

Popović M., Grbić M., Marković M. 2008. *Propagation of Dianthus deltoides L. by shoot culture*. Bulletin of the Faculty of Forestry 97: 209-220.

Марија Поповић
Михаило Грбић
Марија Марковић

UDK: 635.03
Оригинални научни рад

РАЗМНОЖАВАЊЕ *DIANTHUS DELTOIDES L.* КУЛТУРОМ ИЗДАНАКА

Извод: Испитана је могућност унапређења микропропагације врсте *D. deltoides* са циљем смањења броја витрификованих и некротираних изданака. Микропропагација је извршена на медијуму са MS минералним раствором, уз додатак 3% сахарозе, 0,8% агара, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ мио-инозитола, $0,025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ тиамина, $0,125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ никотинске киселине и $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ глицина. У фази мултипликације изданака коришћен је 6-бензил-аминопурин (БАП) и α -нафтил-сирћетна киселина (НАА). Витрификација је успешно редукована, а најбољи резултати постигнути су на медијуму са $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ БАП и $0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ НАА. Ожиљавање је успешно спроведено на медијуму без хормона, а проценат аклиматизације износио је 92%.

Кључне речи: *Dianthus deltoides L.*, витрификација, микропропагација

PROPAGATION OF *DIANTHUS DELTOIDES L.* BY SHOOT CULTURE

Abstract: The possibility of improving *D. deltoides* micropropagation was studied in the aim of reducing the number of vitrified and necrotic shoots. Micropropagation was performed on the medium with MS mineral solution, supplemented with 3% sucrose, 0.8% agar, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ mio-inositol, $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ thiamin, $0.125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ nicotinic acid and $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ glycine. The shoot multiplication was induced on 6-benzylaminopurine (BAP) and α -naphthaleneacetic acid (NAA). Vitrification was successfully reduced, and the best results were achieved on the medium with $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BAP and $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA. Rooting was successful on the medium without hormones, and the acclimatisation percentage accounted for 92%.

Key words: *Dianthus deltoides L.*, vitrification, micropropagation

дрил. инж. Марија Поповић, истраживачки лаборант, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд

др Михаило Грбић, ред. професор, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд
др Марија Марковић, асистент, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд

1. УВОД

Врста *Dianthus deltoides* је вишегодишња, бусенаста биљка висине 15-50 cm, са зеленим или сивкасто зеленим листовима. Цветови су бројни, у метличастој цвасти, црвене или ружичасте боје, ређе беле, а биљка цвета од јуна до септембра (Јосифовић, 1970, Гајић, 1984). Природно станиште ове врсте су екосистеми ливада и пашњака на киселим земљиштима брдског и планинског појаса (Мишић, Лакушић, 1990).

Због изузетних декоративних особина, дугог периода цветања, особине да добро успева на сиромашним, киселим земљиштима као и због њене отпорности на сушу, врста *D. deltoides* се примењује у хортикултури. Погодна је за алпинетуме, сухозиде, цветне бордуре, ивице, а користи се и као покривач тла. Данас се гаји велики број сората *D. deltoides* са цветовима беле, црвене и различитих нијанси ружичасте боје (Anderson *et al.*, 1963, Hellyer, 1973, Noordhuis, 1994, Van Dijk, 1997).

D. deltoides се размножава вегетативно - поделом бокора, код мањих обима производње, и генеративно - сетвом хибридног семена одговарајућих сорти. Алтернатива наведеним начинима размножавања је микропропагација. Данас микропропагација има значајну примену приликом производње хибридног семена различитих врста каранфила, али се може користити и за брзу вегетативну репродукцију жељених хибрида и добијање висококвалитетног и здравог потомства. Из тих разлога је Марковић (2008) испитивала могућност размножавања *D. deltoides* методом микропропагације и успешно је размножила коришћењем вршних (само са апикалним меристемом) и једнонодусних резница као експаната. При том, на свим хранљивим подлогама дошло је до појаве витрификованих експаната, и то у релативно високом проценту, а јавио се и мањи број некротизираних експаната.

Како тип експаната може утицати на витрификацију (Fraga *et al.*, 2004, Марковић, 2008), пошло се од претпоставке да се витрификација код врсте *D. deltoides* може смањити коришћењем неког другог типа експланата. Због тога је у овом раду испитана могућност микропропагације врсте *D. deltoides* културом изданака.

Циљ истраживања такође је био и утицај трајања субкултуре у фази мултипликације на развој културе, због чега је извршено мерење одговарајућих параметара после 25, 35 и 45 дана од постављања експаната.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Култура изданака *D. deltoides* је успостављена у Лабораторији за културу ткива Шумарског факултета на начин који је користила Марковић (2008). Након успостављања, изданци су гајени на медијуму без хормона и са њих су узимани експланати за потребе ових истраживања. Као експланати коришћени су изданци дужине 1-3 cm са 1-2 нодуса. Они су постављени на 7 хранљивих подлога које су се међусобно разликовале по садржају хормона како би се испитао утицај различитих

концентрација ВАР-а (6-бензил-амино-пурин) и NAA (нафтил-сирћетна киселина) на пролиферацију бочних изданака. Да би се избегао утицај генотипа на добијене резултате, сви експланати су били пореклом од истог клијавца.

Основна хранљива подлога је садржала MS неорганске соли (Murashige, Skoog, 1962), 3% сахарозу, 0,8% агар, $0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ тиамина, $0,25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ никотинске киселине, $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ глицина и $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ инозитола. Ради одређивања оптималног састава подлоге за умножавање изданака, у основну хранљиву подлогу додато је $0,5\text{-}2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ВАР-а и $0,1\text{-}1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA (табела 1). Ожиљавање изданака је обављено на основној хранљивој подлози без хормона.

Изданци су постављани у посуде (запремине 200 mL) са по 30 mL хранљиве подлоге, са затварачима од вате, газе и алуминијумске фолије. Пре аутоклавирања на температури од 121°C у трајању од 20 минута, рН вредност подлога подешена је на 5,8 додавањем $0,1 \text{ N HCl}$ и $0,1 \text{ N NaOH}$. За сваки тип хранљиве подлоге постављено је по 20 изданака у три понављања. Изданци су урањани у медијум до основе листова, а у сваку посуду постављено је по 4 изданка.

Културе су гајене у условима дугог дана (16 h светла/ 8 h мрака), на температури $25\pm 2^\circ\text{C}$. Као извор светлости коришћене су флуоресцентне беле цеви („Тесла” - Панчево) са густином фотонског флукса $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

После 25, 35 и 45 дана од постављања експланата, одређени су дужина и број изданака, број нодуса, а праћена је и појава витрификације и калуса. Наведени параметри су утврђени после 25 дана гајења експланата на подлогама $0,5/0,1$, $1/0,1$, $1/0,5$, $1/1$ и $2/0,1$, после 35 дана на подлогама $0,5/0,1$, $1/0,1$, $1/0,5$, $1/1$ и $2/1$ и после 45 дана на подлози $2/0,5$.

Како је могућност ожиљавања изданака *D. deltoides* већ детаљно испитана (Марковић, 2008) и утврђено је да се ожиљава лако, брзо и у великом степену (100%), било је сувишно спроводити додатна истраживања. Због тога су изданци ожиљавани на основној (MS) хранљивој подлози без хормона, у теглама ($85\times 180 \text{ mm}$) са по 75 mL хранљиве подлоге и са по 10 изданака који су уроњени у медијум до основе листова. Укупно је постављено 60 изданака (три понављања по 20). Начин затварања тегли, поступак аутоклавирања и услови раста култура исти су као у претходном огледу.

Аклиматизација је извршена на застакљеној тераси Лабораторије за културу ткива, на којој услови гајења (температура и влажност ваздуха) нису били регулисани.

Табела 1. Хранљиве подлоге за умножавање изданака

Table 1. Nutrient media for shoot multiplication

Ознака хранљиве подлоге Abbrev. for nutrient medium	ВАР	NAA
	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1/1	1	1
1/0,5	1	0,5
1/0,1	1	0,1
2/0,5	2	0,5
2/1	2	1
0,5/0,1	0,5	0,1
2/0,1	2	0,1

Ожиљенице су посађене у посуде за наклијавање ($12 \times 24 \times 3$ cm), по 30 ожиљеница у три понављања. Супстрат се састојао из тресета и песка у односу 4:1, а пре употребе је третиран 1,5% раствором препарата Previcur-N.

Током прве две недеље аклиматизације, посуде са биљкама су покриване слабо перфорираним, белим пластичним кесама, а проветравање је вршено једном дневно.

Сви добијени подаци статистички су обрађени коришћењем одговарајућих статистичких програма. Значајност разлика између средњих вредности утврђена је анализом варијансе (ANOVA, $p < 0,05$) и методом најмање значајне разлике (LSD).

3. РЕЗУЛТАТИ СА ДИСКУСИЈОМ

Након 25, 35 и 45 дана гајења у култури *in vitro* утврђен је број некротизираних, витрификованих и нормално развијених експланата. При том су у некротизираних експланата, поред оних који су изгубили зелену боју (смеђи, пожутели), сврстани и експланати који су остали потпуно непромењени.

На готово свим медијумима број нормално развијених експланата био је висок и прелазило је 90%. Састав хранљиве подлоге (концентрација хормона), као ни трајање пасажа - 25 или 35 дана нису имали значајног утицаја на стање експланата. Тек након дужег временског периода (45 дана) проценат некротизираних експланата се повећао што се и очекивало јер су хранљиве материје из медијума исцрпљене, а смањен је и садржај влаге.

Витрификовани експланати су се јавили само на појединим хранљивим подлогама, углавном у малом броју (0,0-3,6%), и њихов број се није повећавао са повећањем трајања пасажа.

Појава витрификације може бити условљена високом концентрацијом ВАР-а у медијуму (Марковић, 2008), чиме је могуће објаснити њену појаву на подлогама са $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ВАР-а. Међутим, витрификованих експланата (3%) је било и на подлози са 0,5/0,1, где је концентрација ВАР-а релативно ниска, а уопште их није било на подлогама са $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ВАР-а.

Марковић (2008) наводи да однос концентрација ВАР-а и NAA може, у одређеним случајевима, имати утицаја на број витрификованих експланата, односно да се њихов број повећава са повећањем разлике у концентрацијама наведених хормона. Тиме би се могло објаснити присуство витрификованих експланата на медијуму 0,5/0,1, као и разлика у њиховом броју на медијумима 2/0,1 (25%) и 2/1 (5,5%). Међутим, у том случају би требало очекивати витрификацију и на медијуму 1/0,1 где је концентрација ВАР-а 10 пута већа од концентрације NAA, а на наведеном медијуму витрификованих експланата није ни било.

Слична појава је забележена и приликом микропропагације *D. serotinus*, где је на медијуму са $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ВАР-а и $0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA било највише витрификованих

експланата - 20 % вршних резница, док је на подлози са више цитокинина ($2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ВАР-а и $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA) било мање витрификованих експланата (9,4%) (Marković *et al.*, 2007).

Поред врсте и концентрације додатих фитохормона, у литератури се наводи велики број могућих узрока витрификације, међу којима су: слабо проветравање култура, високе концентрације етилена у посудама за културу, утицај типа и концентрације агара, присуство и концентрација одређених јона макроелемената, утицај типа експланта и др. (Марковић, 2008). Водећи се досадашњим резултатима, уочавамо да на појаву витрификације код *D. deltoides* састав медијума и проветравање култура (начин затварања посуда) нису утицали. У истој лабораторији, под потпуно истим условима, уз употребу истих посуда и хемикалија, приликом размножавања врсте *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* витрификованих експланата није ни било (Marković *et al.*, 2006), код *D. serotinus* витрификација се јављала ретко и у малом проценту (Marković *et al.*, 2007), док је при микропропагацији *D. deltoides* на свим хранљивим подлогама било витрификованих експланата, на појединим и преко 50% (Марковић, 2008).

Како је у овом раду, где су као експланте коришћени изданци, витрификација знатно мања него приликом размножавања исте врсте подусним и вршним резницама (Марковић, 2008), уочавамо да тип експланта значајно утиче на појаву витрификације код *D. deltoides*, а да врста *D. deltoides* није подложна витрификацији, како то претпоставља Марковић (2008) објашњавајући присуство великог броја витрификованих експланата у свом раду са овом врстом.

Да тип експланта значајно утиче на појаву витрификације наводе и Fraga и сарадници (2004) радећи са врстом *D. gratianopolitanus*, где је код вршних резница витрификација била знатно чешћа него код подусних, слично као и код *D. deltoides* (Марковић, 2008).

3.1. Појава калуса

До појаве калуса дошло је на подлози 0.5/0.1 већ након 25 дана гајења (23% калусиралих експланата). Са повећањем трајања пасажа на 35 дана број калусиралих експланата се на истој хранљивој подлози удвостручио (48%). Такође, дужим гајењем повећао се и пречник калусног ткива који је код већине експланата износио 3-6 mm после 25 дана гајења, да би након 35 дана од постављања достигао 10 mm.

На осталим хранљивим подлогама калусиралих експланата готово да није ни било. На подлози 2/0,5 калусирало је 5% постављених изданака, али тек након 45 дана гајења у култури. Слично, након 35 дана гајења дошло је до појаве незнатне количине калуса (2-3 mm) и код 6,7% изданака на подлози 1/0,1.

Интензитет калусирања обично расте са поовећањем концентрације ауксина (Vinterhalter, Vinterhalter, 1997). Код врсте *D. superbus* ssp. *superbus* на медијуму без хормона није ни било калуса, а на подлогама са NAA број калусиралих

експланата се повећавао сразмерно повећању концентрације NAA (Mikulik, 1999), слично као и приликом микропропагације *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* (Marković *et al.*, 2006).

Међутим, у овом раду не постоји веза између појаве калуса и концентрације NAA у медијуму. Супротно очекивањима, највећи број калусираних експланата се јавио на медијуму са најнижом концентрацијом NAA (0,5/0,1).

Појаву одређеног броја калусираних експланата на медијуму 1/0.1 после 35 дана гајења и на медијуму 2/0.5 после 45 дана гајења могуће је објаснити дужином гајења постављених изданака. Приликом размножавања *D. zeyheri* калус се јавио на медијуму без хормона, али тек након 60 дана гајења на истој хранљивој подлози (Crouch, van Staden, 1993).

Поред утицаја хормона, на појаву калуса свакако да је утицао и тип експланата јер када су као експланати коришћене вршине и нодусне резнице за микропропагацију *D. deltooides*, калуса није било ни на једној од 11 хранљивих подлога које су садржале 0,1-1 mg·L⁻¹ NAA (Марковић, 2008).

3.2. Спонтано ожиљавање изданака

На свим хранљивим подлогама, изузев 2/0,1, изданци су се спонтано ожиљавали упркос присуству релативно високе концентрације ВАР-а. Сличне резултате добила је и Марковић (2008), укључујући и то да на медијуму са 2 mg·L⁻¹ ВАР-а и 0,1 mg·L⁻¹ NAA ни у њеном раду није био ниједан ожиљени експланат.

Утицај ВАР-а на спречавање ризогенезе је уочљив, као и утицај NAA на формирање коренова, јер је при нижим концентрацијама ВАР-а било највише ожиљених експланата, а са повећањем концентрације NAA, при константној концентрацији ВАР-а (1 mg·L⁻¹) удео ожиљених експланата се повећао. Такав утицај различитих концентрација цитоконина и ауксина на ризогенезу присутан је и у другим радовима (Мишић, 2004, Марковић, 2008).

Удео ожиљених експланата се значајно увећао дужим гајењем у култури. То је нарочито уочљиво на медијуму 1/0,1, где се, након само 10 дана, удео ожиљених експланата повећао са 5,3% на 37,8%, али је број формираних коренова по експланату био мали (најчешће 2-3 корена), што је условљено ниском концентрацијом NAA (0,1 mg·L⁻¹).

3.3. Дужина и број изданака

На свим хранљивим подлогама, без обзира на трајање пасажа, већина изданака (преко 70%) била је дужине до 20 mm. Највише експланата дужине до 10 mm било је на медијуму 2/0,1 (88%). На осталим медијумима њихов број се кретао од 46% (на медијуму 1/1 после 35 дана гајења) до скоро 70% (на медијуму 2/0,5 после 45 дана гајења).

Табела 2. Просечан број изданака по нормално развијеном експланту после 25 дана гајења у култури *in vitro*

Table 2. Average number of shoots per normally developed explant after 25 days in culture *in vitro*

Хормони Hormones		Бр. изданака № of shoots
ВАР <i>mg·L⁻¹</i>	НАА <i>mg·L⁻¹</i>	
0,5	0,1	21,2 b
1	1	24,3 b
1	0,5	9,2 a
1	0,1	25,0 b
2	0,1	5,5 a

Поред трајања пасажа, у раду се испољио и утицај концентрације ВАР-а и НАА на дужину изданака, што је било очекивано јер је такво дејство ВАР-а и уопште цитокинина, у литератури већ познато (Vinterhalter, Vinterhalter, 1996). Слично као и приликом размножавања *D. deltoides* коришћењем нодусних и вршних резница (Марковић, 2008) и у овом раду са повећањем концентрације ВАР-а, повећавао се и број краћих изданака (дужине до 20 mm), а са повећањем концентрације НАА, при константној концентрацији ВАР-а, број дужих изданака (преко 20 mm) је растао.

После 25 дана гајења, просечан број изданака по експланту кретао се од 5,5 на медијуму 2/0,1 до 25,0 на медијуму 1/0,1. Међутим, великог варирања у броју изданака ипак нема јер су формиране само две хомогене групе (табела 2).

Дужим гајењем у култури број изданака се углавном није значајно повећао. Изузетак представља медијум 1/0,5 на ком се њихов број повећао скоро три пута, након само 10 дана додатног гајења.

После 35 дана гајења, утицај састава хранљиве подлоге је био слабо

Слични резултати су забележени и са другим врстама каранфила: *D. superbus* (Mikulik, 1999), *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* (Marković et al., 2006), *D. serotinus* (Marković et al., 2007).

Трајање пасажа је имало утицаја на дужину изданака, на хранљивим подлогама истог састава, експланте који су дуже гајени (35 дана) били су дужи, односно смањивао се удео изданака у категорији 1-10 mm, а повећавао у категоријама преко 20 mm дужине. Појаву да се изданци издужују приликом дужег гајења на истој хранљивој подлози (без пребацивања на свежу) наводи и Радојевић (1982) за неке врсте воћака.

Табела 3. Просечан број изданака по нормално развијеном експланту после 35 дана гајења у култури *in vitro*

Table 3. Average number of shoots per normally developed explant after 35 days in culture *in vitro*

Хормони Hormones		Бр. изданака № of shoots
ВАР <i>mg·L⁻¹</i>	НАА <i>mg·L⁻¹</i>	
0,5	0,1	22,8 a
1	1	24,7 ab
1	0,5	26,5 ab
1	0,1	27,7 b
2	1	21,0 a

Табела 4. Просечан број изданака по нормално развијеном експланту после 45 дана гајења у култури *in vitro*

Table 4. Average number of shoots per normally developed explant after 45 days in culture *in vitro*

Хормони Hormones		Бр. изданака № of shoots
ВАР <i>mg·L⁻¹</i>	НАА <i>mg·L⁻¹</i>	
2	0,5	25,2 ± 4,6

Напомена: Вредност приказана у табели 4 представља аритметичку средину ± стандардна грешка аритметичке средине при степену вероватноће од 95%.

изражен. Иако се јављају разлике у броју изданака на појединим медијумима, оне углавном нису статистички значајне јер се јавља преклапање између хомогених група.

Сличне резултате добила је и Марковић (2008) према којима састав медијума нема значајног утицаја на број изданака по експланту, изузев високих концентрација ВАР-а које су, слично као и у нашем раду (подлога 2/0,1), деловале инхибиторно на формирање изданака. Такође на медијуму са 1 *mg·L⁻¹* ВАР-а и 0,5 *mg·L⁻¹* НАА просечан број изданака је био неочекивано низак, што одговара и овим резултатима.

3.4. Број нодуса

Просечан број нодуса по постављеном експланту био је висок на свим хранљивим подлогама, знатно виши него у истраживањима која је спровела Марковић (2008) или у радовима са другим врстама каранфила - *D. serotinus* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* (Марковић *et al.*, 2006, Марковић *et al.*, 2007). То је очекивано јер су у овом раду постављани изданци са 1-2 нодуса, тако да је заправо просечан број нодуса сразмерно већи него што је то добила Марковић (2008) на истим хранљивим подлогама.

Дужим гајењем у култури, повећао се и број нодуса по експланту, једино на медијуму 1/1 те разлике нису биле статистички значајне. Међутим, на хранљивој подлози 1/0,5 број нодуса се повећао чак 2,5 пута након само 10 дана гајења.

3.5. Оптималан састав медијума за мултипликацију изданака

Просечан број изданака који се развије из једног постављеног експланта заправо представља потенцијалан број нових за наредну субкултуру. Међутим, како су у овом раду као експланте постављани изданци дужине 1-3 *cm*, са 1-2 нодуса, пожељно је да се и у наредном пасажу постављају изданци истих димензија. То значи да током фазе мултипликације треба користити хранљиву подлогу на којој се развија велики број краћих изданака, што је у нашем раду постигнуто на медијуму 1/0,1. На том медијуму није било ни витрификације, а проценат некротираних експланата био је занемарљив.

Како се дужим гајењем у култури број изданака није значајно повећао, већ је дошло само до повећања њихове дужине, предлаже се да трајање пасажа буде 25 дана.

3.6. Ожиљавање изданака и аклиматизација ожиљених биљака

Сви постављени експланати су се успешно ожилили, као и у другим истраживањима ове врсте (Марковић, 2008). Већина каранфила се иначе ожиљава брзо и лако. Тако је проценат ожиљавања код врсте *D. superbis* ssp. *superbus* такође износио 100% (Mikulik, 1999), а врсте *D. petraeus* ssp. *noeanus* 91% (Радојевић *et al.*, 1997).

Ожиљене *in vitro* биљке су се успешно аклиматизовале у великом броју (92%), што је било очекивано с обзиром да је висок степен аклиматизације, упркос неконтролисаним условима, већ постигнут у раду са овом врстом (Марковић, 2008), у ком се аклиматизовало 95,4% ожиљених биљака пореклом из изданака са мање од 4 нодуса.

4. ЗАКЉУЧЦИ

Постигнут је основни циљ ових истраживања - смањење броја витрификованих и некротираних експланата који су се јавили када су у фази мултипликације биле коришћене нодусне и вршне резнице. На већини хранљивих подлога удео нормално развијених експланата био је прилично висок (преко 90%), а витрификације готово да није ни било. Тиме је уједно утврђено да тип експланта значајно утиче на витрификацију врсте *D. deltoides*, док дужина гајења на истом медијуму нема израженог утицаја.

У фази мултипликације дошло је до појаве спонтаног ожиљавања изданака, а проценат ожиљених изданака се значајно повећао њиховим дужим гајењем. Трајање субкултуре је имало утицаја и на повећање дужине изданака, али не и на број изданака по експланту.

На основу свега наведеног, предлаже се да се у фази мултипликације изданци гаје на медијуму са $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ВАР-а и $0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, а да се пасажирање врши сваких 25 дана. У том случају ће се од једног постављеног добити 25 изданака за наредну субкултуру.

Ожиљавање изданака успешно се може обавити на медијуму без хормона (100% ожиљених изданака), а ожиљенице се могу успешно аклиматизовати у мешавини тресета и песка у односу 4:1.

ЛИТЕРАТУРА

- Anderson E.B., Fish M., Balfour A.P., Wallis M., Finnis V. (1963): *The Oxford book of garden flowers*, Oxford University Press, London (79-90)
- Винтерхалтер Д., Винтерхалтер Б. (1996): *Култура in vitro и микропроцајација биљака*, Axial P.O., Београд (25-54)

- Van Dijk H. (1997): *The Complete Encyclopedia of Border Plants*, Rebo Publishers, Rebo International, Lisse
- Fraga M., Mertxe A., Ellul P., Borja M. (2004): *Micropropagation of Dianthus gratianopolitanus*, HortScience 39 (4) (112-115)
- Гајић М. (1984): *Флора Гоча - Гвоздац*, Школско огледно добро Шумарског факултета „Момчило Поповић“, ООУР Шумски огледни центар, Краљево (84-86)
- Јосифовић М. (1970): *Флора СР Србије II*, Српска академија наука и уметности, Одељење природно-математичких наука, Београд
- Ковács J. (1995): *Micropropagation of Dianthus arenarius subsp. bohemicus - an endangered endemic from the Czech Republic*, Botanic Gardens Micropropagation News 8 (106-108)
- Марковић М., Грбић М., Шинделић А. (2006): *Мојћносћ микропропагације Dianthus giganteiformis ssp. kladovanus (Degen) Соо мейогом пролиферације бочних избојака*, Гласник Шумарског факултета 94, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд (171-181)
- Марковић М., Грбић М., Сkochајић Д., Ђунисијевић Д. (2007): *Утицај баланса фитохормона на мултипликацију изданака и оживљавање врсте Dianthus serotinus Waldst. et Kit.*, Гласник Шумарског факултета 95, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд (83-94)
- Марковић М. (2008): *Мојћносћ размножавања врсте Dianthus deltoides L. мейогом микропропагације*, магистарски рад у рукопису, Универзитет у Београду - Шумарски факултет, Београд
- Mikulík J. (1999): *Propagation of endangered plant species by tissue cultures*, Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, Biologica 37 (27-33)
- Мишић Д. (2004): *Микропропагација рђанске мейвице (Nepeta rтанјensis Diklić & Milojević) као ефикасан начин ex situ заштите*, магистарски рад у рукопису, Универзитет у Београду - Биолошки факултет, Београд (42-94)
- Мишић Љ., Лакушић Р. (1990): *Ливадске биљке*, ИП „Свјетлост“, Завод за уџбенике и наставна средства, Сарајево и Завод за уџбенике и наставна средства, Београд
- Murashige T., Skoog F. (1962): *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*, Physiologia Plantarum 15 (473-497).
- Noordhuis K.T. (1994): *Ein schöner Garten*, Das große Handbuck fürs ganze Jahr, Karl Müller Verlag, Berlin
- Радојевић Љ. (1982): *Вегетативно размножавање воћака у култури in vitro: мейоге и примена*, Теоријски и практични аспекти културе ткива биљака, Југословенско друштво за физиологију биљака, Београд (51-86)
- Радојевић Љ., Маринковић Н., Јевремовић С. (1997): *Вегетативно размножавање у култури меристема и семената сјабла Dianthus petraeus Waldst. et Kit. subsp. noeanus*, Гласник института за ботанику и Ботаничке баште Универзитета у Београду 31, Београд (73-77)
- Hellyer A.G.L. (1973): *Picture Dictionary of Popular Flowering Plants*, The Hamlyn Publishing Group Limited, London
- Hutchinson J. (1955): *British wild flowers*, Vol. I. Penguin books Ltd., Hardmondsworth (408)
- Crouch N.R., Van Staden J. (1993): *In vitro culture of Dianthus zeyheri subsp. natalensis, a South African carnation*, Plant Cell Tissue and Organ Culture 35 (81-85)

Marija Popović
Mihailo Grbić
Marija Marković

PROPAGATION OF *DIANTHUS DELTOIDES* L. BY SHOOT CULTURE

Summary

Dianthus deltoides is a plant species of exceptional ornamental features and very modest requirements wherefore it is widely used in horticulture. It is produced by sowing hybrid seeds of the desired varieties and by tiller division in smaller-scale production. Micropropagation could be more significantly applied in the production of hybrid seeds of this species, as well as for fast vegetative reproduction of the desired hybrids and for the production of high-quality and healthy planting material.

For this reason, Marković (2008) tested the possibility of micropropagation of this species using nodal and apical cuttings (only with apical meristem) as explants. However, there occurred a vitrification problem. Therefore, this study started from the assumption that vitrification can be reduced by using a new type of explant and the possibility of *D. deltoides* micropropagation was tested by shoot culture. Also, it was investigated how the subculture duration affects the culture development of this species.

Micropropagation was performed on the medium with MS mineral solution, supplemented with 3% sucrose, 0.8% agar, 50 mg·L⁻¹ mio-inositol, 0.025 mg·L⁻¹ thiamin, 0.125 mg·L⁻¹ nicotinic acid and 0.5 mg·L⁻¹ glycine. The shoot multiplication was induced on 6-benzyl-aminopurine (BAP) in concentrations (0.5-2 mg·L⁻¹) and α-naphthaleneacetic acid (NAA) in concentrations 0.1-1 mg·L⁻¹). The explants were the shoots 1-3 cm long with 1-2 nodes.

Vitrification was successfully reduced, and the best results were achieved on the medium with 1 mg·L⁻¹ BAP and 0.1 mg·L⁻¹ NAA. The subculture duration had no effect on acclimatisation. Rooting was successful on the medium without hormones, rooting percentage was 100%. During acclimatisation, microclimate conditions were not controlled, and the acclimatisation percentage accounted for 92% of rooted plants acclimatised in the 4:1 mixture of peat and sand.

The presented method can be successfully applied in efficient micropropagation of the species *D. deltoides*, in which the length of subculture should be 25 days.

Марија Поповић, Михаило Грбић, Марија Марковић
