80 (1,24 mg QE/g SVM) i L-12 (1,22 mg QE/g SVM) (Tabela 5.1.4.2.1). Na podlozi pH 4,0 su se takođe izdvojili genotipovi L-12 i L-80, kao genotipovi koji su imali najveći sadržaj ukupnih flavonoida.

**Tabela 5.1.4.2.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za izmereni sadržaj flavonoida u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

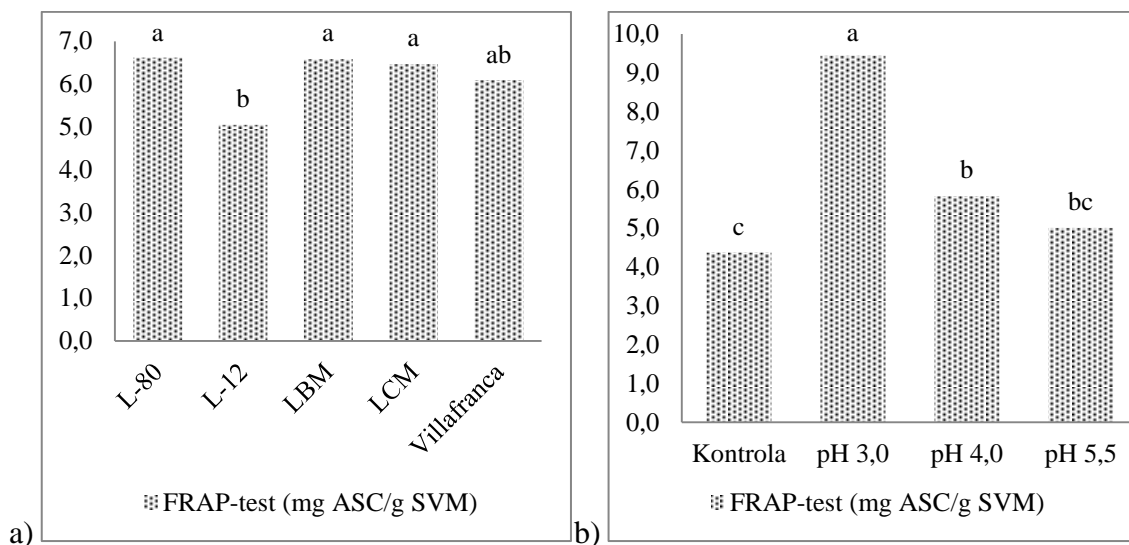
Genotip	Sadržaj ukupnih flavonoida (mg QE/g SVM)			
	Podloga			
	Kontrola	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,5
L-80	1,54 <sup>b*)</sup>	1,24 <sup>bcdef</sup>	1,54 <sup>b</sup>	1,12 <sup>efg</sup>
L-12	1,23 <sup>bcdef</sup>	1,22 <sup>bcdef</sup>	1,16 <sup>defg</sup>	1,21 <sup>cdef</sup>
LBM	1,27 <sup>bcde</sup>	0,43 <sup>j</sup>	0,85 <sup>gh</sup>	0,92 <sup>fgh</sup>
LCM	2,05 <sup>a</sup>	0,50 <sup>ij</sup>	1,48 <sup>bcd</sup>	0,79 <sup>hi</sup>
Villafranca	1,48 <sup>bc</sup>	0,97 <sup>efgh</sup>	0,97 <sup>efgh</sup>	1,13 <sup>efg</sup>

Legenda:<sup>\*)</sup> Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

#### 5.1.4.3 Rezultati FRAP testa

Na osnovu prikazanih rezultata na Grafikonu 5.1.4.3.1.a. i b. može se videti da je najmanju sposobnost da redukuje gvožđe pokazao genotip L-12, dok se na osnovu prosečnih vrednosti za istraživane podloge može videti da je najviša vrednost postignuta na podlozi pH 3,0.

Rezultati prikazani u Tabeli 5.1.3.4.1. pokazuju da je samo genotip LBM ispoljio veću sposobnost redukcije gvožđa na kontrolnoj podlozi. U uslovima najniže testirane pH vrednosti podloge (3,0) može se uočiti povećanje FRAP vrednosti u odnosu na kontrolnu podlogu. Genotip L-80 je pokazao najviše vrednosti FRAP testa na podlozi pH 5,5 sa dodatkom limunske kiseline u odnosu na ostale istraživane genotipove. Izmerene vrednosti za FRAP test su na kontrolnoj podlozi varirale u rasponu od 3,73 mg ASC/g sveže mase izbojaka za L-12 do 5,60 mg ASC/g za LBM. Na podlozi pH 3,0 vrednosti za FRAP test su bile od 7,04 mg ASC/g (L-12) do 12,04 mg ASC/g (LCM) sveže mase izbojaka. Razlike među istraživanim genotipovima na podlogama pH 4,0 i pH 5,5 pufersanim limunskom kiselinom nisu bile značajne kao na podlozi pH 3,0.



**Grafikon 5.1.4.3.1.** Rezultati FRAP testa a) Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; b) prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

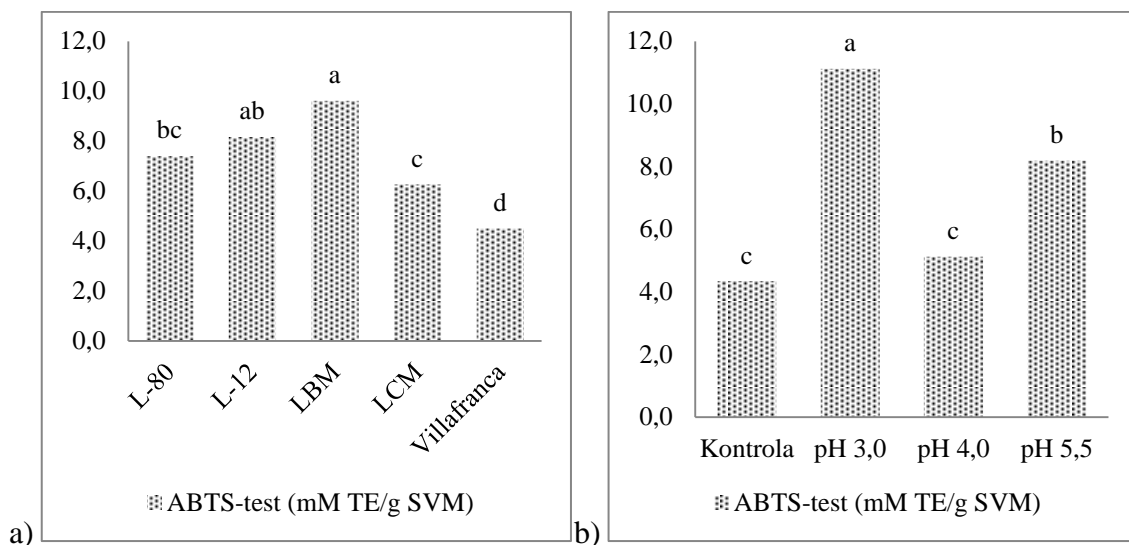
**Tabela 5.1.4.3.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za FRAP test u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

FRAP test (mg ASC/g SVM)				
Genotip	Podloga			
	Kontrola	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,5
L-80	4,29 <sup>g*)</sup>	9,73 <sup>ab</sup>	5,67 <sup>defg</sup>	6,78 <sup>cdef</sup>
L-12	3,73 <sup>g</sup>	7,04 <sup>cde</sup>	4,61 <sup>efg</sup>	4,81 <sup>efg</sup>
LBM	5,60 <sup>defg</sup>	9,86 <sup>ab</sup>	6,03 <sup>defg</sup>	4,83 <sup>efg</sup>
LCM	4,26 <sup>g</sup>	12,00 <sup>a</sup>	5,16 <sup>efg</sup>	4,46 <sup>fg</sup>
Villafranca	3,97 <sup>g</sup>	8,57 <sup>bc</sup>	7,65 <sup>bcd</sup>	4,16 <sup>g</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

#### 5.1.4.4 Rezultati ABTS testa

Na osnovu prikazanih rezultata na Grafikonima 5.1.4.4.1.a. i 5.1.4.4.1.b. može se videti da je najveća sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala ostvarena na podlozi pH 3,0 i kod genotipova L-12 i LBM.



**Grafikon 5.1.4.4.1.** Rezultati ABTS testa **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.1.4.4.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za ABTS test u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

ABTS test (mM TE/g SVM)				
Genotip	Podloga			
	Kontrola	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,5
L-80	2,97 <sup>f*)</sup>	12,49 <sup>ab</sup>	4,22 <sup>efg</sup>	9,92 <sup>bcd</sup>
L-12	4,30 <sup>efg</sup>	11,38 <sup>b</sup>	5,96 <sup>efg</sup>	10,99 <sup>b</sup>
LBM	6,29 <sup>ef</sup>	15,23 <sup>a</sup>	6,43 <sup>def</sup>	10,51 <sup>b</sup>
LCM	3,76 <sup>efg</sup>	10,11 <sup>bc</sup>	4,20 <sup>efg</sup>	7,02 <sup>cde</sup>
Villafranca	4,36 <sup>efg</sup>	6,36 <sup>ef</sup>	4,81 <sup>efg</sup>	2,47 <sup>g</sup>

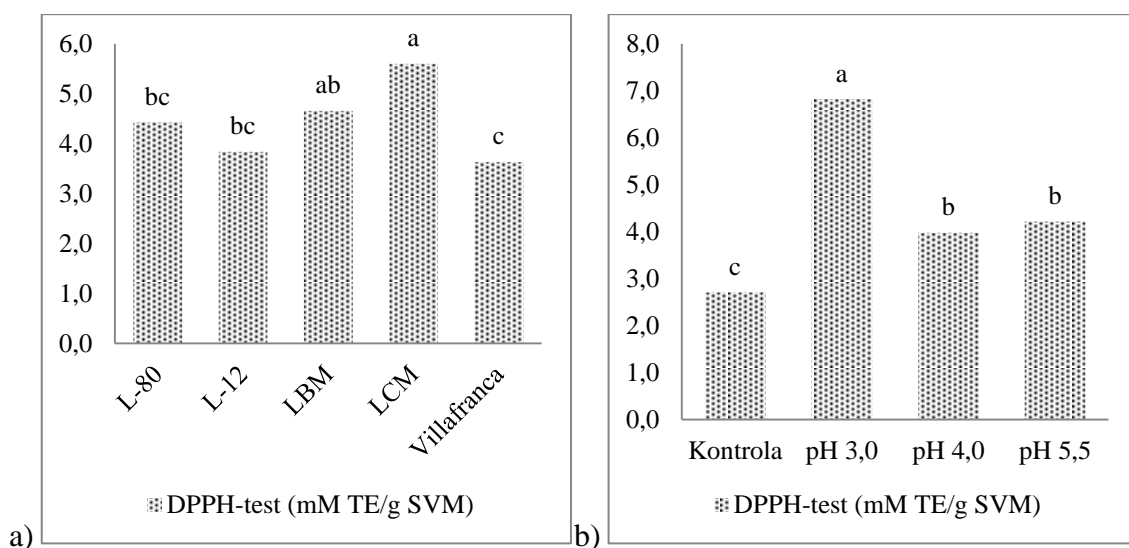
Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

Prema rezultatima ABTS testa, niska vrednost pH podloge rezultirala je povećanjem antioksidativnog kapaciteta kod svih istraživanih genotipova (Tabela 5.1.4.4.1.). Prema rezultatima koji su dobijeni ABTS analizom na podlozi sa pH 3,0, najveće vrednosti ostvarili su genotipovi LBM (9,62 mM TE/g SVM), L-12 (8,16 mM TE/g SVM) i L-80 (7,40 mM TE/g SVM) dok je genotip Villafranca (6,36 mM TE/g) pokazao najmanje vrednosti ABTS-a na pH 3,0.

Genotip Villafranca je pokazao i statistički značajno najniže vrednosti i na podlozi pH 5,5 sa dodatkom limunske kiseline. ABTS analizom između istraživanih genotipova na kontrolnom tretmanu, kao i na podlozi sa pH 4,0 reakcijom, nisu zabeležene statistički značajne razlike.

#### 5.1.4.5 Rezultati DPPH testa

Prema rezultatima NZR testa sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala izražen troloks ekvivalentima kod istraživanih genotipova bele topole raste pod uticajem niske pH vrednosti (Grafikon 5.1.4.5.1.b.). Tako su na najnižoj istraživanoj pH 3,0 izmerene najviše vrednosti ovog parametra.



**Grafikon 5.1.4.5.1.** Rezultati DPPH testa **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Na ovoj podlozi su uočene i najznačajnije razlike među istraživanim genotipovima (Tabela 5.1.4.5.1.), gde je genotip LCM ispoljio najveću sposobnost neutralizacije DPPH radikala na pH 3,0 (10,2 mM TE/g SVM), a genotip L-12 najmanju (4,59 mM TE/g SVM). Najnižu vrednost DPPH testa na podlozi pH 5,5 sa dodatkom limunske kiseline je zabeležio genotip Villafranca.

**Tabela 5.1.4.5.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za DPPH test u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge

Genotip	DPPH test (mM TE/g SVM)			
	Podloga			
	Kontrola	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,5
L-80	2,63 <sup> hij *)</sup>	6,75 <sup> b</sup>	2,89 <sup> fghij</sup>	5,42 <sup> bcde</sup>
L-12	2,74 <sup> ghij</sup>	4,59 <sup> defgh</sup>	2,95 <sup> fghij</sup>	5,03 <sup> bcde</sup>
LBM	3,38 <sup> efghij</sup>	6,66 <sup> bc</sup>	4,54 <sup> defgh</sup>	4,03 <sup> defghi</sup>
LCM	2,61 <sup> hij</sup>	10,20 <sup> a</sup>	4,86 <sup> bcdef</sup>	4,72 <sup> bcdefg</sup>
Villafranca	2,16 <sup> ij</sup>	5,88 <sup> bcd</sup>	4,62 <sup> cdefgh</sup>	1,84 <sup> j</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.1.5 Korelaciona analiza

Prema koeficijentima korelacije među istraživanim parametrima prikazanim u Tabeli 5.1.5.1. postoji statistički značajno pozitivna korelacija između većine istraživanih morfoloških parametara. Zabeležena je statistički značajna pozitivna korelacija visine izbojka sa brojem korenova prvog reda, dužinom korena i procentom preživljavanja. Očekivano, procenat ožiljavanja bio je u pozitivnoj korelaciji sa brojem korenova.

Postoji jaka pozitivna korelacija između sadržaja hlorofila a i hlorofila b ( $r=0.951$ ). Takođe, rezultati pokazuju da je značajna pozitivna korelacija utvrđena između većine istraživanih fotosintetičkih parametara (hlorofila a, hlorofila b, karotenoida, hlorofila a+b) i ukupnih flavonoida. Statistički značajna negativna korelacija dobijena je između fizioloških (sadržaj hlorofila i karotenoida) i istraživanih biohemijskih parametara (sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, FRAP, ABTS i DPPH).

Sadržaj ukupnih fenola je nakon primenjene korelacione analize pokazao statistički negativnu korelaciju samo u poređenju sa sadržajem flavonoida, dok je jaka pozitivna korelacija ispoljena u poređenju sa FRAP-om ( $r=0.878$ ), ABTS-om ( $r=0.530$ ) i DPPH testom ( $r=0.906$ ). Nasuprot ukupnim fenolima, ukupni flavonoidi su pokazali statistički značajnu negativnu korelaciju sa FRAP-om ( $r= -0.596$ ), ABTS-om ( $r= -0.574$ ) i DPPH testom ( $r= -0.655$ ). Utvrđena je i statistički pozitivna korelacija između ABTS i

DPPH ( $r=0.686$ ). Statistički značajna pozitivna korelacija zabeležena je i između FRAP i DPPH testa ( $r=0.898$ ).

**Tabela 5.1.5.1.** Koeficijenti korelacije i značaj z-testa za istraživana svojstva u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

	VI	BK	DK	PP	PO	SVMI	SUMI	SVMK	SUMK	SVI	OSUM	Chla	Chlb	Car	a + b	a/b	Fen.	Flav.	FRAP	ABTS	
BK	<b>0.8</b>																				
DK	<b>0.6</b>	0.2																			
PP	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>	0.4																		
PO	<b>0.7</b>	<b>0.8</b>	0.4	0.3																	
SVMI	0.4	0.4	<b>0.5</b>	0.3	<b>0.5</b>																
SUMI	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>	0.1	<b>0.6</b>	<b>0.8</b>															
SVMK	<b>0.6</b>	<b>0.6</b>	<b>0.6</b>	0.3	<b>0.6</b>	<b>0.9</b>	<b>0.7</b>														
SUMK	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>	<b>0.5</b>	0.4	<b>0.7</b>	<b>0.6</b>	<b>0.6</b>	<b>0.8</b>													
SVI	0.3	0.2	0.4	<b>0.5</b>	0.0	0.4	-0.1	0.4	0.2												
OSUM	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	0.1	0.2	0.4	0.0	-0.1	0.2	<b>0.6</b>	0.1											
Chla	<b>0.5</b>	0.3	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.1	0.3	-0.1	0.2										
Chlb	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0	0.1	0.3	0.0	0.1	<b>1.0</b>									
Car	0.4	0.3	0.1	0.2	0.1	0.0	0.0	0.1	0.2	-0.1	0.2	<b>1.0</b>	<b>0.9</b>								
a + b	<b>0.5</b>	0.3	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0	0.1	0.3	0.0	0.2	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>0.9</b>							
a/b	0.3	0.2	0.2	0.1	0.3	0.0	0.1	0.2	0.3	-0.2	0.4	<b>0.7</b>	<b>0.6</b>	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>						
Fen.	<b>-0.5</b>	-0.4	<b>-0.5</b>	-0.4	-0.3	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4	-0.2	-0.2	<b>-0.7</b>	<b>-0.7</b>	<b>-0.7</b>	<b>-0.7</b>	<b>-0.7</b>					
Flav.	0.4	0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>	<b>0.7</b>	<b>0.8</b>	0.4	<b>-0.7</b>				
FRAP	<b>-0.6</b>	-0.4	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	-0.4	<b>-0.5</b>	-0.3	-0.4	-0.4	<b>-0.5</b>	-0.2	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	<b>0.9</b>	<b>-0.6</b>			
ABTS	<b>-0.5</b>	-0.3	-0.4	<b>-0.6</b>	-0.1	0.0	0.1	-0.1	-0.3	-0.3	-0.1	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	-0.3	<b>0.5</b>	<b>-0.6</b>	<b>0.6</b>		
DPPH	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	-0.4	-0.4	-0.3	-0.4	<b>-0.5</b>	-0.3	-0.2	<b>-0.8</b>	<b>-0.8</b>	<b>-0.7</b>	<b>-0.8</b>	<b>-0.6</b>	<b>0.9</b>	<b>-0.7</b>	<b>0.9</b>	<b>0.7</b>	

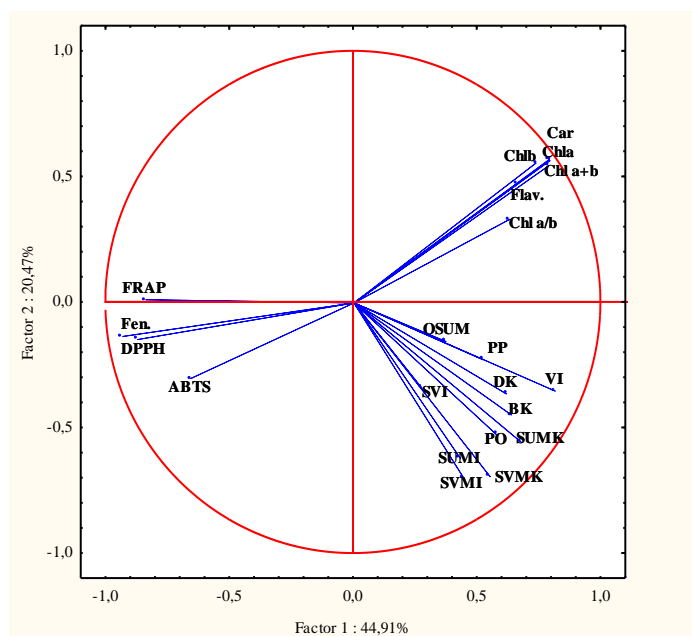
Legenda: Skraćenice u tabeli: VI- visina izbojka; BK- broj korenova prvog reda; DK- dužina najdužeg korena; PP- procenat preživelih eksplantanata; PO- procenat ožiljenih eksplantanata; SVMI- sveža masa izbojaka; SUMI- suva masa izbojaka; SVMK- sveža masa korenova; SUMK- suva masa korenova; SVI- sadržaj vlage u izbojku; OSUM- odnos suve mase korena i izbojka; Chla- hlorofil a; Chlb- hlorofil b; Car- karotenoidi; a+b- hlorofil a+b; a/b- odnos hlorofila a i b; Fen.- sadržaj ukupnih fenola; Flav.- sadržaj ukupnih flavonoida; FRAP- redukciona sposobnost ekstrakta; ABTS- sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala; DPPH- sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala

<sup>a)</sup> Podebljani brojevi predstavljaju koeficijente korelacije koji se značajno razlikuju ( $p > 0,05$ )



### 5.1.6 Analiza glavnih komponenti (PCA)

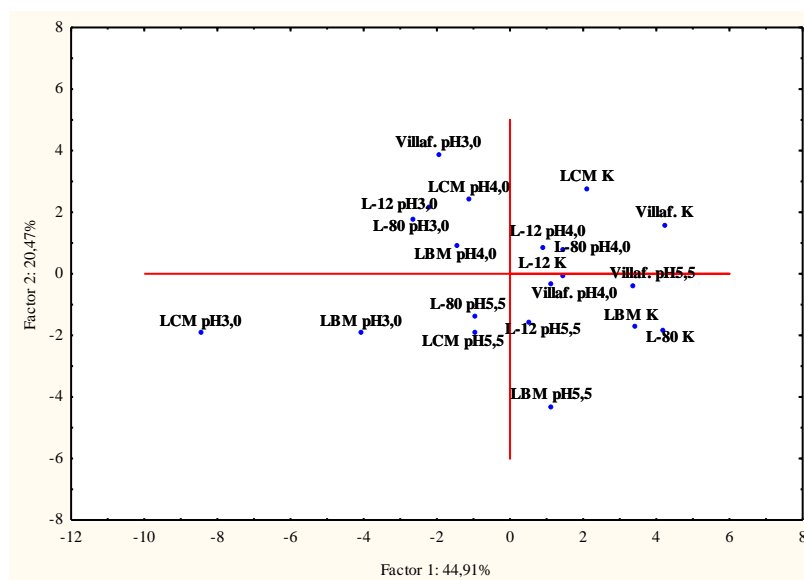
Primenom analize glavnih komponenti (Principle components analysis - PCA) analiziran je odnos na nivou interakcija genotip  $\times$  podloga. Prema dobijenom biplot-u (Grafikon 5.1.6.1.), formiranom na osnovu prve dve glavne komponente koje opisuju 65,38% od ukupne varijabilnosti, istraživani parametri su grupisani u tri grupe. Prvu grupu čini većina biohemijskih parametara izuzev sadržaja flavonoida, drugu grupu fotosintetički parametri i sadržaj flavonoida, koji je sa prethodnom grupom u jakoj, ali negativnoj korelaciji, i treća grupa koju čine morfološki i parametri biomase, koji su sa parametrima prethodne dve grupe u slaboj korelaciji. Ovi rezultati su u saglasnosti sa odnosom među parametrima dobijenim koeficijentima korelacije (Tabela 5.1.5.1.).



**Grafikon 5.1.6.1.** Analiza glavnih komponenti u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

*Legenda: Skraćenice na grafikonu: VI- visina izbojka; BK- broj korenova prvog reda; DK- dužina najdužeg korena; PP- procenat preživelih eksplantanata; PO- procenat ožiljenih eksplantanata; SVMI- sveža masa izbojaka; SUMI- suva masa izbojaka; SVMK- sveža masa korenova; SUMK- suva masa korenova; SVI- sadržaj vlage u izbojku; OSUM- odnos suve mase korena i izbojka; Chla- hlorofil a; Chlb- hlorofil b; Car- karotenoidi; a+b- hlorofil a+b; a/b- odnos hlorofila a i b; Fen.- sadržaj ukupnih fenola; Flav.- sadržaj ukupnih flavonoida; FRAP- redukciona sposobnost ekstrakta; ABTS- sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala; DPPH- sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala*

Prema rezultatima PCA analize na nivou interakcija genotip  $\times$  podloga, postoji značajna razlika između istraživanih genotipova u njihovom odgovoru na istraživane podloge (Grafikon 5.1.6.2.). Nije moguće izvršiti grupisanje prema genotipovima, ali se primećuje grupisanje po istraživanim podlogama. Tako se vrednosti genotipova za podlogu pH 3,0 grupišu na negativnoj strani prve glavne komponente, za pH 4,0 variraju uglavnom po drugoj glavnoj komponenti, za kontrolni tretman su uglavnom na pozitivnoj strani za prvu glavnu komponentu, a za podlogu sa pH 5,5 pufersanu limunskom kiselinom uglavnom na negativnoj strani za drugu glavnu komponentu. U tom smislu, najjaču reakciju u odnosu na kontrolu, istraživani genotipovi su postigli na podlozi pH 3,0.



**Grafikon 5.1.6.2.** Prikaz rezultata prve dve glavne komponente za istraživane interakcije genotip  $\times$  podloga u ogledu istraživanja tolerantnosti prema reakciji podloge  
*Legenda: Skraćenice na grafikonu: Villaf. – genotip Villafranca; K- kontrolna podloga*

## 5.2 Rezultati istraživanja tolerantnosti genotipova prema zaslanjenoj podlozi u *in vitro* uslovima

### 5.2.1 Rezultati morfoloških parametara

Tabela 5.2.1.1. pokazuje rezultate analize varijanse na osnovu kojih se može videti da su primenjene koncentracije NaCl imale ne samo statistički značajan već i izuzetno jak uticaj na sve istraživane morfološke parametre, dok istraživani genotipovi nisu pokazali značajan uticaj jedino kod procenta preživljavanja. Takođe, na osnovu dvofaktorijalne analize varijanse može se videti da interakcija genotip  $\times$  podloga nije pokazala značajan uticaj kod istraživanih morfoloških parametara.

**Tabela 5.2.1.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi <sup>a)</sup>

Svojtvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Visina izbojka (mm)	13,24 <sup>b)**</sup>	39,05 **	1,51
Broj korenova	16,49 **	24,84 **	0,79
Dužina najdužeg korena (mm)	28,02 **	7,38 **	1,24
Preživljavanje (%)	2,17	2,68 *	0,78
Ožiljavanje (%)	3,38 **	11,27 **	0,77

Legenda: <sup>a)</sup> Stepni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepni slobode za tretman  $df_B = 5$ ; stepni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 20$ ; stepni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 120$  i stepni slobode totala  $df_T = 149$ .

<sup>b)\*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Na osnovu prosečnih vrednosti za istraživane genotipove (Tabela 5.2.1.2.) može se videti da se prema visini izbojka i broju nastalih korenova prvog reda izdvajaju genotipovi Villafranca i L-12, a da se na osnovu dužine najdužeg korena, procentu preživljavanja i ožiljavanja izdvajaju genotipovi L-80 i L-12 (Grafikon 5.2.1.1.a.).

Takođe, vrednosti svih istraživanih morfoloških parametara pokazale su tendenciju opadanja sa povećanjem koncentracije soli u podlozi (Grafikon 5.2.1.1.b.).

Rezultati NZR testa su potvrdili statistički značajan uticaj istraživanih podloga na visinu izbojka. Izmerene vrednosti za ovaj morfološki parametar su nakon 35 dana gajenja u kulturi tkiva (Slika 5.2.1.1.) na kontrolnoj podlozi iznosile od 22 mm (genotip LCM) do 34 mm (genotip Villafranca).

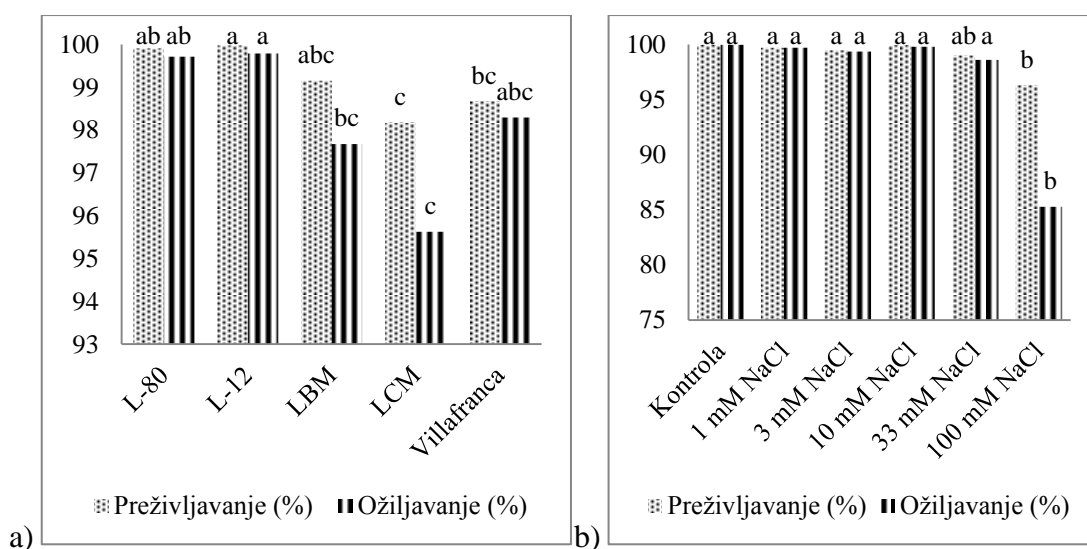
**Tabela 5.2.1.2.** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova i podloga za morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

Genotip	Visina izbojka	Broj korenova	Dužina najdužeg korena
	(mm)		(mm)
L-80	19,85 <sup>b*)</sup>	1,19 <sup>b</sup>	28,50 <sup>a</sup>
L-12	23,35 <sup>a</sup>	1,17 <sup>b</sup>	26,18 <sup>ab</sup>
LBM	19,73 <sup>b</sup>	1,17 <sup>b</sup>	20,27 <sup>c</sup>
LCM	18,90 <sup>b</sup>	1,09 <sup>c</sup>	24,20 <sup>b</sup>
Villafranca	24,97 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	15,65 <sup>d</sup>

Podloga			
Kontrola	25,74 <sup>a</sup>	1,22 <sup>a</sup>	23,38 <sup>ab</sup>
1 mM NaCl	24,53 <sup>ab</sup>	1,24 <sup>a</sup>	21,91 <sup>b</sup>
3 mM NaCl	23,65 <sup>ab</sup>	1,24 <sup>a</sup>	24,20 <sup>ab</sup>
10 mM NaCl	22,74 <sup>b</sup>	1,24 <sup>a</sup>	24,55 <sup>ab</sup>
33 mM NaCl	19,23 <sup>c</sup>	1,21 <sup>a</sup>	25,92 <sup>a</sup>
100 mM NaCl	12,27 <sup>d</sup>	0,94 <sup>b</sup>	17,80 <sup>c</sup>

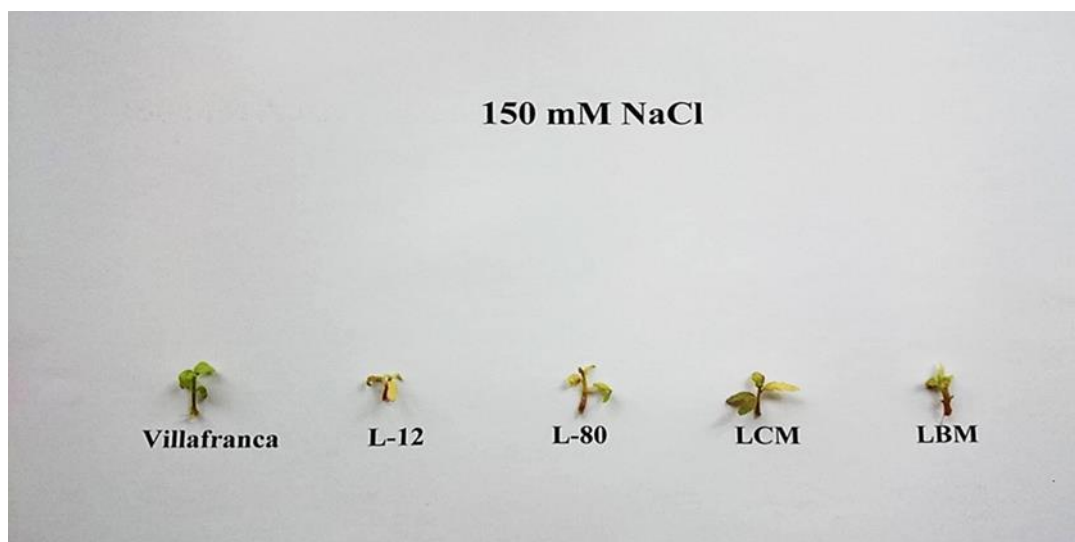
Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.2.1.1.** Preživljavanje i ožiljavanje eksplantanata **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

Sagledavajući dobijene rezultate ovog istraživanja može se videti da je genotip Villafranca pretrpeo najslabiji uticaj NaCl u koncentraciji od 100 mM, dok je najjači uticaj ovog tretmana pretrpeo genotip L-12 u odnosu na kontrolnu podlogu (Tabela 5.2.1.3.). Koncentracija od 1 mM NaCl uticala je statistički značajno na visinu izbojka jedino kod genotipa Villafranca u odnosu na kontrolnu podlogu.



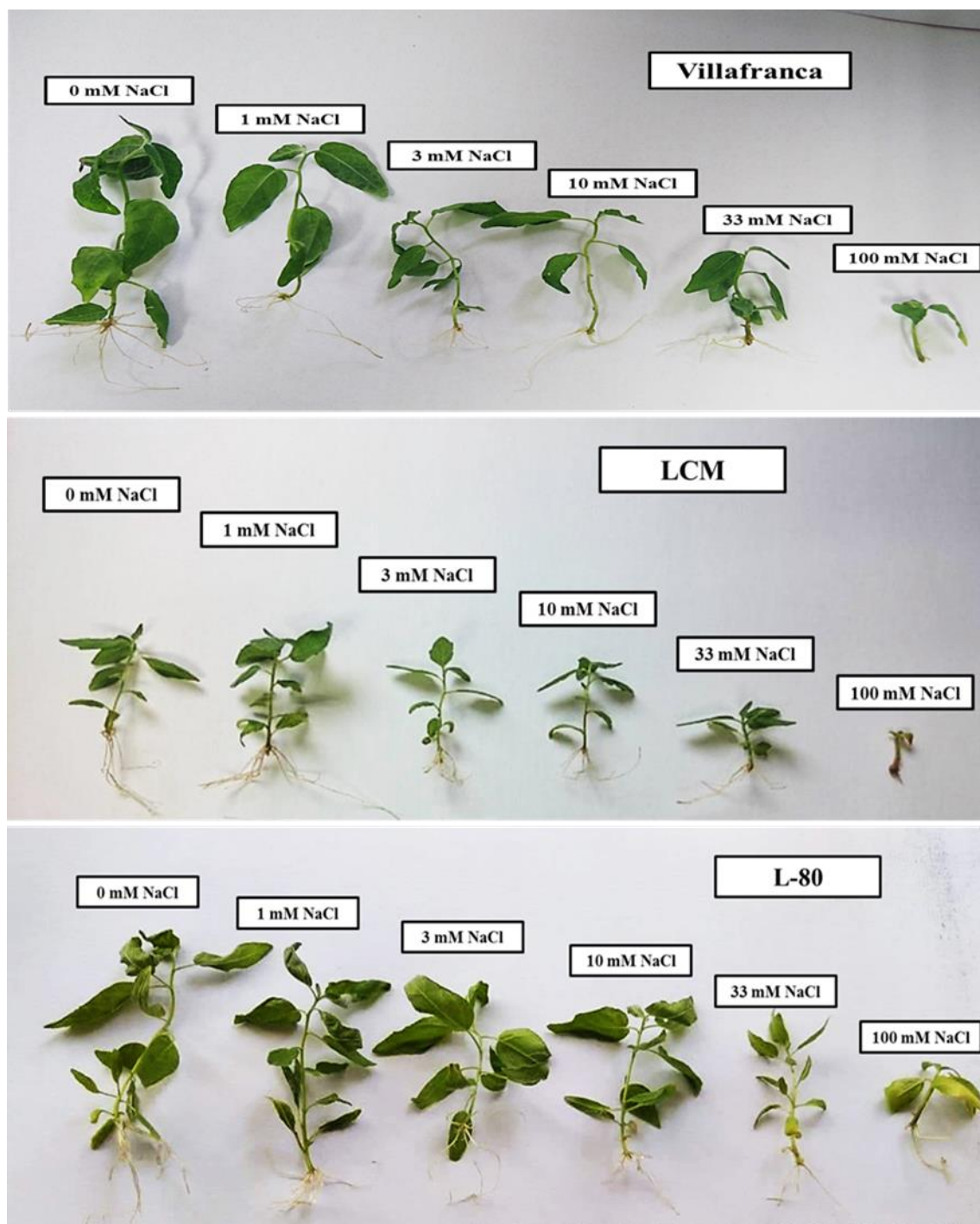
**Slika 5.2.1.2.** Izbojci istraživanih genotipova na podlozi sa 150 mM NaCl nakon 35 dana gajenja u *in vitro* uslovima (foto: V. Vuksanović)

Najveće vrednosti za istraživani parametar visina izbojka pri koncentraciji soli od 3 mM ostvario je genotip Villafranca u odnosu na ostale testirane genotipove. Koncentracije NaCl od 10 i 33 mM izdvojile su genotipove Villafranca i L-12 kao najtolerantnije u pogledu visine izbojka. Takođe, gledajući dobijene rezultate na najvišoj testiranoj koncentraciji soli u podlozi (100 mM) ovi genotipovi se ističu po visini izbojka, ali ove razlike između genotipova nisu bile statistički značajne. Rezultati NZR testa pokazuju da je najveći broj korenova na podlozi u kojoj je koncentracija soli iznosila 100 mM proizveo genotip Villafranca. Interesantno, ovaj genotip je pored najvećeg broja korenova prvog reda imao na istoj podlozi i najmanju dužinu korena, kao i najmanji procenat preživelih eksplantanata.

**Tabela 5.2.1.3.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za istraživane morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

Genotip	c(NaCl) (mM)	VI (mm)	BK	DK (mm)	PP (%)	PO (%)
L-80	0	23,40 <sup>defgh*)</sup>	1,25 <sup>abcd</sup>	27,52 <sup>abc</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	0	26,60 <sup>bcde</sup>	1,21 <sup>bcde</sup>	26,12 <sup>abcd</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	0	22,64 <sup>efgh</sup>	1,15 <sup>cde</sup>	20,60 <sup>defg</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LCM	0	22,00 <sup>efgh</sup>	1,14 <sup>cde</sup>	24,72 <sup>abcde</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Villafranca	0	34,05 <sup>a</sup>	1,33 <sup>ab</sup>	17,96 <sup>fgh</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-80	1	22,32 <sup>efgh</sup>	1,27 <sup>abcd</sup>	26,44 <sup>abcd</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	1	30,64 <sup>ab</sup>	1,27 <sup>abcd</sup>	29,40 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	1	21,66 <sup>efgh</sup>	1,22 <sup>bcde</sup>	18,13 <sup>fgh</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
LCM	1	19,61 <sup>hi</sup>	1,10 <sup>ef</sup>	22,79 <sup>cdef</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
Villafranca	1	28,43 <sup>bc</sup>	1,31 <sup>ab</sup>	12,79 <sup>h</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-80	3	22,16 <sup>efgh</sup>	1,25 <sup>abcd</sup>	30,96 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	3	24,32 <sup>cdefgh</sup>	1,23 <sup>abcde</sup>	25,00 <sup>abcde</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	3	22,24 <sup>efgh</sup>	1,28 <sup>abc</sup>	22,20 <sup>cdef</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LCM	3	21,44 <sup>fgh</sup>	1,11 <sup>ef</sup>	27,63 <sup>abc</sup>	93 <sup>b</sup>	90 <sup>bc</sup>
Villafranca	3	28,11 <sup>bcd</sup>	1,35 <sup>a</sup>	15,23 <sup>gh</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-80	10	19,36 <sup>hi</sup>	1,17 <sup>cde</sup>	27,84 <sup>abc</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	10	26,00 <sup>bcdef</sup>	1,20 <sup>bcde</sup>	28,48 <sup>abc</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	10	20,72 <sup>ghi</sup>	1,25 <sup>abcd</sup>	22,59 <sup>cdef</sup>	98 <sup>ab</sup>	98 <sup>ab</sup>
LCM	10	22,76 <sup>efgh</sup>	1,21 <sup>bcde</sup>	26,59 <sup>abcd</sup>	100 <sup>a</sup>	99 <sup>ab</sup>
Villafranca	10	24,84 <sup>cdefg</sup>	1,35 <sup>a</sup>	17,24 <sup>fgh</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-80	33	19,44 <sup>hi</sup>	1,18 <sup>cde</sup>	29,48 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-12	33	20,20 <sup>ghi</sup>	1,20 <sup>bcde</sup>	27,60 <sup>abc</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	33	19,48 <sup>hi</sup>	1,21 <sup>bcde</sup>	23,70 <sup>bcdef</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
LCM	33	16,43 <sup>ij</sup>	1,11 <sup>ef</sup>	30,39 <sup>a</sup>	90 <sup>b</sup>	90 <sup>bc</sup>
Villafranca	33	20,59 <sup>ghi</sup>	1,35 <sup>a</sup>	18,45 <sup>efgh</sup>	99 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>
L-80	100	12,40 <sup>jk</sup>	0,99 <sup>fg</sup>	28,77 <sup>abc</sup>	97 <sup>ab</sup>	95 <sup>abc</sup>
L-12	100	12,34 <sup>jk</sup>	0,87 <sup>gh</sup>	20,45 <sup>defg</sup>	99 <sup>ab</sup>	92 <sup>bc</sup>
LBM	100	11,67 <sup>jk</sup>	0,88 <sup>gh</sup>	14,42 <sup>gh</sup>	95 <sup>ab</sup>	68 <sup>d</sup>
LCM	100	11,16 <sup>k</sup>	0,80 <sup>h</sup>	13,10 <sup>h</sup>	98 <sup>ab</sup>	81 <sup>cd</sup>
Villafranca	100	13,77 <sup>jk</sup>	1,14 <sup>def</sup>	12,25 <sup>h</sup>	90 <sup>b</sup>	84 <sup>cd</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$ ; skraćenice u tabeli: VI - visina izbojka, BK - broj korenova prvog reda, DK – dužina najdužeg korena, PP- procenat preživljavanja eksplantatanata, PO – procenat ožiljavanja eksplantatanata



**Slika 5.2.1.1.** Izgled ožiljenih izbojaka različitih genotipova na istraživanim podlogama u ogledu istraživanja tolerantnosti prema NaCl (foto: V. Vuksanović)

Najveći procent ožiljavanja preživelih eksplantantata na najvišoj testiranoj koncentraciji NaCl (100 mM) u podlozi za ožiljavanje imali su genotipovi L-80 i L-12, a statistički značajno najmanji procenat ožiljavanja je ostvario genotip LBM. Na procenat

preživljavanja postavljenih eksplantanata koncentracije NaCl od 1, 3, 10 i 33 mM nisu statistički značajno uticale.

### 5.2.2 Rezultati parametara biomase

Analiza varijanse (Tabela 5.2.2.1.) pokazuje da je na sve istraživane parametre biomase statistički značajan uticaj imao faktor genotip, a na većinu istraživanih parametara i podloga. Međutim interakcija genotip  $\times$  podloga nije pokazala statistički značajan uticaj.

**Tabela 5.2.2.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane parametre biomase u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisusutvo NaCl u podlozi <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Sveža masa izbojaka (g)	9,267 <sup>b) **</sup>	4,215 <sup>**</sup>	1,042
Suva masa izbojaka (g)	3,063 <sup>*</sup>	1,780	0,937
Sveža masa korena (g)	2,802 <sup>*</sup>	2,561 <sup>*</sup>	0,926
Suva masa korena (g)	7,780 <sup>**</sup>	4,755 <sup>**</sup>	1,266
Sadržaj vlage u izbojku	5,520 <sup>**</sup>	1,874	0,996
Odnos suve mase korena i izbojka	9,664 <sup>**</sup>	3,882 <sup>**</sup>	1,182

Legenda: <sup>a)</sup> Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za tretman  $df_B = 5$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 20$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 120$  i stepeni slobode totala  $df_T = 149$ .

<sup>b) \*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; <sup>\*\*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

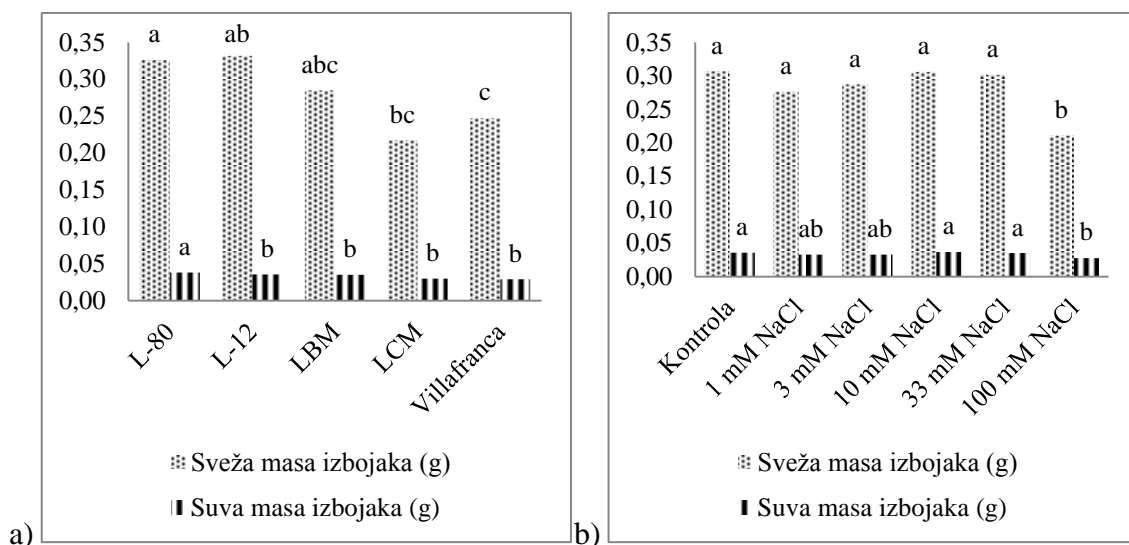
Na osnovu prosečnih vrednosti dobijenih za istraživane podloge može se videti da je samo primenjena koncentracija soli od 100 mM statistički značajno uticala na istraživane parametre biomase (Grafikon 5.2.2.1.b., Grafikon 5.2.2.2.b. i Grafikon 5.2.2.3.b).

Analizirajući dobijene rezultate može se zaključiti da se istraživani genotipovi mogu grupisati u dve grupe. U prvu grupu spadaju genotipovi L-80 i L-12 koji su zabeležili najviše vrednosti za svežu i suhu masu izbojka, dok drugu grupu čine genotipovi LBM, LCM i Villafranca sa značajno nižim vrednostima za pomenute parametre biomase (Grafikon 5.2.2.1.a. i Grafikon 5.2.2.2.a.).

Posmatrajući izračunate vrednosti za parametar sadržaj vlage u izbojku, može se videti da je statistički značajno najmanje vlage u izbojku izračunato za genotip LCM

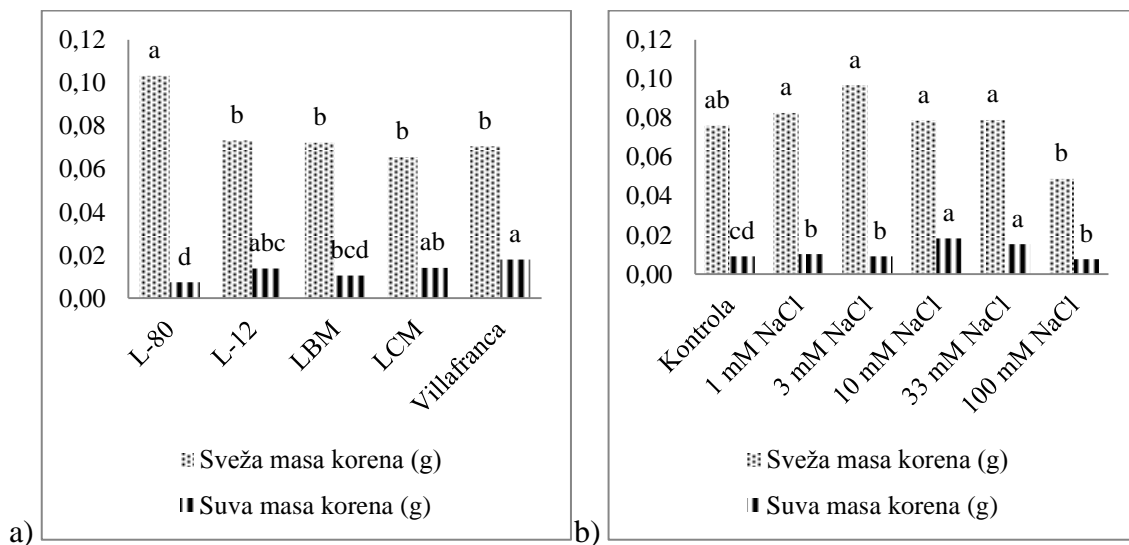


(0,85) dok su najveći sadržaj vlage ostvarili genotipovi L-12 (0,89) i L-80 (0,88) (Grafikon 5.2.2.3.a.).



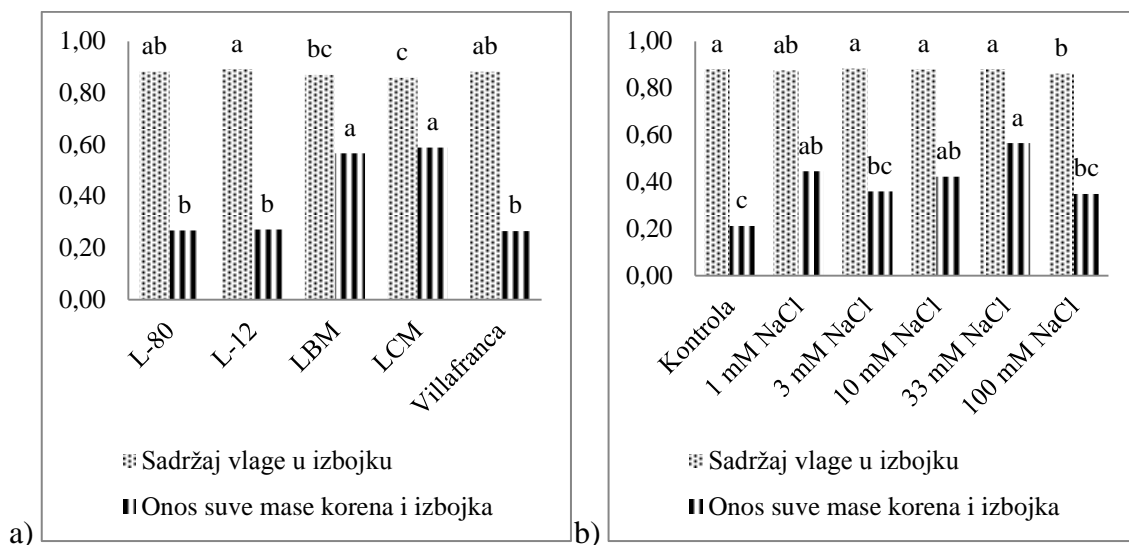
**Grafikon 5.2.2.1.** Sveža i suva masa izbojaka **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*



**Grafikon 5.2.2.2.** Sveža i suva masa korena **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*



**Grafikon 5.2.2.3.** Sadržaj vlage u izbojku i odnos suve mase korena i izbojka **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Što se tiče odnosa suve mase korena i izbojka prema totalu genotipova izdvajaju se genotipovi LBM i LCM kod kojih je izračunati odnos bio statistički značajno veći u odnosu na genotipove L-12, L-80 i Villafranca (Grafikon 5.2.2.3.a.).

Testirane koncentracije natrijum hlorida u modifikovanoj ACM podlozi od 1, 3, 10 i 33 mM nisu ispoljile inhibitorni efekat, čak su dovele i do blagog stimulativnog efekta na merene parametre biomase izbojka i korena (Tabela 5.2.2.2.). NZR test je potvrdio uticaj genotipa na istraživana svojstva biomase. Istraživani genotipovi su pokazali statistički značajnu reakciju parametrima biomase jedino na podlozi u kojoj je natrijum hlorid dodat u koncentraciji od 100 mM. Najviše sveže i suve mase izbojka na tretmanu sa 100 mM NaCl izmereno je kod genotipova L-12 (0,306 g SVM; 0,037 g SUM) i L-80 (0,228 g SVM; 0,030 g SUM), dok je na istom tretmanu genotip LBM postigao znatno manje vrednosti (0,153 g SVM; 0,025 g SUM).

Sagledavajući dobijene rezultate za svežu masu korena mogu se izdvojiti genotipovi L-80 (0,074 g) i L-12 (0,070 g) kao genotipovi kod kojih je izmereno najviše sveže mase korena u odnosu na genotip LBM (0,020 g).

**Tabela 5.2.2.2.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za istraživane parametre biomase u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

Genotip	c(NaCl) (mM)	SVMI (g)	SUMI (g)	SVMK (g)	SUMK (g)	SVI	OSUM
L-80	0	0,37 <sup>ab *</sup>	0,04 <sup>abc</sup>	0,09 <sup>abcd</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,22 <sup>efg</sup>
L-12	0	0,34 <sup>ab</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,06 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,90 <sup>abc</sup>	0,17 <sup>g</sup>
LBM	0	0,32 <sup>abcd</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,08 <sup>bcde</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,86 <sup>bcdefg</sup>	0,20 <sup>fg</sup>
LCM	0	0,22 <sup>defg</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,05 <sup>cdef</sup>	0,01 <sup>efg</sup>	0,86 <sup>bcdefg</sup>	0,24 <sup>efg</sup>
Villafranca	0	0,28 <sup>bcde</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,09 <sup>bcde</sup>	0,01 <sup>efg</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,22 <sup>efg</sup>
L-80	1	0,34 <sup>ab</sup>	0,04 <sup>abcde</sup>	0,12 <sup>ab</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,28 <sup>efg</sup>
L-12	1	0,31 <sup>abcde</sup>	0,03 <sup>bcdefg</sup>	0,06 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,91 <sup>a</sup>	0,35 <sup>defg</sup>
LBM	1	0,30 <sup>abcde</sup>	0,04 <sup>abc</sup>	0,09 <sup>bcde</sup>	0,02 <sup>abc</sup>	0,86 <sup>defg</sup>	0,57 <sup>bcdefg</sup>
LCM	1	0,16 <sup>fg</sup>	0,02 <sup>fg</sup>	0,05 <sup>cdef</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,85 <sup>efg</sup>	0,74 <sup>abc</sup>
Villafranca	1	0,26 <sup>bcdefg</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,10 <sup>abcd</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,87 <sup>abcdef</sup>	0,29 <sup>efg</sup>
L-80	3	0,33 <sup>abc</sup>	0,04 <sup>abc</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,88 <sup>abcdef</sup>	0,27 <sup>efg</sup>
L-12	3	0,36 <sup>ab</sup>	0,04 <sup>abcdef</sup>	0,09 <sup>bcde</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,22 <sup>fg</sup>
LBM	3	0,26 <sup>bcdefg</sup>	0,03 <sup>cdefg</sup>	0,10 <sup>abcd</sup>	0,02 <sup>bcdef</sup>	0,90 <sup>ab</sup>	0,69 <sup>abcd</sup>
LCM	3	0,22 <sup>cdefg</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,08 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,86 <sup>cdefg</sup>	0,34 <sup>defg</sup>
Villafranca	3	0,27 <sup>bcdef</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,07 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,28 <sup>efg</sup>
L-80	10	0,36 <sup>ab</sup>	0,04 <sup>abc</sup>	0,10 <sup>abcd</sup>	0,02 <sup>bcdef</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,24 <sup>efg</sup>
L-12	10	0,28 <sup>bcde</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,06 <sup>cdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,88 <sup>abcde</sup>	0,35 <sup>defg</sup>
LBM	10	0,31 <sup>abcde</sup>	0,04 <sup>abc</sup>	0,07 <sup>bcdef</sup>	0,02 <sup>bcd</sup>	0,87 <sup>abcdef</sup>	0,48 <sup>cdefg</sup>
LCM	10	0,28 <sup>bcde</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,10 <sup>abcd</sup>	0,02 <sup>bcd</sup>	0,87 <sup>abcdef</sup>	0,69 <sup>abcd</sup>
Villafranca	10	0,30 <sup>abcde</sup>	0,04 <sup>abcdef</sup>	0,07 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,88 <sup>abcde</sup>	0,35 <sup>defg</sup>
L-80	33	0,32 <sup>abcd</sup>	0,04 <sup>abcd</sup>	0,09 <sup>bcde</sup>	0,01 <sup>efg</sup>	0,88 <sup>abcde</sup>	0,40 <sup>cdefg</sup>
L-12	33	0,39 <sup>a</sup>	0,04 <sup>ab</sup>	0,11 <sup>abc</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,90 <sup>abcd</sup>	0,29 <sup>efg</sup>
LBM	33	0,36 <sup>ab</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,07 <sup>bcdef</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	1,01 <sup>a</sup>
LCM	33	0,22 <sup>cdefg</sup>	0,04 <sup>abcdef</sup>	0,09 <sup>bcde</sup>	0,03 <sup>ab</sup>	0,84 <sup>fg</sup>	0,93 <sup>ab</sup>
Villafranca	33	0,21 <sup>defg</sup>	0,02 <sup>efg</sup>	0,04 <sup>def</sup>	0,00 <sup>g</sup>	0,89 <sup>abcd</sup>	0,19 <sup>fg</sup>
L-80	100	0,23 <sup>cdefg</sup>	0,03 <sup>abcdefg</sup>	0,07 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>fg</sup>	0,86 <sup>bcdefg</sup>	0,20 <sup>fg</sup>
L-12	100	0,31 <sup>abcde</sup>	0,04 <sup>abcdef</sup>	0,07 <sup>bcdef</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,87 <sup>abcdef</sup>	0,25 <sup>efg</sup>
LBM	100	0,15 <sup>g</sup>	0,02 <sup>defg</sup>	0,02 <sup>f</sup>	0,01 <sup>defg</sup>	0,83 <sup>g</sup>	0,44 <sup>cdefg</sup>
LCM	100	0,20 <sup>efg</sup>	0,03 <sup>cdefg</sup>	0,03 <sup>ef</sup>	0,01 <sup>cdefg</sup>	0,86 <sup>bcdefg</sup>	0,59 <sup>bcde</sup>
Villafranca	100	0,16 <sup>fg</sup>	0,02 <sup>g</sup>	0,05 <sup>cdef</sup>	0,01 <sup>fg</sup>	0,87 <sup>abcdef</sup>	0,25 <sup>efg</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$ ; skraćenice u tabeli: SVMI-sveža masa izbojaka, SUMI-suva masa izbojaka, SVMK-sveža masa korenova, SUMK-suva masa korenova, SVI-sadržaj vlage u izbojku i OSUM-odnos suve mase korena i izbojka

### 5.2.3 Rezultati sadržaja fotosintetičkih pigmenata

Na osnovu rezultata F testa prikazanih u Tabeli 5.2.3.1. može se videti da su statistički značajan uticaj na koncentraciju fotosintetičkih pigmenata imale primenjene koncentracije soli u podlozi za ožiljavanje u kontrolisanim uslovima. Istraživani genotipovi ispoljili su statistički značajan uticaj samo na sadržaj hlorofila b. Interakcija između istraživanih koncentracija soli i istraživanih genotipova nije bila statistički značajna ni kod jednog pomenutog parametra.

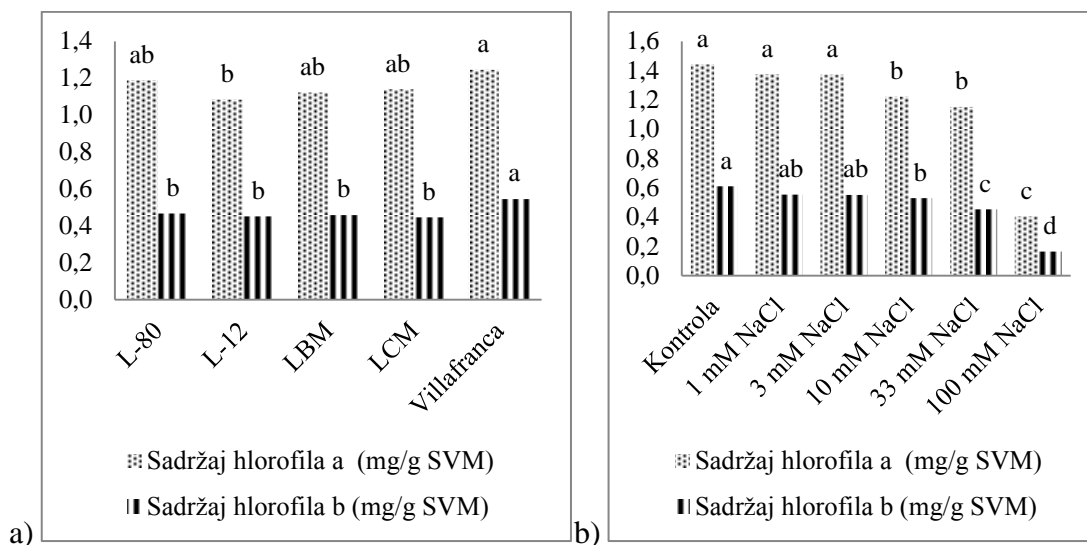
**Tabela 5.2.3.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za merene parametre sadržaja fotosintetičkih pigmenata u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Hlorofil a (mg/g SVM)	1,31	50,69 **	1,19
Hlorofil b (mg/g SVM)	3,00 <sup>b) *</sup>	38,95 **	1,45
Karotenoidi (mg/g SVM)	1,32	35,52 **	1,52
Hlorofil a + b (mg/g SVM)	1,81	50,40 **	1,30
Hlorofil a/b	1,05	0,85	0,22

Legenda: <sup>a)</sup> Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za tretman  $df_B = 5$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 20$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 117$  i stepeni slobode totala  $df_T = 146$ .

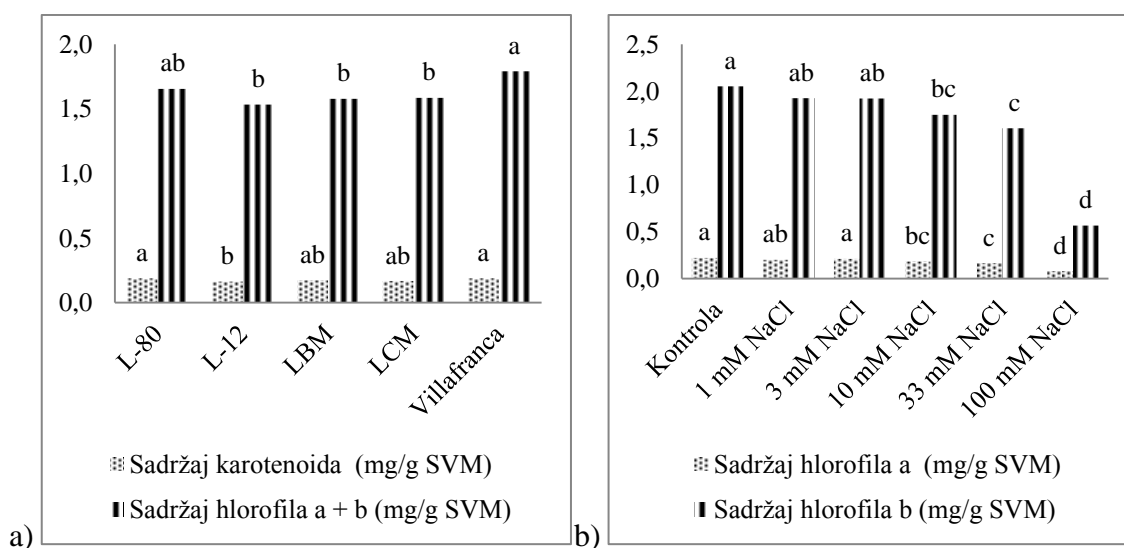
<sup>b) \*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Prema dobijenim prosečnim vrednostima najmanji sadržaj hlorofila a izmeren je u ekstraktima izbojaka biljaka gajenih na podlogama u kojima je koncentracija soli iznosila 100 mM (0,40 mg/g SVM) (Grafikon 5.2.3.1.b.). Prosečne vrednosti za sadržaj hlorofila a u kontroli bile su u rasponu od 1,70 do 1,20 mg/g SVM (Grafikon 5.2.3.1.a.). Najmanji sadržaj karotenoida je ostvario genotip L-12 (0,16 mg/g SVM) a najveći genotipovi Villafranca i L-80 (0,18 mg/g SVM) (Grafikon 5.2.3.2.a.). Odnos hlorofila a i b nije pokazao statistički značajnu razliku ni između testiranih genotipova ni između istraživanih koncentracijama soli (Grafikon 5.2.3.3.a. i Grafikon 5.2.3.3.b.).



**Grafikon 5.2.3.1.** Sadržaj hlorofila a i hlorofila b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

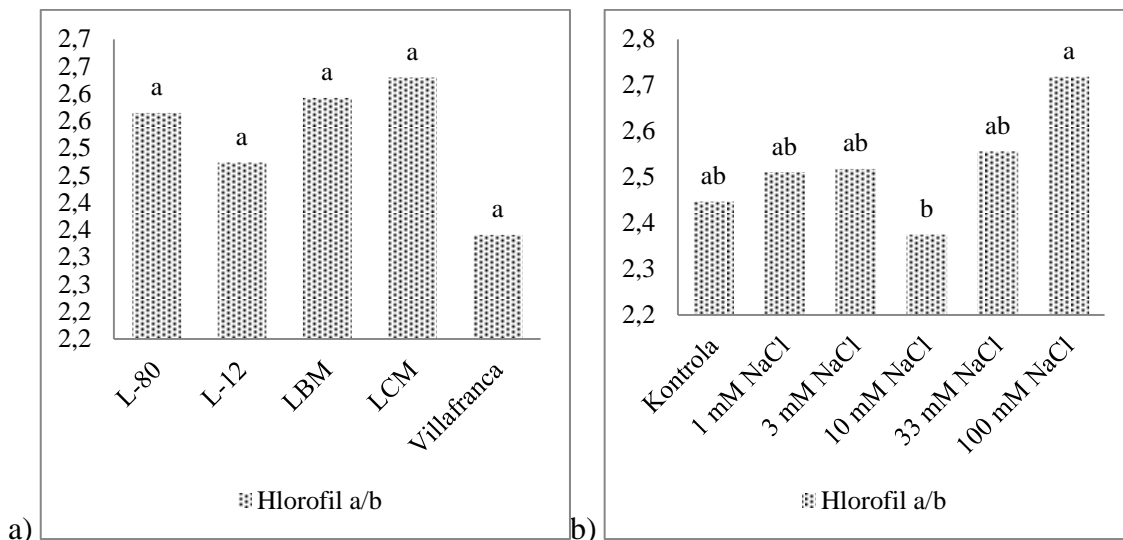
Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.2.3.2.** Sadržaj karotenoida i hlorofila a+b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

Rezultati NZR testa su potvrdili statistički značajan uticaj primenjenih koncentracija NaCl na sadržaj fotosintetičkih pigmenata (Tabela 5.2.3.2.). Generalno gledajući može se reći da je sadržaj fotosintetičkih pigmenata opadao sa povećanjem koncentracije NaCl u podlozi.



**Grafikon 5.2.3.3.** Odnos hlorofila a i b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Statistički značajan pad sadržaja hlorofila a od 16% izmeren je već pri koncentraciji NaCl od 10 mM u odnosu na kontrolnu podlogu. Najmanji sadržaj hlorofila a na podlozi sa 100 mM NaCl ostvario je genotip LCM (0,19 mg/g SVM) dok su na istoj podlozi najviše vrednosti ovog hlorofila ostvarili genotipovi Villafranca (0,61 mg/g SVM) i L-80 (0,56 mg/g SVM). Vrednosti za sadržaj hlorofila b pokazale su isti trend kao i za sadržaj hlorofila a. Prosečne vrednosti ovog pigmenta pri tretmanu od 100 mM NaCl iznosile su od 0,25 do 0,07 mg/g SVM. Isto kao i kod hlorofila a i ovde se genotipovi Villafranca i L-80 mogu izdvojiti kao najtolerantniji prema zaslanjenosti. Statistički značajano opadanje sadržaja karotenoida detektovano je u ekstraktima izbojaka biljaka koje su gajene na podlogama u kojima je natrijum hlorid dodavan u koncentracijama od 33 i 100 mM. Sadržaj hlorofila na kontrolnoj podlozi je iznosio: 2,53 mg/g SVM (Villafranca), 2,11 mg/g SVM (LBM), 2,03 mg/g SVM (LCM), 1,70 mg/g SVM (L-12) i 1,68 mg/g SVM (L-80). Pod uticajem različitih koncentracija soli sadržaj hlorofila a+b se menjao u opsegu: 2,05 mg/g SVM (kontrola), 1,93 mg/g SVM (1 mM NaCl), 1,92 mg/g SVM (3 mM NaCl), 1,72 mg/g SVM (10 mM NaCl), 1,60 mg/g SVM (33 mM NaCl) i 0,56 mg/g SVM (100 mM NaCl).

**Tabela 5.2.3.2.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za mereni sadržaj fotosintetičkih pigmenta u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

Genotip	c(NaCl) (mM)	Hlorofil a (mg/g SVM)	Hlorofil b (mg/g SVM)	Karotenoidi (mg/g SVM)	Hlorofil a+b (mg/g SVM)	Odnos hlorofila a i b
L-80	0	1,20 <sup>cdef*</sup>	0,48 <sup>bcde</sup>	0,19 <sup>bcdef</sup>	1,68 <sup>bcde</sup>	2,53 <sup>ab</sup>
L-12	0	1,30 <sup>bcdef</sup>	0,49 <sup>bcde</sup>	0,30 <sup>a</sup>	1,78 <sup>bcde</sup>	2,69 <sup>ab</sup>
LBM	0	1,50 <sup>abc</sup>	0,61 <sup>bc</sup>	0,23 <sup>b</sup>	2,11 <sup>abc</sup>	2,48 <sup>ab</sup>
LCM	0	1,45 <sup>abcde</sup>	0,59 <sup>bcd</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	2,04 <sup>bcd</sup>	2,50 <sup>ab</sup>
Villafranca	0	1,70 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>	0,22 <sup>bc</sup>	2,53 <sup>a</sup>	2,13 <sup>b</sup>
L-80	1	1,32 <sup>bcdef</sup>	0,52 <sup>bcde</sup>	0,20 <sup>bcde</sup>	1,85 <sup>bcd</sup>	2,54 <sup>ab</sup>
L-12	1	1,28 <sup>bcdef</sup>	0,51 <sup>bcde</sup>	0,16 <sup>cdefg</sup>	1,79 <sup>bcde</sup>	2,52 <sup>ab</sup>
LBM	1	1,38 <sup>abcde</sup>	0,53 <sup>bcde</sup>	0,21 <sup>bcd</sup>	1,92 <sup>bcd</sup>	2,61 <sup>ab</sup>
LCM	1	1,43 <sup>abcde</sup>	0,57 <sup>bcd</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	2,00 <sup>bcd</sup>	2,54 <sup>ab</sup>
Villafranca	1	1,45 <sup>abcd</sup>	0,62 <sup>b</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	2,08 <sup>abcd</sup>	2,34 <sup>ab</sup>
L-80	3	1,54 <sup>ab</sup>	0,60 <sup>bc</sup>	0,23 <sup>b</sup>	2,15 <sup>ab</sup>	2,57 <sup>ab</sup>
L-12	3	1,26 <sup>bcdef</sup>	0,52 <sup>bcde</sup>	0,19 <sup>bcdef</sup>	1,79 <sup>bcde</sup>	2,49 <sup>ab</sup>
LBM	3	1,35 <sup>bcde</sup>	0,53 <sup>bcde</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	1,87 <sup>bcd</sup>	2,57 <sup>ab</sup>
LCM	3	1,41 <sup>abcde</sup>	0,54 <sup>bcd</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	1,96 <sup>bcd</sup>	2,60 <sup>ab</sup>
Villafranca	3	1,30 <sup>bcdef</sup>	0,55 <sup>bcd</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	1,85 <sup>bcd</sup>	2,36 <sup>ab</sup>
L-80	10	1,27 <sup>bcdef</sup>	0,50 <sup>bcde</sup>	0,21 <sup>bcde</sup>	1,77 <sup>bcde</sup>	2,55 <sup>ab</sup>
L-12	10	1,12 <sup>ef</sup>	0,55 <sup>bcd</sup>	0,17 <sup>cdefg</sup>	1,66 <sup>cde</sup>	2,13 <sup>b</sup>
LBM	10	1,27 <sup>bcdef</sup>	0,60 <sup>bc</sup>	0,17 <sup>cdef</sup>	1,87 <sup>bcd</sup>	2,26 <sup>b</sup>
LCM	10	1,18 <sup>cdef</sup>	0,46 <sup>cde</sup>	0,17 <sup>cdef</sup>	1,64 <sup>cde</sup>	2,56 <sup>ab</sup>
Villafranca	10	1,27 <sup>bcdef</sup>	0,53 <sup>bcde</sup>	0,20 <sup>bcde</sup>	1,80 <sup>bcde</sup>	2,38 <sup>ab</sup>
L-80	33	1,23 <sup>bcdef</sup>	0,48 <sup>bcde</sup>	0,19 <sup>bcdef</sup>	1,70 <sup>bcde</sup>	2,59 <sup>ab</sup>
L-12	33	1,27 <sup>bcdef</sup>	0,51 <sup>bcde</sup>	0,14 <sup>fgh</sup>	1,78 <sup>bcde</sup>	2,47 <sup>ab</sup>
LBM	33	0,99 <sup>f</sup>	0,38 <sup>ef</sup>	0,16 <sup>efg</sup>	1,36 <sup>e</sup>	2,61 <sup>ab</sup>
LCM	33	1,17 <sup>cdef</sup>	0,44 <sup>de</sup>	0,16 <sup>defg</sup>	1,61 <sup>de</sup>	2,70 <sup>ab</sup>
Villafranca	33	1,13 <sup>def</sup>	0,47 <sup>bcde</sup>	0,18 <sup>cdef</sup>	1,60 <sup>de</sup>	2,39 <sup>ab</sup>
L-80	100	0,56 <sup>gh</sup>	0,22 <sup>fgh</sup>	0,10 <sup>hij</sup>	0,78 <sup>fg</sup>	2,60 <sup>ab</sup>
L-12	100	0,41 <sup>ghi</sup>	0,15 <sup>gh</sup>	0,07 <sup>ij</sup>	0,56 <sup>fgh</sup>	2,63 <sup>ab</sup>
LBM	100	0,24 <sup>hi</sup>	0,10 <sup>gh</sup>	0,06 <sup>j</sup>	0,34 <sup>gh</sup>	3,03 <sup>a</sup>
LCM	100	0,20 <sup>i</sup>	0,08 <sup>h</sup>	0,05 <sup>j</sup>	0,28 <sup>h</sup>	2,89 <sup>ab</sup>
Villafranca	100	0,62 <sup>g</sup>	0,26 <sup>fg</sup>	0,11 <sup>ghi</sup>	0,88 <sup>f</sup>	2,44 <sup>ab</sup>

Legenda\*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.2.4 Rezultati biohemijskih parametara

Na osnovu rezultata F-testa (Tabela 5.4.2.1.) jasno se može videti da je statistički značajan uticaj na istraživane biohemijske parametre ispoljio i genotip i podloga dok je razlika u interakciji genotip  $\times$  podloga ispoljila statistički značajan uticaj samo kod sadržaja ukupnih fenola i flavonoida.

**Tabela 5.4.2.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane biohemijske parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Ukupni fenoli (mg GAE/g SVM)	39,73 <sup>b)</sup> **	5,89 **	3,89 **
Ukupni flavonoidi (mg QE/g SVM)	3,06 **	119,79 **	1,99 **
FRAP (mg ASC/g SVM)	9,31 **	2,31 *	1,50
ABTS <sup>+</sup> (mM TE/g SVM)	4,27 **	3,57 **	1,02
DPPH <sup>+</sup> (mM TE/g SVM)	4,37 **	2,51 *	1,47

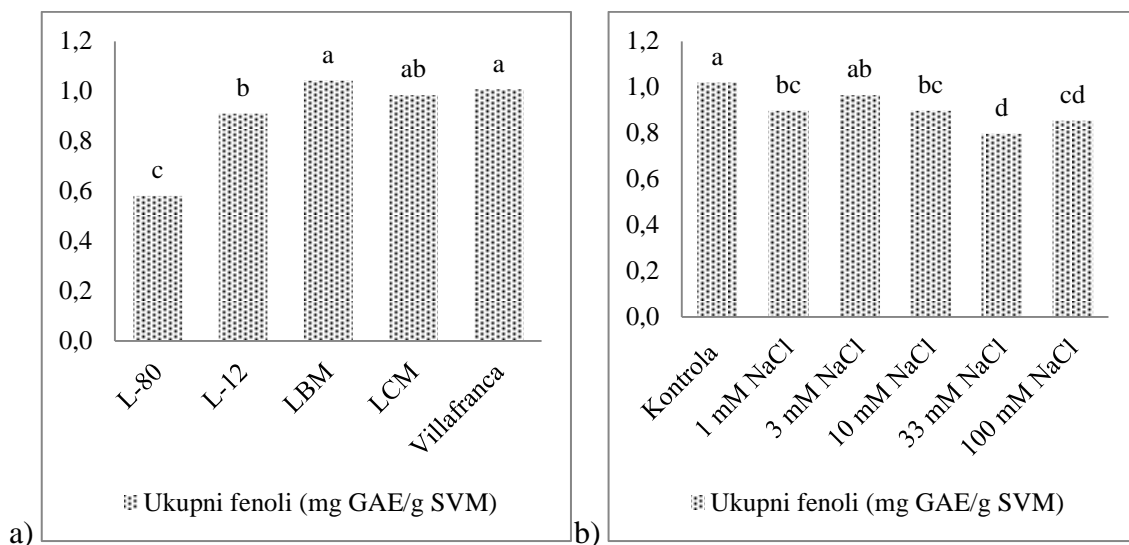
Legenda: <sup>a)</sup> Stepni slobode za genotip:  $df_A = 4$ , stepni slobode za tretman  $df_B = 5$ , stepni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 20$ , stepni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 120$  i stepni slobode totala  $df_T = 149$ . <sup>b)</sup>

\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

#### 5.2.4.1 Rezultati sadržaja ukupnih fenola

Rezultati NZR testa su potvrdili statistički značajan uticaj istraživanih podloga. Generalno, sagledavajući rezultate ovog testa može se videti da je sadržaj ukupnih fenola opadao sa povećanjem koncentracije soli u podlozi (Grafikon 5.2.4.1.1.b.). Najmanji sadržaj ukupnih fenola detektovan je u ekstraktima izbojaka biljaka koje su rasle na podlogama u kojima je NaCl dodat u koncentraciji od 33 mM (0,80 mg GAE/g SVM) i 100 mM (0,85 mg GAE/g SVM), dok je najveći sadržaj fenola izmeren na kontrolnoj podlozi i kretao se u proseku oko 1 mg GAE/g SVM.





**Grafikon 5.2.4.1.1.** Sadržaj ukupnih fenola **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane pogloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.2.4.1.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za izmereni sadržaj ukupnih fenola u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

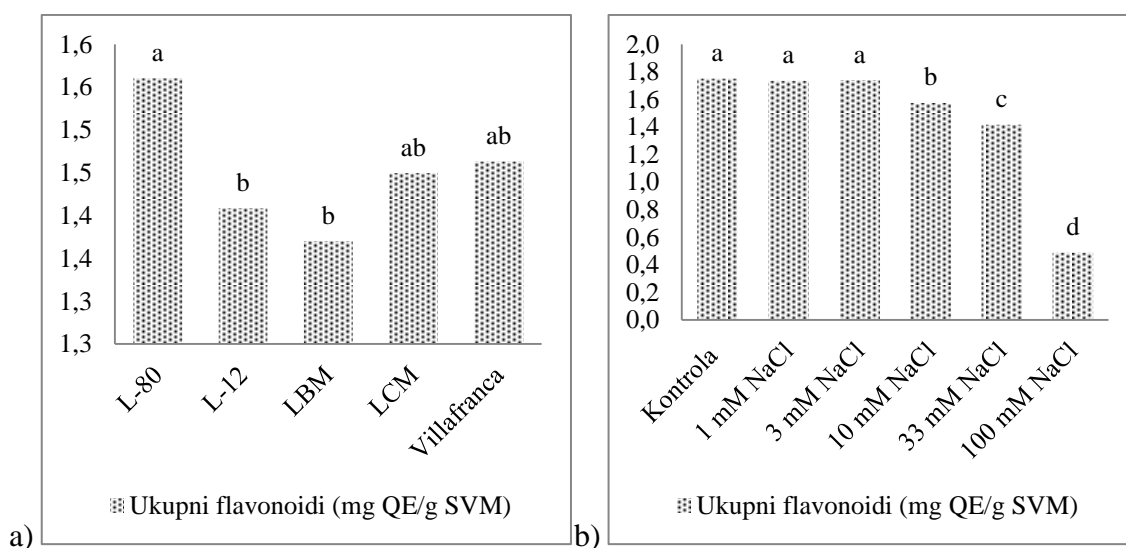
Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/g SVM)					
c(NaCl) (mM)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	0,55 <sup>mn*)</sup>	1,21 <sup>abc</sup>	1,01 <sup>cdefg</sup>	0,98 <sup>efghi</sup>	1,34 <sup>a</sup>
1	0,71 <sup>klm</sup>	0,81 <sup>hijkl</sup>	1,12 <sup>bcde</sup>	0,91 <sup>fghijk</sup>	0,93 <sup>efghij</sup>
3	0,62 <sup>lmn</sup>	0,84 <sup>ghijk</sup>	1,08 <sup>bcdef</sup>	1,20 <sup>abcd</sup>	1,08 <sup>bcdef</sup>
10	0,61 <sup>lmn</sup>	0,96 <sup>efghi</sup>	0,92 <sup>efghij</sup>	1,02 <sup>cdefg</sup>	0,98 <sup>efghi</sup>
33	0,43 <sup>n</sup>	0,89 <sup>fghijk</sup>	0,83 <sup>ghijk</sup>	1,00 <sup>defgh</sup>	0,83 <sup>ghijk</sup>
100	0,56 <sup>mn</sup>	0,75 <sup>jklm</sup>	1,28 <sup>ab</sup>	0,78 <sup>ijkl</sup>	0,89 <sup>fghijk</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

Na najvišoj ispitivanoj koncentraciji soli u podlozi (100 mM NaCl) dobijena je najbolja diferencijacija genotipova (Tabela 5.2.4.1.1.). Tako je na ovoj podlozi genotip LBM akumulirao najveći sadržaj ukupnih fenola (1,28 mg GAE/g SVM), zatim genotip Villafranca sa 0,89 mg GAE/g SVM, a najmanji sadržaj ukupnih fenola izmeren je kod genotipa L-80 (0,56 mg GAE/g SVM).

### 5.2.4.2 Rezultati sadržaja ukupnih flavonoida

Sadržaj ukupnih flavonoida je takođe opadao sa povećanjem koncentracije soli u podlozi (Grafikon 5.2.4.2.1.b.). Prosečna vrednost sadržaja ukupnih flavonoida u ekstraktima istraživanih genotipova bele topole u kontrolnoj podlozi iznosila je 1,75 mg QE/g SVM, dok je njihov sadržaj u ekstraktima izbojaka biljaka koje su rasle na podlozi u kojoj je NaCl dodat u koncentraciji od 100 mM opao za 72,5% u odnosu na kontrolnu podlogu. Na osnovu rezultata prikazanih za najvišu ispitivanu koncentraciju NaCl (100 mM) u Tabeli 5.2.4.2.1. može se videti da je genotip L-80 akumulirao najveći sadržaj ukupnih flavonoida (0,63 mg QE/g SVM). Genotipovi LBM i LCM zabeležili su najmanji sadržaj ukupnih flavonoida na koncentraciji od 100 mM NaCl. Njihov sadržaj ukupnih flavonoida se u odnosu na kontrolu smanjio za 72% (LBM) i 87% (LCM).



**Grafikon 5.2.4.2.1.** Sadržaj ukupnih flavonoida **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

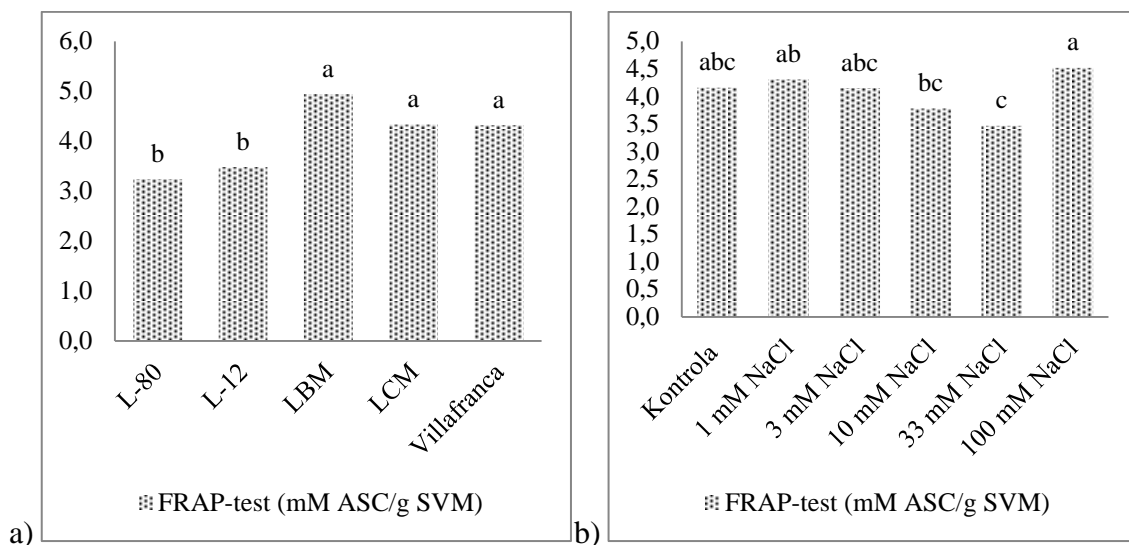
**Tabela 5.2.4.2.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za izmereni sadržaj ukupnih flavonoida u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

Sadržaj ukupnih flavonoida (mg QE/g SVM)						
c(NaCl) (mM)	Genotip					
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca	
0	1,57 <sup>defgh*</sup>	1,76 <sup>abcdefg</sup>	1,76 <sup>abcdefg</sup>	1,82 <sup>abcde</sup>	1,85 <sup>abc</sup>	
1	1,86 <sup>ab</sup>	1,54 <sup>fgh</sup>	1,63 <sup>bcdefg</sup>	1,84 <sup>abcd</sup>	1,81 <sup>abcdef</sup>	
3	1,99 <sup>a</sup>	1,69 <sup>bcdefg</sup>	1,62 <sup>bcdefg</sup>	1,76 <sup>abcdefg</sup>	1,63 <sup>bcdefg</sup>	
10	1,73 <sup>abcdefg</sup>	1,49 <sup>gh</sup>	1,60 <sup>bcdefg</sup>	1,48 <sup>gh</sup>	1,57 <sup>cdefgh</sup>	
33	1,59 <sup>bcdefgh</sup>	1,52 <sup>gh</sup>	1,11 <sup>i</sup>	1,55 <sup>efgh</sup>	1,32 <sup>hi</sup>	
100	0,63 <sup>j</sup>	0,47 <sup>jk</sup>	0,50 <sup>jk</sup>	0,24 <sup>k</sup>	0,60 <sup>j</sup>	

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.2.4.3 Rezultati FRAP testa

Na Grafikonima 5.2.4.3.1.a. i 5.2.4.3.1.b. prikazani su rezultati FRAP testa na podlogama sa različitim koncentracijama NaCl na osnovu kojih se može videti da je postojala statistički značajna razlika ukupne redukcionne sposobnosti izmerene FRAP testom između primenjenih koncentracija NaCl. Prosečna vrednost FRAP testa na kontrolnoj podlozi iznosila je 4,15 mg ASC/g SVM. Statistički značajno veće vrednosti ovog testa zabeležili su genotipovi Villafranca (4,31 mg ASC/g SVM), LCM (4,33 mg ASC/g SVM) i LBM (4,93 mg ASC/g SVM) u odnosu na genotipove L-12 (3,47 mg ASC/g SVM) i L-80 (3,23 mg ASC/g SVM). Ako bi se koncentracija od 100 mM NaCl uzela kao model za diferencijaciju genotipova onda bi se genotip LBM izdvojio kao genotip sa statistički značajno najvišom vrednošću za FRAP testa (7,03 mg ASC/g SVM) (Tabela 5.2.4.3.1.), dok se genotip L-80 izdvaja kao genotip sa najmanjom vrednošću (2,81 mg ASC/g SVM).



**Grafikon 5.2.4.3.1.** Rezultati FRAP testa a) Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; b) prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

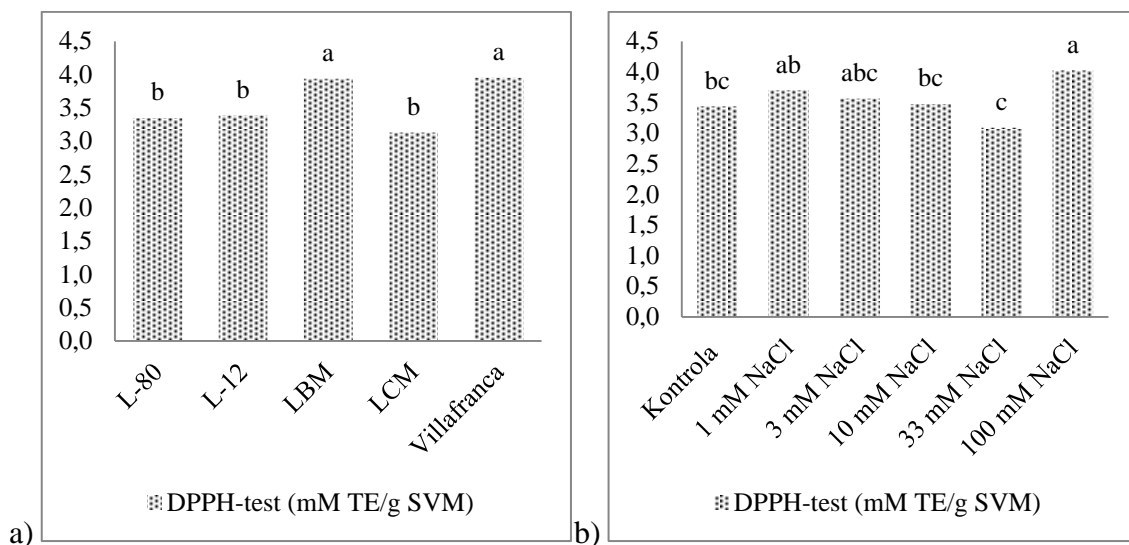
**Tabela 5.2.4.3.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za vrednosti FRAP testa u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

FRAP test (mg ASC/g SVM)					
c(NaCl) (mM)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	3,02 <sup> fgh *</sup>	3,98 <sup> cdefgh</sup>	4,34 <sup> bcdefg</sup>	4,17 <sup> cdefgh</sup>	5,26 <sup> bc</sup>
1	3,79 <sup> cdefgh</sup>	3,35 <sup> fgh</sup>	5,86 <sup> ab</sup>	4,32 <sup> bcdefg</sup>	4,22 <sup> cdefgh</sup>
3	3,53 <sup> defgh</sup>	3,37 <sup> fgh</sup>	5,05 <sup> bcd</sup>	4,38 <sup> bcdefg</sup>	4,40 <sup> bcdef</sup>
10	3,51 <sup> defgh</sup>	3,95 <sup> cdefgh</sup>	3,86 <sup> cdefgh</sup>	3,72 <sup> cdefgh</sup>	3,85 <sup> cdefgh</sup>
33	2,75 <sup> h</sup>	2,94 <sup> fgh</sup>	3,49 <sup> efgh</sup>	4,38 <sup> bcdefg</sup>	3,76 <sup> cdefgh</sup>
100	2,81 <sup> gh</sup>	3,27 <sup> fgh</sup>	7,03 <sup> a</sup>	5,04 <sup> bcde</sup>	4,41 <sup> bcdef</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

#### 5.2.4.4 Rezultati DPPH testa

Slične rezultate pokazao je DPPH test na osnovu čijih vrednosti se može videti da je sposobnost neutralizacije slobodnih DPPH<sup>+</sup> radikala statistički značajno bila veća pri tretmanu od 100 mM NaCl u odnosu na kontrolnu podlogu (Grafikon 5.2.4.4.1.b.).



**Grafikon 5.2.4.4.1.** Rezultati DPPH testa **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.2.4.4.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za vrednosti DPPH testa u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

DPPH test (mM TE/g SVM)					
c(NaCl) (mM)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	2,96 <sup>def*)</sup>	3,42 <sup>cdef</sup>	3,60 <sup>cdef</sup>	3,23 <sup>cdef</sup>	3,98 <sup>bcde</sup>
1	3,46 <sup>cdef</sup>	2,62 <sup>f</sup>	5,38 <sup>a</sup>	3,34 <sup>cdef</sup>	3,69 <sup>cdef</sup>
3	3,35 <sup>cdef</sup>	3,21 <sup>cdef</sup>	3,67 <sup>cdef</sup>	3,40 <sup>cdef</sup>	4,18 <sup>abcd</sup>
10	3,54 <sup>cdef</sup>	3,51 <sup>cdef</sup>	3,11 <sup>cdef</sup>	2,92 <sup>ef</sup>	4,29 <sup>abc</sup>
33	2,89 <sup>ef</sup>	3,26 <sup>cdef</sup>	2,85 <sup>ef</sup>	2,87 <sup>ef</sup>	3,58 <sup>cdef</sup>
100	3,88 <sup>bcde</sup>	4,27 <sup>abc</sup>	5,00 <sup>ab</sup>	2,99 <sup>def</sup>	3,98 <sup>bcde</sup>

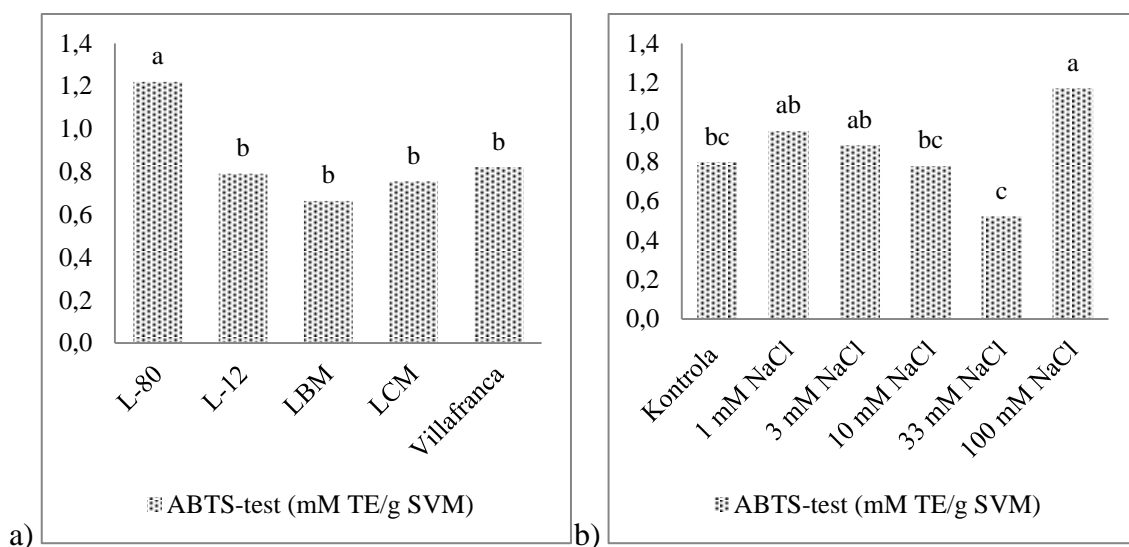
Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

Trend opadanja sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala sa povećanjem koncentracije soli (do 33 mM) se pokazao i kod ovog testa. Posmatrajući samo podlogu sa najvišom ispitivanom koncentracijom soli (100 mM NaCl) može se videti da se kao genotip koji je ostvario najvišu vrednost za DPPH testa izdvaja LBM (5,0 mM TE/g

SVM), dok je genotip LCM (2,99 mM TE/g SVM) ostvario najnižu vrednost za DPPH test (Tabela 5.2.4.4.1.).

#### 5.2.4.5 Rezultati ABTS testa

Test najmanje značajne razlike nam je potvrdio da sa povećanjem NaCl do koncentracije od 33 mM dolazi do smanjenja sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala (Grafikon 5.2.4.5.1.b.). Takođe, rezultati ovog testa pokazuju da je došlo do povećanja sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala pri koncentraciji NaCl od 100 mM u odnosu na kontrolnu podlogu.



**Grafikon 5.2.4.5.1.** Rezultati ABTS testa **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Povećana je sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala od 49% u odnosu na kontrolnu podlogu. Prosečna vrednost za sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala kod genotipa L-80 iznosila je 1,21 TE/g SVM. Ovaj genotip se takođe izdvaja kao genotip koji je ispoljio najveću sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala na najvišoj primenjenoj koncentraciji soli u podlozi (2,35 mM TE/g SVM) (Tabela 5.2.4.5.1.).

**Tabela 5.2.4.5.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za vrednosti ABTS testa u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

ABTS test (mM TE/g SVM)					
c(NaCl) (mM)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	0,97 <sup>bcd*)</sup>	0,82 <sup>bcd</sup>	0,65 <sup>bcd</sup>	0,85 <sup>bcd</sup>	0,69 <sup>bcd</sup>
1	1,21 <sup>b</sup>	0,89 <sup>bcd</sup>	0,98 <sup>bcd</sup>	0,82 <sup>bcd</sup>	0,86 <sup>bcd</sup>
3	1,17 <sup>bc</sup>	0,92 <sup>bcd</sup>	0,64 <sup>bcd</sup>	0,85 <sup>bcd</sup>	0,82 <sup>bcd</sup>
10	0,83 <sup>bcd</sup>	0,72 <sup>bcd</sup>	0,63 <sup>bcd</sup>	0,89 <sup>bcd</sup>	0,81 <sup>bcd</sup>
33	0,78 <sup>bcd</sup>	0,45 <sup>d</sup>	0,42 <sup>d</sup>	0,48 <sup>cd</sup>	0,48 <sup>cd</sup>
100	2,35 <sup>a</sup>	0,94 <sup>bcd</sup>	0,67 <sup>bcd</sup>	0,64 <sup>bcd</sup>	1,26 <sup>b</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

#### 5.2.4.6 Rezultati sadržaja natrijuma, kalijuma i magnezijuma

Rezultati prikazani u Tabeli 5.2.4.6.1. pokazuju da je na sadržaj natrijuma, kalijuma i magnezijuma kao i na odnos kalijuma i natrijuma statistički značajan uticaj imao i genotip i podloga kao i njihova interakcija koja opisuje razlike u reakciji istraživanih genotipova na istraživanim podlogama.

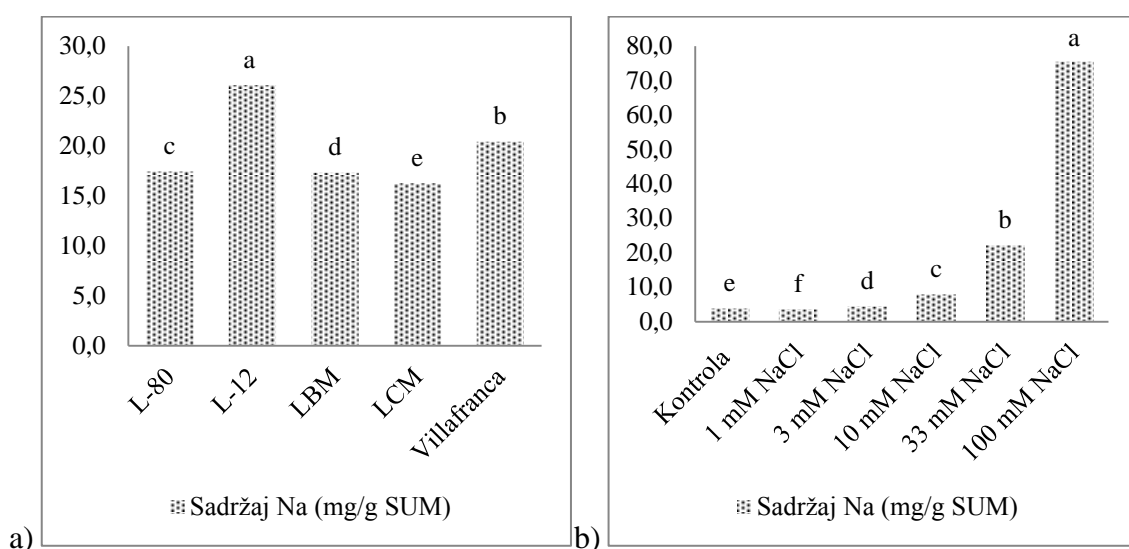
**Tabela 5.2.4.6.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za sadržaj natrijuma, kalijuma i magnezijuma u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Sadržaj Na (mg/g SUM)	111744,3 <sup>b) **</sup>	4685370,6 <sup>**</sup>	112259,0 <sup>**</sup>
Sadržaj K (mg/g SUM)	474018,4 <sup>**</sup>	558616,8 <sup>**</sup>	15312,4 <sup>**</sup>
Sadržaj Mg (mg/g SUM)	904,2 <sup>**</sup>	12,2 <sup>**</sup>	235,0 <sup>**</sup>
Odnos K i Na	2902,4 <sup>**</sup>	30203,6 <sup>**</sup>	836,6 <sup>**</sup>

Legenda: <sup>a)</sup> Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za tretman  $df_B = 5$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 20$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 60$  i stepeni slobode totala  $df_T = 89$ . <sup>b) \*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Sagledavajući prosečne vrednosti dobijene nakon istraživanja tolerantnosti genotipova prema zaslanjenosti podloge (Grafikoni 5.2.4.6.1.a. i 5.2.4.6.1.b.) može se videti da je najmanji sadržaj Na izmeren kod genotipova LCM, LBM i L-80, dok su

genotipovi L-12 i Villafranca postigli znatno veće vrednosti. Takođe, može se videti da je povećanje koncentracije NaCl u podlozi za ožiljavanje rezultiralo povećanje sadržaja Na. Najveći sadržaj natrijuma izmeren je kod genotipova koji su rasli na podlozi sa 100 mM NaCl (73,3 mg/g SUM) dok je najmanji sadržaj izmeren na kontrolnoj podlozi (3,75).



**Grafikon 5.2.4.6.1. Sadržaj natrijuma a) Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; b) prosečne vrednosti za istraživane podloge**

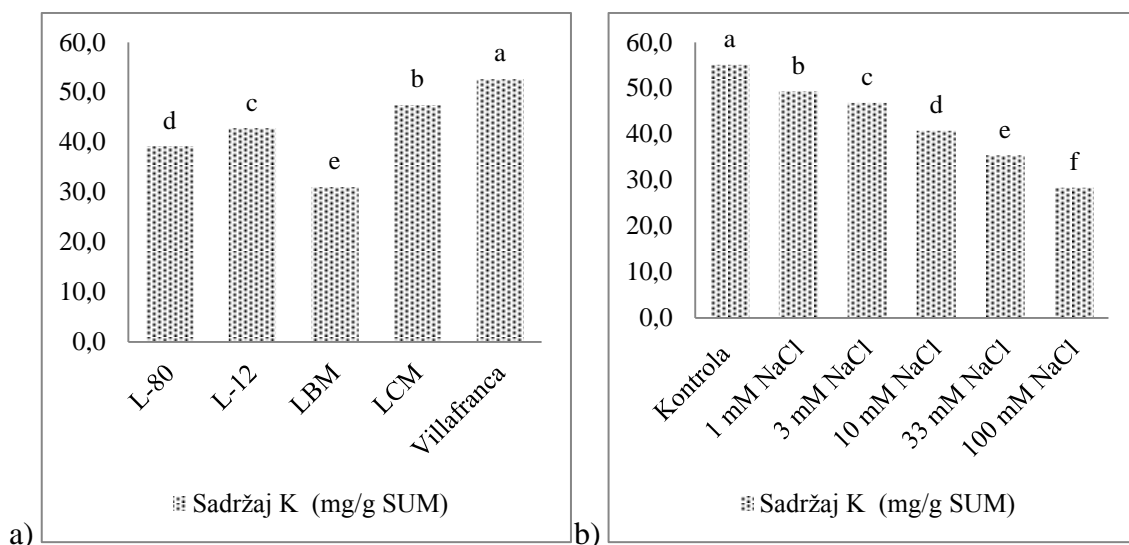
*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Nasuprot sadržaju natrijuma sadržaj kalijuma se smanjivao sa povećanjem koncentracije NaCl u podlozi. Najviše kalijuma izmereno je u izbojcima genotipova koji su rasli na kontrolnoj podlozi i iznosio je 55,0 mg/g SUM, dok je najmanji sadržaj kalijuma izmeren kod genotipova raslih na podlozi sa 100 mM NaCl i iznosio je 28,34 mg/g SUM (Grafikon 5.2.4.6.2.b.). Na Grafikonu 5.2.4.6.2.a. može se videti da je najmanji sadržaj kalijuma izmeren kod genotipa LBM (31,0 mg/g SUM), a najveći kod genotipa Villafranca (52,6 mg/g SUM).

Sadržaj magnezijuma je opadao do koncentracije od 10 mM NaCl, da bi na pri koncentracijama 33 i 100 mM NaCl ponovo bio ostvaren rast sadržaja magnezijuma (Grafikon 5.2.4.6.3.b.). Na koncentraciji od 33 mM NaCl sadržaj magnezijuma je bio na nivou koji je ostvaren u u kontroli, dok je na koncentraciji od 100 mM NaCl došlo ponovo do opadanja sadržaja magnezijuma. Na osnovu prikazanih rezultata na

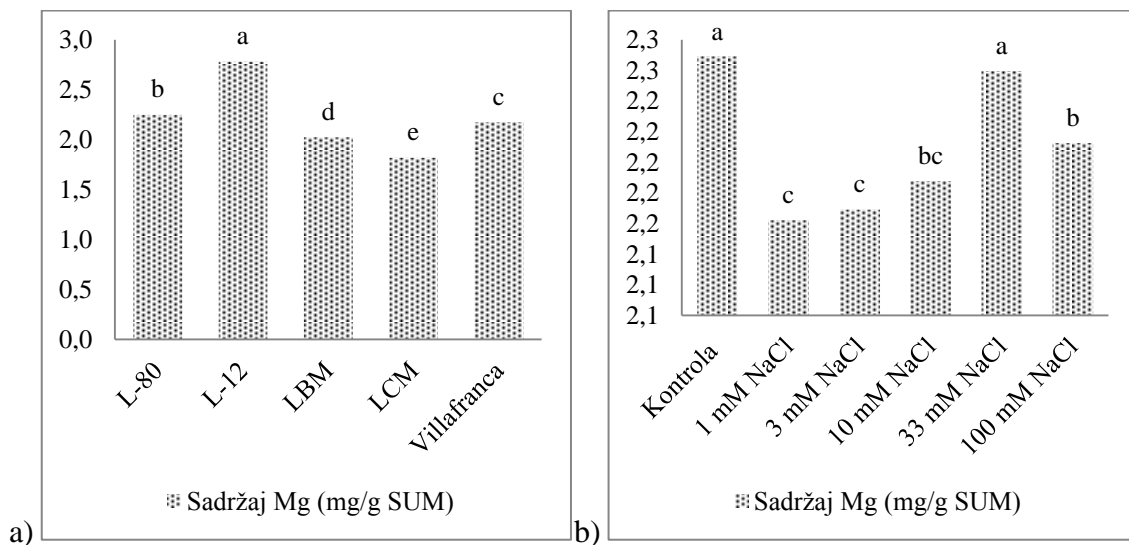


Grafikonu 5.2.4.6.3.a. može se videti da je najveći sadržaj magnezijuma izmeren kod genotipa L-12 (2,7 mg/g SUM), a najmanji kod genotipa LCM (1,8 mg/g SUM).



**Grafikon 5.2.4.6.2.** Sadržaj kalijuma **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

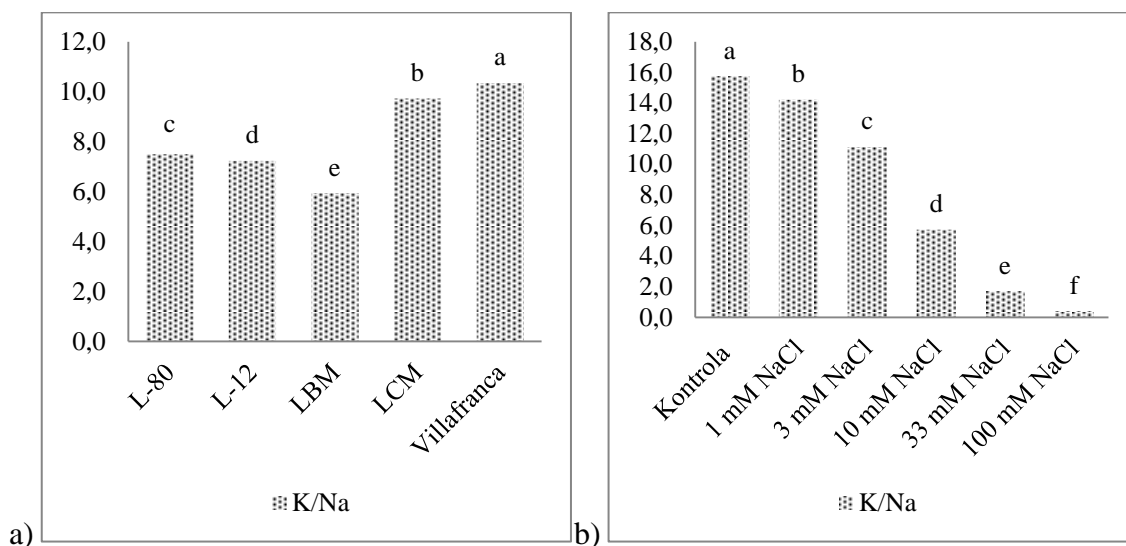
Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.2.4.6.3.** Sadržaj magnezijuma **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

Dobijene vrednosti za odnos kalijuma i natrijuma su se smanjile na podlozi sa 100 mM NaCl u odnosu na kontrolnu podlogu za čak 97% (Grafikon 5.2.4.6.3.b.). Najveća prosečna vrednost za odnos kalijuma i natrijuma dobijena je kod genotipa Villafranca, dok je LBM zabeležio najmanju prosečnu vrednost (Grafikon 5.2.4.6.3.a.).



**Grafikon 5.2.4.6.4.** Odnos kalijuma i natrijuma **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

Rezultati testa najmanje značajne razlike potvrdili su značajan uticaj istraživanih genotipova i podloga. Na osnovu rezultata iz Tabele 5.2.4.6.1. može se videti da su istraživani genotipovi različito reagovali na prisustvo NaCl u podlozi u pogledu sadržaja natrijuma. Na podlozi sa 100 mM NaCl najmanje vrednosti sadržaja natrijuma izmerene su kod genotipa LBM (52,9 mg/g SUM), a najveće kod genotipa L-12 (113,1 mg/g SUM). Na istoj podlozi najviše kalijuma izmereno je kod genotipa Villafranca (37,6 mg/g SUM), a najmanje kod genotipa LBM (17,4 mg/g SUM). Najmanje magnezijuma akumulirali su genotipovi L-80 i Villafranca, a najviše genotipovi L-12 i LBM na podlozi sa 100 mM NaCl.

**Tabela 5.2.4.6.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za mereni sadržaj Na, K, Mg u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi

Genotip	c(NaCl) (mM)	Sadržaj Na (mg/g SUM)	Sadržaj K (mg/g SUM)	Sadržaj Mg (mg/g SUM)	K/Na
L-80	0	4,79 <sup>nj*)</sup>	48,86 <sup>h</sup>	2,43 <sup>f</sup>	10,21 <sup>j</sup>
L-12	0	4,15 <sup>r</sup>	59,60 <sup>b</sup>	3,11 <sup>b</sup>	14,37 <sup>e</sup>
LBM	0	4,27 <sup>p</sup>	47,27 <sup>j</sup>	1,89 <sup>jkl</sup>	11,07 <sup>i</sup>
LCM	0	2,82 <sup>z</sup>	59,36 <sup>c</sup>	1,46 <sup>o</sup>	21,05 <sup>b</sup>
Villafranca	0	2,74 <sup>y</sup>	60,27 <sup>a</sup>	2,46 <sup>f</sup>	22,03 <sup>a</sup>
L-80	1	3,50 <sup>t</sup>	43,25 <sup>l</sup>	2,20 <sup>h</sup>	12,36 <sup>h</sup>
L-12	1	3,45 <sup>t</sup>	49,65 <sup>g</sup>	2,73 <sup>cd</sup>	14,40 <sup>e</sup>
LBM	1	3,25 <sup>u</sup>	41,30 <sup>m</sup>	1,77 <sup>m</sup>	12,69 <sup>g</sup>
LCM	1	3,26 <sup>u</sup>	54,11 <sup>d</sup>	1,89 <sup>jkl</sup>	16,58 <sup>c</sup>
Villafranca	1	3,90 <sup>s</sup>	58,32 <sup>č</sup>	2,22 <sup>g</sup>	14,97 <sup>d</sup>
L-80	3	2,96 <sup>v</sup>	43,08 <sup>lj</sup>	1,85 <sup>jkl</sup>	14,54 <sup>e</sup>
L-12	3	5,63 <sup>n</sup>	46,14 <sup>k</sup>	3,06 <sup>b</sup>	8,19 <sup>;</sup>
LBM	3	4,18 <sup>r</sup>	36,14 <sup>r</sup>	1,66 <sup>n</sup>	8,65 <sup>l</sup>
LCM	3	4,69 <sup>o</sup>	52,57 <sup>e</sup>	1,81 <sup>lm</sup>	11,22 <sup>i</sup>
Villafranca	3	4,32 <sup>p</sup>	56,07 <sup>ć</sup>	2,47 <sup>f</sup>	12,97 <sup>f</sup>
L-80	10	7,18 <sup>m</sup>	38,47 <sup>nj</sup>	3,21 <sup>a</sup>	5,36 <sup>o</sup>
L-12	10	8,08 <sup>l</sup>	36,97 <sup>p</sup>	2,39 <sup>g</sup>	4,58 <sup>p</sup>
LBM	10	11,06 <sup>k</sup>	23,20 <sup>z</sup>	1,33 <sup>p</sup>	2,10 <sup>s</sup>
LCM	10	7,51 <sup>lj</sup>	50,32 <sup>f</sup>	1,91 <sup>jk</sup>	6,70 <sup>n</sup>
Villafranca	10	5,56 <sup>n</sup>	54,74 <sup>d</sup>	2,09 <sup>h</sup>	9,84 <sup>k</sup>
L-80	33	15,74 <sup>j</sup>	32,96 <sup>š</sup>	1,98 <sup>i</sup>	2,09 <sup>s</sup>
L-12	33	21,89 <sup>h</sup>	33,45 <sup>s</sup>	2,77 <sup>cd</sup>	1,53 <sup>u</sup>
LBM	33	28,04 <sup>f</sup>	20,75 <sup>ž</sup>	2,81 <sup>c</sup>	0,74 <sup>v</sup>
LCM	33	17,34 <sup>i</sup>	41,09 <sup>n</sup>	1,77 <sup>m</sup>	2,37 <sup>r</sup>
Villafranca	33	27,57 <sup>g</sup>	48,77 <sup>i</sup>	1,97 <sup>ij</sup>	1,77 <sup>t</sup>
L-80	100	70,47 <sup>c</sup>	28,52 <sup>u</sup>	1,82 <sup>klm</sup>	0,40 <sup>z</sup>
L-12	100	113,19 <sup>a</sup>	30,91 <sup>t</sup>	2,63 <sup>e</sup>	0,27 <sup>z</sup>
LBM	100	52,99 <sup>e</sup>	17,48 <sup>w</sup>	2,70 <sup>de</sup>	0,33 <sup>z</sup>
LCM	100	61,89 <sup>d</sup>	27,20 <sup>v</sup>	2,09 <sup>i</sup>	0,44 <sup>z</sup>
Villafranca	100	78,42 <sup>b</sup>	37,62 <sup>o</sup>	1,82 <sup>klm</sup>	0,48 <sup>z</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

U pogledu odnosa kalijuma i natrijuma nije bilo statistički značajne razlike između genotipova koji su rasli na podlozi sa 100 mM NaCl, te je najbolja diferencijacija genotipova dobijena na podlozi sa 33 mM NaCl. Na ovoj podlozi najveće vrednosti za odnos kalijuma i natrijuma dobijene su genotipa LCM (2,3 mg/g SUM), a najmanje kod genotipa LBM (0,74 mg/g SUM).

### 5.2.5 Korelaciona analiza

Na osnovu prikazanih rezultata korelacione analize za istraživane genotipove bele topole prema zaslanjenosti može se videti da postoji visok stepen pozitivne korelacije između visine izbojka i broja korena prvog reda (Tabela 5.2.5.1.). Takođe, korelaciona analiza je pokazala i visok stepen pozitivne korelacije između visine izbojka i procenta preživljavanja i ožiljavanja, kao i sveže mase izbojaka. Visoke i značajne vrednosti utvrđene su i između broja i dužine korena, procenta preživljavanja i procenta ožiljavanja izbojaka. Pozitivni korelacioni faktor utvrđen je i između sveže mase izbojka i sveže mase korena ( $r = 0,63$ ). Hlorofil a pokazao je pozitivnu korelaciju sa hlorofilom b, karotenoidima i hlorofilom a+b, dok je negativnu korelaciju ( $r = -0,57$ ) pokazao u odnosu na odnos hlorofila (a/b). Izuzetno visoku vrednost korelacionog koeficijenta ( $r=0,97$ ) hlorofil a je zabeležio sa sadržajem ukupnih flavonoida. Sadržaj ukupnih fenola imao je visok stepen pozitivne korelacije sa vrednostima izmerenim za FRAP i DPPH test što ukazuje da fenolna jedinjenja imaju ključnu ulogu pri neutralizaciji slobodnih radikalskih vrsta. Vrednosti FRAP testa su pokazale statistički značajnu korelaciju sa DPPH testom ( $r = 0,61$ ). Sadržaj natrijuma pokazao je jaku negativnu korelaciju sa većinom morfoloških i fotosintetičkih parametara kao i sa sadržajem flavonoida. Nasuprot natrijumu, sadržaj kalijuma je bio je u pozitivnoj korelaciji sa visinom izbojaka, brojem korena prvog reda, sadržajem hlorofila a, b i karotenoidima.

**Tabela 5.2.5.1.** Koeficijenti korelacije i značaj z-testa za istraživana svojstva u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova na prisustvo NaCl u podlozi <sup>a)</sup>

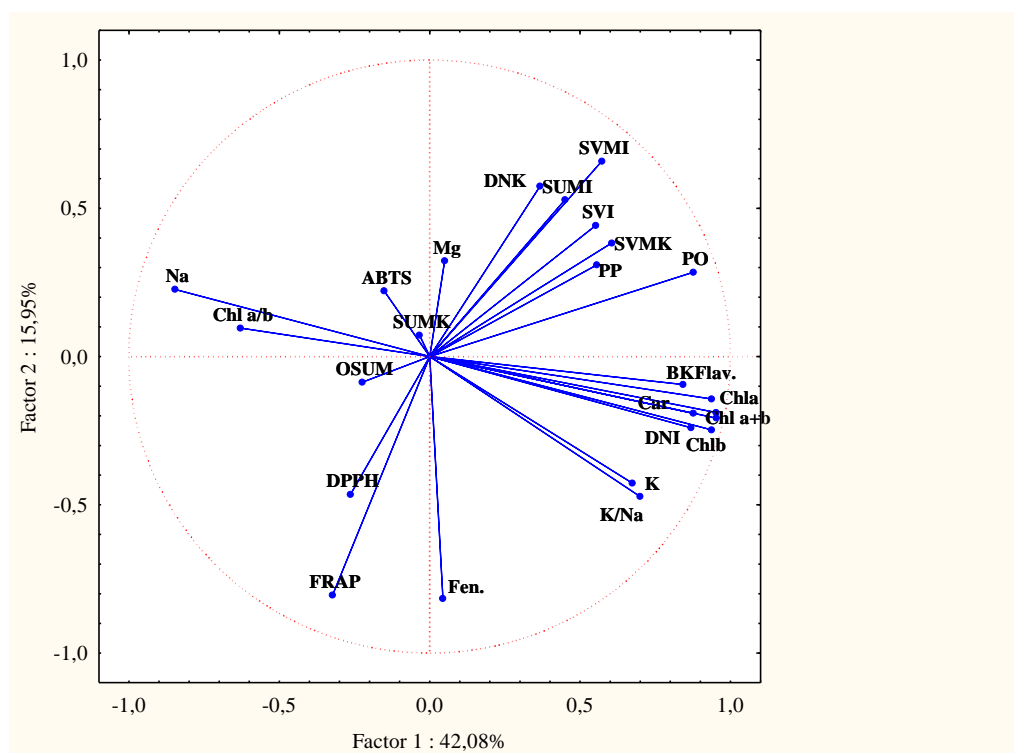
	VI	BK	DK	PP	PO	SVMI	SUMI	SVMK	SUMK	SVI	OSUM	Chla	Chlb	Car	a + b	a/b	Fen.	Flav.	FRAP	ABTS	DPPH	Na	K	Mg	
BK	<b>0,8</b>																								
DK	0,1	0,1																							
PP	<b>0,5</b>	<b>0,4</b>	0,2																						
PO	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>																					
SVMI	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>																				
SUMI	0,2	0,2	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,8</b>																			
SVMK	0,3	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	0,3	0,6	0,6	<b>0,7</b>																		
SUMK	-0,1	0,0	0,1	-0,1	0,1	0,2	0,2	0,1																	
SVI	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	0,2	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>	0,2	0,3	-0,2																
OSUM	-0,2	-0,2	0,0	-0,2	-0,1	-0,2	-0,1	-0,1	<b>0,9</b>	-0,3															
Chla	<b>0,8</b>	<b>0,8</b>	0,3	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,6</b>	0,0	0,3	-0,1														
Chlb	<b>0,8</b>	<b>0,8</b>	0,2	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>	0,4	0,3	<b>0,5</b>	0,0	0,3	-0,2	<b>1,0</b>													
Car	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	0,3	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	0,3	<b>0,5</b>	0,0	0,3	-0,2	<b>0,9</b>	<b>0,8</b>												
a + b	<b>0,8</b>	<b>0,8</b>	0,3	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>	<b>0,4</b>	0,4	<b>0,6</b>	0,0	0,3	-0,1	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>0,9</b>											
a/b	<b>-0,7</b>	<b>-0,7</b>	0,0	-0,3	<b>-0,6</b>	-0,2	-0,1	-0,2	0,2	<b>-0,4</b>	0,3	<b>-0,6</b>	<b>-0,7</b>	<b>-0,4</b>	<b>-0,6</b>										
Fen.	0,3	0,1	<b>-0,4</b>	-0,2	-0,2	-0,3	-0,3	-0,3	0,1	-0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	-0,1									
Flav.	<b>0,8</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,6</b>	0,0	0,3	-0,1	<b>1,0</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	<b>1,0</b>	<b>-0,5</b>	0,1								
FRAP	-0,1	-0,2	<b>-0,6</b>	-0,3	<b>-0,6</b>	<b>-0,5</b>	<b>-0,4</b>	<b>-0,4</b>	0,1	<b>-0,5</b>	0,2	-0,2	-0,1	-0,1	-0,1	0,3	<b>0,7</b>	-0,2							
ABTS	-0,2	-0,2	0,2	-0,1	0,0	-0,1	-0,1	0,2	-0,3	-0,1	<b>-0,4</b>	-0,2	-0,2	-0,1	-0,2	0,1	<b>-0,4</b>	-0,2	-0,3						
DPPH	-0,1	-0,1	<b>-0,6</b>	-0,1	-0,3	-0,3	-0,1	-0,2	-0,1	-0,3	-0,2	-0,2	-0,2	-0,1	-0,2	0,1	<b>0,4</b>	-0,2	<b>0,6</b>	0,2					
Na	<b>-0,8</b>	<b>-0,7</b>	-0,3	<b>-0,4</b>	<b>-0,6</b>	-0,3	-0,3	<b>-0,4</b>	-0,2	-0,3	0,0	<b>-0,9</b>	<b>-0,8</b>	<b>-0,8</b>	<b>-0,9</b>	<b>0,4</b>	-0,2	<b>-0,9</b>	0,0	0,3	0,3				
K	<b>0,7</b>	<b>0,5</b>	0,0	0,2	<b>0,5</b>	0,0	-0,1	0,2	-0,3	0,2	-0,3	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>-0,4</b>	0,3	<b>0,7</b>	-0,1	0,0	-0,1	<b>-0,6</b>			
Mg	0,2	0,0	0,1	0,3	0,0	<b>0,5</b>	0,2	0,0	0,0	<b>0,5</b>	-0,2	-0,1	-0,1	0,0	-0,1	0,1	0,0	-0,1	-0,2	-0,2	0,0	0,0	0,0		
K/Na	<b>0,7</b>	<b>0,5</b>	0,0	0,4	0,5	0,1	0,0	0,3	-0,2	0,1	-0,2	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	-0,3	0,3	<b>0,7</b>	0,2	0,0	0,0	<b>-0,7</b>	<b>0,8</b>	-0,1	

Skracenicke u tabeli: VI- visina izbojka; BK- broj korenova prvog reda; DK- dužina najdužeg korena; PP- procenat preživelih eksplantanata; PO- procenat ožiljenih eksplantanata; SVMI- sveža masa izbojaka; SUMI- suva masa izbojaka; SVMK- sveža masa korenova; SUMK- suva masa korenova; SVI- sadržaj vlage u izbojku; OSUM- odnos suve mase korena i izbojka; Chla- hlorofil a; Chlb- hlorofil b; Car- karotenoidi; a+b- hlorofil a+b; a/b- odnos hlorofila a i b; Fen.- sadržaj ukupnih fenola; Flav.- sadržaj ukupnih flavonoida; FRAP- redukciona sposobnost ekstrakta; ABTS- sposobnost neutralizacije ABTS<sup>•+</sup> radikala; DPPH- sposobnost neutralizacije DPPH<sup>•+</sup> radikala

<sup>a)</sup> Podeljani brojevi predstavljaju koeficijente korelacije koji se značajno razlikuju (( $p > 0,05$ ))

### 5.2.6 Analiza glavnih komponenti (PCA)

Prema opterećenjima prve dve glavne komponente, koje opisuju 58,03% ukupnog variranja, ističe se grupisanje fotosintetičkih parametara, sadržaja flavonoida i broja korenova, kao jedne grupe parametara, i morfoloških i parametara biomase kao druge grupe parametara. Biohemijski parametri su uglavnom grupisani nasuprot morfoloških i parametara biomase. ABTS, sadržaj magnezijuma, suva masa korenova i odnos suve mase korena i izbojka su slabo opisane sa prve dve glavne komponente, pa se može pretpostaviti da su u slaboj korelaciji sa ostalim parametrima (Grafikon 5.2.6.1.). Sadržaj kalijuma i odnos kalijuma i natrijuma su se grupisali sa fotosintetičkim parametrima, dok je natrijum bio u negativnoj korelaciji sa kalijumom i odnosom kalijuma i natrijuma.

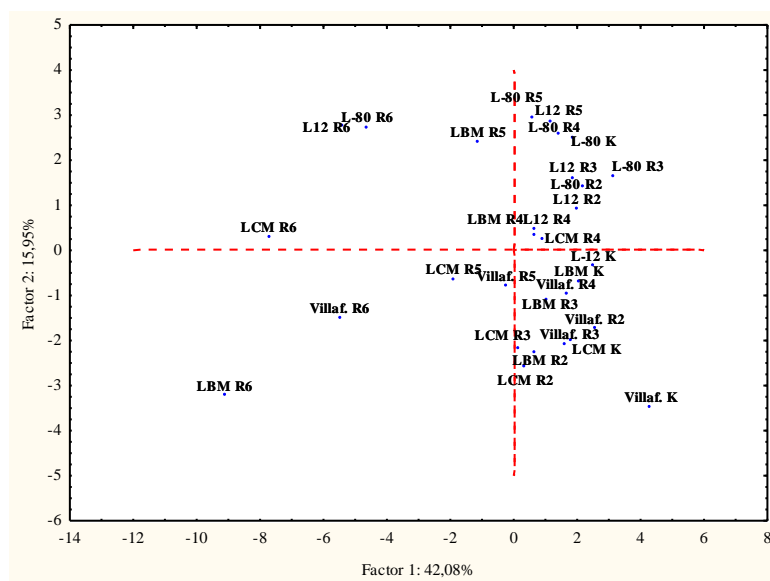


**Grafikon 5.2.6.1.** Analiza glavnih komponenti u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova n prisustvo NaCl u podlozi

Legenda \*) Skraćenice na grafikonu: VI- visina izbojka; BK- broj korenova prvog reda; DK- dužina najdužeg korena; PP- procenat preživelih eksplantanata; PO- procenat ožiljenih eksplantanata; SVMK- sveža masa izbojaka; SUMI- suva masa izbojaka; SVMK- sveža masa korenova; SUMK- suva masa korenova; SVI- sadržaj vlage u izbojku; OSUM- odnos suve mase korena i izbojka; Chla- hlorofil a;

*Chlb*- hlorofil b; *Car*- karotenoidi; *Chl a+b*- hlorofil a+b; *Chl a/b*- odnos hlorofila a i b; *Fen.*- sadržaj ukupnih fenola; *Flav.*- sadržaj ukupnih flavonoida; *FRAP*- redukciona sposobnost ekstrakta; *ABTS*- sposobnost neutralizacije  $ABTS^+$  radikala; *DPPH*- sposobnost neutralizacije  $DPPH^+$  radikala

Na osnovu prve dve glavne komponente, primetno je grupisanje tretmana na R6 podlozi na negativnoj strani prve glavne komponente, i kontrole na desnoj strani prve glavne komponente. Ostali tretmani su raspoređeni između ove dve grupe tretmana, ali su bliže kontroli. Variranje genotipova unutar ispitivanih podloga je više opisano drugom glavnom komponentom (Grafikon 5.1.6.2.).



**Grafikon 5.1.6.2.** Prikaz rezultata prve dve glavne komponente za istraživane interakcije genotip  $\times$  podloga u ogledu istraživanja tolerantnosti na prisustvo NaCl u podlozi.

*Legenda:* \*) skraćnice na grafikonu: K- kontrola 0mM NaCl; R2- tretman 1 mM NaCl; R3- tretman 3 mM NaCl; R4- tretman 10 mM NaCl; R5- tretman 33 mM NaCl; R6- tretman 100 mM NaCl.

### 5.3 Rezultati istraživanja tolerantnosti genotipova bele topole prema suši izazvanoj PEG 6000 u *in vitro* uslovima

#### 5.3.1 Rezultati morfoloških parametara

Nakon testiranja različitih koncentracija polietilen glikola u podlogama za ožiljavanje u *in vitro* uslovima (Slika 5.3.1.1.), rezultati analize varijanse pokazuju da je statistički značajan uticaj na većinu istraživanih parametara imao faktor genotip, osim kod procenta ožiljavanja, dok je efekat primenjenih koncentracija PEG-a bio statistički značajan, izuzev za morfološki parametar dužina najdužeg korena. Interakcija genotip  $\times$  podloga nije statistički značajno uticala na procent preživljavanja i na broj korenova prvog reda (Tabela 5.3.1.1.).

**Tabela 5.3.1.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši <sup>a)</sup>

Svojtvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Visina izbojka (mm)	36,8 <sup>a)**</sup>	41,6 <sup>**</sup>	1,8 <sup>*</sup>
Broj korenova	9,26 <sup>**</sup>	37,49 <sup>**</sup>	1,71
Dužina najdužeg korena (mm)	9,52 <sup>**</sup>	0,13	1,79 <sup>*</sup>
Preživljavanje (%)	1,77	9,25 <sup>**</sup>	1,03
Ožiljavanje (%)	2,26	11,5 <sup>**</sup>	3,12 <sup>**</sup>

Legenda: <sup>a)</sup> Stepni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepni slobode za tretman  $df_B = 4$ ; stepni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 16$ ; stepni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 75$  i stepni slobode totala  $df_T = 99$ . <sup>b)</sup> \* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Najbolja diferencijacija genotipova po morfološkim parametrima je dobijena na podlozi sa 50 mg/L PEG 6000. Suša izazvana dodavanjem polietilen glikola u podlozi za ožiljavanje značajno je uticala na smanjenje vrednosti istraživanih morfoloških parametara.

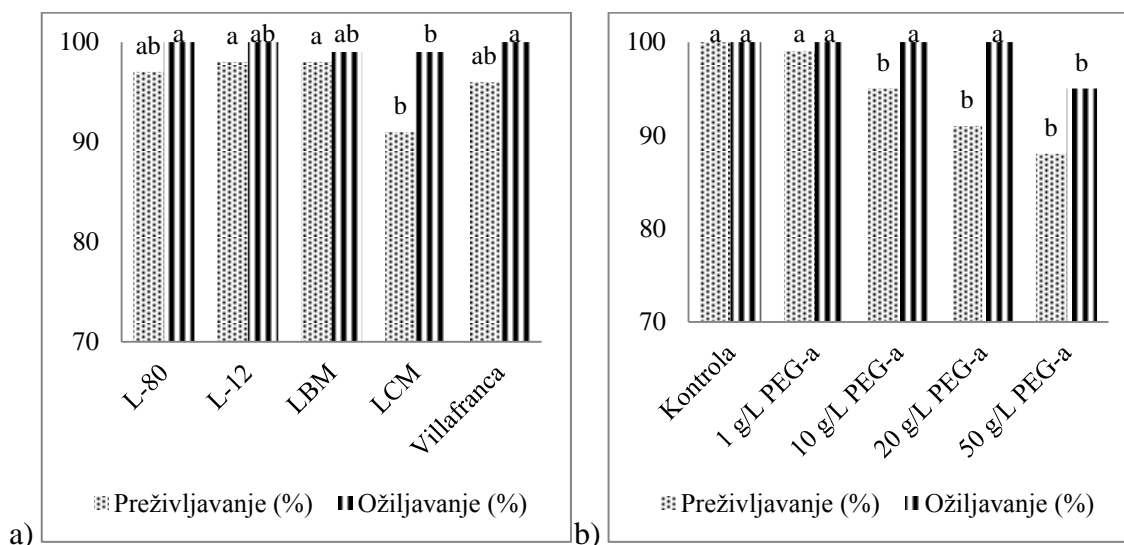
Generalno, genotip Villafranca pretrpeo najslabiji uticaj suše izazvane PEG-om sagledavajući rezultate morfoloških parametara (Tabela 5.3.1.2., Grafikon 5.3.1.1.a.). Zatim slede genotipovi L-12 i L-80, dok su genotipovi LCM i LBM pretpeli najjači uticaj suše u kontrolisanim uslovima.

**Tabela 5.3.1.2.** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova i podloga za morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši



	Visina izbojka (mm)	Broj korenova	Dužina najdužeg korena (mm)
<b>Genotip</b>			
<b>L-80</b>	24,20 <sup>c*)</sup>	1,06 <sup>b</sup>	27,60 <sup>b</sup>
<b>L-12</b>	28,50 <sup>b</sup>	1,05 <sup>b</sup>	36,40 <sup>a</sup>
<b>LBM</b>	26,50 <sup>bc</sup>	1,20 <sup>a</sup>	20,50 <sup>d</sup>
<b>LCM</b>	26,00 <sup>bc</sup>	1,12 <sup>b</sup>	21,60 <sup>cd</sup>
<b>Villafranca</b>	42,30 <sup>a</sup>	1,24 <sup>a</sup>	26,30 <sup>bc</sup>
<b>c (PEG) (g/L)</b>			
<b>0</b>	38,40 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>	26,90 <sup>a</sup>
<b>1</b>	35,10 <sup>a</sup>	1,24 <sup>a</sup>	26,40 <sup>a</sup>
<b>10</b>	30,10 <sup>b</sup>	1,17 <sup>b</sup>	27,30 <sup>a</sup>
<b>20</b>	25,10 <sup>c</sup>	1,09 <sup>c</sup>	25,40 <sup>a</sup>
<b>50</b>	18,90 <sup>d</sup>	0,84 <sup>d</sup>	26,50 <sup>a</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.3.1.1.** Preživljavanje i ožiljavanje eksplantanata **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

Rezultati NZR testa su potvrdili statistički značajan uticaj primenjenih koncentracija PEG na istraživane morfološke parametre (Tabela 5.3.1.3.). Visina izbojka na najvišoj primenjenoj koncentraciji PEG-a od 50 g/L iznosila je od 12,6 mm (L-12) do 30,0 mm (Villafranca). Iz Tabele 5.3.1.3. se može videti da je koncentracija od

50 g/L rezultirala smanjenjem visine izbojka za čak 50% u odnosu na kontrolnu podlogu. Što se tiče istraživanog parametra broja korenova prvog reda, nije bilo statistički značajnih razlika kod istraživanih podloga na koncentraciji od 50 g/L PEG-a. Najduži koren na najvišoj primenjenoj koncentraciji PEG-a postigli su genotipovi Villafranca i L-12. Najmanju dužinu korena zabeležili su genotipovi LBM i LCM na podlozi sa 50 g/L PEG-a. Interesantno, da su se genotipovi L-80 i LBM izdvojili kao genotipovi sa 95% preživljavanjem na podlozi sa 50 g/L PEG-a. Najbolje ožiljavanje na istoj podlozi ostvarili su genotipovi L-80 i Villafranca - čak 100%. Sagledavajući rezultate tretmana sa 50 g/L PEG, selekcionisani italijanski genotip Villafranca ostvario je najveći procenat ožiljavanja i visinu izbojka, najveći broj korenova prvog reda, dok mu je dužina korena bila jedino manja od genotipa L-12.



**Slika 5.3.1.1.** Ispitivanje tolerantnosti genotipova prema suši u *in vitro* uslovima (foto: V. Vuksanović)

**Tabela 5.3.1.1.3.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za istraživane morfološke parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Genotip	c (PEG) (g/L)	VI (mm)	BK	DK (mm)	PP (%)	PO (%)
L-80	0	28,50 <sup>defghi<sup>*</sup></sup>	1,18 <sup>cdefgh</sup>	29,10 <sup>bcdef</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	0	42,60 <sup>bc</sup>	1,30 <sup>abcd</sup>	34,80 <sup>abc</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	0	33,70 <sup>de</sup>	1,41 <sup>a</sup>	21,80 <sup>defg</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LCM	0	31,10 <sup>defg</sup>	1,29 <sup>abcd</sup>	24,30 <sup>cdefg</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Villafranca	0	56,00 <sup>a</sup>	1,29 <sup>abcd</sup>	24,70 <sup>cdefg</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-80	1	29,80 <sup>defgh</sup>	1,12 <sup>efghij</sup>	37,80 <sup>ab</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	1	32,80 <sup>de</sup>	1,13 <sup>efghij</sup>	34,00 <sup>bcd</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	1	32,10 <sup>de</sup>	1,27 <sup>abcdef</sup>	21,00 <sup>efg</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LCM	1	35,80 <sup>cd</sup>	1,32 <sup>abc</sup>	20,80 <sup>efg</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
Villafranca	1	44,90 <sup>b</sup>	1,35 <sup>ab</sup>	18,70 <sup>fg</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
L-80	10	22,50 <sup>hijk</sup>	1,06 <sup>ghij</sup>	24,60 <sup>cdefg</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	10	31,20 <sup>def</sup>	1,11 <sup>efghij</sup>	34,50 <sup>bcd</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	10	27,30 <sup>efghi</sup>	1,23 <sup>bcdefg</sup>	24,00 <sup>cdefg</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
LCM	10	24,10 <sup>efghij</sup>	1,17 <sup>cdefghi</sup>	26,70 <sup>bcdef</sup>	80 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>
Villafranca	10	45,30 <sup>b</sup>	1,26 <sup>bcdef</sup>	27,00 <sup>bcdef</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
L-80	20	21,40 <sup>ijk</sup>	0,97 <sup>jk</sup>	21,00 <sup>efg</sup>	95 <sup>ab</sup>	98 <sup>ab</sup>
L-12	20	23,60 <sup>ghijk</sup>	0,97 <sup>jk</sup>	31,40 <sup>bcdef</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
LBM	20	23,00 <sup>hijk</sup>	1,16 <sup>defghi</sup>	22,70 <sup>cdefg</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
LCM	20	22,60 <sup>hijk</sup>	1,01 <sup>hijk</sup>	23,10 <sup>cdefg</sup>	80 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>
Villafranca	20	35,30 <sup>cd</sup>	1,28 <sup>abcde</sup>	28,50 <sup>bcdef</sup>	89 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>
L-80	50	18,90 <sup>jkl</sup>	0,96 <sup>jk</sup>	25,60 <sup>bcdefg</sup>	95 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>
L-12	50	12,60 <sup>l</sup>	0,66 <sup>l</sup>	47,50 <sup>a</sup>	76 <sup>b</sup>	96 <sup>bc</sup>
LBM	50	16,40 <sup>kl</sup>	0,84 <sup>kl</sup>	13,20 <sup>g</sup>	95 <sup>ab</sup>	86 <sup>c</sup>
LCM	50	16,40 <sup>kl</sup>	0,69 <sup>l</sup>	13,10 <sup>g</sup>	88 <sup>b</sup>	71 <sup>d</sup>
Villafranca	50	30,00 <sup>defgh</sup>	1,00 <sup>ijk</sup>	32,80 <sup>bcde</sup>	80 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>

Legenda: <sup>\*</sup> Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$ ; skraćenice u tabeli: VI - visina izbojka, BK - broj korenova prvog reda, DK – dužina najdužeg korena, PP- procenat preživljavanja eksplantanata, PO – procenat ožiljavanja eksplantanata

### 5.3.2 Rezultati parametara biomase

Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse nakon kultivacije pet genotipova bele topole pokazali su da su samo primenjeni tretmani faktora podloga statistički značajno uticali na istraživane parametre biomase. Genotip, kao izvor variranja, ispoljio je

statistički značajnu razliku samo kod sveže i suve mase izbojaka, dok interakcija, koja opisuje razlike u reakciji genotipova na istraživane podloge, nije imala statistički značajan uticaj ni na jedan od istraživanih parametara biomase (Tabela 5.3.2.1.).

**Tabela 5.3.2.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane parametre biomase u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Sveža masa izbojaka (g)	3,281 <sup>b) *</sup>	9,704 **	0,655
Suva masa izbojaka (g)	3,113 *	4,056 **	0,960
Sveža masa korena (g)	1,694	3,226 **	0,948
Suva masa korena (g)	1,847	4,280 **	1,487
Sadržaj vlage u izbojku	0,540	12,670 **	0,510
Odnos suve mase korena i izbojka	1,606	4,293 **	1,567

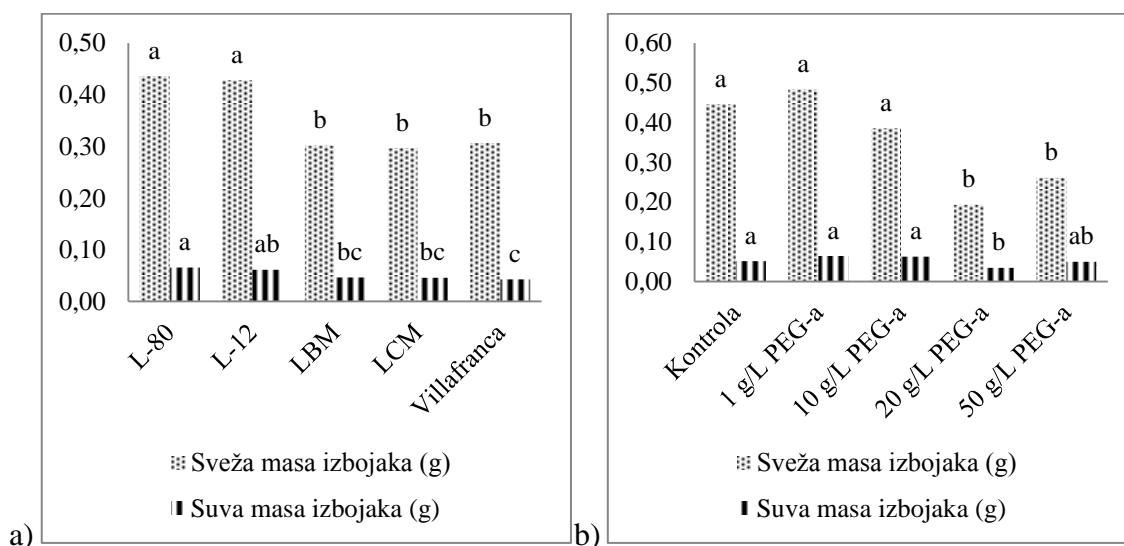
Legenda: <sup>a)</sup> Stepni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepni slobode za tretman  $df_B = 4$ ; stepni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 16$ ; stepni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 50$  i stepni slobode totala  $df_T = 74$ . <sup>b) \*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Prema rezultatima testa najmanje značajne razlike postoji značajna razlika u reakciji istraživanih parametara biomase između podloga u kojima je primenjena koncentracija polietilen glikola bila 50 g/L u odnosu na kontrolnu podlogu. Ovaj efekat je jasan kako na nivou totala podloga, tako i kod podloga unutar pojedinih genotipova (Tabela 5.3.2.2., Grafikon 5.3.2.1.b). Najviše sveže mase izbojaka ostvarili su genotipovi L-80 i L-12 koji su nasuprot visokim vrednostima za svežu masu izbojaka imali značajno niže vrednosti za visinu izbojaka u odnosu na genotip Villafranca (Grafikon 5.3.2.1.a.). Takođe, kod ovih genotipova (L-12 i L-80) zabeleženo je najviše suve mase izbojaka. Prosečna vrednost sveže mase korenova bila je u rasponu od 0,083 g (Villafranca) do 1,139 g (L-80) (Grafikon 5.3.2.2.a.).

Značajna statistička razlika kod sveže biomase izbojka i sadržaja vlage u izbojku dobijena je pri koncentracijama PEG-a od 20 i 50 g/L kako u odnosu na kontrolnu podlogu tako i u odnosu na ostale primenjenije koncentracije (1 g/L i 10 g/L PEG-a), gde su ove dve primenjene koncentracije opet ispoljile najjači uticaj na pomenuto svojstvo u odnosu na kontrolu.

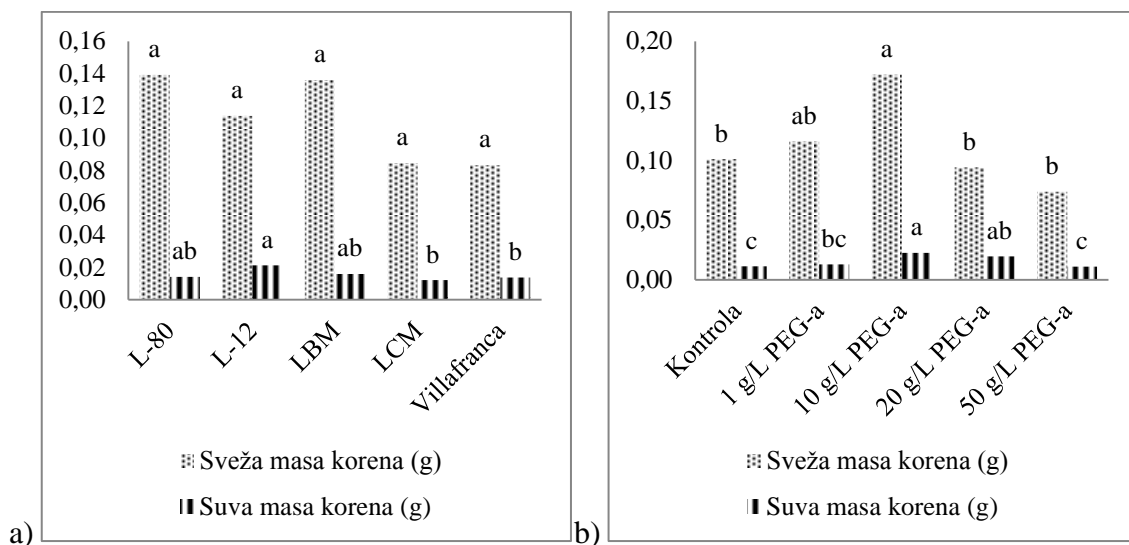
Primenjena koncentracija od 50 g/L polietilen glikola je i kod parametara biomase omogućila najbolju diferencijaciju genotipova. Primenom testa najmanje značajne razlike uočene su statistički značajne razlike u svežoj masi izbojaka na pomenutoj podlozi. Prema ovim rezultatima iz Tabele 5.3.2.1. može se videti da su najviše biomase izbojka imali genotipovi L-80 i L-12 (0,385 g i 0,326 g) u odnosu na genotipove LCM i LBM (0,143 g i 0,199 g). Smanjenje biomase izbojka na podlozi sa navišom koncentracijom PEG-a u odnosu na kontrolu je bilo najveće kod genotipa LCM (72%).

Kod svih istraživanih genotipova zabeleženo je blago povećanje sveže mase izbojaka pri koncentraciji od 1 g/L polietilen glikola. Takođe, uočeno je blago povećanje vrednosti na pomenutom tretmanu i kod ostalih istraživanih parametara biomase.



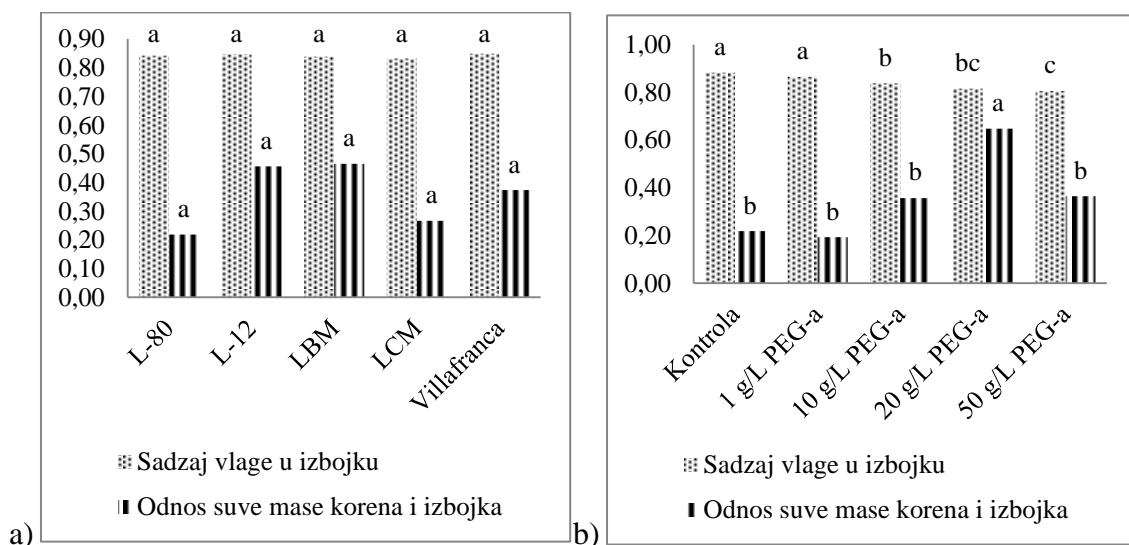
**Grafikon 5.3.2.1.** Sveža i suva masa izbojaka **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.3.2.2.** Sveža i suva masa korena **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.3.2.3.** Sadržaj vlage u izbojku i odnos suve mase korena i izbojka **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.3.2.2.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za istraživane parametre biomase u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Genotip	c (PEG) (g/L)	SVMI (g)	SUMI (g)	SVMK (g)	SUMK (g)	SVI	OSUM
L-80	0	0,50 <sup>abcde*</sup>	0,06 <sup>abcde</sup>	0,09 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,88 <sup>abcd</sup>	0,15 <sup>d</sup>
L-12	0	0,56 <sup>ab</sup>	0,07 <sup>abcd</sup>	0,11 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,88 <sup>ab</sup>	0,16 <sup>d</sup>
LBM	0	0,28 <sup>defg</sup>	0,04 <sup>bcde</sup>	0,08 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,87 <sup>abcde</sup>	0,26 <sup>d</sup>
LCM	0	0,51 <sup>abcd</sup>	0,07 <sup>abc</sup>	0,15 <sup>bcd</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,87 <sup>abcde</sup>	0,25 <sup>d</sup>
Villafranca	0	0,37 <sup>abcdefg</sup>	0,03 <sup>e</sup>	0,08 <sup>cd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,91 <sup>a</sup>	0,27 <sup>d</sup>
L-80	1	0,56 <sup>ab</sup>	0,07 <sup>ab</sup>	0,16 <sup>abc</sup>	0,01 <sup>bcde</sup>	0,87 <sup>abcde</sup>	0,20 <sup>d</sup>
L-12	1	0,58 <sup>a</sup>	0,07 <sup>abc</sup>	0,13 <sup>bcd</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,88 <sup>abc</sup>	0,26 <sup>d</sup>
LBM	1	0,49 <sup>abcde</sup>	0,07 <sup>abcd</sup>	0,13 <sup>bcd</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,87 <sup>abcdef</sup>	0,21 <sup>d</sup>
LCM	1	0,42 <sup>abcdef</sup>	0,07 <sup>abc</sup>	0,09 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,83 <sup>bcdefg</sup>	0,13 <sup>d</sup>
Villafranca	1	0,36 <sup>abcdefg</sup>	0,05 <sup>abcde</sup>	0,06 <sup>cd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,88 <sup>abcd</sup>	0,16 <sup>d</sup>
L-80	10	0,44 <sup>abcdef</sup>	0,07 <sup>ab</sup>	0,15 <sup>bcd</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,84 <sup>bcdefg</sup>	0,22 <sup>d</sup>
L-12	10	0,54 <sup>abc</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,21 <sup>ab</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,85 <sup>bcdefg</sup>	0,48 <sup>bcd</sup>
LBM	10	0,37 <sup>abcdefg</sup>	0,07 <sup>abcd</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,03 <sup>ab</sup>	0,82 <sup>defg</sup>	0,43 <sup>cd</sup>
LCM	10	0,26 <sup>defg</sup>	0,04 <sup>bcde</sup>	0,10 <sup>bcd</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,85 <sup>bcdefg</sup>	0,37 <sup>cd</sup>
Villafranca	10	0,32 <sup>bcdefg</sup>	0,05 <sup>abcde</sup>	0,11 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>bcde</sup>	0,83 <sup>bcdefg</sup>	0,28 <sup>d</sup>
L-80	20	0,30 <sup>cdefg</sup>	0,05 <sup>abcde</sup>	0,15 <sup>abcd</sup>	0,01 <sup>cde</sup>	0,81 <sup>fg</sup>	0,29 <sup>d</sup>
L-12	20	0,14 <sup>g</sup>	0,03 <sup>e</sup>	0,06 <sup>cd</sup>	0,03 <sup>abc</sup>	0,82 <sup>efg</sup>	1,19 <sup>a</sup>
LBM	20	0,17 <sup>g</sup>	0,03 <sup>cde</sup>	0,11 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>de</sup>	0,81 <sup>g</sup>	0,40 <sup>cd</sup>
LCM	20	0,14 <sup>g</sup>	0,02 <sup>e</sup>	0,05 <sup>cd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,82 <sup>efg</sup>	0,44 <sup>cd</sup>
Villafranca	20	0,22 <sup>fg</sup>	0,04 <sup>bcde</sup>	0,08 <sup>bcd</sup>	0,03 <sup>abcd</sup>	0,82 <sup>cdefg</sup>	0,92 <sup>abc</sup>
L-80	50	0,38 <sup>abcdefg</sup>	0,07 <sup>ab</sup>	0,14 <sup>bcd</sup>	0,02 <sup>bcde</sup>	0,81 <sup>fg</sup>	0,23 <sup>d</sup>
L-12	50	0,33 <sup>abcdefg</sup>	0,07 <sup>abcd</sup>	0,05 <sup>cd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,80 <sup>g</sup>	0,19 <sup>d</sup>
LBM	50	0,20 <sup>fg</sup>	0,03 <sup>cde</sup>	0,07 <sup>cd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,83 <sup>cdefg</sup>	1,01 <sup>ab</sup>
LCM	50	0,14 <sup>g</sup>	0,03 <sup>de</sup>	0,03 <sup>d</sup>	0,00 <sup>e</sup>	0,80 <sup>g</sup>	0,15 <sup>d</sup>
Villafranca	50	0,25 <sup>efg</sup>	0,05 <sup>abcde</sup>	0,09 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>e</sup>	0,80 <sup>g</sup>	0,24 <sup>d</sup>

Legenda: <sup>\*</sup> Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$ ; skraćenice u tabeli: SVMI-sveža masa izbojaka, SUMI-suva masa izbojaka, SVMK-sveža masa korenova, SUMK-suva masa korenova, SVI-sadržaj vlage u izbojku i OSUM-odnos suve mase korena i izbojka

### 5.3.3 Rezultati sadržaja fotosintetičkih pigmenata

Prema rezultatima dvofaktorijalne analize varijanse prikazanih u Tabeli 5.3.3.1. može se videti da je efekat suše izazvan sa PEG-om na variranje sadržaja fotosintetičkih pigmenata bio statistički značajan. Interakcija genotip  $\times$  podloga ispoljila je statistički značajan uticaj na sadržaj hlorofila a i hlorofila a+b. Takođe se i uticaj genotipa kao istraživanog faktora pokazao statistički značajnim kod svih fotosintetičkih parametara izuzev kod odnosa hlorofila a/b.

**Tabela 5.3.3.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za merene parametre sadržaja fotosintetičkih pigmenata u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema reakciji podloge <sup>a)</sup>

Svojsstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Hlorofil a (mg/g SVM)	5,42 <sup>b)**</sup>	61,03 <sup>**</sup>	2,08 <sup>**</sup>
Hlorofil b (mg/g SVM)	4,14 <sup>**</sup>	48,59 <sup>**</sup>	1,50
Karotenoidi (mg/g SVM)	2,56 <sup>*</sup>	27,36 <sup>**</sup>	1,57
Hlorofil a + b (mg/g SVM)	5,28 <sup>**</sup>	61,86 <sup>**</sup>	1,91 <sup>**</sup>
Hlorofil a/b	1,09	0,93	1,11

Legenda: <sup>a)</sup> Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za tretman  $df_B = 4$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 16$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 50$  i stepeni slobode totala  $df_T = 74$ . <sup>b) \*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; <sup>\*\*</sup> - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

Primenjena koncentracija PEG-a od 1 mg/L nije statistički značajno uticala na sadržaj fotosintetičkih pigmenata u odnosu na kontrolni tretman, što ukazuje na to da ova primenjena koncentracija PEG-a nije bila dovoljna da izazove inhibitorski efekat (Grafikon 5.3.3.1.b., 5.3.3.2.b. i 5.3.3.3.b.). Takođe, na osnovu NZR testa ima značajne razlike u reakciji istraživanih genotipova na sušu izazvanu različitim koncentracijama polietilen glikola u podlozi (Grafikon 5.3.3.1.a., 5.3.3.2.a. i 5.3.3.3.a.).

Na osnovu rezultata testa najmanje značajne razlike prikazanih u Tabeli 5.3.3.2. može se videti da sa povećanjem koncentracije polietilen glikola u podlozi za ožiljavanje dolazi do smanjenja vrednosti sadržaja fotosintetičkih pigmenata kod istraživanih genotipova bele topole.

Sadržaj hlorofila a se drastično smanjio na podlozi sa 50 g/L polietilen glikola u odnosu na kontrolnu podlogu (bez PEG-a). Genotip L-80 zabeležio je smanjenje ovog

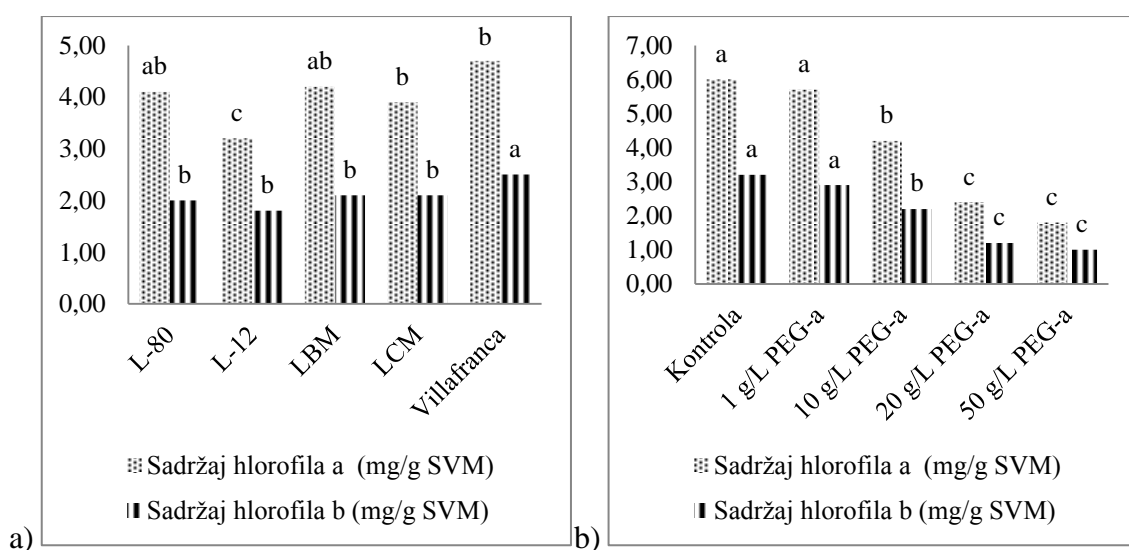


pigmenta za 68,97%, L-12 za 68,09%, LBM za 67,19%, LCM za 78,85%, dok je genotip Villafranca ostvario najmanji procenat smanjenja od 66,22% u odnosu na kontrolnu podlogu.

Sadržaj hlorofila b se nakon izlaganja pet genotipova bele topole polietilen glikolu u koncentraciji od 50 g/L u kontrolisanim uslovima smanjio za 67,74% (L-80), 65,39% (L-12), 59,38% (LBM), 76,92% (LCM) i 65% kod genotipa Villafranca.

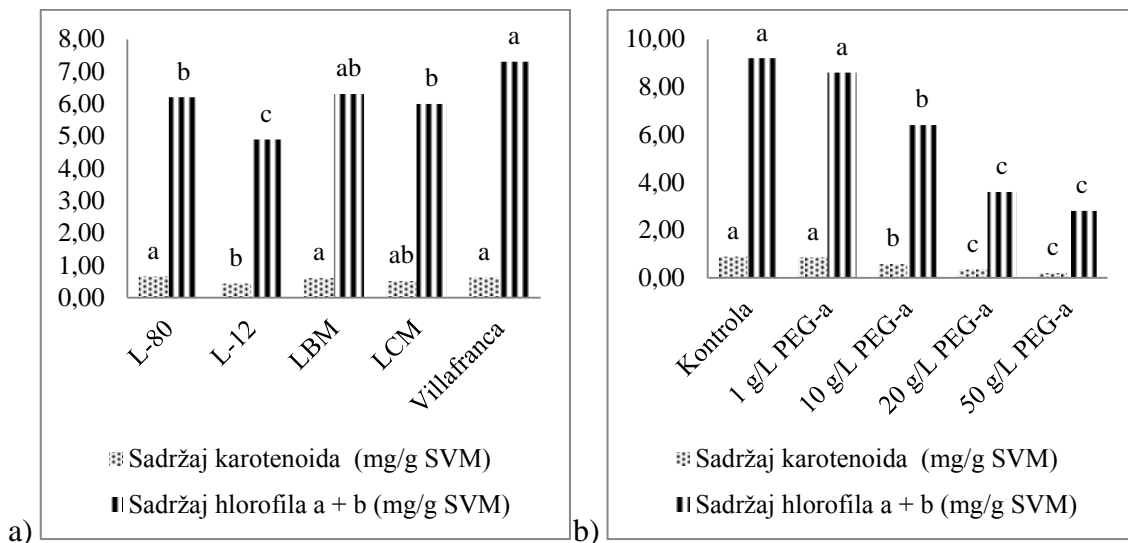
Genotip L-80 smanjio je sadržaj karotenoida za 75,86%, L-12 za 77,78%, LBM za 78,95%, genotip LCM za 85,90% a genotip Villafranca za 68,92% pri najvećoj primenjenoj koncentraciji polietilen glikola u podlozi u odnosu na kontrolnu podlogu.

Sadržaj hlorofila a+b pod uticajem različitih koncentracija PEG 6000 se menjao u opsegu od: 8,9-2,8 mg/g SVM (L-80), 7,3-2,4 mg/g SVM (L-12), 10,6-3,4 mg/g SVM (LBM), 7,8-1,8 mg/g SVM (LCM) i 11,4-3,8 mg/g SVM (Villafranca).



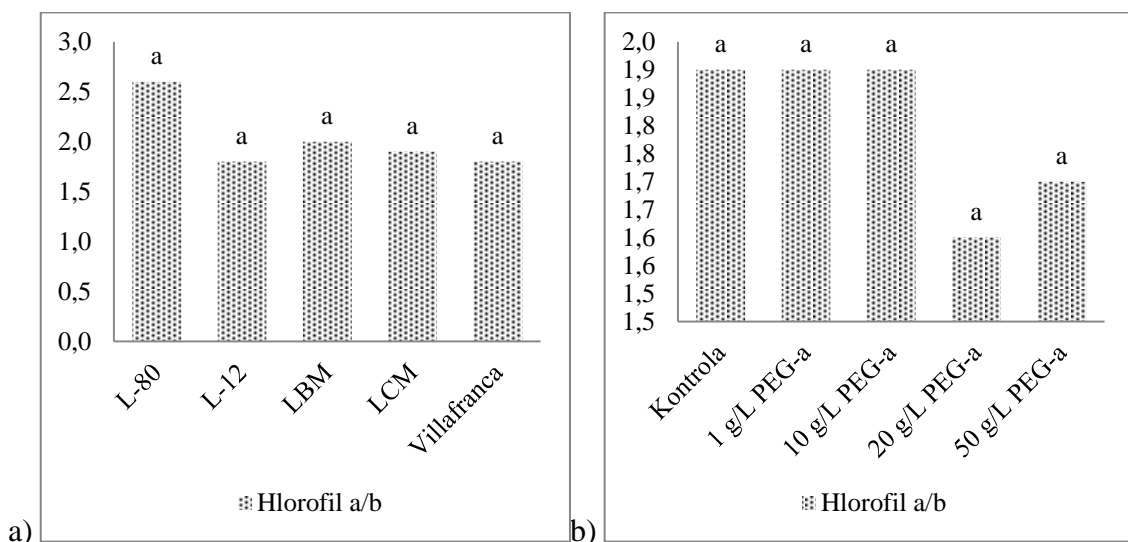
**Grafikon 5.3.3.1.** Sadržaj hlorofila a i hlorofila b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.3.3.2.** Sadržaj karotenoida i hlorofila a+b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$



**Grafikon 5.3.3.3.** Odnos hlorofila a i b **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.3.3.2.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za mereni sadržaj fotosintetičkih pigmenata u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Genotip	c(PEG) (g/L)	Hlorofil a (mg/g SVM)	Hlorofil b (mg/g SVM)	Karotenoidi (mg/g SVM)	Hlorofil a+b (mg/g SVM)	Odnos hlorofila a i b
L-80	0	5,80 <sup>bcde</sup> *	3,10 <sup>bcd</sup>	0,87 <sup>abcde</sup>	8,90 <sup>bede</sup>	1,90 <sup>b</sup>
L-12	0	4,70 <sup>efg</sup>	2,60 <sup>bcde</sup>	0,69 <sup>bcdef</sup>	7,30 <sup>efg</sup>	1,80 <sup>b</sup>
LBM	0	7,10 <sup>ab</sup>	3,50 <sup>ab</sup>	1,14 <sup>a</sup>	10,60 <sup>ab</sup>	2,00 <sup>b</sup>
LCM	0	5,20 <sup>def</sup>	2,60 <sup>bcde</sup>	0,78 <sup>abcde</sup>	7,80 <sup>defg</sup>	2,00 <sup>b</sup>
Villafranca	0	7,40 <sup>a</sup>	4,00 <sup>a</sup>	0,93 <sup>abcd</sup>	11,40 <sup>a</sup>	1,90 <sup>b</sup>
L-80	1	5,20 <sup>def</sup>	2,70 <sup>bcde</sup>	0,77 <sup>bcdef</sup>	7,90 <sup>defg</sup>	1,90 <sup>b</sup>
L-12	1	4,30 <sup>efgh</sup>	2,30 <sup>def</sup>	0,63 <sup>defgh</sup>	6,50 <sup>fgh</sup>	1,90 <sup>b</sup>
LBM	1	6,40 <sup>abcd</sup>	3,20 <sup>abc</sup>	1,01 <sup>abc</sup>	9,60 <sup>abcd</sup>	2,00 <sup>b</sup>
LCM	1	5,60 <sup>cde</sup>	3,10 <sup>bcd</sup>	0,77 <sup>abcde</sup>	8,60 <sup>bedef</sup>	1,80 <sup>b</sup>
Villafranca	1	6,90 <sup>abc</sup>	3,40 <sup>ab</sup>	1,05 <sup>ab</sup>	10,30 <sup>abc</sup>	2,00 <sup>b</sup>
L-80	10	4,30 <sup>efgh</sup>	2,20 <sup>defg</sup>	0,62 <sup>defghi</sup>	6,50 <sup>fgh</sup>	2,00 <sup>b</sup>
L-12	10	3,80 <sup>fghi</sup>	2,20 <sup>efg</sup>	0,53 <sup>efghij</sup>	5,90 <sup>ghi</sup>	1,70 <sup>b</sup>
LBM	10	2,90 <sup>hijk</sup>	1,40 <sup>fgh</sup>	0,41 <sup>fghijk</sup>	4,40 <sup>ijkl</sup>	2,20 <sup>b</sup>
LCM	10	5,20 <sup>def</sup>	2,80 <sup>bcde</sup>	0,62 <sup>defghi</sup>	8,00 <sup>cdefg</sup>	1,80 <sup>b</sup>
Villafranca	10	4,60 <sup>efg</sup>	2,40 <sup>cde</sup>	0,66 <sup>cdefg</sup>	7,10 <sup>efg</sup>	1,90 <sup>b</sup>
L-80	20	3,60 <sup>ghij</sup>	1,10 <sup>h</sup>	0,81 <sup>abcde</sup>	4,80 <sup>hijk</sup>	5,70 <sup>a</sup>
L-12	20	1,60 <sup>kl</sup>	0,90 <sup>h</sup>	0,18 <sup>jk</sup>	2,50 <sup>jkl</sup>	1,90 <sup>b</sup>
LBM	20	2,20 <sup>jkl</sup>	1,20 <sup>h</sup>	0,26 <sup>ijk</sup>	3,30 <sup>jkl</sup>	1,90 <sup>b</sup>
LCM	20	2,50 <sup>ijkl</sup>	1,40 <sup>gh</sup>	0,30 <sup>ghijk</sup>	3,90 <sup>ijkl</sup>	1,80 <sup>b</sup>
Villafranca	20	2,20 <sup>ijkl</sup>	1,50 <sup>fgh</sup>	0,21 <sup>jk</sup>	3,70 <sup>ijkl</sup>	1,50 <sup>b</sup>
L-80	50	1,80 <sup>kl</sup>	1,00 <sup>h</sup>	0,21 <sup>jk</sup>	2,80 <sup>jkl</sup>	1,70 <sup>b</sup>
L-12	50	1,50 <sup>kl</sup>	0,90 <sup>h</sup>	0,14 <sup>k</sup>	2,40 <sup>kl</sup>	1,80 <sup>b</sup>
LBM	50	2,10 <sup>kl</sup>	1,30 <sup>h</sup>	0,24 <sup>jk</sup>	3,40 <sup>jkl</sup>	1,70 <sup>b</sup>
LCM	50	1,10 <sup>l</sup>	0,60 <sup>h</sup>	0,11 <sup>k</sup>	1,80 <sup>l</sup>	1,80 <sup>b</sup>
Villafranca	50	2,50 <sup>ijkl</sup>	1,40 <sup>gh</sup>	0,29 <sup>hijk</sup>	3,80 <sup>ijkl</sup>	1,80 <sup>b</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.3.4 Rezultati biohemijskih parametara

Rezultati analize varijanse sa dva faktora prikazani u Tabeli 5.3.4.1. pokazuju da su i genotip i podloga statistički značajno uticali na sve istraživane biohemijske

parametre, dok je interakcija genotip  $\times$  podloga bila statistički značajna samo kod sadržaja prolina i glicin betaina.

**Tabela 5.3.4.1.** Rezultati dvofaktorijalne analize varijanse za istraživane biohemijske parametre u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši <sup>a)</sup>

Svojstvo	F-test		
	Genotip (A)	Podloga (B)	Interakcija A x B
Ukupni fenoli (mg GAE/g SVM)	15,04 <sup>b)</sup> **	4,37 **	0,79
Ukupni flavonoidi (mg QE/g SVM)	5,15 **	46,56 **	1,75
FRAP (mg ASC/g SVM)	28,18 **	4,74 **	0,81
ABTS <sup>+</sup> (mM TE/g SVM)	26,74 **	14,29 **	0,65
DPPH <sup>+</sup> (mM TE/g SVM)	9,98 **	16,65 **	1,02
Prolin ( $\mu$ M PRO/g SUM)	256,35 **	264,10 **	11,87 **
Glicin betain (mg GB/g SUM)	24,40 **	97,55 **	8,42 **

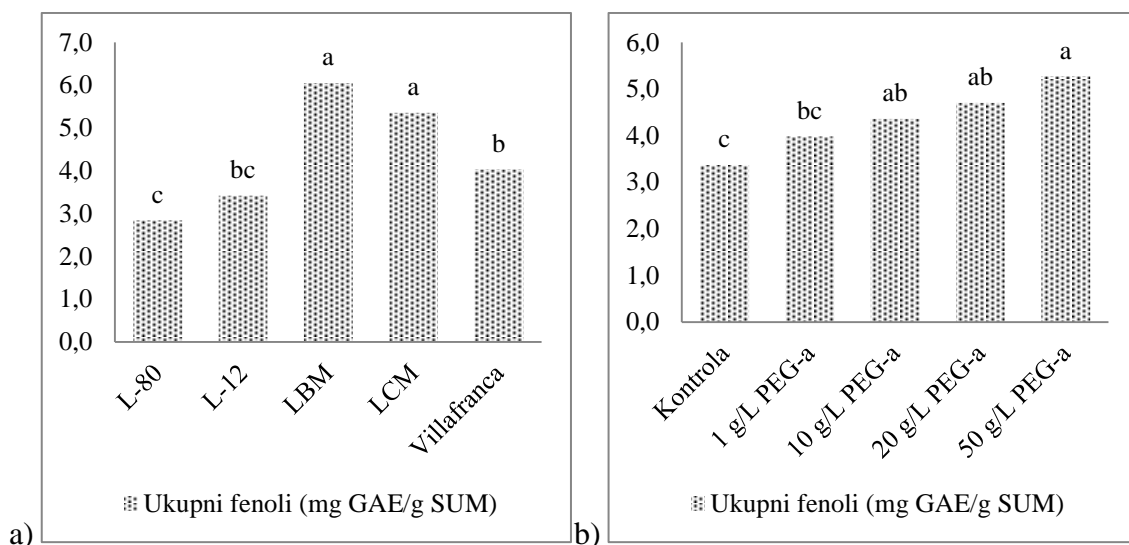
Legenda: <sup>a)</sup> Stepeni slobode za genotip:  $df_A = 4$ ; stepeni slobode za tretman  $df_B = 4$ ; stepeni slobode za interakciju  $A \times B$ :  $df_{A \times B} = 16$ ; stepeni slobode za pogrešku  $df_{ERR} = 50$  i stepeni slobode totala  $df_T = 74$ . <sup>b)</sup> \* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,05$ ; \*\* - Statistički značajan F-test za nivo  $\alpha=0,01$

#### 5.3.4.1 Rezultati sadržaja ukupnih fenola

Sagledavajući rezultat prikazane u Tabeli 5.3.4.1.1. može se videti da je statistički značajan uticaj na sadržaj fenola u suvoj masi izbojka imao i genotip i podloga. Intrakcija koja opisuje razlike u reakcijama genotip  $\times$  podloga nije bila statistički značajna za ovaj istraživani parametar oksidativnog stresa.

Sadržaj ukupnih fenola se povećavao sa povećanjem koncentracije polietilen glikola u podlozi (Grafikon 5.3.4.1.1.b.). Vrednosti za sadržaj ukupnih fenola na kontrolnoj podlozi iznosile su od 2 mM GAE/g SUM (L-80) do 4,7 mM GAE/g SUM (LCM). Najveći porast sadržaja ukupnih fenola zabeležen je na podlozi u kojoj je dodato 50 g/L PEG-a, te je ova podloga poslužila za bolje tumačenje tolerantnosti genotipova bele topole na uticaj suše izazvane dodavanjem polietilen glikola. Na najjačem primenjenom tretmanu suše najmanji sadržaj ukupnih fenola ostvario je genotip L-80 (3,3 mM GAE/g SUM). Genotip sa najvećim sadržajem ukupnih fenola pri najvećem testiranom stresu suše ostvario je genotip LBM i ova razlika jeste bila statistički značajna (Grafikon 5.3.4.1.1.a). Genotipovi LCM i LBM postigli su najviše vrednosti za sadržaj ukupnih fenola pri najvišem ispitivanom nivou suše. Takođe, na osnovu testa najmanje značajne razlike može se videti da su se i ostale primenjene

koncentracije (10 i 20 g/L PEG-a) statistički značajno razlikovale u odnosu na kontrolnu podlogu u sadržaju ukupnih fenola.



**Grafikon 5.3.4.1.1.** Sadržaj ukupnih fenola **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

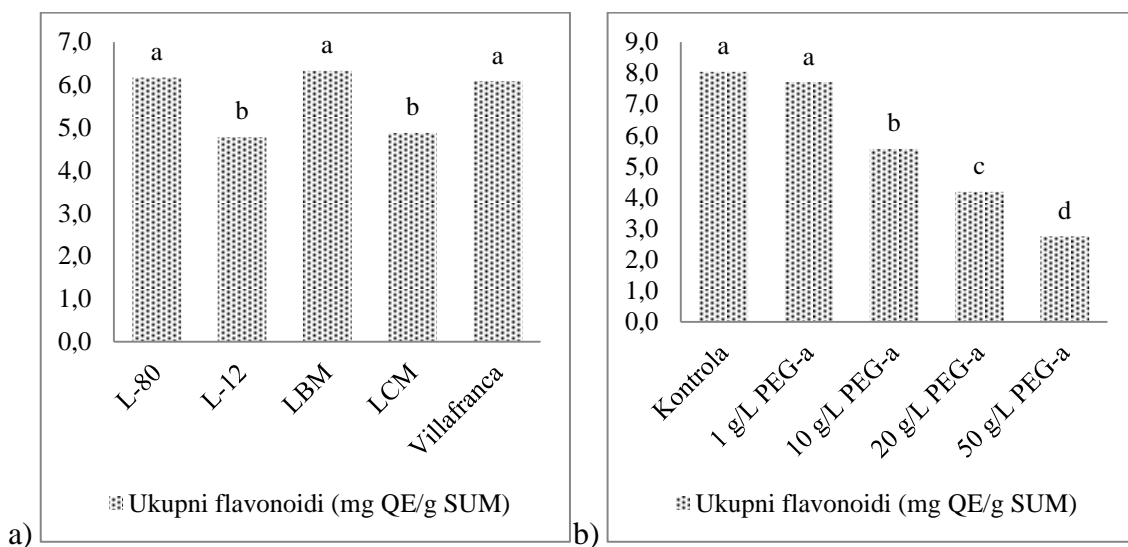
**Tabela 5.3.4.1.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za izmereni sadržaj ukupnih fenola u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/g SUM)						
c(PEG) (g/L)	Genotip					
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca	
0	2,0 <sup>j*)</sup>	3,0 <sup>ij</sup>	3,7 <sup>efghij</sup>	4,7 <sup>cdefghi</sup>	3,4 <sup>fghij</sup>	
1	2,9 <sup>ij</sup>	2,9 <sup>ij</sup>	5,6 <sup>bcdef</sup>	4,7 <sup>cdefghi</sup>	3,9 <sup>defghij</sup>	
10	2,9 <sup>ij</sup>	2,9 <sup>ij</sup>	5,9 <sup>bcde</sup>	5,9 <sup>abcd</sup>	4,2 <sup>cdefghij</sup>	
20	3,1 <sup>hij</sup>	3,1 <sup>hij</sup>	7,0 <sup>ab</sup>	6,1 <sup>abc</sup>	4,3 <sup>cdefghi</sup>	
50	3,3 <sup>ghij</sup>	5,2 <sup>bcdefgh</sup>	8,1 <sup>a</sup>	5,4 <sup>bcdefg</sup>	4,4 <sup>cdefghi</sup>	

Legenda:<sup>\*)</sup> Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.3.4.2 Rezultati sadržaja ukupnih flavonoida

Sadržaj ukupnih flavonoida po jedinici suve mase izbojaka istraživanih genotipova bele topole je proporcionalno opadao sa povećanjem sadržaja polietilen glikola u podlozi (Tabela 5.3.4.2.1.). Najviše flavonoida zabeležili su genotipovi L-80 i Villafranca (oko 6 mg QE/g SUM), a najmanji sadržaj ukupnih flavonoida izmeren je kod genotipova LCM i L-12 (približno 5 mg QE/g SUM) (Grafikon 5.3.4.2.1.a.). Iz Grafikona 5.3.4.2.1.b. može se videti da je i kod ovog istraživanog parametra najistaknutija razlika između istraživanih genotipova bila kod najvišeg testiranog nivoa suše u *in vitro* uslovima. Upravo na ovoj podlozi (50 g/L PEG) se izdvajaju genotipovi L-80 i Villafranca kao genotipovi sa najvišim sadržajem ukupnih flavonoida, dok se kao genotipovi sa najmanjim sadržajem izdvajaju LCM, LBM i L-12. Procentualno najveće smanjenje flavonoida ostavario je genotip LBM (80%), a najmanje smanjenje sadržaja ukupnih flavonoida izazvano stresom suše zabeleženo je kod genotipa Villafranca (35%) u odnosu na kontrolnu podlogu.



**Grafikon 5.3.4.2.1.** Sadržaj ukupnih flavonoida **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.3.4.2.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za izmereni sadržaj ukupnih flavonoida u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Sadržaj ukupnih flavonoida (mg QE/g SUM)					
c(PEG) (g/L)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	8,8 <sup>ab*)</sup>	6,8 <sup>bcde</sup>	10,6 <sup>a</sup>	7,3 <sup>bcd</sup>	6,7 <sup>bcdef</sup>
1	7,1 <sup>bcd</sup>	6,9 <sup>bcde</sup>	8,5 <sup>bc</sup>	7,9 <sup>bc</sup>	8,1 <sup>bc</sup>
10	6,4 <sup>cdefg</sup>	4,8 <sup>efghi</sup>	5,3 <sup>defgh</sup>	4,3 <sup>hi</sup>	7,0 <sup>bcd</sup>
20	4,6 <sup>fghi</sup>	3,5 <sup>hij</sup>	4,4 <sup>ghi</sup>	4,1 <sup>hi</sup>	4,4 <sup>ghi</sup>
50	3,9 <sup>hij</sup>	1,8 <sup>jk</sup>	2,9 <sup>ijk</sup>	0,8 <sup>k</sup>	4,2 <sup>hi</sup>

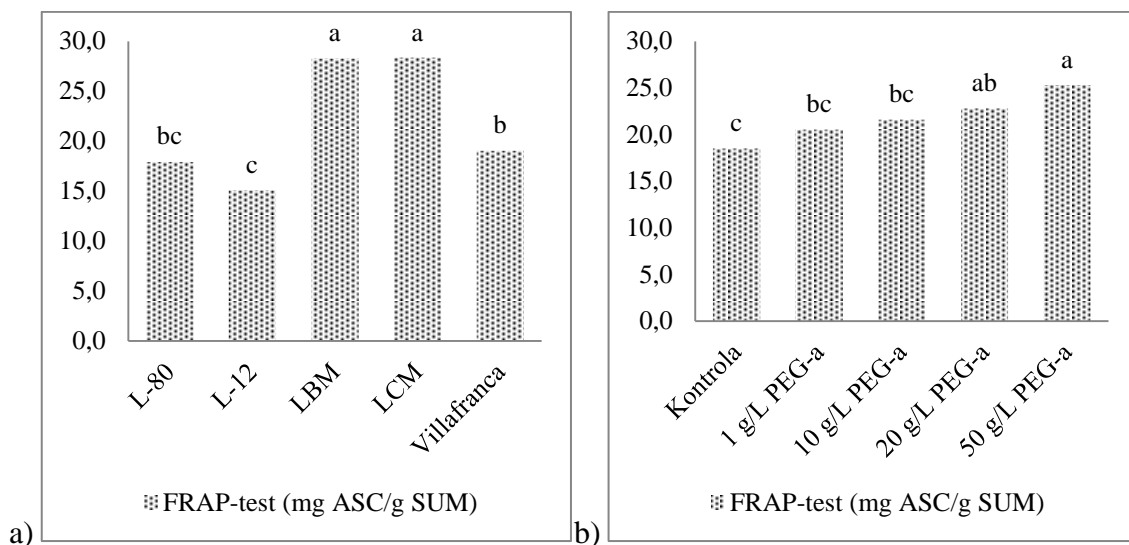
Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.3.4.3 Rezultati FRAP testa

Rezultati NZR testa potvrdili su statistički značajan uticaj primenjenih koncentracija PEG 6000 u podlozi i istraživanih genotipova.

Tokom izlaganja genotipova bele topole različitim koncentracijama polietilen glikola došlo je do povećanja redukcionog kapaciteta u odnosu na kontrolnu podlogu (Grafikon 5.3.4.3.1.b.). Porast koncentracije polietilen glikola u podlozi za ožiljavanje doveo je do porasta redukcionog kapaciteta kod svih istraživanih genotipova bele topole. Najveći redukcionog kapacitet postigli su LBM i LCM (Grafikon 5.3.4.3.1.a.). Pri tretmanu PEG 6000 koncentracije 50 g/L, najveći redukcionog kapacitet izmeren je kod genotipova LBM i LCM, dok je najmanji redukcionog kapacitet izmeren kod genotipa L-80 (Tabela 5.3.4.3.1.).

Genotip L-12 pod uticajem koncentracije od 50 g/L PEG-a u podlozi pokazao je povećanje redukcionog kapaciteta za 75,65%, genotip LBM za 58,97%, genotip LCM za 34%, genotip L-80 za 16,09% a genotip Villafranca za 5,49% u odnosu na kontrolnu podlogu (bez PEG-a 6000).



**Grafikon 5.3.4.3.1.** Rezultati FRAP testa **a)** prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.3.4.3.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za FRAP test u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

FRAP test (mg ASC/g SUM)						
c(PEG) (g/L)	Genotip					
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca	
0	16,2 <sup>ghi*)</sup>	11,5 <sup>i</sup>	23,4 <sup>cdefg</sup>	23,1 <sup>cdefg</sup>	18,2 <sup>efghi</sup>	
1	18,1 <sup>efghi</sup>	13,5 <sup>hi</sup>	25,5 <sup>bcde</sup>	27,4 <sup>bcd</sup>	18,1 <sup>fghi</sup>	
10	18,1 <sup>efghi</sup>	15,1 <sup>hi</sup>	25,1 <sup>bcdef</sup>	29,4 <sup>bc</sup>	20,2 <sup>defgh</sup>	
20	18,4 <sup>efghi</sup>	15,1 <sup>hi</sup>	30,0 <sup>abc</sup>	30,9 <sup>ab</sup>	19,5 <sup>efgh</sup>	
50	18,8 <sup>efghi</sup>	20,2 <sup>defgh</sup>	37,2 <sup>a</sup>	31,0 <sup>ab</sup>	19,2 <sup>efgh</sup>	

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

#### 5.3.4.4 Rezultati DPPH testa

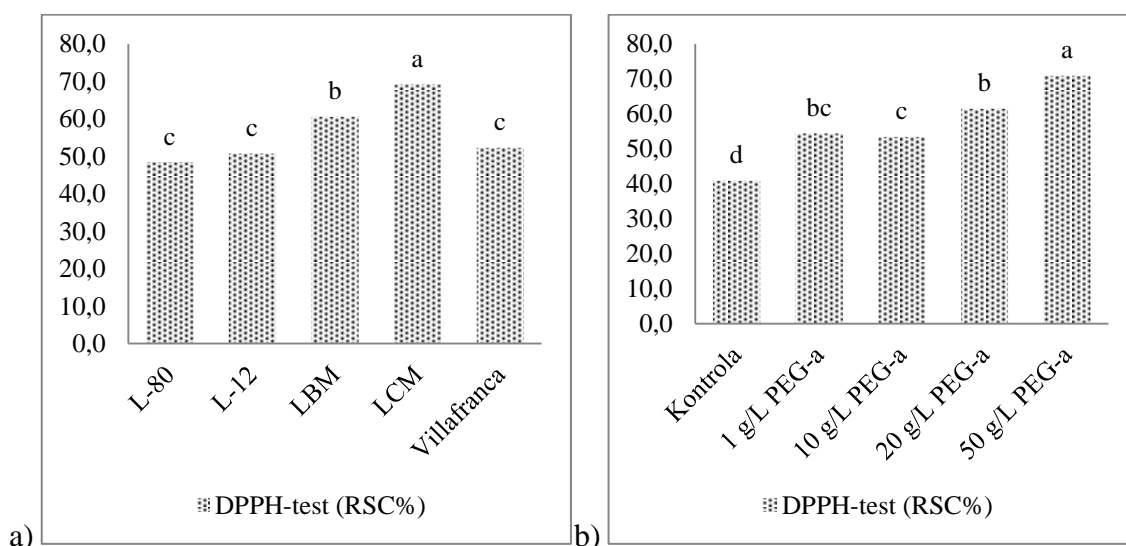
Na osnovu dobijenih rezultata za istraživani biohemijski parametar sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala može se zaključiti da je statistički značajan uticaj na pomenuti parametar imao i genotip i podloga. Interakcija genotip  $\times$  podloga nije pokazala značajan uticaj.



Test najmanje značajne razlike je potvrdio statistički značajan uticaj primenjenih koncentracija PEG 6000 i istraživanih genotipova na sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala izražen u % RSC (Tabela 5.3.4.4.1.)

Vrednosti za DPPH test na kontrolnoj podlozi kretale su se u rasponu od 34,2% (Villafranca) do 53,9% (LCM). Pri stresu izazvanom dodavanjem 50 g/L PEG 6000, antioksidativna aktivnost je rasla posebno kod genotipa LBM gde se izmerena vrednost DPPH testa na kraju istraživanja povećala čak 2,5 puta u odnosu na kontrolu. Najmanje povećanje antioksidativne aktivnosti merene DPPH testom pri najvišoj testiranoj koncentraciji polietilen glikola u podlozi (50 g/L) zabeležio je genotip L-12.

Prema rezultatima NZR testa može se zaključiti da se genotip LCM izdvaja kao genotip sa najvećom sposobnošću neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala, dok su na istom nivou najmanju antioksidativnu aktivnost pokazali genotipovi L-80, L-12 i Villafranca (Grafikon 5.3.4.4.1.a.). Takođe, koncentracija polietilen glikola od 50 g/L u podlozi za ožiljavanje zabeležila je najveći procenat antioksidativne aktivnosti kako u odnosu na kontrolu tako i u odnosu na ostale istraživane podloge. Koncentracije PEG 6000 od 1 i 10 g/L nisu se međusobno statistički značajno razlikovale u % RSC za DPPH test, ali su bile dovoljne da ostvare značajan efekat u odnosu na kontrolni tretman (Grafikon 5.3.4.4.1.b.).



**Grafikon 5.3.4.4.1.** Rezultati DPPH testa **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.3.4.4.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za DPPH test u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

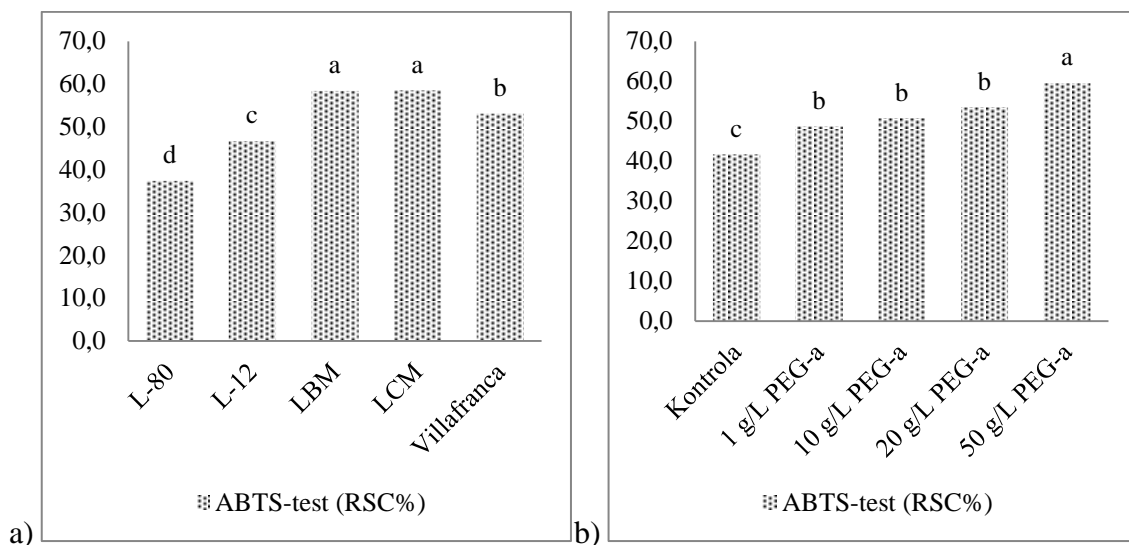
c(PEG) (g/L)	DPPH test (RSC %)				
	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	37,3 <sup>gh</sup> *)	44,8 <sup>fgh</sup>	34,4 <sup>h</sup>	53,9 <sup>defg</sup>	34,2 <sup>h</sup>
1	46,0 <sup>fgh</sup>	47,6 <sup>efgh</sup>	57,1 <sup>cdef</sup>	66,2 <sup>bcd</sup>	55,4 <sup>def</sup>
10	47,3 <sup>efgh</sup>	48,4 <sup>efgh</sup>	52,3 <sup>defg</sup>	64,4 <sup>bcde</sup>	54,8 <sup>def</sup>
20	50,9 <sup>defgh</sup>	49,6 <sup>defgh</sup>	73,4 <sup>abc</sup>	77,5 <sup>ab</sup>	56,1 <sup>def</sup>
50	60,7 <sup>bcde</sup>	63,5 <sup>bcde</sup>	85,7 <sup>a</sup>	83,9 <sup>a</sup>	60,9 <sup>bcde</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

#### 5.3.4.5 Rezultati ABTS testa

Statistički značajna razlika se može uočiti između kontrolne podloge i najviše primenjene koncentracije polietilen glikola u podlozi za ožiljavanje, te je najbolja diferencijacija genotipova dobijena na podlozi sa 50 g/L PEG-a (Grafikon 5.3.4.5.1.b.).

Koncentracija PEG-a od 50 g/L najviše je povećala sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala kod genotipa LBM u odnosu na kontrolnu podlogu. Kod genotipa LCM pri koncentraciji 50 g/L PEG-a u odnosu na kontrolnu podlogu zabeleženo je najmanje povećanje. Posmatrajući samo rezultate dobijene na podlozi sa 50 g/L polietilen glikola može se videti da je pri ovom tretmanu statistički značajno manji procenat sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala ostvario genotip L-80 u odnosu na ostale istraživane genotipove (Tabela 5.3.4.5.1.).



**Grafikon 5.3.4.5.1.** Rezultati ABTS testa **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

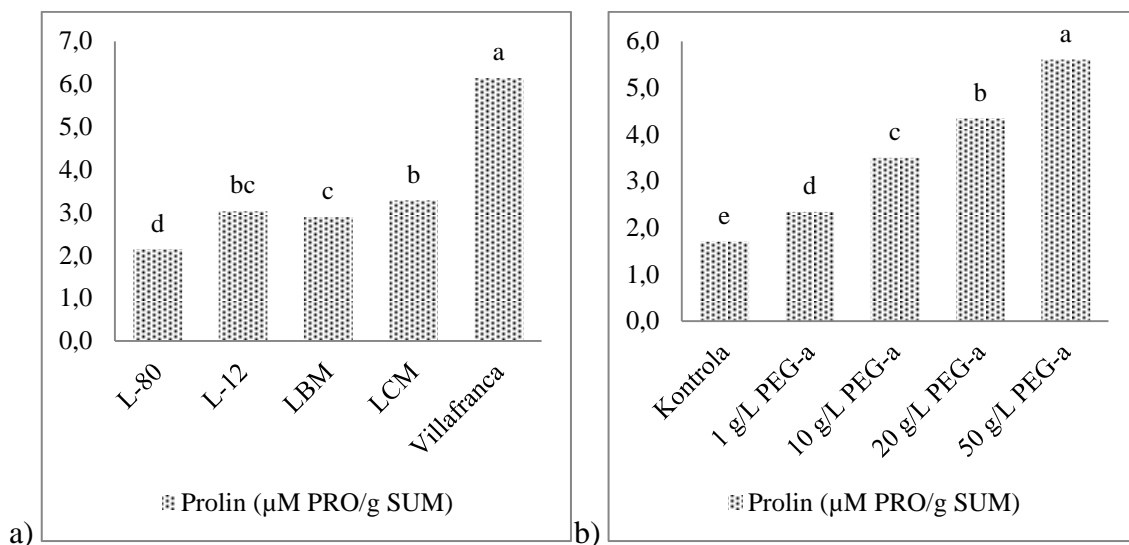
**Tabela 5.3.4.5.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip  $\times$  podloga za ABTS test u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

ABTS (RSC %)					
c(PEG) (g/L)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	30,7 <sup>j*)</sup>	39,5 <sup>hij</sup>	43,5 <sup>fghi</sup>	50,6 <sup>defg</sup>	44,2 <sup>fghi</sup>
1	36,7 <sup>ij</sup>	39,9 <sup>ghij</sup>	55,8 <sup>bcde</sup>	57,4 <sup>bcde</sup>	53,4 <sup>cdef</sup>
10	37,4 <sup>hij</sup>	47,7 <sup>efgh</sup>	56,5 <sup>bcde</sup>	57,9 <sup>bcde</sup>	54,2 <sup>bcdef</sup>
20	37,5 <sup>hij</sup>	47,8 <sup>efgh</sup>	64,9 <sup>ab</sup>	62,8 <sup>abc</sup>	54,3 <sup>bcdef</sup>
50	44,7 <sup>fghi</sup>	58,4 <sup>bcde</sup>	71,3 <sup>a</sup>	63,8 <sup>abc</sup>	59,4 <sup>bcd</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

### 5.3.4.6 Rezultati sadržaja prolina

Interakcija, koja opisuje razlike u reakciji genotipova na istraživane podloge, pokazala je statistički značajan uticaj na sadržaj prolina izraženog u  $\mu\text{M}$  po gramu suve mase izbojaka. Uticaj razlike istraživanih genotipova i podloga na sadržaj prolina takođe se pokazao statistički značajnim.



**Grafikon 5.3.4.6.1.** Rezultati sadržaja prolina **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

*Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$*

Grafikon 5.3.4.6.1.a. pokazuje da su statistički značajno reagovali genotipovi Villafranca i L-80. Genotip Villafranca izdvaja se kao genotip koji je ostvario najveći sadržaj prolina (6,1 µM) dok se genotip L-80 izdvojio kao genotip sa najmanjim sadržajem prolina (2,1 µM) suve mase izbojaka. Takođe, može se videti da se genotipovi L-12, LBM i LCM nisu puno razlikovali u sadržaju prolina nakon kultivacije u kontrolisanim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata na Grafikonu 5.3.4.6.1.b. može se videti da se količina prolina povećavala pod uticajem različitih koncentracija PEG-a. Svaka primenjena koncentracija PEG-a se statistički značajno razlikovala u odnosu na kontrolnu podlogu pri čemu je na koncentraciji od 50 g/L polietilen glikola zabeležen najveći porast sadržaja prolina u izbojcima istraživanih genotipova.

U Tabeli 5.3.4.6.1. su prikazani rezultati istraživanja uticaja polietilen glikola na količinu prolina kod istraživanih genotipova bele topole. Količina prolina u kontrolama je iznosila: 0,5 µM/g (L-80), 1,0 µM/g (LCM), 1,3 µM/g (LBM), 1,5 µM/g (L-12) i 4,1 µM/g (Villafranca). Najveći sadržaj prolina na najvišoj testiranoj koncentraciji PEG-a (50 g/L) izmeren je kod genotipa Villafranca (9,1 µM/g) dok je najveće povećanje sadržaja prolina na ovoj koncentraciji u odnosu na kontrolnu podlogu zabeležio genotip L-80.

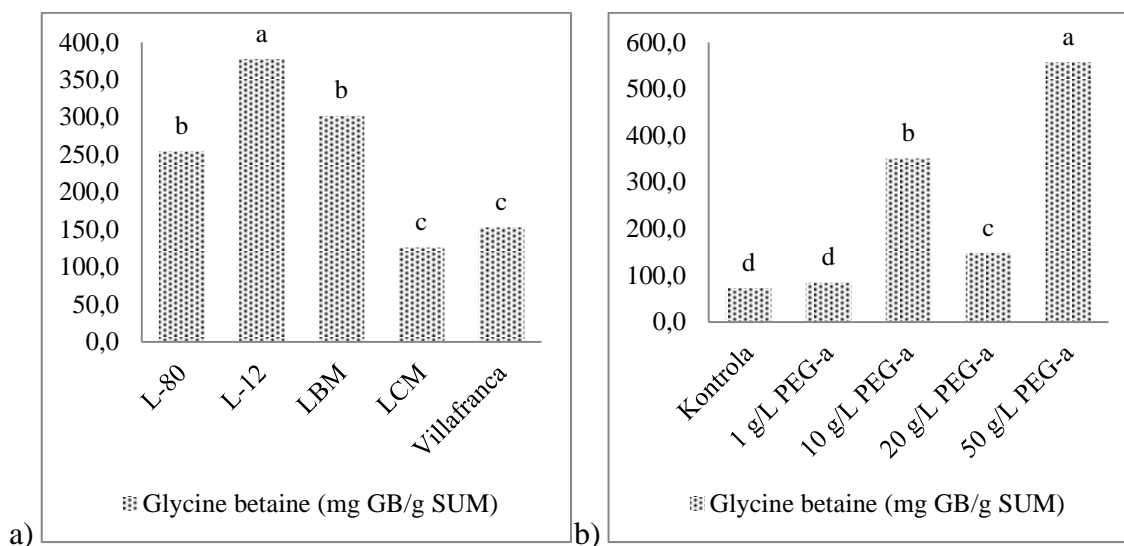
**Tabela 5.3.4.6.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za sadržaj prolina u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Sadržaj prolina ( $\mu\text{M/g SUM}$ )					
c(PEG) (g/L)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	0,5 <sup>m*)</sup>	1,5 <sup>l</sup>	1,3 <sup>l</sup>	1,0 <sup>lm</sup>	4,1 <sup>fgh</sup>
1	0,6 <sup>m</sup>	2,3 <sup>k</sup>	2,6 <sup>k</sup>	1,5 <sup>l</sup>	4,7 <sup>ef</sup>
10	2,9 <sup>jk</sup>	3,8 <sup>ghi</sup>	2,8 <sup>jk</sup>	2,6 <sup>k</sup>	5,5 <sup>d</sup>
20	2,4 <sup>k</sup>	3,3 <sup>ij</sup>	3,6 <sup>hi</sup>	5,0 <sup>de</sup>	7,3 <sup>b</sup>
50	4,3 <sup>fg</sup>	4,3 <sup>fg</sup>	4,1 <sup>fgh</sup>	6,3 <sup>c</sup>	9,1 <sup>a</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha_{0,05}$

#### 5.3.4.7 Rezultati sadržaja glicin betaina

Prema rezultatima dvofaktorijalne analize varijanse može se videti da je statistički značajan uticaj na sadržaj glicin betaina izražen u mg/g suve biljne mase imao i genotip i primenjenje koncentracije PEG-a u podlozi kao i interakcija genotip × podloga.



**Grafikon 5.3.4.7.1.** Rezultati sadržaja glicin betaina **a)** Prosečne vrednosti istraživanih genotipova; **b)** prosečne vrednosti za istraživane podloge

Legenda: Slova na vrhu stubića su dobijena na osnovu NZR testa gde između tretmana sa istim slovom razlike nisu statistički značajne na nivou  $\alpha=0,05$

**Tabela 5.3.4.7.1.** Rezultati testa najmanje značajne razlike na nivou interakcije genotip × podloga za sadržaj glicin betaina u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši

Sadržaj glycine betaine (mg/g SUM)					
c(PEG) (g/L)	Genotip				
	L-80	L-12	LBM	LCM	Villafranca
0	57,1 <sup>gh</sup> *)	100,9 <sup>fgh</sup>	109,8 <sup>efgh</sup>	66,3 <sup>gh</sup>	29,7 <sup>h</sup>
1	64,9 <sup>gh</sup>	111,1 <sup>efgh</sup>	132,1 <sup>efgh</sup>	49,5 <sup>gh</sup>	62,1 <sup>gh</sup>
10	288,0 <sup>cd</sup>	733,4 <sup>ab</sup>	275,8 <sup>cd</sup>	211,8 <sup>def</sup>	243,8 <sup>cde</sup>
20	213,9 <sup>def</sup>	163,3 <sup>defg</sup>	168,6 <sup>defg</sup>	122,4 <sup>efgh</sup>	71,2 <sup>gh</sup>
50	647,0 <sup>b</sup>	779,2 <sup>ab</sup>	822,5 <sup>a</sup>	179,7 <sup>defg</sup>	358,9 <sup>c</sup>

Legenda: \*) Razlika između vrednosti obeleženih istim slovom nije statistički značajna za nivo značajnosti  $\alpha=0,05$

Na osnovu prikazanih rezultata u Tabeli 5.3.4.7.1. može se videti da se sadržaj glicin betaina na koncentraciji polietilen glikola od 1 g/L nije značajno razlikovao od kontrolne podloge. Takođe, ista tabela pokazuje da je pri koncentraciji PEG-a od 20 g/L došlo do pada sadržaja glicin betaina u odnosu na sadržaj izmeren pri koncentraciji od 10 g/L. Koncentracija od 50 g/L PEG-a je izazvala najveće povećanje sadržaja glicin betaina u istraživanim genotipovima bele topole u odnosu na kontrolu. Na ovoj koncentraciji najveći sadržaj glicin betaina nakon gajenja u kontrolisanim uslovima postigli su genotipovi L-12, L-80 i LBM, dok je najmanji sadržaj zabeležio genotip LCM. Sadržaj glicin betaina je u ekstraktima genotipova bele topole koji su rasli na kontrolnoj podlozi (bez dodavanja PEG-a 6000) varirao u opsegu vrednosti od 29,7 (Villafranca) do 109,8 (LBM), dok je u ekstraktima genotipova raslih na podlozi sa najvišom primenjenom koncentracijom PEG-a 6000 vrednosti varirale od 179,7 (LCM) do 822,5 (L-12).

### 5.3.5 Korelaciona analiza

Na osnovu rezultata korelacione analize (Tabela 5.3.5.1.) može se zaključiti da postoji jaka korelacija između visine izbojka, broja korenova prvog reda, procenta preživljavanja i procenta ožiljavanja. Sveža masa izbojka pokazala je statistički značajnu negativnu korelaciju sa većinom istraživanih biohemijskih parametara (ukupni fenoli, FRAP, ABTS, DPPH i prolin), dok je sa sadržajem ukupnih flavonoida bila u pozitivnoj korelaciji. Sadržaj hlorofila a ispoljio je statistički značajno visok stepen pozitivne korelacije sa hlorofilom b, karotenoidima i hlorofilom a+b kao i sa ukupnim sadržajem flavonoida. Sadržaj ukupnih fenola bio je u negativnoj korelaciji samo sa sadržajem ukupnih flavonoida dok je pozitivna korelacija ostvarena sa ostalim biohemijskim parametrima, sa druge strane sadržaj flavonoida je pokazao statistički značajno negativnu korelaciju sa svim istraživanim biohemijskim parametrima. Vrednosti za FRAP test su bile u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima za ABTS i DPPH test. Visoka povezanost utvrđena je između sadržaja prolina i oba antioksidantna parametra (DPPH i ABTS).

**Tabela 5.3.5.1.** Koeficijenti korelacije i značaj z-testa za istraživana svojstva u ogledu istraživanja tolerantnosti genotipova suši <sup>a)</sup>

	VI	BK	DK	PP	PO	SVMI	SUMI	SVMK	SUMK	SVI	OSUM	Chla	Chlb	Car	a + b	a/b	Fen.	Flav.	FRAP	ABTS	DPPH	PRO	
BK	<b>0.8</b>																						
DK	0.0	-0.1																					
PP	<b>0.5</b>	<b>0.6</b>	-0.3																				
PO	<b>0.4</b>	<b>0.6</b>	<b>0.4</b>	0.2																			
SVMI	0.4	<b>0.4</b>	0.4	<b>0.6</b>	0.4																		
SUMI	0.0	0.1	<b>0.4</b>	0.3	0.3	<b>0.8</b>																	
SVMK	0.0	0.3	0.1	0.4	0.4	<b>0.5</b>	<b>0.6</b>																
SUMK	-0.1	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3	<b>0.6</b>															
SVI	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>	0.1	0.6	0.4	<b>0.7</b>	0.2	0.1	-0.1														
OSUM	-0.2	-0.2	-0.1	-0.1	-0.1	<b>-0.5</b>	<b>-0.5</b>	-0.1	0.5	-0.3													
Chla	<b>0.7</b>	<b>0.8</b>	-0.1	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>	<b>0.5</b>	0.2	0.1	-0.3	<b>0.9</b>	<b>-0.5</b>												
Chlb	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>	-0.1	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>	<b>0.6</b>	0.2	0.0	-0.3	<b>0.9</b>	<b>-0.4</b>	<b>1.0</b>											
Car	<b>0.6</b>	<b>0.7</b>	-0.1	<b>0.6</b>	<b>0.4</b>	<b>0.6</b>	0.2	0.1	-0.3	<b>0.8</b>	<b>-0.5</b>	<b>1.0</b>	<b>0.9</b>										
a + b	<b>0.7</b>	<b>0.8</b>	-0.1	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>	<b>0.5</b>	0.2	0.1	-0.3	<b>0.9</b>	<b>-0.4</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>0.9</b>									
a/b	-0.1	-0.1	-0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	-0.1	-0.1	0.0	-0.2	0.2	0.0								
Fen.	-0.4	-0.2	<b>-0.4</b>	<b>-0.4</b>	-0.4	<b>-0.6</b>	<b>-0.4</b>	-0.2	-0.1	<b>-0.4</b>	0.3	-0.3	-0.3	-0.4	-0.3	-0.2							
Flav.	<b>0.6</b>	<b>0.8</b>	-0.1	<b>0.7</b>	<b>0.6</b>	<b>0.6</b>	0.3	0.2	-0.1	<b>0.8</b>	<b>-0.4</b>	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>	0.0	<b>-0.4</b>						
FRAP	<b>-0.4</b>	-0.2	<b>-0.6</b>	-0.3	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	-0.2	-0.3	<b>-0.4</b>	0.2	-0.2	-0.2	-0.3	-0.2	-0.1	<b>0.9</b>	-0.3					
ABTS	-0.3	-0.3	-0.4	<b>-0.5</b>	<b>-0.4</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	-0.3	-0.1	<b>-0.6</b>	0.3	<b>-0.4</b>	-0.4	<b>-0.5</b>	<b>-0.4</b>	-0.3	<b>0.9</b>	<b>-0.5</b>	<b>0.8</b>				
DPPH	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	-0.4	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	-0.3	-0.3	-0.2	<b>-0.7</b>	0.2	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.6</b>	-0.1	<b>0.8</b>	<b>-0.7</b>	<b>0.8</b>	<b>0.9</b>			
PRO	0.0	-0.3	-0.1	<b>-0.5</b>	-0.3	<b>-0.6</b>	<b>-0.4</b>	-0.3	0.0	<b>-0.5</b>	0.2	<b>-0.5</b>	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	<b>-0.5</b>	-0.2	0.3	<b>-0.6</b>	0.1	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>		
GB	<b>-0.5</b>	<b>-0.6</b>	0.2	-0.3	-0.2	-0.1	0.2	0.1	0.2	<b>-0.5</b>	0.2	<b>-0.5</b>	<b>-0.5</b>	<b>-0.5</b>	<b>-0.5</b>	-0.1	0.3	<b>-0.5</b>	0.1	0.3	0.4	0.3	

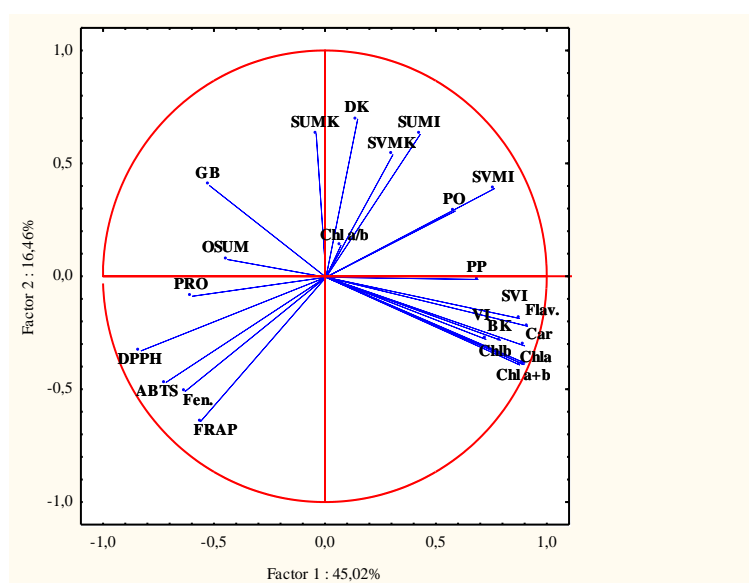
Legenda: Skraćenice u tabeli: VI- visina izbojka; BK- broj korenova prvog reda; DK- dužina najdužeg korena; PP- procenat preživelih eksplantanata; PO- procenat ožiljenih eksplantanata; SVMI- sveža masa izbojaka; SUMI- suva masa izbojaka; SVMK- sveža masa korenova; SUMK- suva masa korenova; SVI- sadržaj vlage u izbojku; OSUM- odnos suve mase korena i izbojka; Chla- hlorofil a; Chlb- hlorofil b; Car- karotenoidi; a+b- hlorofil a+b; a/b- odnos hlorofila a i b; Fen.- sadržaj ukupnih fenola; Flav.- sadržaj ukupnih flavonoida; FRAP- redukciona sposobnost ekstrakta; ABTS- sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala; DPPH- sposobnost neutralizacije DPPH<sup>+</sup> radikala; PRO- sadržaj prolina; GB- sadržaj glicin betaina

<sup>a)</sup> Podebljani brojevi predstavljaju koeficijente korelacije koji se značajno razlikuju ( $p > 0,05$ )



### 5.3.6 Analiza glavnih komponenti (PCA)

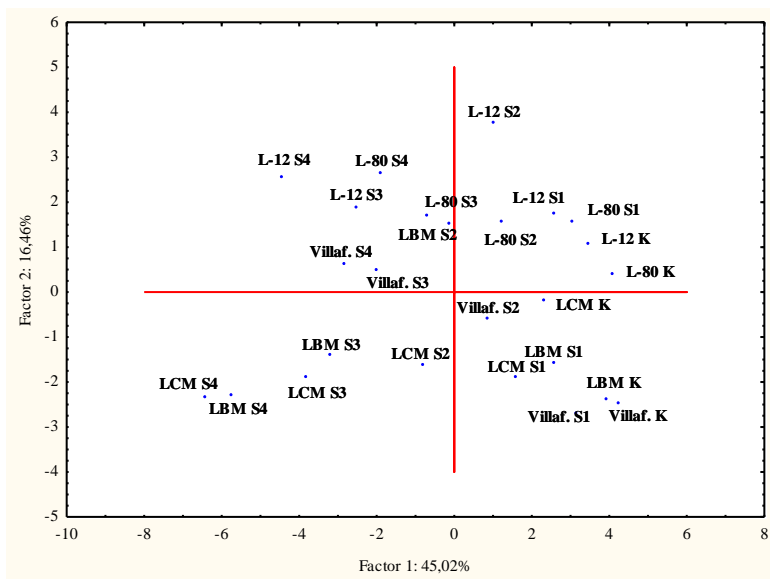
Prema analizi glavnih komponenti, prve dve glavne komponente opisuju 61,48% od ukupne varijabilnosti što je prikazano na Grafikonu 5.3.6.1. Najjasnije je grupisanje fotosintetičkih parametara, izuzev odnosa hlorofila a/b, sa brojem korena, sadržajem flavonoida i visinom i svežom masom izbojka, a sa njima je u negativnoj korelaciji sadržaj glicin betaina. Biohemijski parametri DPPH, ABTS, FRAP i sadržaj ukupnih fenola čine posebnu grupu koja sa prethodnom nije korelisana, ali je u negativnoj korelaciji sa većinom morfoloških i parametara biomase.



**Grafikon 5.3.6.1.** Analiza glavnih komponenti

*Legenda: skraćenice na grafikonu: VI (visina izbojka), BK (broj korenova prvog reda), DNK (dužina najdužeg korena), PP (procenat preživljavanja), PO (procenat ožiljavanja), SVMI (sveža masa izbojka), SUMI (suva masa izbojka), SVMK (sveža masa korena, SUMK (suva masa korena), SVI (sadržaj vlage u izbojku), OSUM (odnos suve mase korena i izbojka), Chla (sadržaj hlorofila a), Chlb (sadržaj hlorofila b), Car (sadržaj karotenoida), Chl a+b (sadržaj hlorofila a+b), Chl a/b (odnos hlorofila a i b), Fen. (sadržaj fenola), Flav. (sadržaj ukupnih flavonoida), FRAP, ABTS, DPPH, PRO (sadržaj prolina), GB (sadržaj glicin betaina).*

Na osnovu rezultata prve dve glavne komponente za istraživane interakcije genotip  $\times$  podloga, jasnije je grupisanje navedenih tretmana po istraživanim podlogama i to od S4 podloge na negativnoj, a kontrolne podloge na pozitivnoj strani prve glavne komponente (Grafikon 5.3.6.2.).



**Slika 5.3.6.2.** Analiza glavnih komponenti

Legenda: Skraćenice na grafikonu: K (kontrola 0 g/L PEG 6000); S1 (podloga sa 1 g/L PEG 6000); S2 (podloga sa 10 g/L PEG 6000); S3 (podloga sa 20 g/L PEG 6000); S4 (podloga sa 50 g/L).

## 6 DISKUSIJA

### 6.1 Tolerantnost istraživanih genotipova prema reakciji podloge

Kiselost zemljišta je jedan od vodećih problema u svetu koji u značajnoj meri dovodi do smanjenja produktivnosti biljaka (Kastori i Milošević, 2011). U dosadašnjim istraživanjima naučnici su najviše pažnje poklanjali istraživanju toksičnosti aluminijuma na niskoj pH, dok se samo mali broj istraživača bavio uticajem same kisele reakcije podloge u kontrolisanim uslovima. Nizak pH može negativno uticati na rast, razvoj i na kraju na produktivnost biljaka (Kastori i Milošević, 2011). Pojedine biljne vrste razvile su posebne mehanizme tolerantnosti prema kiselim zemljištima (Iqbal, 2012). Rast i razvoj biljaka je uslovljen promenama pH vrednosti u korenu biljaka. Promene mogu nastati usled posledica hemijskog sastava zemljišta i/ili posledica funkcije korena. Usporen rast izbojaka, propadanje korena, hloroza i drugi simptomi su povezani sa funkcijom mineralnih jona u nepovoljnim uslovima pH rizosfere (Kastori i Milošević, 2011). Rezultati dobijeni u ovom istraživanju ukazuju na značajan uticaj podloge na biljku, kao i značajnu tolerantnost, posebno genotipa L-80, prema veoma kiseloj podlozi. Takođe, prema Kovačević sar., (2013a), evidentan je i uticaj biljke na podlogu, što ističe belu topolu kao vrstu koja se može primeniti na različitim tipovima zemljišta, kako u smislu proizvodnje drvne mase i ozelenjavanja, tako i radi postizanja meliorativnog efekta ublažavanja zakiseljenosti zemljišta.

Mnogi istraživači su ispitivali uticaj pH vrednosti podloge na rast i razvoj brojnih biljnih vrsta u kulturi *in vitro* (Liefert i sar., 1995; Bhatia i Ashwath, 2005; De Klerk i sar., 2008; Ostrolucká i sar., 2010; Andersone i Ievinsh, 2008; Martins i sar., 2011; Kovačević i sar., 2013a; Vuksanović i sar., 2017b), ali samo mali broj istraživača se do danas bavio ispitivanjem uticaja tako kisele reakcije (pH 3.0) čvrste podloge na rast i razvoj bele topole (Kovačević i sar., 2013a; Vuksanović i sar., 2016a).

Konzistentnost čvrste podloge niske pH vrednosti može biti narušena autoklaviranjem što predstavlja veliki problem u istraživanjima uticaja kiselosti podloge u kulturi *in vitro* (De Klerk i sar., 2008). Ovaj problem je rešen sterilizacijom podloge u mikrotalasnoj pećnici (Kovačević i sar., 2013a). Puferna sposobnost standardne podloge je relativno slaba i menja se kako tokom autoklaviranja (Skirvin i sar., 1986), tako i nakon postavke eksplantata u kulturi *in vitro* (Kovačević i sar., 2013a). Takođe,

utvrđeno je da stabilnost pH podloge zavisi od hemijskog sastava podloge, načina skladištenja i načina sterilizacije (Sarma i sar., 1990; Owen i sar., 1991; Ružić i Cerović, 2001; Andersone i Levinsh, 2008). U cilju stabilizacije željene reakcije podloge do kraja kultivacije u ovom istraživanju korišćen je natrijum citratni pufer zato što bi eventualno povećanje koncentracije agara radi obezbeđivanja čvrstine podloge moglo da dovede do smanjenja mogućnosti usvajanja raspoloživih hranljivih materija i organskih supstanci za tkivo (Van Winkle i Pullman 2003).

Inače, prema Američkoj klasifikaciji zemljišta, koju navode Đorđević i Radmanović (2016), zemljišta sa pH ispod 4.5 se nazivaju „ekstremno kisela zemljišta“ i predstavljaju kategoriju zemljišta sa najnižim pH. U tom smislu, može se reći, da su u ovoj disertaciji ispitane podloge sa pH vrednostima koje se nalaze na donjoj granici reakcije zemljišta koje nalazimo u prirodi.

Dobijeni rezultati istraživanja u ovoj disertaciji pokazuju da je efekat interakcije genotip × podloga bio statistički značajan za većinu ispitivanih parametara. Generalno, najjači inhibitorni efekat postignut je na tretmanu pH 3,0. Ovo je u skladu sa rezultatima Long i saradnika (2017) koji su došli do saznanja da velike koncentracije H<sup>+</sup> jona mogu da prouzrokuju simptome toksičnosti i direktno da oštete korenje ispitivanih citrusa u vodenoj kulturi, tako što utiču na unos esencijalnih mineralnih materija i vode. U tom eksperimentu pri tretmanu od pH 2,5 korenje ispitivanih vrsta citrusa u vodenoj kulturi je na kraju istraživanja imalo tamno braon boju usled nekroze tkiva. Kovačević i saradnici (2013a) su dobili stimulativan efekat podloge sa početnom pH 3,0 vrednošću, na rast i razvoj genotipova bele topole u uslovima *in vitro*, što je verovatno uzrokovano slabom pufernom moći njihove podloge, s' obzirom da nisu koristili nikakav dodatni puferni sistem. Tome u prilog govori i činjenica da se reakcija u svim njihovim podlogama na kraju kultivacije kretala između pH 5,0 i pH 6,0. Sa druge strane, Vuksanović i saradnici (2017a) su ispitivali promene pH vrednosti podloge nakon kultivacije genotipova bele topole u kontrolisanim uslovima. U tom istraživanju su koristili natrijum citratni puferni sistem koji je korišćen i u ovoj tezi, i nakon 35 dana kultivacije pH vrednost u njihovoj podlozi se blago povećala na svega 4 pH što je rezultiralo inhibitornim efektom na preživljavnje eksplantanata i ispitivana morfološka svojstva. U tom smislu, rezultati dosadašnjih kao i rezultati dobijeni u ovoj tezi

podržavaju korišćenje jače puferisanih podloga od standardnih u daljim istraživanjima uticaja niskog pH u kulturi tkiva. Primenjeni tretman sa pH 3,0 ostvario je negativan uticaj na morfološke parametre i biomasu izbojka i korena kod ispitivanih genotipova bele topole. Takođe, rezultati ovog istraživanja pokazuju da nizak pH dovodi do smanjenja sadržaja fotosintetičkih pigmenata što je u saglasnosti sa rezultatima Yang i saradnika (2005). Nasuprot ovome, većina ispitivanih biohemijskih parametara (sadržaj ukupnih fenola, FRAP, ABTS i DPPH) pokazala je povišene vrednosti na tretmanu pH 3,0. Ovi rezultati ukazuju da su genotipovi koji su rasli na podlogama sa niskom pH povećali ukupni antioksidativni potencijal, što ukazuje da niska pH vrednost podloge dovodi do povećanja reaktivnih vrsta kiseonika i da biljka trpi oksidativni stres. Jake i pozitivne korelacije dobijene korelacionom analizom između vrednosti za FRAP i DPPH test su očekivane, s' obzirom da su ovi parametri povezani sa istim antioksidantnim mehanizmom, a to je prenos jednog elektrona (Popović i sar., 2012, Ždero, 2017).

Prema dobijenim rezultatima, puferisana pH 5,5 podloga sa jedne strane je imala inhibitorni efekat na ukupan sadržaj hlorofila, sadržaj karotenoida i flavonoida, a sa druge strane stimulativan efekat na ATBS i DPPH u poređenju sa kontrolom. Ovo ukazuje na značajno različit odgovor ispitivanih genotipova na podlozi puferisanoj na pH 5,5 u odnosu na ne-puferisanu kontrolnu podlogu. Inhibitorni efekat ove podloge na akumulaciju fotosintetskih pigmenata bio je čak i veći od onog na pH 4,0. S' obzirom da je razlika između ove dve podloge u većoj količini Na<sup>+</sup> jona u puferisanoj pH 5,5 podlozi, moguće je da je osnova inhibitornog efekta u odnosu na podlogu pH 4,0 veća količina Na<sup>+</sup> jona. U tom smislu, ne-puferisana pH 5,5 podloga bi imala prednost da se koristi kao kontrola u odnosu na puferisanu u daljoj proceni tolerancije kiselosti *in vitro*.

Među ispitivanim genotipovima su postojale razlike u reakciji na podlogu pH 3,0 u odnosu na kontrolnu podlogu. Na primer, genotip Villafranca je pretrpeo najslabiji uticaj tretmana pH 3,0 na procenat preživljavanja izbojaka, ali je ostvareni procenat ožiljavanja bio izuzetno nizak. Najbolje preživljavanje i ožiljavanje na podlozi pH 3,0 je pokazao genotip LBM, dok su ostali genotipovi ostvarili slabije rezultate. Najblaži negativan efekat na visinu izbojka na podlozi pH 3,0 u odnosu na kontrolu primećen je kod genotipa LCM, a u nešto manjoj meri kod L-12 i LBM. U slučaju broja korenova,

jedino kod genotipa L-12 uticaj podloge pH 3,0 nije bio statistički značajan, dok prema dužini najdužeg korena je najslabiji inhibitorski efekat ostvaren kod genotipa L-80.

Prema parametrima biomase ispitivani genotipovi se mogu podeliti u dve grupe. Genotipovi LBM i L-80 spadaju u grupu genotipova koja je ostvarila visoke vrednosti za biomasu. Drugu grupu, sa niskim vrednostima za biomasu u odnosu na genotipove LBM i L-80 čine genotipovi Villafranca, LCM i L-12. Takođe, i prema fotosintetičkim parametrima genotipovi se mogu podeliti u dve grupe. U prvu grupu sa visokim sadržajem fotosintetičkih pigmenata spadaju genotipovi Villafranca, L-80 i L-12, dok drugu grupu sa nižim vrednostima za fotosintetičke parametre čine genotipovi LBM i LCM. Dok su genotipovi L-80 i LCM pokazali konzistentnost u odgovoru na fotosintetičke i parametre biomase rangiranje genotipova LBM i Villafranca se značajno razlikovalo između ove dve grupe parametara.

Slična podela genotipova kao i kod fotosintetičkih parametara dobijena je i prema sadržaju ukupnih fenola i flavonoida. Na podlozi pH 3,0 genotipovi Villafranca, L-80 i L-12 imali su relativno visok sadržaj flavonoida i nizak sadržaj fenola, LCM je imao relativno visok sadržaj flavonoida i nizak sadržaj ukupnih fenola dok je genotip LBM bio između navedenih genotipova, što odgovara istom obrascu razdvajanja genotipova i prema sadržaju fotosintetičkih pigmenata. Međutim, razlike između ispitivanih genotipova prema pokazateljima oksidativnog stresa (FRAP, DPPH i ABTS) su više odgovarale šablonu razdvajanja genotipova prema parametrima biomase. Genotipovi L-80 i LBM koji su imali najveću akumulaciju biomase postigli su umerene vrednosti za FRAP i DPPH test. Genotipovi Villafranca i L-12 koji su akumulirali manje biomase postigli su i male vrednosti za DPPH i FRAP testove. Genotip LCM koji je takođe akumulirao manje biomase imao je visoke vrednosti posebno za DPPH test što ukazuje na prisustvo jakog oksidativnog stresa što u kombinaciji sa malom akumulacijom biomase i niskim sadržajem fotosintetičkih pigmenata može da sugeriše da je ovaj genotip manje tolerantan na nisku pH vrednost podloge.

Jaka korelacija između ispitivanih biohemijskih i fotosintetičkih parametara ukazuju na bliski odnos između ove dve grupe parametara, ali i njihovu povezanost prema istom mehanizmu antioksidativnog delovanja (Huang i sar., 2005; Stevanato i sar., 2004). Navedeno je potvrđeno i analizom glavnih komponenti, kao i slabom

korelacijom između ovih parametara sa jedne strane i morfoloških i parametara biomase sa druge strane glavne, što ukazuje na slabu povezanost morfoloških i parametara biomase sa antioksidativnim delovanjem biljaka.

Na osnovu dobijenih rezultata u ovoj disertaciji može se zaključiti da bi buduća istraživanja tolerantnosti genotipova prema kiselosti u *in vitro* uslovima trebalo sprovesti na bolje puferisanim podlogama reakcije pH 3,0. Na ovoj podlozi u ovom radu dobijena je najbolja podela genotipova. Genotip koji bi se mogao okarakterisati kao najpovoljniji kandidat za uzgoj na kiselim zemljištima i za koji se očekuje da bude najtolerantniji prema ovom abiotičkom stresu pored visokog procenta ožiljavanja, dobrog rasta, visoke akumulacije biomase i sadržaja fotosintetskih pigmenata, treba da ima relativno visok sadržaj flavonoida i nizak sadržaj fenola, relativno umeren FRAP i DPPH i visok kapacitet za uklanjanje ABTS<sup>+</sup> radikala. Genotip L-80 se može predložiti kao najtolerantniji prema niskom pH među ispitivanim genotipovima bele topole.

## **6.2 Tolerantnost istraživanih genotipova prema različitim koncentracijama NaCl**

Zaslanjenost zemljišta postaje sve akutniji problem na našoj planeti. Prema podacima FAO oko 800 miliona hektara zemljišta ima problem sa zaslanjenošću (Hernández, 2019). NaCl u visokim koncentracijama u apoplastu proizvodi primarne i sekundarne efekte koji negativno utiču na preživljavanje, rast i razvoj biljaka. Primarni efekti su poremećaj jonskog ekvilibrijuma (Jenks i Hasegawa, 2005). NaCl u koncentracijama višim od 0,4 M inhibira većinu enzima zbog smanjenja pristupačnosti molekula vode neophodnih za održavanje njihove hidratisanosti, kao uslova održanja strukture i aktivnosti enzima (Jones i Pollard, 1983). Visoke koncentracije soli takođe dovode do hiperosmotskog šoka tako što smanjuju vodni podencijal koji dovodi do smanjenja ili gubitka turgora i na taj način se ograničava rast ćelija (Munns i Termaat, 1986; Hasegawa i sar., 2000; Zhu, 2002; Chen i sar., 2014). Kada su biljke iz roda *Populus* izložene stresu zaslanjivanja, stome smanjuju svoje otvore. Takođe, smanjuju površinu lista, pri čemu se povećava gustina stoma. Smanjenje površina lista dovodi do smanjenja transpiracije kod topola i na ovaj način se one stvaraju tzv. odbrambeni mehanizam (Zhang i sar., 2019).

Veliki broj istraživača proučavao je uticaj različitih koncentracija NaCl na različitim biljnim vrstama u *in vitro* uslovima (Sotiropoulos i sar., 2006; Sotiropoulos, 2007; Feng i sar., 2017). Smanjene vrednosti morfoloških parametara pod uticajem različitih koncentracija NaCl u podlozi u odnosu na kontrolnu podlogu dobijene su i u ovom istraživanju. Zhang i saradnici (2019) navode da se *Populus alba* može koristiti kao model vrsta za razumevanje toleratnosti prema stresu soli zbog velike varijabilnosti na tolerantnost prema zaslanjenosti unutar ove vrste.

Varijabilnost genotipova bele topole prema tolerantnosti na zaslanjenost potvrđena je i u ovom radu. Različiti genotipovi su različito reagovali na prisustvo soli u podlozi. Tako se na osnovu morfoloških parametara može izdvojiti genotip L-80 koji je pretepeo najslabiji uticaj NaCl u koncentraciji od 100 mM u podlozi na broj novih korenova, dužinu korena i na procenat ožiljavanja te se na osnovu ovih parametara može smatrati tolerantnijim od ostalih, a broj, dužina korena i sposobnost dobrog ožiljavanja se mogu preporučiti kao dobri morfološki parametri koji bi se mogli koristiti u oceni tolerantnosti genotipova prema zaslanjenosti.

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja uticaja različitih koncentracija natrijum hlorida u hranljivoj podlozi u *in vitro* uslovima može se zaključiti da je koncentracija od 100 mM NaCl statistički značajno uticala na procenat preživljavanja ispitivanih genotipova bele topole. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Evers i saradnika (1997) koji su ispitivali uticaj različitih koncentracija NaCl (0, 50, 100 i 300 mM) na rast i razvoj hibridne topole (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) u kulturi *in vitro*. U njihovom ispitivanju samo je koncentracija NaCl od 300 mM/L statistički značajno uticala na smanjenje procenta preživljavanja nakon 28 dana gajenja topole. Biswas i saradnici (2017) su ispitivajući uticaj soli (0, 30, 60 i 120 mM NaCl) na sorte krompira u *in vitro* takođe ustanovili da sorte dobro preživljavaju na podlozi sa koncentracijama soli do 60 mM NaCl, dok je slabije preživljavanje ispitivanih sorti krompira dobijeno na koncentraciji od 120 mM NaCl. Poljakoff-Mayber i Lerner (1999) navode da neke koncentracije soli mogu stimulisati rast korena inhibirajući rast izbojka. Testirajući uticaj natrijum hlorida (0, 50, 100 i 150 mM) na Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*), Erturk i saradnici (2007) konstatuju da indukovana zaslanjenost u modifikovanoj MS podlozi dovodi do smanjenog rasta i sadržaja fotosintetičkih



pigmenata i izaziva oksidativni stres. Siler i saradnici (2007) smatraju da smanjeni rast biljaka usled zaslanjenosti povezan sa osmotskim potencijalom zemljišnog rastvora u zoni korenovog sistema koji izaziva različite fiziološke promene i samim tim dovodi i do smanjenja prinosa. Chookhampaeng (2011) navodi da je smanjeni intenzitet fotosinteze i sadržaj fotosintetičkih pigmenata verovatno rezultat akumulacije  $\text{Na}^+$  jona u hloroplastima i njihov inhibitorni efekat na navedene parametre. Gu i saradnici (2004) u svom istraživanju u vodenoj kulturi dolaze do rezultata koji pokazuje da je *Populus euphratica* Oliv. tolerantna i pri koncentraciji od 450 mM NaCl.

Chatzissavvidis i saradnici (2008) su ispitivajući uticaj tri različite koncentracije NaCl (0, 30 i 60 mM) na modifikovanoj MS podlozi došli do zaključka da primenjene koncentracije nisu statistički značajno uticale na morfološke i parametre biomase kod ispitivanih sorti *Prunus cerasus* L. Čak su dobijene vrednosti za ispitivane morfološke parametre (broj novih izbojaka i visina izbojka) bile slične onim vrednostima dobijenim na kontrolnom tretmanu. Ovi rezultati su takođe u saglasnosti sa dobijenim rezultatima istraživanja ove disertacije, gde koncentracija NaCl od 10 mM nije bila dovoljna da ostvari inhibitorni efekat na morfološke i parametre biomase u kontrolisanim uslovima u odnosu na kontrolnu podlogu. Povećane vrednosti biomase pri koncentracijama soli manjim od 100 mM NaCl su u skladu sa rezultatima Kurban i saradnika (1999) i Zafar i saradnika (2018).

Khattab i El-Garhy (2016) su ispitivali uticaj zaslanjenosti nakon tretmana morskom vodom (8, 12 i 14 dS/m) u *in vitro* uslovima na klonovima W52 (*Populus tremula* L.) i T89 (*Populus tremula* L. × *Populus tremuloides* ‘Michx’). Ovi istraživači su došli do saznanja da nivo zaslanjenosti od 14 dS/m delovao letalno, što blisko odgovara efektu zaslanjenosti od 150 mM NaCl, čija je električna provodljivost u podlozi bila 17 dS/m koja je u ovom istraživanju takođe delovala letalno. Svi morfološki parametri su bili značajno smanjeni na 12 dS/m kod oba *Populus* klona što je relativno blizu električne provodljivosti od 11.4 dS/m u podlozi sa 100 mM NaCl koja je u ovoj disertaciji korišćena za procenu tolerantnosti pet ispitivanih genotipova bele topole.

Generalno, rezultati NZR testa su pokazali da sa povećavanjem koncentracije natrijum hlorida u podlozi dolazi do smanjivanja vrednosti merenih morfoloških,

parametara biomase i fotosintetičkih parametara što je u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima. Martinez i saradnici (1996) su ispitivanjem uticaja različitih koncentracija NaCl (0, 25, 50, 100 i 200 M/m<sup>3</sup> NaCl) u kulturi tkiva, na *Solanum spp.* nakon tri nedelje gajenja u kontrolisanim uslovima došli do sledećih rezultata: NaCl je negativno uticao na visinu izbojka, primenjene koncentracije iznad 100 M/m<sup>3</sup> NaCl inhibirale su rast paradajza, sa povećanjem koncentracije soli u podlozi došlo je do smanjenja procenta preživljavanja. Takođe, ovi autori navode da sa povećanjem koncentracije soli u podlozi opada procenat ožiljavanja kao i sveža masa izbojaka kod ispitivanih sorti paradajza. Munns (2002) navodi da salinitet utiče na smanjenje sposobnosti biljaka da apsorbuju potrebne količine vode što dalje dovodi do smanjenja stope rasta sa skupom metaboličkih promena koje su indentične onim promenama koje nastaju usled posledice vodnog stresa. Veliki broj istraživača se bavio ispitivanjem uticaja soli na različite vrste roda *Populus*. Rezultati tih istraživanja takođe pokazuju da koncentracije soli iznad 100 mM imaju inhibitorni efekat na rast i razvoj topola. Na primer, Fung i saradnici (1998) navode da je koncentracija od 86 mM NaCl nakon tri nedelje dovela do toksičnog efekta kod *Populus robusta*, *Populus berolinensis* i *Populus popularia*, dok rezultati dobijeni u ovoj tezi ukazuju na dobro preživljavanje i ožiljavanje pojedinih ispitivanih genotipova bele topole pri koncentraciji NaCl od 100 mM, te se može pretpostaviti da je bela topola tolerantnija na stres izazavan dodavanjem NaCl u odnosu na gore navedene vrste topola.

Stimulativni efekat koncentracija NaCl od 1, 3, 10 i 33 mM na parametre biomase je u saglasnosti sa rezultatima Ljubojević i saradnika (2017). Takođe, Zhao i saradnika (2017) koji su ispitivajući uticaj različitih koncentracija NaCl zalivanjem vrste *Populus euphratica* došli do saznanja da koncentracija soli od 50 mM NaCl nije statistički značajno smanjila vrednosti ispitivanih fizioloških parametara. To dovodi do zaključka da bi u narednim istraživanjima stres zalanjivanjem trebalo ispitivati pri vrednosti od 100 mM.

Dobijeni rezultati smanjenja sadržaja fotosintetičkih pigmenata pod uticajem soli u podlozi su u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima. Khalid i saradnici (2015) su ispitivanjem uticaja različitih koncentracija NaCl (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 i 200 mM) u podlozi na rast i razvoj *Camelina sativa* L. u kontrolisanim uslovima došli do zaključka da visoke koncentracije dovode do smanjenja hlorofila a, b i a+b u odnosu na

kontrolu. Chen i saradnici (2014) navode da je smanjenje fotosintetičke aktivnosti posledica smanjenog vodnog potencijala koji nastaje zbog visokih koncentracija  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$  jona koji se akumuliraju u hloroplastima. Tako se na osnovu ovoga može pretpostaviti da je visok sadržaj natrijuma i u ovom istraživanju uticao na smanjenje sadržaja fotosintetičkih pigmenata. Sadržaj natrijuma bio je u jakoj negativnoj korelaciji sa sadržajem hlorofila a, b i karotenoidima. Genotipovi koji su imali najveći sadržaj hlorofila a, b, a+b i karotenoida su Villafranca i L-80 na podlozi sa 100 mM NaCl. Genotip Villafranca je imao najveći sadržaj kalijuma na istoj podlozi dok je genotip L-80 zabeležio najmanji procenat smanjenja vrednosti odnosa kalijuma i natrijuma. Odnos kalijuma i natrijuma je bio u pozitivnoj korelaciji sa većinom fotosintetičkih parametara. Chatzissavvidis i saradnici (2008) su dobili inhibitorni efekat primenjenjem koncentracije NaCl-a u podlozi na sadržaj hlorofila a+b u ekstraktima višnje u *in vitro* uslovima što je u saglasnosti sa dobijenim rezultatima koji pokazuju da je koncentracija od 33 mM NaCl dovela do statistički značajnog smanjenja hlorofila a+b u ispitivanim ekstraktima bele topole gajene u kontrolisanim uslovima.

Glavni sekundarni efekat stresa NaCl nastaje zbog visoke koncentracije natrijumovih jona i uključuje poremećaj usvajanja  $\text{K}^+$  jona, disfunkciju ćelijskih membrana, smanjuje se intenzitet fotosinteze, dolazi do promena u biohemijskim procesima i odumiranja ćelija (Serrano i sar., 1999; Hasegawa i sar., 2000; Rodríguez - Navarro, 2000; Zhu, 2002; Sun i sar., 2009). Visoke koncentracije natrijuma dobijene su i u ovoj disertaciji, a dobijeni rezultati ukazuju na značajno povećan sadržaj natrijuma u odnosu na kontrolu već pri izlaganju genotipova bele topole tretmanu sa najnižom ispitivanom koncentracijom NaCl (1 mM). Koncentracija od 100 mM NaCl izdvojila je genotipove L-12 sa najvišim sadržajem natrijuma i LBM sa najmanjim sadržajem natrijuma. Ako se na osnovu dosadašnjih istraživanja o sadržaju natrijuma može pretpostaviti da tolerantni genotipovi imaju manji sadržaj natrijuma nakon izlaganja stresu izazvanom NaCl u odnosu na kontrolni tretman bez NaCl onda se kao najtolerantniji genotip može izdvojiti LBM kod koga je došlo do najmanjeg povećanja sadržaja natrijuma pri najvećoj koncentraciji NaCl u odnosu na kontrolu, dok se kao najmanje tolerantan sa najvećim povećanjem sadržaja natrijuma može izdvojiti genotip Villafranca. Niske vrednosti sadržaja natrijuma kod tolerantnih genotipova mogu biti rezultat manjeg nagomilavanja natrijuma u izbojcima ili posledica njegovog nakupljanja

u korenu, te bi u budućim istraživanjima trebalo uključiti i sadržaj natrijuma u korenu (Sixto i sar., 2005). Smanjenji sadržaj kalijuma i povećani sadržaj natrijuma i odnosa natrijuma i kalijuma kod *Astragalus gombiformis* Pomel. prilikom izlaganja različitim koncentracijama NaCl u polukontrolisanim uslovima prijavili su i Boughalleb i saradnici (2017). Povećane koncentracije natrijuma dovode do smanjenja apsorpcije kalijuma, pa se smatra da je održavanje visokog nivoa kalijuma u biljkama pri stresu izazvanom NaCl bitna karakteristika tolerantnih genotipova. Poremećaj usvajanja kalijuma je potvrđen i u ovom radu (Azizi i Tookaloo, 2013). Nakon izlaganja genotipova bele topole različitim koncentracijama NaCl došlo je smanjenja sadržaja kalijuma. Na osnovu dobijenih rezultata za sadržaj kalijuma mogu se izdvojiti genotipovi Villafranca kao genotip kod koga je zabeležen najmanji procenat smanjenja (37,6%) pri koncentraciji NaCl od 100 mM u podlozi u odnosu na kontrolu i genotip LBM kod kog je zabeležen najveći procenat smanjenja sadržaja kalijuma (63,0%).

Rezultati takođe pokazuju da su svi ispitivani genotipovi smanjili sadržaj kalijuma i magnezijuma, a povećali sadržaj natrijuma kada su bili izloženi različitim koncentracijama NaCl. Na osnovu dosadašnjih istraživanja o uticaju NaCl smanjen sadržaj kalijuma i magnezijuma mogao bi biti posledica antagonističkog efekta apsorpcije natrijuma na kalijum i magnezijum (Ashrafi i Rezaei Nejad, 2017).

Na osnovu dobijenih rezultata u ovoj tezi i dosadašnjih istraživanja o uticaju NaCl u pogledu odnosa sadržaja kalijuma i natrijuma može se pretpostaviti da su genotipovi koji imaju visok odnos kalijuma i natrijuma otporniji na stres izazvan NaCl (Izadi i sar., 2014; Ashrafi i Rezaei Nejad., 2017). Najviši odnos kalijuma i natrijuma na podlozi sa 33 mM NaCl su ostvarili genotipovi LCM i L-80, prvenstveno zahvaljujući slabijem usvajanju natrijuma u odnosu na ostale genotipove. Pri tome je genotip L-80 ostvario je najmanji procenat smanjenja odnosa sadržaja kalijuma i natrijuma.

Najviši sadržaj magnezijuma su ostvarili genotipovi L-12 i LBM. Visok sadržaj magnezijuma je svakako poželjna osobina, ali s' obzirom na slabu korelaciju sa ostalim ispitivanim svojstvima, značaj ovog parametra u oceni tolerantnosti genotipa prema zaslanjenosti bi trebao da se dodatno ispita u narednim istraživanjima.

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju pokazuju da je pod uticajem viših različitih koncentracija NaCl u podlozi došlo do smanjenja ukupnih fenola. Najmanji sadržaj ukupnih fenola izmeren je kod genotipova koji su rasli na podlogama u kojima

je NaCl dodat u koncentracijama od 33 mM i 100 mM. S' obzirom da se sadržaj ukupnih fenola kod genotipa L-80 nije statistički značajno razlikovao na podlozi u kojoj je NaCl dodat u najvišoj koncentraciji (100 mM) u odnosu na kontrolu, može se pretpostaviti da je ovaj genotip prema ovom biohemijskom parametru izuzetno tolerantan na prisustvo soli u polozu.

Na osnovu sadržaja ukupnih flavonoida može se pretpostaviti da je smanjenje sadržaja flavonoida rezultat oksidativnog stresa na osnovu čega se dalje može zaključiti da su genotipovi koji su ostvarili najmanji saržaj flavonoida najmanje tolerantni prema stresu. S' obzirom da je genotip L-80 akumulirao najveći sadržaj flavonoida na podlozi sa 100 mM NaCl može se pretpostaviti da se na osnovu ovog istraživanog biohemijskog parametra može izdvojiti kao najtolerantniji među ispitivanim genotipovima.

Sposobnost redukcije  $\text{Fe}^{3+}$  jona određivana FRAP testom je opadala do koncentracije od 33 mM NaCl. Koncentracija od 100 NaCl dovela je do statistički značajnog povećanja u odnosu na koncentracije od 10 i 33 mM NaCl. Pod pretpostavkom da tolerantniji genotipovi imaju manje vrednosti za FRAP test pri visokim koncentracijama NaCl i na osnovu ovog parametra se može izdvojiti genotip L-80.

Jaka pozitivna korelacija između FRAP i DPPH testa sa fenolima ukazuje da fenolna jedinjenja imaju značajnu ulogu pri neutralizaciji slobodnih radikalskih vrsta akumuliranih u okviru oksidativnog stresa.

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju ukazuju na to da buduća istraživanja tolerantnosti genotipova prema zaslanjenosti u *in vitro* uslovima treba izvoditi na podlogama sa koncentracijama NaCl od 100 mM za većinu ispitivanih svojstava, a na podlozi sa 33 mM NaCl za odnos sadržja kalijuma i natrijuma zbog jasne diferencijacije genotipova. Genotip koji bi se mogao okarakterisati kao povoljan kandidat za gajenje na zaslanjenim zemljištima pored dobrog rasta, dobro razvijenog korenovog sistema, visokog procenta preživljavanja i ožiljavanja, dobre akumulacije biomase, visokog sadržaja fotosintetičkih pigmenata, flavonoida, kalijuma, magnezijuma i odnosa kalijuma i natrijuma treba da ima i dobru antioksidativnu sposobnost kao relativno nizak sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja. Na osnovu navedenih osobina genotip koji bi se mogao okarakterisati kao najtolerantniji prema zaslanjenosti izazavanoj NaCl u kontrolisanim uslovima je genotip L-80.

### 6.3 Tolerantnost israživanih genotipova prema suši

Rezultati analize varijanse su nakon istraživanja tolerantnosti genotipova prema suši izazvanoj polietilen glikolom pokazali da je sa povećanjem koncentracije PEG-a 6000 u podlozi došlo je do smanjenja visine izbojka kod svih istraživanih genotipova bele topole što je u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima (Lei i sar., 2006; Yin i sar., 2005; Yang i Miao, 2010). Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji takođe ukazuju na smanjenje vrednosti i ostalih istraživanih morfoloških parametara sa povećanjem koncentracije PEG-a. Tako je i u ovom israživanju najmanja visina izbojka i broj novih korenova prvog reda zabeležena kod genotipova koji su rasli na podlozi sa 50 g/L PEG 6000. Dobijeni rezultati takođe ukazuju na različit odgovor istraživanih genotipova prema suši izazvanoj PEG-om. Genotip Villafranca ostvario je najveću visinu izbojka, najveći broj korenova prvog reda i 100% ožiljavanje na podlozi sa 50 g/L PEG-a, te se ovaj genotip može na osnovu ovih parametara predložiti kao dobar kandidat za gajenje na sušnim staništima zbog dobrog ukorenjavanja što bi mogla biti dobra osobina pri oceni tolerantnosti genotipova prema suši. Najjači inhibitorni efekat na istraživane morfološke parametre postignut je kod genotipova LCM i LBM. Značajno veće vrednosti dužine korena na podlozi sa 50 g/L PEG-a ostvario je genotip L-12 te se na osnovu dosadašnjih istraživanja (El Siddig i sar., 2013) može pretpostaviti da rano i brzo izduživanje korena može biti važan pokazatelj tolerantnosti na sušu. Veliki broj istraživača je prijavio slične rezultate za uticaj polietilen glikola (PEG 6000). Tako su Hussein i saradnici (2016) u svom ispitivanju različitih koncentracija PEG-a u podlozi (0,0, 0,5, 1,0, 1,5 i 2%) na kutivare jagode u kontrolisanim uslovima došli do saznanja da je koncentracija PEG-a od 2,0% dovela do smanjenja visine izbojka i dužine korena, ukupnog sadržaja hlorofila, ali i na statistički značajno povećanje sadržaja prolina. Takođe, rezultati istraživanja u ovom radu su u saglasnosti i sa rezultatima Dami i Hughes (1995) koji su istraživanjem uticaja suše izazvane PEG-om (2, 4, i 6 %) u podlozi za ožiljavanje došli do rezultata da je koncentracija od 2% PEG-a značajno uticala na smanjenje visine izbojka i broja novih korenova kod grožđa nakon 4 nedelje gajenja u kontrolisanim uslovima. Ispitivanjem u *in vitro* uslovima bavili su se i Abdulmalik i saradnici (2018) koji su ispitivajući tolerantnost sorti kikirikija na sušu indukovanu različitim koncentracijama (0, 20, 40 i 60 g/L) PEG-a 6000 u došli do zaključka da sa povećanjem koncentracije polietilen glikola u modifikovanoj MS podlozi dolazi do smanjenja vrednosti istraživanih morfometrijskih parametara (visina

izbojka, dužina korena, broj izbojaka i korenova po biljci). Ispitivajući uticaj suše u podlogama sa 20, 40 i 60 g/L PEG-a nakon mesec dana gajenja u *in vitro* uslovima, Manoj i Uday (2007) dolaze do saznanja da se dužina korena, visina izbojka kao i mase izbojka i korena smanjuju sa povećanjem koncentracije PEG-a u podlozi, pri čemu je suša ispoljila jači uticaj na dužinu korena u odnosu na visinu izbojka.

Aazami i saradnici (2010) istraživajući uticaj suše na četiri sorte paradajaza u *in vitro* uslovima, zaključuju da je polietilen glikol dodat MS podlozi dovodi do smanjenja stope rasta i povećanja suve materije u svim istraživanim tretmanima (0, 200, 270 i 295 g/L PEG-a 6000). Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji pokazuju da se nakon gajenja u kontrolisanim uslovima uočava trend blagog povećanja, kod većine istraživanih genotipova, vrednosti odnosa suve mase korena i izbojka što može da ukazuje na manji efekat stresa izazvanog sušom na koren. Prema parametrima biomase istraživani genotipovi mogu se na osnovu prosečnih vrednosti za biomasu izbojaka mogu svrstati u dve grupe. Prvu grupu čine genotipovi L-80 i L-12 sa visokim vrednostima za suhu i svežu masu izbojaka, a drugu grupu genotipovi LBM, LCM i Villafranca koji su prema totalu akumulirali manje biomase izbojaka. Značajno manju vrednost za biomasu izbojaka na podlozi sa 50 g/L PEG-a ostvario je genotip LCM, dok ostali istraživani genotipovi nisu pokazali značajnu razliku u odnosu na kontrolnu podlogu u pogledu biomase izbojaka.

Dobro je poznato da u uslovima suše dolazi do redukcije fotosintetičkih pigmenata, a samim tim i do smanjenja intenziteta fotosinteze (Jaleel i sar., 2009). Smanjen intenzitet fotosinteze dalje dovodi do smanjenja prinosa, smanjuje se biomasa i promena u biohemiskim procesima. Dobijeni rezultati ove teze pokazuju sa jedne strane jaku negativnu korelaciju između hlorofila i sadržaja fenola, FRAP, ABTS, DPPH, GB i prolina, a sa druge strane pozitivnu korelaciju sa sadržajem flavonoida. Iz prikazanih rezultata se vidi se sadržaj fotosintetičkih pigmenata smanjivao sa povećanjem koncentracije polietilen glikola u podlozi za ožiljavanje kod svih istraživanih genotipova bele topole što je u skladu sa rezultatima brojnih istraživanja, međutim nije bilo razlike između istraživanih genotipova unutar tretmana. Svi istraživani genotipovi značajno su smanjili sadržaj hlorofila a, hlorofila b i karotenoida na podlozi sa 50 g/L PEG-a. Podloga sa 50 g/L PEG-a izdvojila je genotipove L-12 i L-80 koji ostvarili manji

procenat smanjenja hlorofila a, hlorofila b i karotenoida u odnosu na kontrolnu podlogu. S' obzirom da je genotip L-12 imao najduži koren na podlozi sa 50 g/L PEG-a i da je genotip L-80 ostvario 100% ožiljavanje na istoj podlozi, zatim da su oba genotipa postigla dobre rezultate u pogledu sadržaja fotosintetičkih pigmenata, kao i na osnovu jake pozitivne korelacije između ovih parametara može se pretpostaviti da bi ovi genotipovi mogli biti dobri kandidati naa za gajenje na sušnim staništima, a da bi navedeni parametri mogli da budu korišćeni u procenama tolerantnosti genotipova bele topole prema sušu u daljim istraživanjima. Smanjen sadržaj fotosintetičkih pigmenata kod topole (*Populus przewalskii* Maxim.) kao posledicu povećane aktivnosti enzima za razgradnju hlorofila u uslovima suše utvrdili su Lei i saradnici (2006). Guo i saradnici (2010) su ispitivanjem uticaja suše na tolerantnost tri klona hibridne topole *Populus deltoides* × *Populus nigra* utvrdili smanjenje koncentracije hlorofila i inteziteta fotosinteze.

Pod uticajem suše dolazi do promena u metabolizmu biljaka (Jaleel i sar., 2009). Povećanje sinteze fenolnih jedinjenja u uslovima suše (Sánchez-Rodríguez i sar., 2011) potvrđeno je i u ovoj disertaciji, gde je koncentracija PEG-a od 50 g/L povećala sintezu fenolnih jedinjenja za 56,38% u odnosu na kontrolni tretman. Na ovom tretmanu, u odnosu na kontrolu, izdvaja se genotip L-80 sa najmanjim sadržajem ukupnih fenolnih jedinjenja dok su genotipovi LCM i LBM ostvarili veće vrednosti ovog parametra. Izmereni sadržaj fenolnih jedinjenja u ogledu istraživanja tolerantnosti prema suši bio je u negativnoj korelaciji samo sa sadržajem ukupnih flavonoida, dok je sa ostalim biohemijskim parametrima pokazao jaku pozitivnu korelaciju. Koncentracija PEG-a od 50 g/L u podlozi smanjila je sadržaj flavonoida u odnosu na kontrolu za 63%. Prema sadržaju flavonoida mogu se izdvojiti genotipovi Villafranca, L-80 i L-12 koji su ostvarili veći sadržaj flavonoida na podlozi sa 50 g/L PEG nego genotipovi LCM i LBM.

Puente-Garza i saradnici (2017) ispitivajući uticaj suše u *in vitro* uslovima izazvan dodavanjem 0, 10, 20 i 30% PEG-a došli je do saznanja da se pri izazvanoj suši povećala antioksidativna aktivnost u odgovoru na stres suse indukovan preko PEG-a. Povećanje antioksidativne aktivnosti zabeleženo je i u ovom istraživanju. Dobijeni



rezultati pokazuju da su istraživani genotipovi značajno povećali sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> i DPPH<sup>+</sup> radikala kada su bili gajeni na podlozi sa 50 g/L PEG-a.

Genotipovi LBM, LCM i L-12 se izdvajaju po najvećim vrednostima za FRAP test na podlozi sa 50 g/L PEG-a, dok drugu grupu čine genotipovi L-80 i Villafranca sa nižim vrednostima.

Razlike među genotipovima bile su iste kod ispitivanih parametara sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> i DPPH radikala. Ova dva parametra su izdvojila genotipove L-80 i L-12 koji su na podlozi sa 50 g/L PEG-a manje povećali sposobnost neutralizacije u odnosu na kontrolnu podlogu.

Povećan sadržaja prolina u listovima *Prunus dulcis* (Mill.) u uslovima suše indukovane sa 3 i 7,5% polietilen glikola u MS podlozi u odnosu na kontrolu bez dodavanja polietilen glikola dobili su i Karimi i saradnici (2012). Martin i saradnici (2018) takođe na osnovu dobijenih rezultata u *in vitro* uslovima zaključuju da se sadržaj prolina u listovima *Tacca leontopetaloides* (L.) povećava sa rastom koncentracije polietilen glikola u MS podlozi za ožiljavanje. Povećan sadržaj prolina dobijen je i u ovom istraživanju pri izlaganju genotipova bele topole različitim koncentracijama PEG-a. Najveće povećanje sadržaja prolina izmereno je u ekstraktima gajenih genotipova bele topole na podlogama u kojima je PEG 6000 dodat u koncentraciji od 50 g/L. Različiti genotipovi su različito reagovali na prisustvo PEG-a u podlozi u pogledu sadržaja prolina. Tako je genotip L-80 akumulirao najviše prolina na tretmanu od 50 g/L u odnosu na kontrolni tretman. Na osnovu dosadašnjih istraživanja (Kishore i sar., 2005; Bray i sar., 2000; Cushman i sar., 2000) se može pretpostaviti da stres sušom značajno pospešuje akumulaciju prolina u funkciji poboljšanja tolerancije biljaka na sušu, zbog čega je prolin postao univerzalni biohemijski marker za sušu. Zbog svojih antioksidativnih svojstava povećan sadržaj prolina je povezan sa boljom tolerancijom biljaka na abiotički stres u prvom redu zaslanjenost i sušu (Szabados i Savouré, 2010; Kebert i sar., 2017). Na osnovu dosadašnjih istraživanja o ulozi prolina kao biohemijskog indikatora za sušu i rezultata dobijenih u ovoj disertaciji može se pretpostaviti da bi genotip L-80, koji je imao najveći procenat povećanja sadržaja prolina mogao biti tolerantniji na sušu u odnosu na ostale istraživane genotipove bele topole u *in vitro* uslovima.

Povećan sadržaj GB u uslovima suše izazvane PEG 6000 u odnosu na kontrolu su u saglasnosti sa rezultatima Ahmad i saradnici (2013). Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izdvojiti genotipovi L-80 i Villafranca koji su zabeležili najveće povećanje sadržaja glicin betaina na podlozi sa 50 g/L PEG-a 6000 u odnosu na kontrolnu podlogu dok je genotip LCM zabeležio najmanje povećanje sadržaja glicin betaina u odnosu na kontrolnu podlogu.

Najjasnije razlike između istraživanih genotipova dobijene su na podlozi sa 50 g/L PEG-a, pa se na osnovu ovih rezultata ova koncentracija PEG-a može preporučiti kao najbolja za diferencijaciju genotipova tolerantnih prema suši u daljim istraživanjima u *in vitro* uslovima. Genotip L-80 je postigao dobar rast, visoki procenat preživljavanja i ožiljavanja, akumulirao najviše sveže i suve mase izbojaka i korena, imao relativno nizak sadržaj ukupnih fenololnih jedinjenja a visoki sadržaj flavonoida, visok sadržaj prolina i glicin betaina, pa se na osnovu ovih osobina može preporučiti kao povoljan kandidat za eksploataciju na sušom opterećenim staništima.

## 7 ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja tolerantnosti pet genotipova bele topole prema abiotičkim činiocima podloge (kiselost, zaslanjenost i suša) u uslovima *in vitro* mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Istraživanja uticaja niskog pH se moraju izvoditi na jače puferisanim podlogama nego što je to uobičajeno.
- Dobijeni rezultati ukazuju da je najveći inhibicioni efekat postignut na podlozi pH 3,0. Takođe je na ovoj podlozi ostvarena i najjasnija diferencijacija ispitivanih genotipova, što preporučuje ovu podlogu za dalja istraživanja tolerantnosti prema kiselosti podloge.
- Genotip koji bi mogao da se smatra povoljnim kandidatom za uzgoj na kiselim zemljištima trebalo bi da na podlozi pH 3,0 ostvari visok procenat ožiljavanja, dobar rast izbojka i korena, visoku akumulaciju biomase izbojka i korena i visok sadržaj fotosintetičkih pigmenata, kao i relativno visok sadržaj flavonoida i nizak sadržaj fenola, relativno umeren FRAP i DPPH i visok kapacitet za uklanjanje ABTS<sup>+</sup> radikala.
- Genotip L-80 se može predložiti kao najtolerantniji prema niskom pH.
- Koncentracija NaCl od 100 mM dovela je do inhibicije rasta izbojka i korena, kao i sveže mase. Takođe, došlo je do smanjenja sadržaja fotosintetičkih pimenata, smanjenje sadržaja ukupnih fenola i ukupnih flavonoida, povećanja sposobnosti neutralizacije ABTS<sup>+</sup> i DPPH<sup>+</sup> radikala, povećanja sadržaja natrijuma, smanjenja sadržaja kalijuma, magnezijuma i odnosa kalijuma i natrijuma u izbojcima istraživanih genotipova bele topole. Na ovoj podlozi ostvarena je i najjasnija diferencijacija ispitivanih genotipova, što je preporučuje za dalja istraživanja tolerantnosti prema zaslanjenosti.
- Koncentracija od 150 mM delovala je letalno na istraživane genotipove, dok podloge sa koncentracijom NaCl nižom od 100 mM nisu ispoljile statistički značajan uticaj kod većine istraživanih parametara.
- Genotip L-80 je sa genotipom Villafranca ostvario najveće vrednosti za visinu izbojka i broj korena, a istakao se i kao genotip koji je imao najduži koren, visok procent preživljavanja i skoro 100% ožiljavanje na podlozi sa 100 mM NaCl. S'

obzirom na visoku akumulaciju biomase izbojka i korena, slabu reakciju parametrima sadržaja fotosintetičkih pigmenata, nizak sadržaj fenola, visok sadržaj flavonoida i visoku sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> radikala, može se zaključiti da je ovaj genotip najtolerantniji prema zaslanjenosti.

- Na podlozi sa 50 g/L PEG zabeležen je najjači inhibitorski efekat suše na morfološka svojstva, svojstva biomase i svojstva sadržaja fotosintetičkih pigmenata. U odnosu na kontrolnu podlogu, zabeleženo je i povećanje svih ispitivanih biohemijskih parametara izuzev ukupnog sadržaja flavonoida.
- Najbolja diferencijacija genotipova prema suši, dobijena je na podlozi u kojoj je polietilen glikol dodat u koncentraciji od 50 g/L, što preporučuje ovu podlogu za dalja istraživanja tolerantnosti prema suši.
- Poželjne osobine koje bi na podlozi sa 50 g/L PEG trebao da pokaže genotip bele topole za uzgoj u sušnim uslovima su: visoke vrednosti morfoloških, parametara biomase i fotosintetičkih parametara, nizak sadržaj ukupnih flavonoida i umeren porast ostalih biohemijskih parametara.
- Genotip L-80 se prema ispitivanim parametrima pokazao kao najtolerantniji prema suši.
- Odgovori istraživanih genotipova praćeni biohemijskim parametrima su bili slični ili isti u slučaju svakog abiotičkog faktora: povećan sadržaj ukupnih fenola, smanjen sadržaj ukupnih flavonoida, povećana sposobnost redukcije gvožđa, povećana sposobnost neutralizacije ABTS<sup>+</sup> i DPPH<sup>+</sup> radikala.
- Genotip L-80 je pokazao bolje rezultate prema većini istraživanih parametara, posebno u odnosu na referentni genotip Villafranca.
- Rezultati *in vitro* testova u ovoj disertaciji upućuju na to da ispitivani parametri mogu biti indikativni za izbor genotipova bele topole tolerantnih na abiotičke činioce. Stoga bi buduća istraživanja trebala usmeriti na ispitivanje veće grupe genotipova i vrsta, a procenu njihove tolerancije na abiotičke činioce izvršiti primenom slične ili iste metodologije.

## 8 LITERATURA

Aazami, M. A., Torabi, M., Jalili, E. (2010). *In vitro* response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress. African Journal of Biotechnology, 9(26), 4014-4017.

Abdulmalik, M. M., Usman, I. S., Usman, A., Mohammed, M. S., Sani, A. L. (2018). *In vitro* screening of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) varieties for drought tolerance using polyethylene glycol (PEG 6000). Fudma Journal of Sciences, 2(2), 251-255.

Ahmad, R., Lim, C. J., Kwon, S. Y. (2013). Glycine betaine: a versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses. Plant Biotechnology Reports, 7(1), 49-57.

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

Andersone, U., Ievinsh, G. (2008). Medium pH affects regeneration capacity and oxidative enzyme activity of *Pinus sylvestris* in tissue culture. Acta Universitatis Latviensis, 745, 25-35.

Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. Trends in Food Science Technology, 11(11), 419-421.

Ashraf, M. F. M. R., Foolad, M. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59(2), 206-216.

Ashrafi, N., Rezaei Nejad, A. (2017). *Lisianthus* response to salinity stress. Photosynthetica, 56(2), 487-494.

Azizi, M., Tookaloo, M. R. (2013). Variation of K<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup> concentrations in root and shoot of oilseed rape as affected by salinity. Scientific Papers-Series A, Agronomy, 56, 15-17.

Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1), 205-207.

Behagel, H. A. (1971). In: Van, Bragt J., Mossel, D. A. A., Pierik, R. L. M., Veldstra, H. (eds) Effects of sterilization on components in nutrient media. Miscellaneous papers 9 Landbouwhogeschool Wageningen The Netherlands. 117-120.

Benzie, I. F., Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.

Bhatia, P., Ashwath, N. (2005). Effect of medium pH on shoot regeneration from the cotyledonary explants of tomato. *Biotechnology*, 4(1), 7-10.

Biswas, M. S., Islam, M. R., Zakaria, M. (2017). Evaluation of indigenous potato challisha (*Solanum tuberosum* L. cv. Challisha) somaclonals tolerance to salinity *in vitro*. *Journal of Tropical Life Science*, 7(1), 77-82.

Bonga, J. M. (1982). Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. In: Bonga, J. M., Durzan D. J. (eds) *Tissue culture in forestry*. Martinus Nijhoff, The Hague, pp. 387-412.

Boughalleb, F., Abdellaoui, R., Nbiba, N., Mahmoudi, M., Neffati, M. (2017). Effect of NaCl stress on physiological, antioxidant enzymes and anatomical responses of *Astragalus gombiformis*. *Biologia*, 72(12), 1454-1466.

Bray, E. A., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E. (2000). Responses to abiotic stress. *Biochemistry molecular biology of plants*. In: Gruissem, W., Jones, R., Eds., American Society of Plant Physiologists, Rockville, 1158-1203 (2000) Responses to abiotic stresses. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (Gruissem, W. et al., eds), American Society of Plant Physiologists, pp. 1158-1249.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.

Chatzissavvidis, C., Veneti, G., Papadakis, I., Therios, I. (2008). Effect of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on the antioxidant mechanism of leaves and stems of the rootstock CAB-6P (*Prunus cerasus* L.) under *in vitro* conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95(1), 37.

Chen, S., Hawighorst, P., Sun, J., Polle, A. (2014). Salt tolerance in *Populus*: significance of stress signaling networks, mycorrhization, and soil amendments for cellular and whole-plant nutrition. *Environmental and Experimental Botany*, 107, 113-124.

Chen, T. H., Murata, N. (2011). Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, Cell and Environment*, 34(1), 1-20.

Chookhampaeng, S. (2011). The effect of salt stress on growth, chlorophyll content proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling. *European Journal of Scientific Research*, 49(1), 103-109.

Confalonieri, M., Belenghi, B., Balestrazzi, A., Negri, S., Facciotto, G., Schenone, G., Delledonne, M. (2000). Transformation of elite white poplar (*Populus alba* L.) cv. 'Villafranca' and evaluation of herbicide resistance. *Plant Cell Reports*, 19(10), 978-982.

Cui, X. H., Murthy, H. N., Wu, C. H., Paek, K. Y. (2010). Sucrose-induced osmotic stress affects biomass, metabolite, and antioxidant levels in root suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 103, 7-14.

Cushman, J. C., Bohnert, H. J. (2000). Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(2), 117-124.

Dami, I., Hughes, H. (1995). Leaf anatomy and water loss of *in vitro* PEG-treated 'Valiant' grape. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 42(2), 179-184.

Davies, K. (2004). *Plant pigments and their manipulation*. Blackwell Publishing. pp. 23-41.

De Klerk, G. J., Hanecakova, J., Jásik, J. (2008). Effect of medium-pH and MES on adventitious root formation from stem disks of apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95(3), 285-292.

Đorđević, A., Radmanović, S. (2016). *Pedologija*. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd. pp. 145-153.

El Siddig, M. A., Baenziger, S., Dweikat, I., El Hussein, A. A. (2013). Preliminary screening for water stress tolerance and genetic diversity in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars from Sudan. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11, 87-94.

Erturk, U., Sivritepe, N., Yerlikaya, C., Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, I. (2007). Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 51(3), 597-600.

Evers, D., Schmit, C., Mailliet, Y., Hausman, J. F. (1997). Growth characteristics and biochemical changes of poplar shoots *in vitro* under sodium chloride stress. *Journal of Plant Physiology*, 151(6), 748-753.

Feng, H. D., Zhou, M., Zhang, Z., Li, K., Si, H. K., Zhang, Z. Z. (2017). Effects of NaCl stress on plant growth and antioxidative defense of kumquat seedlings *in vitro*. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 4(5), 38-43.

Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 307-319.

Fung, L. E., Wang, S. S., Altman, A., Hüttermann, A. (1998). Effect of NaCl on growth, photosynthesis, ion and water relations of four poplar genotypes. *Forest Ecology and Management*, 107(1-3), 135-146.

Grieve, C. M., Grattan, S. R. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil*, 70(2), 303-307.

Gu, R., Fonseca, S., Puskás, L. G., Hackler, J. L., Zvara, Á., Dudits, D., Pais, M. S. (2004). Transcript identification and profiling during salt stress and recovery of *Populus euphratica*. *Tree Physiology*, 24(3), 265-276.

Guo, X. Y., Zhang, X. S., Huang, Z. Y. (2010). Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. *Journal of Plant Ecology*, 3(2), 79-87.

Guzina, V. (1986). *Topole i vrbe u Jugoslaviji*. Institut za topolarstvo, Novi Sad, pp. 1-115.

Guzina, V., Tomović, Z. (1989). Mogućnost primene metoda kulture tkiva u oplemenjivanju topola. *Topola*, 155/156, 47-56.

Hasegawa, M., Bressan, R., Pardo, J. M. (2000). The dawn of plant salt tolerance genetics. *Trends in Plant Science*, 5(8), 317-319.

Hernández, J. A. (2019). Salinity tolerance in plants: trends and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2408-2410.

Herpka, I. (1979). Ekološke i biološke osobine autohtonih topola i vrba u ritskim šumama Podunavlja. *Radovi 7*, Institut za topolarstvo, Novi Sad, pp. 1-229.

Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.



Hussein, A. E., El-Kerdany, Y. A., Afifi, K. M. (2016). Effect of drought and salinity stresses on two strawberry cultivars during their regeneration *in vitro*. *International Journal of Innovative Science Engineering and Technology*, 4(8), 83-93.

IPCC (2007). The physical science basis. In: Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., et al. (eds) *Climate change (2007): contribution of Working Group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.

Iqbal, M. T. (2012) Acid tolerance mechanisms in soil grown plants. *Malaysian Journal of Soil Science*. 16(1), 1-21.

Ivanišević, P., Galić, Z., Pekeč, S., Rončević, S., Andrašev, S. (2011). Establishment of forests dedicated to protection and preservation from salinization of agricultural areas in Vojvodina. *Topola*, 187/188, 183-193.

Ivanišević, P., Galić, Z., Pekeč, S., Rončević, S., Andrašev, S., Kovačević, B. (2013). Značaj podizanja bafer šuma u funkciji zaštite od degradacionog procesa alkalizacije primarnih poljoprivrednih zemljišta u Vojvodini. *Topola*, 191/192, 51-62.

Izadi, M. H., Rabbani, J., Emam, Y., Pessarakli, M., Tahmasebi, A. (2014). Effects of salinity stress on physiological performance of various wheat and barley cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 37(4), 520-531.

Jaleel, C. A., Manivannan, P. A. R. A. M. A. S. I. V. A. M., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R. A. M. A. M. U. R. T. H. Y., Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(1), 100-105.

Jenks, M. A., Hasegawa, P. M. (2005). *Plant abiotic stress*. UK: Blackwell.

Jia, W., Zhang, J. (1999). Stomatal closure is induced rather by prevailing xylem abscisic acid than by accumulated amount of xylem-derived abscisic acid. *Physiologia Plantarum*, 106(3), 268-275.

Jones, W. R. G., Pollard, A. (1983). Inorganic plant nutrition, *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, 15, 528-563.

Kadović, R. (1983). Istraživanja tolerantnosti nekih šumskih vrsta prema solima u halomorfnim zemljištima, *Doktorska disertacija*, Šumarski fakultet, Beograd, pp. 201.

Karimi, S., Yadollahi, A., Nazari-Moghadam, R., Imani, A., Arzani, K. (2012). *In vitro* screening of almond (*Prunus dulcis* (Mill.)) genotypes for drought tolerance. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 6(18), 263-270.

Kastori, R., Milošević, N. (2011). Ekološki i fiziološki aspekti kisele sredine - zemljište, biljke i mikroorganizmi. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad i Vojvođanska akademija nauka i umetnosti, Novi Sad., pp. 84-104.

Kebert, M. (2014). Biohemijska i fiziološka karakterizacija klonova topole (*Populus spp.*) u procesu fitoekstrakcije bakra, nikla i kadmijuma. Doktorska disertacija, Prirodno matematički fakultet, Novi Sad, pp. 61-89.

Kebert, M., Rapparini, F., Neri, L., Bertazza, G., Orlović, S., Biondi, S. (2017). Copper-induced responses in poplar clones are associated with genotype-and organ-specific changes in peroxidase activity and proline, polyamine, ABA, and IAA levels. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 131-147.

Khalid, H., Kumari, M., Grover, A., Nasim, M. (2015). Salinity stress tolerance of *Camelina* investigated *in vitro*. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 46(4), 137-144.

Khatab, S., El-Garhy, H. A. (2016). Genetic diversity and *in vitro* assessment of salt tolerance responses and associated changes in gene expression of male poplar (*Populus*) trees. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 91(6), 551-561.

Kim, D. O., Jeong, S. W., Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.

Kishore, K. P .B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K .R., Rao, K. R. S. S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*. 88, 424-438.

Kovačević, B., Miladinović, D., Katanić, M., Tomović, Z., Pekeč, S. (2013a). The effect of low initial medium pH on *in vitro* white poplar growth. *Bulletin of the Faculty of Forestry*, 108, 67-80.

Kovačević, B., Miladinović, D., Orlović, S., Katanić, M., Kebert, M., Kovinčić, J. (2013b). Lead tolerance and accumulation in white poplar cultivated *in vitro*. *SEEFOR*, 4(1), 3-12.

Kovačević, B., Orlović, S., Rončević, S., Miladinović, D. (2010a). The effect of silver ion, 1-naphthalene acetic acid and 6-benzylaminopurine on micropropagation of „Fastgate“ tree shape variety *Populus alba* cl. LBM, *Acta Horticulturae*, 885, 197-202.

Kovačević B., Tomović Z., Štajner D., Katanić M., Drekić M., Stojnić S. (2010b): Restoracija autohtonih vrsta topola (*Populus sp.*) u aluvijalnim područjima-formiranje genofonda, *Topola*, 185/186, 61-68.

Kurban, H., Saneoka, H., Nehira, K., Adilla, R., Premachandra, G. S., Fujita, K. (1999). Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). *Soil science and plant nutrition*, 45(4), 851-862.

Kurkdjian, A., Mathieu, Y., Guern, J. (1982). Evidence for an action of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on the vacuolar pH of *Acer pseudoplatanus* cells in suspension culture. *Plant Science Letters*, 27(1), 77-86.

Lambers, H., Chapin, F. S., Pons, T. L. (2008). Photosynthesis. In *Plant physiological ecology*, pp. 11-99. Springer, New York.

Lei, Y., Yin, C., Li, C. (2006). Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. *Physiologia Plantarum*, 127(2), 182-191.

Leifert, C., Murphy, K. P., Lumsden, P. J. (1995). Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue cultures. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14(2), 83-109.

Lichtenthaler, K. and Welburn, A. R. (1983). Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls A and B of Leaf Extracts in Different Solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592.

Ličina, V, Nešić, L., Belić, M., Hadžić, V., Sekulić, P., Vasin, J., Ninkov, J. (2011). The soils of Serbia and their degradation. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 48(2), 285-90.

Long, A., Zhang, J., Yang, L. T., Ye, X., Lai, N. W., Tan, L. L., Lin, D., Chen, L. S. (2017). Effects of Low pH on photosynthesis, related physiological parameters, and nutrient profiles of Citrus. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-22.

Ljubojević, M., Ognjanov, V., Maksimović, I., Čukanović, J., Dulić, J., Szabò, Z., Szabò, E. (2017). Effects of hydrogel on growth and visual damage of ornamental *Salvia* species exposed to salinity. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 45(2), 1600128.

Manoj, K., Uday, D. (2007). *In vitro* screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. African Journal of Biotechnology, 6(6), 691-696.

Mansour, M. M. F. (2000). Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. Biologia Plantarum, 43(4), 491-500.

Marschner, H., Rengel, Z. (2007). Contributions of rhizosphere interaction to soil biological fertility. In: Soil biological fertility-a key to sustainable land use in agriculture (Eds. Abbot, L.K., Murphy, D.V.), SpringerVerlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 81-98.

Martin, S. M. (1980). In: Staba El (ed) Plant tissue culture as a source of biochemicals. CRC Press, Boca Raton, pp.143-148.

Martin, A. F., Hapsari, B. W., Ermayanti, T. M. (2018). Growth and proline accumulation in response to osmotic stress induced by polyethylene glycol treatment in *Tacca leontopetaloides* cultured *in vitro*. International Journal of Agricultural Technology. 14(5), 705-716.

Martinez, C. A., Maestri, M., Lani, E. G. (1996). *In vitro* salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum spp.*) differing in frost resistance. Plant science, 116(2), 177-184.

Martins, N., Gonçalves, S., Palma, T., Romano, A. (2011). The influence of low pH on *in vitro* growth and biochemical parameters of *Plantago almogravensis* and *P. algarbiensis*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 107(1), 113-121.

Matysik, J., Alia, Bhalu, B., Mohanty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science, 525-532.

Miller, N. J., Rice-Evans, C. A. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS<sup>•+</sup> radical cation assay. Free Radical Research, 26(3), 195-199.

Misra, A. N., Murmu, B., Singh, P., Misra, M. (1996). Growth and proline accumulation in mungbean seedlings as affected by sodium chloride. Biologia plantarum, 38(4), 531-534.

Mohanty, A., Kathuria, H., Ferjani, A., Sakamoto, A., Mohanty, P., Murata, N., Tyagi, A. (2002). Transgenics of an elite indica rice variety Pusa Basmati 1 harbouring

the *codA* gene are highly tolerant to salt stress. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(1), 51-57.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 239-250.

Munns, R., Termaat, A. (1986). Whole-plant responses to salinity. *Functional Plant Biology*, 13(1), 143-160.

Murillo-Amador, B., López-Aguilar, R., Kaya, C., Larrinaga-Mayoral, J., Flores-Hernández, A. (2002). Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(4), 235-247.

Murphy, D.J. (Eds.), *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, Second Edition. Academic Press, Oxford, pp. 40-43.

Nakagawa, K., Surassmo, S., Min, S. G., Choi, M. J. (2011). Dispersibility of freeze-dried poly (epsilon-caprolactone) nanocapsules stabilized by gelatin and the effect of freezing. *Journal of Food Engineering*, 102(2), 177-188.

Nešić, Lj., Hadžić, V., Sekulić, P., Belić, M. (2003). Kvalitet vode za navodnjavanje i salinitet zemljišta u intenzivnoj povrtarskoj proizvodnji. *Letopis naučnih radova*, 1, 5-10.

Oldeman, L. R. (1985). Guidelines for general assessment of the of humaninducedsoil degradation. International soil Reference and Information centre, Wageningen, pp. 25,.

Osman, K. T. (2018). *Management of Soil Problems: An Introduction*. In *Management of Soil Problems*. Springer, Cham. pp. 1-14.

Ostrolucká, M., Gajdošová, A., Ondrušková, E., Latečková, M., Libiaková, G. (2010). Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. cultivars. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52(2), 92-96.

Owen, H. R., Wengerd, D., Miller, A. R. (1991). Culture medium pH is influenced by basal medium, carbohydrate source, gelling agent, activated charcoal, and medium storage method. *Plant Cell Reports*, 10(11), 583-586.

Poljakoff-Mayber, A. L, Lerner, H. R. (1999). Plants in saline environments. *Handbook of Plant and Crop Stress*, 2, 125-154.

Popović, B. M., Štajner, D., Slavko, K., Sandra, B. (2012). Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food Chemistry*, 134(2), 734-741.

Popović, M. T. (2005). Biohemija biljaka. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, pp.435-460.

Puente-Garza, C. A., Meza-Miranda, C., Ochoa-Martínez, D., García-Lara, S. (2017). Effect of *in vitro* drought stress on phenolic acids, flavonols, saponins, and antioxidant activity in *Agave salmiana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 400-407.

Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., Sabzalian, M. R. (2008). Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10, 451-454.

Rédei, K., Keserű, Z., Antal, B. (2013). Tending operation models for Leuce poplar stands growing on sandy soils in Hungary. *Topola*, 191/192, 1-8.

Reynolds, M., Tuberosa, R. (2008). Translational research impacting on crop productivity in drought-prone environments. *Plant Biology*, 11, 171-179.

Rhodes, D., Hanson, A. D. (1993). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*, 44(1), 357-384.

Rodríguez-Navarro, A. (2000). Potassium transport in fungi and plants. *Biochimica et Biophysica Acta, Reviews on Biomembranes*, 1469(1), 1-30.

Rončević, S., Kovačević, B., Andrašev, S., Pekeč, S. (2014). Preživljavanje drvenastih vrsta u ekološkim uslovima solonjeca. *Topola*, 193/194, 85-95.

Rubio, M. C., Gonzalez, E. M., Minchin, F. R., Webb, K. J., Arrese-Igor, C., Ramos, J., Becana, M. (2002). Effects of water stress on antioxidant enzymes of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutases. *Physiologia Plantarum*, 115,531-540.

Ružić, Dj., Cerović, R. (2001): Changes in the pH value of the medium after autoclaving and during culture of sweet cherry rootstocks *in vitro*. *Jugoslovenski Voćar*, 35, 27- 37.

Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., del Mar Rubio-Wilhelmi, M., Ruiz, J. M. (2011). Differential responses of five cherry tomato varieties to water

stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, 72(8), 723-729.

Sarma, K. S., Maesato, K., Hara, T., Sonoda, Y. (1990). Effect of method of agar addition on post-autoclave pH of the tissue culture media. *Annals of Botany*, 65(1), 37-40.

Schenk, N., Hsiao, K. C., Bornman, C. H. (1991). Avoidance of precipitation and carbohydrate breakdown in autoclaved plant tissue culture media. *Plant Cell Reports*, 10(3), 115-119.

Schmöckel, S. M., Jarvis, D. E., (2017). Salt stress. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 2(1), 40-43.

Serrano, R., Mulet, J. M., Rios, G., Marquez, J. A., de Larrinoa, I. F., Leube, M. P., Mendizabal, I., Pascual-Ahuir, A., Proft, M., Ros, R., Montesinos, C. (1999). A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress. *Journal of Experimental Botany*, 50, 1023-1036.

Siler, B., Misic, D., Filipovic, B., Popovic, Z., Cvetic, T., Mijovic, A. (2007). Effects of salinity on *in vitro* growth and photosynthesis of common centaury (*Centaureum erythraea* Rafn.). *Archives of Biological Sciences*, 59(2), 129-134.

Sixto, H., Grau, J. M., Alba, N., Alia, R. (2005). Response to sodium chloride in different species and clones of genus *Populus* L. *Forestry*, 78(1), 93-104.

Skirvin, R. M., Chu, M. C., Mann, M. L., Young, H., Sullivan, J., Fermanian., T. (1986). Stability of tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time and cultured plant material. *Plant Cell Reports*, 5, 292-294.

Sotiropoulos, T. E. (2007). Effect of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on growth and contents of minerals, chlorophyll, proline and sugars in the apple rootstock M4 cultured *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 51(1), 177-180.

Sotiropoulos, T. E., Fotopoulos, S., Dimassi, K. N., Tsirakoglou, V., Therios, I. N. (2006). Response of the pear rootstock to boron and salinity *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 50(4), 779-781.

Srivastava, N. (2019). Salt stress responses and tolerance in wheat. In wheat production in changing environments. Springer, Singapore. pp. 89-127.

Stevanato, R., Fabris, S., Momo, F. (2004). Enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6287-6293.

Sun, J., Chen, S., Dai, S., Wang, R., Li, N., Shen, X., Zhou, X., Lu, K., Zheng, X., Hu, Z., Zhang, Z., Song, J., Xu, Z. (2009). NaCl-induced alternations of cellular and tissue ion fluxes in roots of salt-resistant and salt-sensitive poplar species. *Plant Physiology*, 149(2), 1141-1153.

Szabados, L., Savoure, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97.

TIBCO Software Inc. (2017). Statistica (data analysis software system), version 13.

Tsai, C. J., Harding, S. A., Tschaplinski, T. J., Lindroth, R. L., Yuan, Y. (2006). Genome-wide analysis of the structural genes regulating defense phenylpropanoid metabolism in *Populus*. *New Phytologist*, 172(1), 47-62.

Van Winkle, S. C., Pullman, G. S. (2003). The combined impact of pH and activated carbon on the elemental composition of a liquid conifer embryogenic tissue initiation medium. *Plant Cell Reports*, 22(5), 303-311.

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, pp. 157-166.

Vuksanović, V., Kovačević, B., Orlović, S., Kebert, M., Katanić, M. (2016a). Uticaj pH vrednosti podloge za ožiljavanje na rast i razvoj izbojaka belih topola u kulturi *in vitro*. *Topola*, 197/198, 51-63.

Vuksanović, V., Kovačević, B., Katanić, M., Orlović, S., Miladinović, D. (2017a). *In vitro* evaluation of copper tolerance and accumulation in *Populus nigra*. *Archives of Biological Sciences*, 69(4), 679-687.



Vuksanović, V., Kovačević, B., Orlović, S., Miladinović, D., Kebert, M., Katanić, M. (2017b), Promene pH vrednosti podloge prilikom mikropropagacije bele topole. *Topola*, 199/200, 153-165.

Vuksanović, V., Kovačević, B., Orlović, S., Miladinović, D., Katanić, M., Kebert, M. (2016b): The effect of medium pH on white poplar shoots' growth in vitro. Books of proceedings of VII International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2016", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 06-09 2016, pp. 2868-2873.

Yang, F., Miao, L. F. (2010). Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. *Silva Fennica*, 44, 23-37.

Yang, M., Tan, L., Xu, Y., Zhao, Y., Cheng, F., Ye, S., Jiang, W. (2015). Effect of low pH and aluminum toxicity on the photosynthetic characteristics of different fast-growing *Eucalyptus* vegetatively propagated clones. *PLoS One*. 10(6), 1–15.

Yang, X., Liang, Z., Lu, C. (2005). Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology*, 138(4), 2299-2309.

Yin, C., Wang, X., Duan, B., Luo, J., Li, C. (2005). Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 315-322.

Zafar, Z., Rasheed, F., Shaheen, F., Hussain, Z., Anwaar, A. H., Rizwan, M., Mohsin, M., Qadeer, A. (2018). The influence of salt stress on growth and biomass production of *Populus deltoides*. *International Journal of Biosciences*, 13(2), 191-197.

Zhang, X., Liu, L., Chen, B., Qin, Z., Xiao, Y., Zhang, Y., Yao, R., Lui, H., Yang, H. (2019). Progress in understanding the physiological and molecular responses of *Populus* to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1312-1315.

Zhao, C. Y., Si, J. H., Feng, Q., Deo, R. C., Yu, T. F., Du Li, P. (2017). Physiological response to salinity stress and tolerance mechanics of *Populus euphratica*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(11), 533.

Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 53(1), 247-273.

Ždero, R. (2017). Biohemijski mehanizmi otpornosti klonova topole (*Populus* spp.) na vodni stres. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad. pp. 68-116.

<https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/populus/alba/>

<http://www.youthrainbow.com/science/agro-sciences/importance-micro-propagation>

## BIOGRAFIJA



Vanja Vuksanović rođena je 25.12.1988. godine u Jagodini, Republika Srbija. Srednju Poljoprivredno veterinarsku školu, smer tehničar hortikulture, završila je u Svilajncu. Poljoprivredni fakultet, Univerziteta u Novom Sadu, smer Hortikultura, upisala je školske 2007/2008 godine, a dana 12.09.2011. godine završila je Osnovne akademske studije prvog stepena i tako stekla zvanje diplomirani inženjer poljoprivrede. Školske 2011/2012 godine upisala je master akademske studije na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu. Master rad pod naslovom „Procena tolerantnosti i mogućnost akumulacije bakra kod genotipova crne topole u uslovima *in vitro*“ odbranila je maja 2013. godine i tako stekla zvanje master inženjer poljoprivrede – hortikultura. U toku osnovnih akademskih studija bila je stipendista Ministarstva prosvete nauke i tehnološkog razvoja (stipendija studentima visokoškolskih ustanova). Doktorske akademske studije na smeru Agronomija na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu upisala je školske 2014/2015 godine. Položila je sve ispite predviđene planom i programom na doktorskim studijama sa prosečnom ocenom 9,88.

Godine 2012. bila je angažovana na projektu Ministarstva poljoprivrede, trgovine, šumarstva i vodoprivrede u svojstvu asistenta poljoprivrednog savetodavca. Iste godine angažovana od strane Republičkog zavoda za statistiku, Republike Srbije, na poslovima popisa poljoprivrede. U aprilu 2015. godine dobitnica stipendije Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Repubike Srbije, za stipendiranje studenata doktorskih akademskih studija. Kao stipendista angažovana je na projektu „Istraživanje klimatskih promena i njihovog uticaja na životnu sredinu – praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“ (Evidencioni broj: III 43007). Dana 24.05.2018. godine izabrana je u zvanje istraživač pripravnik, a dana 20.05.2019. u zvanje istraživač saradnik za užu naučnu oblast Hortikultura i pejzažna arhitektura. Od 2018. godine zaposlena je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu kao istraživač saradnik na projektu „Istraživanje klimatskih promena i njihovog uticaja na životnu sredinu – praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“ (Evidencioni broj: III 43007).

Do sada je kao autor i koautor objavila 2 naučna rada kategorije M23, 4 rada kategorije M51, dva rada kategorije M33, 7 radova kategorije M34 i 2 rada kategorije M64. Učestvovala je na međunarodnom poljoprivrednom simpozijumu “Agrosym 2017”, “Agrosym 2018” i “Agrosym 2019”, Jahorina, Bosna i Hercegovina, na međunarodnom skupu “The 15th International Phytotechnology Conference” održanom 2018. godine u Novom Sadu i na “8th Edition of The International Symposium Forest and Sustainable Development”, održanom 2018. godine u Braşovu, Rumunija.

Celokupan dosadašnji naučni rad vezan je za ispitivanje tolerantnosti biljaka prema stresu u kontrolisanim uslovima. Učestvovala u razvijanju savremenih tehnologija u oblasti biotehnologije topola i divlje tršnje. Ima iskustva u primeni biohemijskih testova u istraživanjima u kulturi tkiva. Takođe učesnik je velikog broja takmičenja iz oblasti hortikulture, učesnica je stručno savetodavnih skupova Poljoprivrednog fakulteta, više puta je učestvovala na Međunarodnom festivalu nauke i obrazovanja Unevrziteta u Novom Sadu.

Govori, čita i piše engleski jezik.

Novi Sad, 2019. godine

mast. inž. Vanja Vuksanović

---