



**ИНСТИТУТ ЗА ПОВРТАРСТВО
СМЕДЕРЕВСКА ПАЛАНКА**

**Биотехнологија и савремени приступ
у гајењу и оплемењивању биља**

**Национални научно-стручни скуп са
међународним учешћем**

ЗБОРНИК РАДОВА

Смедеревска Паланка, 15. децембар 2021.

ИНСТИТУТ ЗА ПОВРТАРСТВО СМЕДЕРЕВСКА ПАЛАНКА

**Биотехнологија и савремени
приступ у гајењу и
оплемењивању биља**

**Национални научно-стручни скуп са
међународним учешћем**

ЗБОРНИК РАДОВА

Смедеревска Паланка
15. децембар 2021.

Зборник радова

Биотехнологија и савремени приступ у гајењу и
оплемењивању биља

Национални научно-стручни скуп са међународним учешћем

Смедеревска Паланка, 15. децембар 2021.

Издавач

Институт за повртарство Смедеревка Паланка

www.institut-palanka.rs

За издавача

Доц. др Алмир Муховић, научни сарадник
в.д. директора Института за повртарство

Главни и одговорни уредник

Др Алмир Муховић

Уредник

Др Веселинка Зечевић

Технички уредник

Љиљана Радисављевић

Штампа

Дигитал дизајн доо, Смедеревска Паланка

Тираж 100 комада

Година издања

2021

ISBN

978-86-89177-03-9

**ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ОСМОТСКОГ СТРЕСА КОД
КАРФИОЛА *IN VITRO***

**EXAMINATION OF THE EFFECT OF OSMOTIC STRESS IN
CAULIFLOLS *IN VITRO***

Сузана Павловић^{1*}, Јелена Дамњановић¹, Зденка Гирек¹, Милан
Угриновић¹, Слађан Аџић¹, Јелена Милојевић², Милка Брдар-Јокановић³

¹Институт за повртарство Смедеревска Паланка
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,
²Булевар деспота Стефана 142, Београд

³Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад

*Аутор за кореспонденцију: spavlovic@institut-palanka.rs

Извод

Циљ истраживања је био испитивање ефекта осмотског стреса изазваног стресом соли и суше на растење и садржај суве материје код линија карфиола гајених *in vitro*. Две одабране линије карфиола су изложене *in vitro* стресу соли и суше гајењем на MS подлози са 0, 100, 200, 300 и 400 mM NaCl односно гајењем на MS подлози са 0, 5, 10, 15 и 20% PEG. Свежа маса биљке и садржај суве материје су мерени на почетку и након 8 дана третмана. Оба стреса су довела до редукације растења и повећања садржаја суве материје, али су линије реаговале различито на појединачне стресоре и њихове концентрације. Линија Кф-Л1 је боље реаговала на ниже концентрације NaCl, на подлози са 300 mM NaCl обе линије су показивале сличан пораст, али на вишој концентрацији од 400 mM линија Кф-Л1 је показала значајно мању толеранцију на повишени салинитет у односу на линију Кф-Л2. Добијени резултати указују на разлике међу тестираним линијама у толеранцији према стресу соли и суше у *in vitro* условима, што ову методу чини ефикасном у тестирању и селекцији толерантнијих линија карфиола и других купусњача на осмотски стрес.

Кључне речи: карфиол, осмотски стрес, растење, сува материја, *in vitro*

Abstract

The aim of the study was to examine the effect of osmotic stress (salt and drought stress) on growth and dry matter content in cauliflower lines grown *in vitro*. Two selected cauliflower lines were exposed *in vitro* to salt stress and drought by culturing on MS medium with 0, 100, 200, 300 and 400 mM NaCl and resp. by culturing on MS medium with 0, 5, 10, 15 and 20% PEG. The fresh weight and the dry matter content were measured at the beginning and after 8 days of treatment. Both stresses led to a reduction in the growth and increase in dry matter content, but the lines reacted differently to individual stressors and their concentrations. The Kf-L1 line responded better to lower NaCl concentrations, on a medium with 300 mM NaCl both lines showed a similar increase, but at a higher concentration of 400 mM the Kf-L1 line showed significantly lower tolerance to increased salinity compared to the Kf-L2line. Obtained results indicate differences between the tested lines in tolerance to salt and drought stress, which makes this method effective in testing and selecting more tolerant lines of cauliflower and *Brassica* vegetables.

Key words: cauliflower, osmotic stress, growth, dry matter, *in vitro*

Увод

Биљке, као сесилни организми, су непрекидно изложене абиотичким факторима спољашње средине чије деловање за последицу може имати смањење приноса гајених култура и за више од 50% (Rodriguez et al., 2005; Asquaaah, 2007). Суша и салинизација земљишта су блиско повезани и представљају стресне факторе чији се физиолошки ефекти преклапају (Krasensky and Jonak, 2012). Салинитет земљишта се нарочито погоршава наводњавањем. Сматра се да би салинизација код обрадивих површина могла довести до губитака 50% ових површина до средине 21. века (Mahajan and Tuteja, 2005).

Висока концентрација соли у земљишту смањује водни потенцијал земљишта услед чега биљке не могу да усвајају воду из подлоге, с једне стране, док услед појачане транспирације губе воду, с друге стране. Како би смањиле интензитет транспирације у условима водног дефицита биљке затварају стоме (Taiz and Zeiger, 2002), што за последицу има смањење интензитета фотосинтезе у

условима стреса (Brugnoli and Bjorkman, 1992). Излагање биљака повећаном салинитету доводи до значајног опадања садржаја хлорофила и каротеноида (Saha et al., 2010; Chutipaijit et al., 2011). Смањење фотосинтетичке површине листова изазвано токсичним деловањем Na^+ и Cl^- и биосинтезе пигмената доводи до смањења интензитета фотосинтезе и последично до пада приноса (Evelin et al., 2009).

Производња повртарских купусњача у свету је у порасту због њихових повољних нутритивних карактеристика и бенефита по људско здравље. Све купусњаче имају малу калоријску/енергетску вредност и висок садржај витамина (С, А, В, РР, К), минералних материја (калијум, сумпор, фосфор, калцијум, гвожђе, јод, магнезијум), протеина, угљених хидрата и масти. Такође имају антиинфламаторна и антиоксидативна својства (Singh et al., 2006). Процене су да се купусно поврће узгаја у Србији на око 27.000 ha годишње.

Већина биљка је осетљива према повећаним концентрацијама соли у земљишту, што у великој мери ограничава продуктивност и смањује принос (Hasanuzzaman et al., 2013). Од свих купусњача најтеже је произвести карфиол, који је као биљка влажног, умереног климатског подручја осетљива на факторе изазване променом климе. Оптимална температура за добијање квалитетних ружа карфиола је између 14 и 18°C, док је оптимална релативна влажност ваздуха око 85%. Преко 26 милиона тона карфиола и броколија је произведено у свету током 2019. године од тога око 2,4 милиона тона у Европи (FAOSTAT, 2021). Карфиол је осетљив према суши у свим фазама развоја, тако да су раст и принос ове културе знатно умањени у условима водног дефицита (Jaleel et al., 2009). Стога је, за успешан развој и раст карфиола неопходно обезбедити стално присуство влаге у земљишту, јер им је коренов систем плитак и разгранат у површинском слоју. Интензивни режим наводњавања при производњи карфиола за последицу има значајно повећање салинитета (заслањености) земљишта. О његовој толеранцији према повећаном салинитету нема пуно података у литератури, изузев једног рада према коме он спада у групу умерено толерантних купусњача (Shannon and Grieve, 1999).

Циљ истраживања је био испитивање ефекта осмотског стреса изазваног стресом соли и суше на растење и садржај суве материје код линија карфиола гајених *in vitro*.

Материјал и методе рада

Семена одабраних линија карфиола Кф-Л1 и Кф-Л2 су стерилно *in vitro* наклијавана (Pavlović et al., 2010). Добијени клијанци су узгајани у стакленим теглама на базалној хранљивој MS подлози која је садржала минерални раствор и витамине по *Murashige and Skoog* (1962). Поред MS минералног раствора и витамина, MS подлоге су садржале и 0,01% инозитол (w/v), 2% сахарозу (w/v) и 0,7% (w/v) агар (Институт за вирусологију, Торлак, Београд). рН подлоге је помоћу 1N NaOH подешаван на 5,8 пре аутоклавирања на 117°C у трајању од 25 минута. Биљке старе 2 недеље, са сталним листовима су пребациване на MS подлоге у које је додавано 0, 100, 200, 300, 400 mM NaCl за стрес соли и 0, 0,5, 10, 15, 20% PEG (Polyethylene glycol) за стрес суше. Полиетилен гликол (PEG) је нетоксичан, снижава водни потенцијал подлоге и користи се за симулацију стреса суше у биљкама. Осмотски потенцијал раствора примењених концентрација PEG износи -0,05, -0,09, -0,19, 0,36, -0,58 МПа (Guo et al., 2012). Све културе су гајене у комори за раст биљака на температури од $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и при светлосном режиму дугог дана (16^hдан, 8^hноћ). Као извор светлости су коришћене флуоросцентне сијалице беле светлости (Philips, SAD). На почетку и након 8 дана третмана на селективним подлогама мерени су следећи параметри: свежа маса биљке (g) и садржај суве материје (%). Пораст биљака је изражен као разлика у свежој маси на крају и почетку третмана.

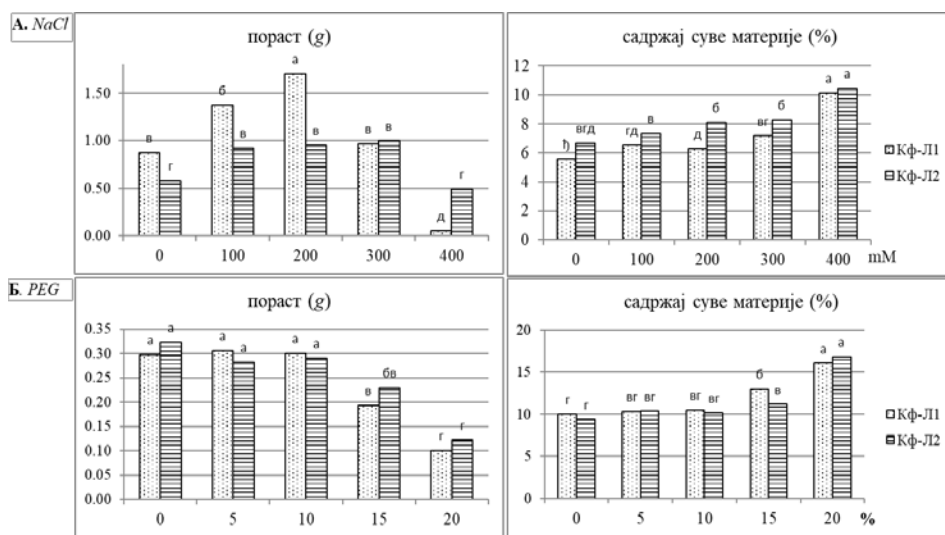
Сви подаци статистички су обрађени у програму StatSoft Inc. STATISTICA, verzija 8.0 (2007). Статистичка обрада података подразумевала је анализу варијансе двофакторијалног експеримента (ANOVA) и поређење средњих вредности Фишеровим LSD тестом на нивоу значајности $\leq 0,05$. Графичко представљање резултата урађено је помоћу рачунарског програма Microsoft Office Excel.

Резултати и дискусија

На селективним подлогама са концентрацијама NaCl до 300 mM биљке обе линије Кф-Л1 и Кф-Л2 су показивале повећани раст у односу на контролу која је расла на подлози без NaCl (графикон 1А). То је посебно било изражено код линије Кф-Л1 на селективним подлогама са 100 и 200 mM NaCl што указује да NaCl до одређених концентрација стимулише раст. На селективној подлози са концентрацијом NaCl од 400 mM дошло је до значајно смањеног раста биљака обе тестиране линије, а посебно код линије Кф-Л1 код које је раст скоро у потпуности инхибиран (графикон 1А). На истој селективној подлози дошло је до значајног пораста процента суве материје у биљкама и оне више нису биле задовољавајући виталне, изражени су били знаци хлорозе. Резултати су у складу са резултатима добијеним у експерименту са купусом (Jamil et al., 2007) као и са резултатима до којих су дошли други аутори у раду са различитим биљним врстама (Kaouther et al., 2013; Sayyed et al., 2014). Munns (2003) је деловање високе концентрације NaCl на редукцију раста објаснила као последицу смањене апсорпције воде изазване физиолошком сушом или због токсичности NaCl. На подлогама са 200 и 300 mM NaCl запажен је повећан пораст свежје масе Кф-Л2 линије уз истовремено повећање процента суве материје у односу на контролу. Слични резултати су добијени у истраживању Muhammad et al. (2010). Повећање масе се може објаснити појачаним усвајањем воде у условима умерених концентрација NaCl. На основу добијених резултата се може закључити да је линија Кф-Л1 боље реаговала на ниже концентрације NaCl, на подлогама са 300 mM NaCl обе линије су показивале сличан пораст, али на вишој концентрацији од 400 mM линија Кф-Л1 је показала значајно мању толеранцију на повишени салинитет у односу на линију Кф-Л2.

Праћењем пораста биљака на селективним подлогама са различитим концентрацијама PEG добијени су слични резултати при вишим концентрацијама, с тим што су разлике међу линијама биле мање (графикон 1Б). На основу процента суве материје који је био нешто виши у односу на контролне биљке може се закључити да су на нижим концентрацијама обе линије успевале да одржавају тургор. При концентрацијама од 15 и 20% PEG већ долази до значајнијег повећања суве материје, што је посебно било изражено при концентрацији PEG од 20%. Ово је у складу са резултатима

добитим на *Brassica juncea* где је проценат суве материје растао са повећањем PEG осмотског потенцијала (Тооси et al., 2014) Процент суве материје код обе линије је био на сличном нивоу што указује да се ове линије не разликују значајно у односу на степен толерантности према суши.



Графикон 1. Ефекти различитих концентрација NaCl (А) и PEG (Б) на пораст биљке садржај суве материје код одабраних линија карфиола

Закључак

Истраживање је показало да су обе линије карфиола осетљиве на стрес али у различитом степену, посебно на стрес соли. На вишој концентрацији NaCl од 400 mM линија Кф-Л1 је показала значајно мању толеранцију на повишени салинитет у односу на линију Кф-Л2. Испитиване линије се нису разликовале у степену толеранције према стресу суше. Може се закључити да је метода *in vitro* тестирања гајењем на подлогама са различитим концентрацијама стресора подесна за селекцију и поређење различитих линија купусњака у односу на степен толерантности на стрес.

Захвалница

Рад је подржан од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја (451-03-9/2021-14/200216).

Литература

- Acquaah, G. (2007). Principles of plant genetics and breeding. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Bernstein, L. (1959). Salt tolerance of vegetable crops in the West. USDA Info Bull 205: 5.
- Brugnoli, E., Bjorkman, O. (1992). Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta* 187: 335–347.
- Chutipaijit, S., Chaum, S., Sompornpailin, K. (2011). High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. *indica*. *Aust J Crop Sci* 5: 1191–1198.
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Ann Bot* 104: 1263-1280.
- FAOSTAT (2021). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Guo, R., Hao W.P., Gong, D.Z. (2012). Effects of Water Stress on Germination and Growth of Linseed Seedlings (*Linum usitatissimum* L), Photosynthetic Efficiency and Accumulation of Metabolites. *Journal of Agricultural Science* 4: 10.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. (2013). Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. In: Ahmad P, Azooz MM, Prasad MNV (Eds.) *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer Science & Business Media LLC, New York, USA, pp 25-87.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int J Agric Biol* 11: 100-105
- Jamil, M., Lee, K.B., Jung, K.Y., Lee, D.B., Han M.S., Rha E.S. (2007). Salt Stress Inhibits Germination and Early Seedling Growth in Cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). *Pak. J. Biol. Sci.* 10: 910-914.
- Kaouther, Z., Nina, H., Rezwan, A., Cherif, H. (2013). Evaluation of Salt Tolerance (NaCl) in Tunisian Chili Pepper (*Capsicum frutescens* L.) on Growth, Mineral Analysis and Solutes Synthesis. *J. of stress phy. and biochem.* 9 (1): 209 – 228
- Krasensky, J., Jonak, C. (2012). Drought, salt, temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J Exp Bot* 63: 1593-1608.

- Mahajan, S., Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochem Biophys* 444: 139–158.
- Muhammad Z., Hussain F. (2010). Effect of NaCl salinity on the germination and seedling growth of some medicinal plants. *Pak. J. Bot.*, 42(2): 889-897, 2010.
- Munns R. (2003). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 239 – 50.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Pavlović, S., Vinterhalter, B., Mitić N., Adžić S., Pavlović N., Zdravković M., Vinterhalter D. (2010). *In vitro* shoot regeneration from seedling explants in Brassica vegetables: red cabbage, broccoli, Savoy cabbage and cauliflower. *Archives of Biological Science*, 62 (2), 337-345.
- Rodriguez, M., Canales, E., Borrás-Hidalgo, O. (2005). Molecular aspects of abiotic stress in plants. *Biotechnol Appl* 22: 1–10.
- Saha, P., Chatterjee, P., Biswas, A.K. (2010). NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Indian J Exp Biol* 48: 593–600.
- Sayyed, A., Gul, H., Hamayun, M., Nangyal, H., Fazal, I. (2014). Influence of Sodium Chloride on Growth and Chemical Composition of *Tagetes erecta*. *South Asian Journal of Life Sciences* 2 (2): 29 – 32.
- Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.P., Rai, M. (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var capitata). *Sci Hortic* 108: 233-237.
- Shannon, M.C. and Grieve, C.M. (1999). Tolerance of Vegetable Crops to Salinity. *Scientia Horticulturae*, 78, 5-38.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc, New York, USA.
- Toosi, A.F., Bakar, B.B. Azizi M. (2014). Effect of drought stress by using PEG 6000 on germination and early seedling growth of *Brassica juncea* Var. Ensabi. *Agronomy* 57, 360-363.

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

631.52(082)
606:63(082)

НАЦИОНАЛНИ научно-стручни скуп са међународним учешћем
Биотехнологија и савремени приступ у гајењу и оплемењивању
биља (2021 ; Смедеревска Паланка)

Зборник радова / Национални научно-стручни скуп са
међународним учешћем Биотехнологија и савремени приступ
у гајењу и оплемењивању биља, Смедеревска Паланка
15. децембар 2021. ; [уредник Веселинка Зечевић]. -
Смедеревска Паланка : Институт за повртарство, 2021
(Смедеревска Паланка : Дигитал дизајн). - 344 стр. :
илустр. ; 25 cm

Тираж 100. - Стр. 9: Предговор / Веселинка Зечевић. -
Библиографија уз сваки рад. - Abstracts.

ISBN 978-86-89177-03-9

а) Биљке -- Оплемењивање -- Зборници б) Биотехнологија --
Зборници

COBISS.SR-ID 52862729