

## EFEKAT NAFTENSKIH KISELINA NA OŽILJAVANJE MIKROIZBOJKA BELE TOPOLE (*Populus alba* L.)<sup>\*</sup>

Kovačević Branislav<sup>1</sup>, Kevrešan Slavko<sup>2</sup>, Ćirin-Novta Vera<sup>3</sup>, Kuhajda Ksenija<sup>3</sup>,  
Kandrač Julijan<sup>2</sup>, Miladinović Dragana<sup>4</sup>

**Izvod:** Naftenske kiseline, nusproizvodi u procesu rafinacije nafte, su poznati zagađivači zemljišta i aktivna materija sredstava za zaštitu biljka i drveća. Rezultati višegodišnjih istraživanja ukazuju i na mogućnost njihove upotrebe kao sredstava za stimulaciju ožiljavanja reznica. Dva do tri cm visoki mikroizbojci genotipa *Populus alba* cl. LBM su jedan čas bili postavljeni na ACM podlozi sa 4, 16 ili 48  $\mu$ M koncentracijom indolbuterne kiseline, naftilsirćetne kiseline ili Na-soli naftenskih kiselina (kod kojih je ispitan i uticaj 10-to i 30-to minutnog tretmana pri koncentraciji 48  $\mu$ M). Zatim su mikroizbojci postavljeni na ACM podlogu bez hormona. Razlike među tretmanima su se najviše ispoljile u procentu ožiljavanja nakon dve nedelje kultivacije. Jednočasovni tretmani na podlozi sa 16  $\mu$ M i polučasovni na podlozi sa 48  $\mu$ M Na-naftenata su dali najbolje rezultate.

**Ključne reči:** Mikropropagacija, stimulatori ožiljavanja, naftenati

### THE EFFECT OF NAPHTHENIC ACIDS ON WHITE POPLAR (*Populus alba* L.) MICROCUTTINGS' ROOTING

**Abstract:** Naphthenic acids, by-product in oil refinement, are well known soil pollutants and active substances in preparations for plant and wood protection. The results of multiannual research indicated the possibility of their utilization for stimulation of cutting rooting. Two to three cm high shoots of *Populus alba* cl. LBM genotype were set for one hour on ACM medium with 4, 16 or 48  $\mu$ M concentration of indol-3-butyric acid, 1-naphthalene acetic acid or Na-salts of naphthenic acids (for which the effect of 10 and 30 minutes treatment on medium with 48  $\mu$ M was also examined). Then, treated microshoots were transferred on ACM medium without hormones. The differences among treatments were the most distinguishable for rooting percentage after two weeks of cultivation. One-hour treatment on the medium with 16  $\mu$ M and 30 minutes treatment on medium with 48  $\mu$ M of Na-naphthenates gave the best results.

**Key words:** Micropropagation, rooting stimulators, naphthenats

## 1. UVOD

nusproizvod u procesu rafinacije nafte. Značajani su zagađivači jer se rastvaraju u vodi, te se lako prenose po zemljišnom profilu, podzemnim vodama i vodenim basenima. Široku upotrebu imaju u hemijskoj industriji za solubilizaciju metalnih jona, proizvodnju deterdženata i

<sup>\*</sup> Deo rezultata iz ovog rada je prezentovan na XVI Simpozijumu Društva za fiziologiju biljaka SCG, Bajina Bašta, 13.-17. juni 2005.

<sup>1</sup> Dr Branislav Kovačević, naučni saradnik – Istraživačko razvojni institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerzitet u Novom Sadu, Antona Čehova 13, 21000 Novi Sad

<sup>2</sup> Dr Slavko Kevrešan, redovan profesor, dr Julijan Kandrač, vanredan profesor - Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg D. Obradovića 8, 21000 Novi Sad

<sup>3</sup> Dr Vera Ćirin-Novta, vanredan profesor, dr Ksenija Kuhajda, redovan profesor - Departman za hemiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg D. Obradovića 3, 21000 Novi Sad

<sup>4</sup> Dr Dragana Miladinović, naučni savetnik - Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad

proizvodnju preparata za zaštitu biljaka i drveća. Poznato je da naftenske kiseline pokazuju i biološku aktivnost (Clemente i Fedorak, 2005), posebno kao regulatori rasta i razvika biljaka (Wort, 1976). Severson (1972) je utvrdio da K-naftenati stimulišu usvajanje glukoze od strane vrhova korena biljaka pasulja, dok su Loh i Severson (1974) našli da jednodnevni tretman sa K-naftenatima stimulišu aktivnost IAA oksidaze, enzima koji je ključan u inicijaciji i aktivaciji korenskih primordija. Naši prethodni radovi su potvrdili njihov uticaj na ožiljavanje reznica, usvajanje jona metala i aktivnost enzima koji su od značaja za aktivaciju korenskih primordija (Kevrešan, et al. 2003a; Kevrešan, et al. 2003b; Kevresan, et al. 2005, Kevrešan, et al. 2006, Kevrešan, et al. 2007, Halmagyi, et al. 2008).

Bela topola se koristi u oplemenjivanju prostora i uređenju gradskih sredina. Uglavnom se favorizuju genotipovi piramidalne ili fastigiata tipa krošnje, muškog pola, tolerantni prema biotičkim i abiotičkim agensima (Eggens, et al. 1972). Ovakve genotipove je neophodno vegetativno umnožiti kako bi se željena svojstva očuvala i u potomstvu. Međutim, sekciju belih topola (*Leuce*) karakteriše otežano ožiljavanje odrvenjenih reznica tokom redovne rasadničke proizvodnje. Zato se vegetativno umnožavaju samo genotipovi kod kojih je zapažen zadovoljavajući uspeh preživljavanja reznica (Žufa, 1965). U tom smislu, mikropropagacija predstavlja efikasan metod koji omogućava relativno brzo i efikasno umnožavanje interesantnih genotipova bele topole (Ahuja, 1983). Ožiljavanje mikroizbojaka je važna faza umnožavanja u kulturi tkiva. Uobičajeni stimulatori ožiljavanja koji se koriste su indol-buterna i naftil-sirćetna kiselina.

Cilj našeg istraživanja je da se ispita dejstvo Na-naftenata na ožiljavanje izdanaka bele topole u kulturi tkiva.

## 2. MATERIJAL I METODE

Istraživanja su rađena na genotipu bele topole *Populus alba* L. cl. LBM, koji je selekcionisan u Istraživačko razvojnom institutu za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu Univerziteta u Novom Sadu. Ovaj genotip karakteriše "fastigiata" oblik krošnje, muški pol, snažan vigor i tolerantnost prema prevalentnim patogenima i štetočinama (Slika 1.). Ovaj genotip karakteriše i tolerantnost prema teškim metalima kao što su nikl, olovo i kadmijum, što ga čini interesantnim i za primenu u projektima fitoremedijacije (Katanić, et al. 2008). Slabo ožiljavanje reznica, koje inače karakteriše sekciju belih topola, kod ispitivanog genotipa je jasno izraženo, te se mikropropagacija u kulturi tkiva nameće kao jedno efikasno rešenje.

Mikroizbojci su gajeni na ACM podlozi (Aspen Culture Medium - Ahuja, 1983) sa 20 mg l<sup>-1</sup> adenin sulfata, 100 mg l<sup>-1</sup> lizina i 20 gr l<sup>-1</sup> saharoze i 0.02 mg l<sup>-1</sup> naftilsirćetne kiseline (NAA) i 0.5 mg l<sup>-1</sup> benzilaminopurina (BAP). Izbojci visine 2 – 3 cm su postavljeni u ACM podlogu sa ispitivanom aktivnom materijom uglavnom jedan čas, da bi zatim bili prebačeni na ACM podlogu bez hormona kako bi se tokom narednih 28 dana pratilo ožiljavanje tretiranih izbojaka. Ispitan je efekat naftilsirćetne kiseline (NAA), indolbuterne kiseline (IBA) i natrijumovih soli naftenskih kiselina (NK). Korišćena je frakcija nafte tipa "Velebit", dobijena atmosferskom destilacijom u rasponu temperatura 168 do 290°C. Ova frakcija je u ranijim istraživanjima pokazala biološku aktivnost analognu aktivnosti auksina (Ćirin-Novta, et al. 2002).

Ispitan je efekat sledećih tretmana: IBA4 - 4 µM IBA, IBA16 - 16 µM IBA, IBA48 - 48 µM IBA, NAA4 - 4 µM NAA, NAA16 - 16 µM NAA, NAA48 - 48 µM NAA, NK4 - 4 µM Na-naftenati, NK16 - 16 µM Na-naftenati, NK48 - 48 µM Na-naftenati. Svi do sada navedeni tretmani su trajali 1 čas, dok je NK48m10 - bio 10-to minutni tretman 48 µM Na-naftenata, a NK48m30 - 30-to minutni tretman 48 µM Na-naftenata. Kontrolu je predstavljao jednočasovni tretman na podlozi bez ispitivanih aktivnih materija. Nakon tretmana mikroizbojci su uzgajani u teglicama zapremine 190 ml, sa 25 ml ACM podloge bez hormona (Slika 2).



Slika 1. Habitus genotipa *Populus alba* L. cl. LBM  
*Figure 1. Tree shape of the genotype Populus alba cl. LBM*

Broj teglica po tretmanu je varirao od 3 do 5, dok je broj postavljenih izbojaka po teglici varirao od 3 do 6. Zbog nejednake veličine uzoraka rezultati su obrađeni analizom kovarijanse sa nejednakim ponavljanjima, gde je kovarijabla bio broj postavljenih izbojaka u posudi, a zavisne promenljive srednji broj korenčića kod ožiljenih izbojaka (K) i udeo ožiljenih u ukupnom broju postavljenih izbojaka (O). Ponavljanje je predstavljala srednja vrednost broja korenčića, odnosno procenat ožiljavanja na nivou teglice. Svojstva procenta ožiljavanja su transformisana arcsin-transformacijom ( $\arcsin \sqrt{X}$ , gde je  $X$  vrednost u procentima), dok su svojstva koja opisuju broj korenčića bili transformisani transformacijom  $\sqrt{X+1}$ , kako bi se postigla normalna distribucija frekvencija ispitivanih svojstava.



Slika 2. Ožiljeni izbojci *Populus alba* cl. LBM  
*Figure 2. Rooted microshoots of Populus alba cl. LBM*

U statističkoj obradi podataka korišćen je programski paket STATISTICA 7.1 (StatSoft Inc., 2006).

### 3. REZULTATI I DISKUSIJA

Na osnovu rezultata analize kovarijanse utvrđeno je da broja izbojaka u teglici nije bio značajan za variranje ni jednog ispitivanog svojstva. I analiza varijanse i analiza kovarijanse su pokazale da je uticaj ispitivanih tretmana bio značajan samo za variranje udela ožiljenih izbojaka nakon dve nedelje nakon inicijalnog tretmana.

Rezultati dobijeni u radu ukazuju na visok potencijal za ožiljavanje genotipa LBM u kulturi tkiva. Visok procenat ožiljavanja je ostvaren i u kontrolnoj grupi. Ipak, evidentirani su efekti ispitivanih aktivnih materija. Naime tretmani NK16, a posebno NK48m30, su se isticali visokim procentom ožiljavanja već nakon prve dve nedelje. Nakon 30-to minutnog tretmana mikroizbojaka na podlozi sa Na-naftenatima procenat ožiljavanja je bio 100%. Najbolji tretmani sa IBA i NAA postigli su procenat ožiljavanja od preko 90% tek u četvrtoj nedelji. Brzina formiranja korenovog sistema je od značaja za uspeh preživljavanja prilikom vegetativne propagacije. Naime, ranijim formiranjem korenovog sistema smanjuje se period stresa uzrokovan vodnim i debalansom u rastu i razvoju između izbojka i korena (Tschaplinski i Blake, 1989; Rhodenbaugh, et al. 1993; Kovacevic, et al. 2008). Ova činjenica bi mogla da bude interesantna u slučaju kada bi se mikroizbojci ožiljivali u substratu u kontrolisanim uslovima, kao i za ožiljavanje zelenih reznica belih topola. Na primer, Kevrešan, et al. (2003b) su ostvarili veoma dobre rezultate ožiljavanja bočnih izbojaka suncokreta u supstratu nakon tretiranja naftenskim kiselinama.

Tabela 1. Analiza kovarijanse i varijanse za ispitivana svojstva i tretmane kod genotipa *Populus alba cl.* LBM

Table 1. Covariance and variance analysis for examined characteristics and treatments in *Populus alba cl* LBM genotype

Svojstva <i>Characteristics</i>	Analiza kovarijanse <i>Analysis of covariance</i>			Analiza varijanse <i>Analysis of variance</i>
	<i>F-test za tretman</i> <i>F-test for treatments</i>	<i>F-test za kovarijablu</i> <i>F-test for covariable</i>	b	<i>F-test</i>
Broj korenčića <i>Number of roots</i>				
14. dan (K2) <i>14<sup>th</sup> day (K2)</i>	0,70	1,19	-0,54	0,66
21. dan (K3) <i>21<sup>st</sup> day (K3)</i>	1,50	0,03	-0,07	1,58
28. dan (K4) <i>28<sup>th</sup> day (K4)</i>	1,13	0,07	0,14	1,20
Procenat ožiljavanja <i>Percentage of rooting</i>				
14. dan (K2) <i>14<sup>th</sup> day (K2)</i>	3,31 **	2,89	48,64	2,90**
21. dan (K3) <i>21<sup>st</sup> day (K3)</i>	0,66	0,11	9,75	0,66
28. dan (K4) <i>28<sup>th</sup> day (K4)</i>	1,12	0,37	-16,80	1,13

Najmanji procenat ožiljavanja nakon prve dve nedelje je dobijen za tretmane IBA16 i NK48. Jasna razlika između polučasovnog i jednočasovnog tretmana 48  $\mu$ M Na-naftenatima, ukazuje da je predugo izlaganje mikroizbojaka Na-naftenatima poništilo njihov pozitivan efekat u prvih

trideset minuta. Ova pojava je u skladu sa negativnim efektom na aktivnost ključnih enzima za aktivaciju korenskih primordija nakon dugog izlaganja bazalnog dela zelene reznice bagrema  $10^{-7}$  M rastvoru naftenskih kiselina do kojih su došli Kevrešan, et al. (2007). Poznato je i da visoke koncentracije auksina stimulišu sintezu i nakupljanje etilena. Prisustvo etilena u niskim koncentracijama je poželjno prilikom aktivacije korenskih primordija, ali u visokim koncentracijama etilen otežava njihovo formiranje i aktivaciju (Mudge, 1989). Ovi rezultati takođe ukazuju na visoku auksinsku aktivnost Na-naftenata. To je od značaja za njihovu dalju primenu kao sredstava za stimulaciju ožiljavanja, s obzirom da je proizvodnja naftenskih kiselina daleko jeftinija i tehnološki manje zahtevna od proizvodnje široko korišćenih auksinski preparata. Svoju visoku aktivnost Na-naftenati duguju velikom broju aktivnih materija. Na to ukazuju rezultati Halmagy, et al. (2008) gde su sve četiri frakcije Na-naftenata izdvojene na osnovu razlike u ekstrakciji pri različitim pH, u određenim koncentracijama mogu da ostvarile stimulatívni efekat na ožiljavanje mikroizbojaka hrizanteme u kulturi tkiva.

Tabela 2. NZR-test za svojstva procenat ožiljavanja mikroizbojaka i tretmane kod genotipa *Populus alba* cl. LBM

Table 2. LSD-test for characteristics of rooting percentage of microshoots and treatments of *Populus alba* cl. LBM

Tretman <sup>1)</sup> Treatment	Transformisane srednje vrednosti <i>Transformed average values</i>			Retransformisane srednje vrednosti (%) <i>Retransformed average values (%)</i>		
	14. dan <i>14<sup>th</sup> day</i>	21. dan <i>21<sup>st</sup> day</i>	28. dan <i>28<sup>th</sup> day</i>	14. dan <i>14<sup>th</sup> day</i>	21. dan <i>21<sup>st</sup> day</i>	28. dan <i>28<sup>th</sup> day</i>
	IBA4	38,25	61,97	81,97	38,32	77,91
IBA16	35,00	70,00	90,00	32,90	88,30	100,00
IBA48	57,57	73,68	90,00	71,24	92,11	100,00
NAA4	45,00	70,00	70,00	50,00	88,30	88,30
NAA16	46,32	65,07	61,32	52,30	82,23	76,96
NAA48	63,00	78,00	84,00	79,39	95,68	98,91
NK4	57,00	78,00	72,00	70,34	95,68	90,45
NK16	80,00	80,00	80,00	96,98	96,98	96,98
NK48	37,53	72,29	81,14	37,11	90,75	97,63
NK48m10	52,50	82,50	82,50	62,94	98,30	98,30
NK48m30	90,00	90,00	90,00	100,00	100,00	100,00
Kontrola <i>Control</i>	41,92	71,14	71,14	44,64	89,56	89,56
NZR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub>	27,01	26,42	25,10			

<sup>1)</sup> Tretmani prema aktivnim materijama, njihovoj koncentraciji i dužini trajanja tretmana: IBA4 - 4  $\mu$ M IBA, IBA16 - 16  $\mu$ M IBA, IBA48 - 48  $\mu$ M IBA, NAA4 - 4  $\mu$ M NAA, NAA16 - 16  $\mu$ M NAA, NAA48 - 48  $\mu$ M NAA, NK4 - 4  $\mu$ M Na-naftenati, NK16 - 16  $\mu$ M Na-naftenati, NK48 - 48  $\mu$ M Na-naftenati, Kontrola – podloga bez ispitivanih aktivnih materija. Svi do sada navedeni tretmani su trajali 1 čas, dok je NK48m10 - bio 10-to minutni tretman 48  $\mu$ M Na-naftenata, a NK48m30 - 30-to minutni tretman 48  $\mu$ M Na-naftenata

<sup>1)</sup> Treatments according to active substances, their concentration and treatment duration: IBA4 - 4  $\mu$ M IBA, IBA16 - 16  $\mu$ M IBA, IBA48 - 48  $\mu$ M IBA, NAA4 - 4  $\mu$ M NAA, NAA16 - 16  $\mu$ M NAA, NAA48 - 48  $\mu$ M NAA, NK4 - 4  $\mu$ M Na-naphthenats, NK16 - 16  $\mu$ M Na-naphthenats, NK48 - 48  $\mu$ M Na-naphthenats, Control – medium without examined active substances. All menshened treatments lasted for one hour, while NK48m10 - was 10 minute treatment 48  $\mu$ M Na-naphthenats, and NK48m30 - 30 minute treatment 48  $\mu$ M Na-naphthenats

Za broj korenčića ožiljenih izbojaka nije utvrđena značajna razlika među primenjenim tretmanima kao ni između njih i kontrole. Tome je doprineo snažan uticaj variranja unutar tretmana tj. pogreške, što ukazuje na potrebu postavke ogleđa sa većim brojem ponavljanja u narednim istraživanjima. Iako razlike u odnosu na ostale tretmane i kontrolu nije bila statistički

značajna tretmani NAA16, NK16 i NAA4 su ostvarili primetan pozitivan uticaj. Visok procenat ožiljavanja i broj formiranih korenčića na ožiljenim izbojcima ukazuju na prednost NK16 tretmana u odnosu na ostale.

U našem ogledu Na-naftenati ostvarili stimulatívni efekat na nivou široko korišćenih NAA i IBA, što zajedno sa ranijim rezultatima (Kevrešan, et al. 2003a) ukazuje da bi soli naftenskih kiselina mogle da nađu svoju primenu u stimulaciji ožiljavanja izbojaka belih topola. U tom smislu istraživanja bi trebalo proširiti i na mogućnosti tretiranja u okviru direktne sadnje mikroizbojaka u supstrat, kao i tretiranja zelenih reznica belih topola.

Tabela 3. NZR-test za svojstva broja korenčića kod ožiljenih mikroizbojaka i tretmane kod genotipa *Populus alba cl.* LBM

Table 3. LSD-test for characteristics of number of roots for rooted microshoots and treatments in *Populus alba cl.* LBM

Tretman <sup>1)</sup> Treatment	Transformisane srednje vrednosti <i>Transformed average values</i>			Retransformisane srednje vrednosti (%) <i>Retransformed average values (%)</i>		
	14. dan	21. dan	28. dan	14. dan	21. dan	28. dan
	<i>14<sup>th</sup> day</i>	<i>21<sup>st</sup> day</i>	<i>28<sup>th</sup> day</i>	<i>14<sup>th</sup> day</i>	<i>21<sup>st</sup> day</i>	<i>28<sup>th</sup> day</i>
IBA4	2,06	2,26	2,27	3,25	4,09	4,17
IBA16	1,92	2,12	2,21	2,69	3,50	3,88
IBA48	2,01	2,13	2,43	3,03	3,52	4,89
NAA4	2,24	2,33	2,45	4,03	4,44	4,98
NAA16	1,93	2,23	2,56	2,73	3,99	5,53
NAA48	1,87	2,19	2,36	2,50	3,78	4,56
NK4	1,97	2,12	2,20	2,88	3,50	3,83
NK16	2,00	2,43	2,47	3,01	4,91	5,08
NK48	1,75	1,78	1,91	2,07	2,16	2,63
NK48m10	1,74	2,09	2,10	2,04	3,37	3,40
NK48m30	1,91	2,11	2,25	2,65	3,47	4,04
Kontrola <i>Control</i>	1,97	2,04	2,21	2,89	3,15	3,89
NZR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub>	1,29	1,82	1,77			

<sup>1)</sup> Tretmani prema aktivnim materijama, njihovoj koncentraciji i dužini trajanja tretmana: IBA4 - 4 µM IBA, IBA16 - 16 µM IBA, IBA48 - 48 µM IBA, NAA4 - 4 µM NAA, NAA16 - 16 µM NAA, NAA48 - 48 µM NAA, NK4 - 4 µM Na-naftenati, NK16 - 16 µM Na-naftenati, NK48 - 48 µM Na-naftenati, Kontrola – podloga bez ispitivanih aktivnih materija. Svi do sada navedeni tretmani su trajali 1 čas, dok je NK48m10 - bio 10-to minutni tretman 48 µM Na-naftenata, a NK48m30 - 30-to minutni tretman 48 µM Na-naftenata

<sup>1)</sup> Treatments according to active substances, their concentration and treatment duration: IBA4 - 4 µM IBA, IBA16 - 16 µM IBA, IBA48 - 48 µM IBA, NAA4 - 4 µM NAA, NAA16 - 16 µM NAA, NAA48 - 48 µM NAA, NK4 - 4 µM Na-naphthenats, NK16 - 16 µM Na-naphthenats, NK48 - 48 µM Na-naphthenats, Control – medium without examined active substances. All menshened treatments lasted for one hour, while NK48m10 - was 10 minute treatment 48 µM Na-naphthenats, and NK48m30 - 30 minute treatment 48 µM Na-naphthenats

#### 4. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se reći da mikroizbojke genotipa *Populus alba cl.* LBM i kulturi tkiva karakteriše visok potencijal za ožiljavanje. Nakon optimalnih tretmana za sve tri ispitivane aktivne materije ostvareno je ožiljavanje od blizu ili tačno 100%. Jednočasovni tretman medijumom sa 16 µM Na-naftenata je ostvario veoma dobre rezultate kako po procentu ožiljavanja tako i po broju formiranih korenčića. Zajedno sa polučasovnim tretmanom medijumom sa 48 µM Na-naftenata jasno je povećao brzinu formiranja korenčića. Ovaj rad

predstavlja potvrdu ranijih istraživanja na više drvenastih vrsta koji su utvrdili stimulativan efekat naftenskih kiselina na ožiljavanje.

## 5. LITERATURA

- Ahuja, M.R. (1983): Somatic cell differentiation and rapid clonal propagation of aspen. *Silvae Genet.* 32: 131-135
- Cirin-Novta V., Kuhajda K.N., Kevresan S.E., Kandrac J.E., Radic Lj.M. (2002): Biological activity and structure of natural petroleum acids from lower oil fractions of "Velebit" oil. *Acta Periodica Technologica*, 33: 134-137
- Clemente J. S., Fedorak P. M. (2005): A review of the occurrence, analyses, toxicity and biodegradation of naphthenic acids, Review article. *Chemosphere*, 60: 585-600
- Eggens, J.L., Loughheed, E.C., Hilton, R.J. (1972): Rooting of hardwood cuttings of boleana poplar. *Can. J. Plant. Sci.* 52: 599-604
- Halmagyi, A., Kevrešan, S., Kovačević, B., Ćirin-Novta, V., Pavlović, K., Grbović, Lj., Kuhajda, K. (2008): Effects of naphthenic acids on rooting of *in vitro* grown *Chrysanthemum* shoots. *Propagation of Ornamental Plants* 8(3): 148-150
- Katanić M., Pilipović A., Orlović S., Krstić B., Kovačević B., Pekeč S. (2008): The influence of nickel, cadmium and lead on the growth of the white poplar clones' shoots in vitro. *Proceedings of International Scientific Conference „Forestry in Achieving Millennium Goals“*, 13-15 November 2008, Novi Sad: 68
- Kevrešan S., Ćirin-Novta N., Kovačević B., Kuhajda K., Kandrač J., Petrović N., Radić Lj (2003a): Efekat naftenskih kiselina na formiranje korenčića odrvenjenih reznica klonova sekcija *Leuce* i *Aigeiros*. *Topola* 171/172: 63-72
- Kevresan S., Cirin-Novta V., Vasic D., Kuhajda K., Kandrac J., Petrovic N., Radic Lj. (2003b). Effect of naphthenic acids on formation of adventitious roots in sunflower cuttings. *Helia*, 26: 18-22
- Kevresan S., Cirin-Novta V., Kuhajda K., Kandrac J., Petrovic N., Grbovic Lj., Kevresan Z. (2005). Effect of low concentration of sodium naphthenate on uptake of some metal ions by soybean plants. *Belgian journal of Botany*, 138: 11-13
- Kevrešan S., Kovačević B., Ćirin-Novta V., Kuhajda K., Katanić M. and Vasić V. 2006. The effect of naphthenic acids on rooting of softwood cuttings in *Thuja occidentalis* L. *PROCEEDINGS, XXXVI ESNA Annual Meeting, Iasi, Romania*. p. 527-532
- Kevrešan S., Kovačević B., Ćirin-Novta V., Kuhajda K., Kandrač J., Pavlović K. and Grbović Lj. 2007. Biochemical changes in cuttings of *Robinia pseudoacacia* after treatment with naphthenate. *Journal of the Serbian chemical society*, 72: 953-959
- Kovacevic B, Orlovic S, Galovic V, Pilipovic A, Katanic M (2008) Utilization of early shoot and root growth in black poplar rooted cuttings for selection test improvement. *Proceedings of 23<sup>rd</sup> Session of International Poplar Commission, 27-30 October 2008 Beijing*. 97
- Mudge, K. W. (1989): Effect of ethylene on rooting. In: *Adventitious root formation in cuttings*. Ed. Davis, T.D., Haissig, B.E., Sankhla, N.: 150-161
- Loh, J.W.C.; Severson, J. G. (1975): Stimulation of indoleacetic acid oxidase of bean plants by naphthenates. *Phytochem.* 14, 1265-1267
- Rhodenbaugh EJ, Pallardy SG (1993): Water stress, photosynthesis and early growth patterns of cuttings of three *Populus* clones. *Tree physiology* 13:213-226
- Severson, J. G. (1972): Stimulation of <sup>14</sup>C- glucose uptake and metabolism in bean root tips by naphthenates. *Phytochem.* 11: 71-76
- StatSoft Inc. (2006): STATISTICA (data analysis software system), version 7.1

- Tschaplinski TJ, Blake TJ (1989): Correlation between early root production, carbohydrate metabolism and subsequent biomass production in hybrid poplar. *Canadian Journal of Botany* 67:2168-2174
- Wort J. D. (1976): Mechanism of Plant Growth Stimulation by Naphthenic Acid. *Plant Physiol.*, 58: 82-86
- Žufa, L. (1965): Vegetativno razmnožavanje hibrida *Leuce* topola. Jugoslovenski poljoprivredno-šumarski centar. Beograd: 76 str.

### *Summary*

#### **THE EFFECT OF NAPHTHENIC ACIDS ON WHITE POPLAR (*Populus alba* L.) MICROCUTTINGS' ROOTING**

by

*Kovačević Branislav, Kevrešan Slavko, Ćirin-Novta Vera, Kuhajda Ksenija, Kandrač Julijan, Miladinović Dragana*

*Naphthenic acids, by-product in oil refinement, are well known soil pollutants and active substances in preparations for plant protection. The results of multiannual research indicated the possibility of their utilization for stimulation of cutting rooting. In order to examine their effect on white poplar genotype *Populus alba* cl. LBM, selected in Institute for lowland forestry and environment, Novi Sad, experiments in vitro were established. Two to three cm high microshoots were set for one hour on ACM medium with 4, 16 or 48  $\mu$ M concentration of indol-3-butyric acid, 1-naphthalene acetic acid or Na-salts of naphthenic acids (for which the effect of 10 and 30 minutes treatment on medium with 48  $\mu$ M was also examined), and then transferred on ACM medium without hormones. Analysis of covariance showed lack of the influence of number of microshoots in the jar. In spite poor rooting capacity of its hardwood cuttings, microshoots of genotype LMB showed high rooting potential in vitro. The differences among treatments were the most distinguishable for rooting percentage after two weeks of cultivation. One-hour treatment on the medium with 16  $\mu$ M and 30 minutes treatment on medium with 48  $\mu$ M of Na-naphthenates gave the best results. These results indicate the dynamics of root formation, suggesting faster root formation after treatments with Na-naphthenates, which could be interesting in rooting of green cuttings in nursery production. This work confirms earlier results on stimulative effect of Na-naphthenates on rooting of cuttings of different tree species.*