# UNIVERZITET U BEOGRADU BIOLOŠKI FAKULTET

Tomica D. Mišljenović

# Bioakumulacija potencijalno toksičnih metala i fiziološki odgovori na sadržaj nikla kod vrsta *Noccaea kovatsii* i *N. praecox* (Brassicaceae) sa različitih geoloških podloga

doktorska disertacija

Beograd, 2022.

# UNIVERSITY OF BELGRADE FACULTY OF BIOLOGY

Tomica D. Mišljenović

# Bioaccumulation of potentially toxic metals and physiological responses to nickel content of the species *Noccaea kovatsii* and *N. praecox* from different geological substrates

**Doctoral Dissertation** 

Belgrade, 2022

dr Gordana Tomović, redovni profesor Univerzitet u Beogradu Biološki fakultet

dr Ksenija Jakovljević, viši naučni saradnik Univerzitet u Beogradu Biološki fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Tamara Rakić, redovni profesor Univerzitet u Beogradu Biološki fakultet

dr Danijela Mišić, naučni savetnik Univerzitet u Beogradu Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

> **dr Ana Čučulović, naučni saradnik** Univerzitet u Beogradu Institut za primenu nuklearne energije

DATUM ODBRANE: \_\_\_\_\_

#### Izjave zahvalnosti

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem uspomeni na prof. dr Slobodana Jovanovića, svog mentora, profesora i velikog učitelja. Večno sam zahvalan na prenetom znanju, nadahnjujućim razgovorima, razmenama vizija i neprocenljivim savetima. Neizmerno hvala na poverenju, pruženim prilikama i jedinstvenom nastavničkom iskustvu koje sam stekao radeći sa Vama.

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije realizovan je u laboratorijama Katedre za ekologiju i geografiju biljaka Instituta za botaniku i botaničke bašte "Jevremovac" Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Odeljenja za radioekologiju i agrohemiju Instituta za primenu nuklearne energije Univerziteta u Beogradu, Odeljenja za fiziologiju biljaka Instituta za biološka istraživanja "Siniša Stanković" i Laboratoriji za fiziku zemljišta Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Doktorska disertacija je realizovana u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije br. 173030 – "Biodiverzitet biljnog sveta Srbije i Balkanskog poluostrva – procena, održivo korišćenje i zaštita."

Posebnu zahvalnost dugujem svojim mentorima sa kojima sam upoznavao fascinantni svet metalofita. Veliko hvala dr Kseniji Jakovljević na posvećenosti, razumevanju, strpljenju i podršci tokom izazovnog puta od osmišljavanja istraživanja do pisanja doktorske disertacije. Hvala na prenetom znanju, divnom vremenu provedenom na terenu i bezbrojnim savetima. Veliko hvala i prof. dr Gordani Tomović koja me je još tokom izrade diplomskog rada upoznala sa fantastičnim osobinama vrsta iz roda *Noccaea* i otvorila vrata daljem interesovanju za bavljenje problematikom hiperakumulacije metala. Hvala na brojnim korisnim savetima i prenetom znanju.

Hvala prof. dr Tamari Rakić, dr Danijeli Mišić i dr Ani Čučulović na brojnim korisnim komentarima i sugestijama koji su doprineli unapređenju kvaliteta ove doktorske disertacije.

Dr Danijeli Mišić i članovima njenog tima se posebno zahvaljujem za pomoć pri analizi sadržaja fenolnih jedinjenja u uzorcima biljnog materijala.

Dr Neveni Mihailović, višoj naučnoj saradnici INEP-a u penziji se zahvaljujem za veliku pomoć u analizama sadržaja potencijalno toksičnih elemenata u uzorcima zemljišta i biljnog materijala. Mnogo hvala na odvojenom vremenu, trudu i konstruktivnim diskusijama pri tumačenju dobijenih rezultata.

Prof. dr Bošku Gajiću se zahvaljujem za pomoć pri analizi mehaničkog sastava uzoraka zemljišta.

Akademiku Marjanu Niketiću se zahvaljujem za pomoć pri identifikaciji biljnog materijala.

Veliko hvala dr Neveni Kuzmanović na pomoći pri identifikaciji tipova staništa na kojima je prikupljen materijal za analize, na brojnim lepim danima provedenim na terenima i prenetom znanju.

Posebnu zahvalnost dugujem svim članovima Katedre za ekologiju i geografiju biljaka koji su mi pomogli u prevazilaženju izazova i rešavanju problema tokom osmišljavanja i izrade doktorske disertacije, na pozitivnoj energiji i timskom duhu. Veliko hvala prof. dr Dmitru Lakušiću što mi je omogućio da se pridružim timu projekta 173030, kao i na pomoći, podršci i dragocenim savetima. Zahvalnost za pomoć, podršku i dragocene savete dugujem i prof. dr Marku Sabovljeviću, kao i prof. dr Jasmini Šinžar Sekulić. Dragim kolegama i prijateljima – Ivani, Vladanu, Jovani, Evi, Milijani, Mariji, Tijani neizmerno hvala na druženju, uvek prijateljskoj atmosferi u kancelariji, ali i na sugestijama, podršci i pomoći. Hvala dr Snežani Vukojičić na pomoći pri radu u Herbarijumu, kao i na brojnim korisnim savetima i konstruktivnim diskusijama.

Prof. dr Gordani Subakov Simić i prof. dr Miloradu Vujičiću se zahvaljujem na bezrezervnoj podršci, savetima i prijateljstvu.

Posebno se zahvaljujem kolektivu Istraživačke stanice Petnica u kojoj sam proveo neke od najlepših godina – kao polaznik programa, saradnik, a nakon toga i kao rukovodilac programa. Hvala na pozitivnoj atmosferi, inspirativnim razgovorima, savetima i prijateljstvu.

Neizmerno hvala Aleksandru, Nikoli, Bojani, Tanji, Duletu i svim prijateljima koji su bili tu uvek kada je trebalo i pružali mi podršku na ovom zahtevnom putu.

Beskrajno hvala mojoj porodici na ljubavi, nemerljivoj podršci, strpljenju, ali i na nebrojenim terenima koje smo zajedno prošli. Neizmerno mi je žao što me do kraja ovog puta nisu ispratile dve osobe koje su mi oduvek pružale podršku i posebno verovale u mene. Teto, bako, znam da biste se ovoj odbranjenoj disertaciji obradovale i više nego ja sam.

#### Bioakumulacija potencijalno toksičnih metala i fiziološki odgovori na sadržaj nikla kod vrsta Noccaea kovatsii i N. praecox (Brassicaceae) sa različitih geoloških podloga

#### Sažetak

U ovoj studiji je istraživan potencijal fakultativnih metalofita, N. kovatsii i N. praecox za (hiper)akumulaciju potencijalno toksičnih metala, dok su njihov potencijal za akumulaciju Ni i stepen tolerancije na Ni analizirani u eksperimentalnim uslovima. Uzorci zemljišta i biljnog materijala sakupljeni su sa 29 ultramafitskih i neultramafitskih staništa. Vrste N. kovatsii i N. praecox uzorkovane su na različitim tipovima travnih i šumskih staništa. Analizom bioklimatskih karakteristika staništa uočene su jasne razlike u ekološkim preferencijama ove dve vrste. U uzorcima iz rizosfere analiziranih biljaka sa ultramafitskih staništa koncentracije Fe, Mn, Ni, Cr i Co znatno su više u odnosu na neultramafitska zemljišta. U svim uzorcima N. kovatsii i N. praecox sa ultramafitske geološke podloge zabeležena je hiperakumulacija Ni, dok su koncentracije u tkivima obe vrste sa neultramafitskih staništa višestruko niže. Hiperakumulacija Zn zabeležena je u samo jednoj populaciji N. kovatsii sa neultramafitskog staništa. Pri izlaganju N. kovatsii i N. praecox gradijentu koncentracija Ni, utvrđen je različit stepen tolerancije analiziranih populacija obe vrste na Ni. Najviši stepen tolerancije pokazuju ultramafitske populacije obe vrste. Utvrđeni su i opšti obrasci fizioloških odgovora populacija sa različitim stepenom tolerancije Ni, koji se manifestuju razlikama u biomasi biljaka, akumulaciji antocijana, prolina i malondialdehida. Kod svih populacija obe vrste, Ni se dominantno deponuje u epidermalnim ćelijama lica i naličja lista, dok konstitutivne razlike u sadržaju analiziranih fenolnih jedinjenja među populacijama sa različitim stepenom tolerancije na nikl nisu utvrđene. Uprkos različitom stepenu tolerancije na Ni, u svim populacijama obe gajene vrste, pri svim koncentracijama Ni u supstratu zabeležena je hiperakumulacija Ni.

Ključne reči: *Noccaea kovatsii*, *Noccaea praecox*, hiperakumulacija, nikl, ultramafiti, metalofite, serpentinofite

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Ekologija, biogeografija i zaštita životne sredine

# Bioaccumulation of potentially toxic metals and physiological responses to nickel content of the species *Noccaea kovatsii* and *N. praecox* from different geological substrates

#### Abstract

In this study, the potential of the facultative metallophytes N. kovatsii and N. praecox to (hyper)accumulate potentially toxic metals was investigated, while their potential for Ni accumulation and the degree of Ni tolerance were analyzed under experimental conditions. Samples of plants and rhizosphere soils were collected from 29 ultramafic and non-ultramafic sites. Samples of *N. kovatsii* and *N. praecox* were collected from different types of grasslands and forest habitats. Analysis of the bioclimatic characteristics of the habitats revealed significant differences in the ecological preferences of these two species. In the samples from the rhizosphere of the studied plants from ultramafic habitats, the concentrations of Fe, Mn, Ni, Cr and Co were significantly higher compared to non-ultramafic soils. Hyperaccumulation of Ni was detected in all samples of N. kovatsii and N. praecox from the ultramafic sites, while the concentrations in the tissues of both species from the non-ultramatic habitats were several times lower. Hyperaccumulation of Zn was observed only in one population of N. kovatsii from the non-ultramafic habitat. When N. kovatsii and N. praecox were exposed to the Ni concentration gradient, different levels of tolerance to Ni were observed in the studied populations of both species. The ultramafic populations of both species showed the highest degree of tolerance. General patterns of physiological responses of populations with different degree of Ni tolerance were observed, manifested in differences in plant biomass, accumulation of anthocyanins, proline and malondialdehyde. In all populations of both species, Ni was deposited predominantly in the adaxial and abaxial epidermal cells. Constitutive differences in the content of analyzed phenolic compounds between populations with different degrees of Ni tolerance were not detected. Despite the different degree of tolerance to Ni, hyperaccumulation of Ni was observed in all populations of both cultivated species at all Ni concentrations in the substrate.

**Keywords:** *Noccaea kovatsii, Noccaea praecox,* hyperaccumulation, nickel, ultramafics, metalophytes, serpentinophytes

#### Scientific field: Biology

Scientific subfield: Ecology, biogeography and environmental protection

# SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Teški metali u životnoj sredini	1
1.2 Opšte karakteristike i rasprostranjenje ultramafita	1
1.3 Fizičko-hemijske karakteristike ultramafitskih zemljišta	2
1.4 Strategije serpentinofita	3
1.5 Hiperakumulacija u okviru familije Brassicaceae	6
1.5.1 Hiperakumulacija u okviru roda <i>Noccaea</i>	8
1.6 Fiziološki odgovori biljaka na nikl	8
1.7 Rod Noccaea Moench, Suppl. Meth.: 89 (1802)	10
1.7.1 Noccaea praecox (Wulfen) F.K.Mey., Feddes Repert. 84: 462 (1973)	12
1.7.2 Noccaea kovatsii (Heuff.) F.K.Mey., Feddes Repert. 84: 461 (1973)	12
2. CILJEVI RADA	14
3. MATERIJAL I METODE	15
3.1 Istraživano područje	15
3.2 Klasifikacija staništa	15
3.3 Bioklimatski faktori	15
3.4 Reagensi	19
3.5 Oprema	19
3.6 Analize zemljišta	20
3.6.1 Uzorkovanje zemljišta	20
3.6.2 Mehanički sastav zemljišta	20
3.6.3 Određivanje pH vrednosti zemljišta	20
3.6.4 Određivanje sadržaja organske materije	20
3.6.5 Određivanje koncentracije lako pristupačnog fosfora i kalijuma	20
3.6.6 Određivanje koncentracije kalcijuma i magnezijuma u zemljištu	21
3.6.7 Analiza sadržaja metala u zemljištu	21
3.7 Analize biljnog materijala	21
3.7.1 Uzorkovanje biljnog materijala	21
3.7.2 Analiza sadržaja hemijskih elemenata u biljnom materijalu	22
3.7.3 Potencijal za bioakumulaciju i translokaciju analiziranih elemenata	22
3.8 Gajenje biljaka u kontrolisanim uslovima	22
3.8.1 Prikupljanje semena	22
3.8.2 Isklijavanje	23
3.8.3 Priprema supstrata i dizajn eksperimenta	23
3.8.4 Uslovi gajenja	24
3.8.5 Priprema biljnog materijala za analize	25

3.9 Analiza biohemijsko-fizioloških parametara biljaka izlaganih niklu u eksperimentalni uslovima	m 25
3.9.1 Određivanje koncentracije fotosintetičkih pigmenata	25
3.9.2 Određivanje sadržaja antocijana	25
3.9.3 Analiza lipidne peroksidacije	
3.9.4 Analiza sadržaja prolina u listovima gajenih biljaka	26
3.9.5 Analiza sadržaja fenolnih jedinjenja u listovima gajenih biljaka	
3.9.6 Lokalizacija nikla u listovima gajenih biljaka	27
3.10 Statistička analiza rezultata	27
4. REZULTATI	
4.1 Tipovi staništa na kojima je zabeleženo prisustvo N. kovatsii i N. praecox	
4.2 Bioklimatske karakteristike lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje N. kovatsii i	<i>N</i> .
praecox	31
4.3 Fizičko-hemijske karakteristike zemljišta	
4.3.1 Granulometrijski sastav zemljišta	
4.3.2 pH zemljišta, sadržaj organske materije, azota, fosfora i kalijuma	34
4.3.3 Koncentracije kalcijuma i magnezijuma	
4.3.4 Koncentracije gvožđa, mangana, cinka i bakra	
4.3.5 Koncentracije nikla i hroma	42
4.3.6 Koncentracije olova, kadmijuma i kobalta	43
4.4 Analize biljnog materijala	47
4.4.1 Sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima <i>N</i> kovatsii	47
4.4.2 Sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima <i>N</i> praecox	<sup>7</sup> . 57
4.5 Potencijal za akumulaciju	67
4.6 Korelacione analize	71
4.7 Sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u bilikama gajenim u eksperimentalnim uslo	ovima 73
4.7.1 Koncentracije fosfora i kalijuma	
4.7.2 Koncentracije kalcijuma i magnezijuma	
4.7.3 Koncentracije gvožđa	
4.7.4 Koncentracije mangana	
4.7.5 Koncentracije cinka	
4.7.6 Koncentracije bakra	77
4.7.7 Koncentracije nikla	77
4.7.8 Koncentracije hroma	77
4.7.9 Koncentracije olova	78
4710 Koncentracije kodmijume	
4.7.10 Koncentracije kaunijuna	
4.7.11 Koncentracije kobalta	

4.9 Koncentracije fotosintetičkih pigmenata	
4.10 Koncentracija antocijana	93
4.11 Intenzitet lipidne peroksidacije	94
4.12 Koncentracija prolina	95
4.13 Koncentracije fenolnih jedinjenja	98
4.14 Histohemijska lokalizacija nikla u listovima gajenih biljaka	105
5. DISKUSIJA	108
5.1 Tipovi staništa na kojima je izvršeno uzorkovanje <i>N. kovatsii</i> i <i>N. praecox</i>	108
5.2 Bioklimatske karakteristike lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje <i>N. kovatsii</i> i <i>N</i> praecox	V. 108
5.3 Fizičko-hemijske karakteristike zemljišta	109
5.4 Sadržaj analiziranih elemenata u biljnom materijalu	111
5.4.1 Fosfor i kalijum	111
5.4.2 Kalcijum i magnezijum	113
5.4.3 Gvožđe	113
5.4.4 Mangan	113
5.4.5 Cink	114
5.4.6 Bakar	115
5.4.7 Nikl	115
5.4.8 Hrom	116
5.4.9 Olovo	117
5.4.10 Kadmijum	117
5.4.11 Kobalt	118
5.5 Koncentracije nikla kod gajenih biljaka i njegovi efekti na akumulaciju analiziranih potencijalno toksičnih metala	119
5.6 Biomase	120
5.7 Koncentracije fotosintetičkih pigmenata	121
5.8 Koncentracija antocijana	122
5.9 Lipidna peroksidacija	122
5.10 Koncentracija prolina	123
5.11 Koncentracije fenolnih jedinjenja	124
5.12 Histohemijska lokalizacija nikla u tkivima gajenih biljaka	125
6. ZAKLJUČCI	126
7. LITERATURA	129
8. PRILOZI	140

# 1. UVOD

#### 1.1 Teški metali u životnoj sredini

Zagađenje metalima i metaloidima poslednjih decenija predstavlja jedan od glavnih uzročnika zagađenja životne sredine (Bradl 2005). Ova grupa zagađujućih materija je dugo vremena bila nazivana teškim metalima, iako neki od ovih elemenata nisu ispunjavali osnovni kriterijum za svrstavanje u grupu "teških", odnosno nisu imali gustinu veću od 5 g cm<sup>-3</sup>, a neki od elemenata se nisu mogli smatrati metalima (Ali & Khan 2018). Zbog svega navedenog se u literaturi, kao dosta precizniji, koristi termin "potencijalno toksični elementi" (PTE), koji se zasniva na činjenici da toksičnost nekog elementa u najvećem broju slučajeva ne određuje sam element, već njegova koncentracija (Pourret & Hursthouse 2019).

Izvori potencijalno toksičnih elemenata se mogu podeliti u dve osnovne grupe: prirodni i veštački. Prirodni ili litogeni izvori se odnose prvenstveno na stene, čijim se raspadanjem PTE oslobađaju u zemljište i postaju u većoj ili manjoj meri dostupni biljkama i drugim organizmima (Bradl 2005). Posebno su značajni ultramafiti, stene prirodno bogate većim brojem PTE, pre svega Fe, Ni, Cr, Co (Brooks 1987). Prirodnim izvorima PTE u životnoj sredini smatraju se i vulkanske erupcije, kao ne toliko čest, ali veoma značajan izvor PTE. Veštački ili antropogeni izvori su veoma raznovrsni - rudarstvo, prerada rude, sagorevanje goriva, intenzivna poljoprivreda, industrijski otpad, kanalizacioni mulj i sl. (Zwolak *et al.* 2019). Vađenje i prerada rude se ističe kao generator izuzetno velike količine PTE, koji se najčešće bez ikakve prerade odlažu u blizini rudnika u vidu jalovine (Jakovljević *et al.* 2021a).

#### 1.2 Opšte karakteristike i rasprostranjenje ultramafita

Termin serpentiniti je u botaničkoj literaturi opšte prihvaćen i njime se označavaju ultramafiti, kao tip stena koji u sebi sadrži 90% feromagnezijumskih, tj. mafitskih minerala (Brooks 1987; Echevarria 2021). Dodatno, zemljišta razvijena nad ovom podlogom se takođe najčešće nazivaju serpentinska, iako one ne moraju sadržavati ni jedan od minerala iz grupe serpentinita *sensu stricto*. Zbog preciznosti terminologije, poslednjih godina se i u relevantnoj botaničkoj literaturi sve češće koristi termin ultramafiti, kao širi pojam, koji između ostalih, obuhvata i serpentinite (Jaffré 1992; Boyd *et al.* 2009; Salihaj *et al.* 2018).

Ultramafitske stene, kao i zemljišta koja se nad njima razvijaju, široko su rasprostranjene i prisutne su na svim kontinentima i u svim klimatskim zonama, i čine nešto iznad 3% površine Zemlje (Chiarucci & Baker 2007; Guillot & Hattori 2013). Najveće ultramafitske površine u Evropi nalaze se na području Balkanskog poluostrva i to u centralnoj i istočnoj Bosni, centralnoj i zapadnoj Srbiji, pružajući se ka Albaniji i Epiru i Tesaliji u Grčkoj. Manje površine su prisutne i u delovima severoistočne Srbije, delovima Bugarske, kao i u dolini reke Pčinje u Makedoniji (Stevanović *et al.* 2003). Distribucija ultramafita na Balkanskom poluostrvu prikazana je na Slici 1.

Hemijski i mineraloški sastav ultramafitskih stena može značajno da varira. U njihovom sastavu su najčešće prisutne različite kombinacije minerala olivina, ortorombičnih i monoklinih piroksena, hornblende, kao i sekundarnih produkata alteracije ovih minerala, među kojima su serpentinski minerali, fibrozni amfiboli i talk. U sastav ultramafitskih stena često ulaze i oksidi gvožđa, hromit i biotit (Brady *et al.* 2005). Ove stene su podložne metamorfnim procesima koji uključuju i serpentinizaciju, tj. hidrataciju olivina i piroksena koja rezultuje formiranjem serpentinskih minerala - hrizotila, lizardita i antigorita. Na primer, kada se u procesu serpentinizacije peridotita, stene izgrađene prvenstveno od olivina i piroksena, transformiše većina ovih minerala, stena se može klasifikovati kao serpentinit (O'Hanley 1996). Razlika između peridotita i serpentinita se jednostavno uočava na terenu - peridotit je znatno tamniji usled precipitacije oksida gvožđa, dok je serpentinit zeleniji i usled prisustva čestica talka i drugih minerala gline ima teksturu koja podseća na zmijsku kožu, odakle i sam naziv vodi poreklo (Echevarria 2021).



Slika 1. Distribucija ultramafita na Balkanskom poluostrvu (Stevanović et al. 2003).

Procesima raspadanja ultramafitskih stena mogu nastati različiti tipovi zemljišta, a na njih može uticati klima datog područja, karakteristike reljefa, biotički faktori, kao i hemijski sastav matičnog supstrata (Proctor & Woodel 1975). Iako osobine zemljišta koja nastaju na ultramafitima mogu značajno varirati, Whittaker (1954) navodi tri zajedničke karakteristike svih ultramafitskih područja: niska produktivnost biljaka, visok stepen endemizma, kao i specifična vegetacija koja se značajno razlikuje od vegetacije okolnih područja. Slično ultramafitskom zemljištu, specifičnosti vegetacije na ultramafitskim područjima uslovljene su brojnim faktorima, koji uključuju fizičkohemijske karakteristike zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom, ali i klimu, floristički sastav, antropogeni uticaj i dr.

#### 1.3 Fizičko-hemijske karakteristike ultramafitskih zemljišta

Ultramafitska zemljišta se u literaturi generalno opisuju kao nepovoljna za razvoj biljaka. Ona su često plitka, skeletna i podložna eroziji, što je posebno izraženo na nagibima. Sadržaj gline je u ultramafitskim zemljištima najčešće izuzetno nizak. Navedene karakteristike doprinose i niskom vodnom kapacitetu ovih zemljišta, kao i ograničenoj dubini za razvoj korenovog sistema, te su biljke koje se na njima razvijaju često izložene suši (Proctor & Woodell 1975; Brady *et al.* 2005). I pored toga što su ultramafitska zemljišta često plitka i skeletna, njihova dubina može znatno varirati u zavisnosti od brojnih faktora. Na ravnom terenu ona često mogu biti dobro razvijena sa dubinama i do 120 cm, kao npr. šumska zemljišta u centralnoj Evropi (Proctor & Woodell 1975). Boja zemljišta formiranih nad ultramafitskim stenama takođe može znatno varirati, prvenstveno u zavisnosti od njihovog hemijskog sastava i može biti crvena, zelena, plava ili crna (Kazakou *et al.* 2008). Iako fizičke karakteristike u određenoj meri mogu doprineti neplodnosti ultramafitskih zemljišta i razvoju specifične vegetacije na njima, smatra se da one ipak nisu presudne, te da neplodnosti zemljišta u najvećoj meri doprinose njegove hemijske karakteristike. Interesantno je naglasiti i da je studijama u

SAD utvrđeno da neplodna ultramafitska zemljišta mogu imati mehanički sastav vrlo sličan plodnim poljoprivrednim zemljištima (Proctor & Woodell 1975). Iako fizički faktori najčešće nisu presudni za opstanak biljaka na ultramafitskim zemljištima, neophodno ih je posmatrati kao deo kompleksa faktora koji mogu uticati na razvoj flore na ultramafitskim područjima.

Hemijske karakteristike ultramafitskih zemljišta u najvećoj meri zavise od hemijskih karakteristika matičnog supstrata na kome se razvijaju. Nepovoljne hemijske karakteristike ultramafitskih zemljišta moguće je podeliti u tri osnovne grupe prema Kazakou *et al.* (2008):

- Niska dostupnost kalcijuma u odnosu na magnezijum
- Deficit esencijalnih makronutrijenata
- Visoke koncentracije fitotoksičnih metala/metaloida.

Niske koncentracije kalcijuma u odnosu na magnezijum predstavljaju jednu od osnovnih karakteristika ultramafitskih zemljišta, što rezultira odnosom Ca/Mg < 1 (Brooks 1987). Ovaj specifičan odnos rezultat je činjenice da su ultramafitski minerali izrazito bogati Mg. Nasuprot tome, molalni odnos Ca/Mg u zemljištima koja se razvijaju nad drugim tipovima matičnih supstrata po pravilu je > 1 (Brady *et al.* 2005). Koncentracije Mg prisutne u ultramafitskim zemljištima smatraju se potencijalno toksičnim za biljke, a dodatno mogu uticati na dostupnost Ca, što predstavlja poseban izazov za opstanak biljaka na ultramafitskim zemljištima (Proctor 1971; Brooks 1987). Iako ultramafitska zemljišta generalno karakteriše odnos Ca/Mg < 1, većim brojem studija na području Balkanskog poluostrva je utvrđeno da ovaj odnos može značajno varirati, te imati vrednosti > 1 (Tomović *et al.* 2013; Jakovljević *et al.* 2019; Šinžar-Sekulić *et al.* 2019)

Deficit makronutrijenata u ultramafitskim zemljištima zabeležen je kao jedan od limitirajućih faktora za rast biljaka na širokom geografskom prostoru (Kazakou *et al.* 2008). Niske koncentracije esencijalnih makronutrijenata, kao što su fosfor i kalijum u ultramafitskim zemljištima uzrokovane su niskim koncentracijama ovih elemenata u matičnom supstratu (Burt *et al.* 2001), a one su niže u odnosu na stene kao što su granit, gabro ili peščari (Proctor & Woodell 1975). Iako u proseku ultramafitska zemljišta karakteriše deficit fosfora i kalijuma, svakako postoje izuzeci u različitim regionima širom sveta, te je u ultramafitskim zemljištima zabeležen i "normalan" sadržaj ovih elemenata, dok je u centralnoj Kaliforniji u ultramafitskom zemljištu detektovan i znatno viši sadržaj azota, fosfora i kalijuma u ultramafitskom u odnosu na neultramafitsko zemljište (Proctor & Woodell 1975).

Ultramafitska zemljišta karakterišu i povišene koncentracije potencijalno toksičnih metala, prvenstveno nikla, hroma, kobalta i mangana, čiji je sadržaj u zemljištu uslovljen hemizmom matične stene. Poseban izazov za opstanak biljaka na ovim zemljištima može predstavljati mogućnost adaptacije na povišen sadržaj nikla u podlozi. Naime, koncentracije kobalta u ultramafitskim zemljištima su za jedan do dva reda veličine niže u odnosu na nikl, dok je hrom, čije koncentracije se mogu uporediti sa koncentracijama nikla, uglavnom prisutan u formi nerastvornih minerala, kao što je hromit (Kazakou *et al.* 2008). Na dostupnost potencijalno toksičnih metala biljkama može uticati veliki broj faktora, među kojima se izdvajaju pH, osobine primarnih i sekundarnih minerala, stepen serpentinizacije, koncentracije anjona kao što je fosfor i sadržaj organske materije (Whittaker 1954; Pędziwiatr *et al.* 2018). Tako je npr. zabeležena negativna korelacija između biodostupnosti Zn, Cd, Cu i Ni i pH vrednosti zemljišta, usled efekta pH vrednosti na rastvorljivost i specijaciju ovih metala u zemljišnom rastvoru (Hou *et al.* 2019).

#### **1.4 Strategije serpentinofita**

Biljke koje se razvijaju na ultramafitskim zemljištima, poznate kao serpentinofite, poseduju specifične morfo-anatomske, strukturne i funkcionalne adaptacije, kao odgovor na kompleks nepovoljnih fizičkih, hemijskih i biotičkih karakteristika sredine u kojoj rastu. Set adaptacija serpentinofita koji im omogućava preživljavanje u izrazito nepovoljnim uslovima u literaturi je poznat kao "serpentinski sindrom" (Jenny 1980). Serpentinofite poseduju i niz morfoloških adaptacija

(serpentinomorfoza) po kojima se mogu razlikovati od biljaka sa drugih tipova podloga. One uključuju redukciju veličine listova i drugih organa, izuzetno dobro razvijen korenov sistem, često su glaukozne, a kutikula ili voštani slojevi mogu biti izuzetno dobro razvijeni (Proctor & Woodell 1975).

Serpentinofite mogu biti endemične isključivo za ultramafitska zemljišta i tada se nazivaju "obligatne serpentinofite". Neobligatne, tj. fakultativne serpentinofite mogu se javiti i na drugim tipovima supstrata, a u literaturi se označavaju i kao "*bodenvag*" vrste (Kruckeberg 1967).

Niske koncentracije makronutrijenata u ultramafitskim zemljištima predstavljaju jedan od ograničavajućih faktora za razvoj serpentinofita, a istraživanja su pokazala da se deficit samo jednog od elemenata ne može direktno dovesti u vezu sa neproduktivnošću ovih tipova zemljišta, već se radi o kompleksu faktora koji uključuju deficit većeg broja nutrijenata, kao što su Ca, P, K i N (Kazakou *et al.* 2008). Nagy & Proctor (1997a) su izneli hipotezu da nizak sadržaj nutrijenata utiče na nisku produktivnost biljaka na ultramafitskim zemljištima u Škotskoj u većoj meri od efekata visokih koncentracija potencijalno toksičnih metala. Adaptacije serpentinofita na deficit makronutrijenata često uključuju redukciju biomase i ograničen rast. U drugoj studiji, Nagy & Proctor (1997b) su pokazali da *Cochlearia pyrenaica* DC., ali i druge autohtone vrste na istraživanom ultramafitskom lokalitetu imaju sposobnost tolerancije deficita nutrijenata, ali da se u slučaju kada ovaj deficit izostane, npr. pri presađivanju biljaka na druge tipove zemljišta, javlja brza produkcija biomase i reprodukcija. U studiji O'Dell & Claassen (2006) nisu utvrđene razlike u sadržaju azota i fosfora kod vrste *Achillea millefolium* L. sa ultramafitskih i neultramafitskih zemljišta, što ukazuje na adaptacije ultramafitskih populacija koje omogućavaju efikasno usvajanje ovih elemenata i u slučaju deficita.

Nepovoljan odnos koncentracija kalcijuma i magnezijuma u ultramafitskim zemljištima znatno utiče na rast biljaka. Pokazano je i da su serpentinofite razvile odgovarajuće mehanizme koji im omogućavaju toleranciju povećanih koncentracija Mg u odnosu na Ca. Eksperimentima na populacijama *A. millefolium* sa ultramafitskih i neultramafitskih zemljišta utvrđeno je da kod populacija sa ultramafita dolazi do selektivnog usvajanja i transporta Ca, čime se u biljci održava znatno povoljniji odnos Ca/Mg u odnosu na to kada su biljke sa neultramafita izložene nepovoljnom odnosu Ca/Mg u zemljištu. Selektivna akumulacija Ca u odnosu na Mg na ultramafitskim zemljištima može se smatrati jednom od najznačajnijih adaptacija serpentinofita (O'Dell & Claassen 2006).

Biljne vrste koje se razvijaju na ultramafitskom zemljištu mogu imati potpuno različite mehanizme tolerancije na visoke koncentracije potencijalno toksičnih elemenata koji su u njemu prisutni (Gabrielli *et al.* 1990; Kazakou *et al.* 2008). Strategije tolerancije na visoke koncentracije potencijalno toksičnih elemenata kod serpentinofita odgovaraju strategijama koje se generalno razvijaju kod biljaka prisutnih na metalifernim zemljištima, bilo da su ona prirodnog ili antropogenog porekla (Antonovics *et al.* 1971; Ash *et al.* 1994). Utvrđeno je da su kod određenih biljnih vrsta sa metalifernih zemljišta prisutne izuzetno visoke koncentracije određenih elemenata u nadzemnim delovima, kod drugih se na istim staništima visoke koncentracije beleže isključivo u podzemnim organima, dok neke od vrsta gotovo u potpunosti sprečavaju usvajanje ovih elemenata. U zavisnosti od toga da li sprečavaju usvajanje metala/metaloida, ili se oni manje ili više efikasno usvajaju i zadržavaju u podzemnim organima ili predominantno transportuju u nadzemne organe, prema Baker (1981) biljke se mogu podeliti u 3 osnovne grupe:

1) Ekskluderi – biljke koje izlučivanjem određenih organskih jedinjenja u rizosferu vezuju metale u zemljištu i sprečavaju njihovo usvajanje. U ovu grupu ubrajaju se i biljke koje aktivno usvajaju određene teške metale, ali ih skladište u podzemnim biljnim organima i sprečavaju njihov transport u nadzemne delove.

2) Indikatori – usvajanje i transport metala su pod metaboličkom kontrolom i njihove koncentracije u biljnim organima odgovaraju koncentracijama u zemljištu, sve dok koncentracije u zemljištu nisu toliko visoke da prevaziđu prag tolerancije date vrste. U tom slučaju dolazi do nekontrolisanog usvajanja, redukcije rasta i smrti biljke.

3) Akumulatori - biljke koje skladište metale i metaloide u nadzemnim organima u visokim koncentracijama. Metali i metaloidi se usvajaju putem korena i aktivno transportuju u nadzemne biljne organe.

Posebnu grupu akumulatora čine biljke hiperakumulatori. Termin "hiperakumulacija" po prvi put je upotrebljen da bi se opisale neuobičajeno visoke koncentracije nikla kod tropske vrste Sebertia acuminata Pierre ex Baill. (syn. Pycnandra acuminata (Pierre ex Baill.) Swenson & Munzinger) na Novoj Kaledoniji (Jaffré et al. 1976), a nakon toga je često korišćen u stručnoj literaturi. Precizniju definiciju pojma hiperakumulacije nikla daje Reeves (1992): "hiperakumulator nikla je biljka kod koje je koncentracija nikla od najmanje 1000 mg kg<sup>-1</sup> zabeležena u suvoj masi nadzemnih delova barem jedne individue koja raste na svom prirodnom staništu". Ova definicija ukazuje na činjenicu da hiperakumulatore ne bi trebalo definisati na osnovu koncentracija metala u celim bilikama, ili isključivo u podzemnim delovima. Jedan od razloga za to je što je često nemoguće dovoljno efikasno očistiti podzemne delove biljaka od čestica metalifernog zemljišta, kao i zbog činjenice da je strategija alokacije metala u podzemnim organima biljaka znatno češća u odnosu na aktivnu akumulaciju u nadzemnim organima (Baker 1981; Baker et al. 1994). Definicija ukazuje i na to da biljke ne bi smele biti smatrane hiperakumulatorima kada su visoke koncentracije metala ili metaloida zabeležene isključivo u eksperimentalnim uslovima. Novije definicije pojma hiperakumulacije ne odnose se samo na neuobičajeno visoke koncentracije nikla u biljnim tkivima, već se hiperakumulatorima smatraju biljke koje u svojim listovima akumuliraju metale ili metaloide u koncentracijama koje su za barem jedan, a najčešće dva do četiri reda veličine više u odnosu na okolne biljke, bez ispoljavanja simptoma toksičnosti (Krämer 2010; van der Ent et al. 2013). Važno je istaći i da se akumulacijom metala u listovima biljaka smatra isključivo aktivno usvajanje i transport putem korenovog sistema, dok se atmosferska depozicija na površini listova ne sme uzimati u obzir. Mogućnost hiperakumulacije jednog ili više metala/metaloida opisana je kod nešto više od 700 vrsta biljaka (Nkrumah et al. 2018), što čini približno 0,2% poznatih vrsta skrivenosemenica. Rezultati istraživanja pokazuju da najveći broj biljaka hiperakumulatora poseduje mogućnost hiperakumulacije jednog elementa, ali je poznat i određeni broj vrsta koje imaju mogućnost hiperakumulacije više metala (van der Ent et al. 2018). Hiperakumulacija metala se neizbežno povezuje sa izrazitom sposobnošću biljaka da detoksifikuju metale akumulirane u nadzemnim organima, a samim tim i sa hipertolerancijom metala (Krämer 2010). Pored hipertolerancije i aktivnog usvajanja metala i akumulacije u nadzemnim biljnim organima, dodatni kriterijum za svrstavanje određene biljne vrste u grupu hiperakumulatora podrazumeva da koncentracija datog metala u listovima biljke bude iznad nominalnog praga, koji je empirijski utvrđen dugogodišnjim istraživanjima i analizama koncentracija metala u biljkama. Nominalni kriterijumi za hiperakumulaciju definisani su za sledeće elemente: Cd 100 mg kg<sup>-1</sup> suve mase listova; 300 mg kg<sup>-1</sup> za Co, Cr, i Cu; 1000 mg kg<sup>-1</sup> za Ni; 3000 mg kg<sup>-1</sup> za Zn i 10000 mg kg<sup>-1</sup> za Mn (van der Ent *et al.* 2013).

Pored obligatnih hiperakumulatora koji se javljaju isključivo na metalifernim zemljištima, kao što su ultramafitska, fakultativni hiperakumulatori se mogu javljati i na drugim tipovima supstrata, ali hiperakumulaciju uglavnom vrše na metalifernim zemljištima. Razlozi za to mogu biti višestruki. Izostanak hiperakumulacije na nemetalifernim zemljištima u određenim slučajevima se može objasniti niskim pristupačnim koncentracijama datog elementa u zemljištu, ali može biti uzrokovan i genetičkim razlikama među edafskim ekotipovima vrste usled kojih ekotipovi na nemetalifernim zemljištima ne poseduju sposobnost hiperakumulacije (Krämer 2010; van der Ent *et al.* 2013).

Najveći broj do sada poznatih hiperakumulatora su hiperakumulatori nikla i sa približno 520 poznatih vrsta čine gotovo 75% svih opisanih hiperakumulatora. Hiperakumulacija nikla prvenstveno je vezana za ultramafitska područja, a učestalost hiperakumulatora u ultramafitskim florama je u proseku oko 2% (Lopez *et al.* 2019). Pokazano je da su oko 90% opisanih hiperakumulatora nikla serpentinski endemiti. Hiperakumulacija nikla opisana je u više od 50 familija, a najveći broj hiperakumulatora Ni je zabeležen u familijama Brassicaceae i Euphorbiaceae, od kojih svaka sadrži približno po 25% svih do sada opisanih hiperakumulatora Ni (Krämer 2010; Merlot *et al.* 2021).

#### 1.5 Hiperakumulacija u okviru familije Brassicaceae

Dosadašnja istraživanja pokazuju da je u okviru familije Brassicaceae hiperakumulacija metala evoluirala nezavisno najmanje šest puta, a pored Ni, kod predstavnika ove familije zabeležena je i hiperakumulacija Zn, Cd, As i Se (Krämer 2010). Najveći broj do sada poznatih hiperakumulatora Zn pripada upravo familiji Brassicaceae, a otkriveni su na antropogeno kontaminiranim zemljištima u blizini rudnika ili na odlagalištima jalovine. Usled hemizma ruda Zn, određeni broj hiperakumulatora ovog metala takođe ima sposobnost hiperakumulacije Cd i/ili Pb koji su geohemijski povezani sa Zn, te se javljaju zajedno u rudama. Pregled hiperakumulacije potencijalno toksičnih metala kod predstavnika familije Brassicaceae dat je na Slici 2. Među hiperakumulatorima Ni zabeležene su određene vrste sa izuzetno visokim koncentracijama ovog metala, te tako lateks vrste Pvcnandra acuminata iz Nove Kaledonije sadrži čak 25% Ni, dok je u floemu vrste Phyllanthus balgooyi Petra Hoffm. & A.J.M.Baker iz Malezije zabeleženo 16,9% Ni (Deng et al. 2018). Pored brojnih hiperakumulatora Ni u tropskim predelima, veliki broj ovih vrsta je zabeležen i u evromediteranskom regionu. Među njima je i značajan broj vrsta u okviru roda Odontarrhena (syn. Alyssum pro parte, sect. Odontarrhena), te su kod vrste O. muralis (Waldst. & Kit.) Endl. detektovane koncentracije Ni i do 34000 mg kg<sup>-1</sup> (Chaney et al. 2007; Bani et al. 2010). Osim vrsta iz roda Odontarrhena, hiperakumulacija Ni, ali i Cd i Zn zabeležena je kod većeg broja vrsta iz roda Noccaea.



Slika 2. Pregled hiperakumulacije metala i metaloida u okviru familije Brassicaceae (preuzeto iz Krämer 2010).

#### 1.5.1 Hiperakumulacija u okviru roda Noccaea

Jedan od najatraktivnijih modela za proučavanje hiperakumulacije Ni, Zn i Cd predstavlja vrsta N. caerulescens (J.Presl & C.Presl) F.K.Mey., fakultativna serpentinofita koja uspešno raste i na kalaminskim zemljištima sa visokim sadržajem Pb/Zn/Cd, ali i na različitim tipovima nemetalifernih zemljišta. Kod ove vrste je u velikom broju studija analizirana nasledna intraspecijska varijabilnost u kapacitetu za akumulaciju i toleranciju Ni, Zn i Cd te je posledično opisan i veći broj edafskih ekotipova N. caerulescens (Gonneau et al. 2014, 2017). Hiperakumulacija Zn kod ove vrste zabeležena je na kalaminskim zemljištima, ali i na nemetalifernim zemljištima. Istovremeno, hiperakumulacija Cd i Ni dominantno je detektovana na metalifernim zemljištima, tj. kalaminskim (Cd) i ultramafitskim (Ni). Međutim, u studiji Sirguey et al. (2018) hiperakumulacija Ni zabeležena je u eksperimentalnim uslovima i u populacijama sa ultramafita, kao i kod biljaka poreklom sa nemetalifernih zemljišta. Rezultati većeg broja studija ukazuju na to da hiperakumulacija Zn predstavlja osobinu koja je specifična za vrstu N. caerulescens, dok je akumulacija i tolerancija Ni i Cd prisutna u određenim populacijama, prvenstveno na metalifernim zemljištima, ali gotovo sigurno nije karakteristična za vrstu (Assunção et al. 2001, 2003; Sterckeman et al. 2017; Kozhevnikova et al. 2020). Nasuprot tome, rezultati istraživanja ukazuju na to da je kod N. goesingensis (Halácsy) F.K.Mey. i N. fendleri subsp. glauca (A.Nelson) Al-Shehbaz & M. Koch hiperakumulacija Ni konstitutivna osobina (Assunção et al. 2003; Richau & Schat 2009).

Vrsta *N. caerulescens* filogenetski je vrlo bliska vrsti *N. praecox* (Wulfen) F.K.Mey., na šta ukazuju analize ITS sekvenci (Likar *et al.* 2010). Analizom herbarijumskih kolekcija, kod primeraka *N. praecox* zabeležene su koncentracije Zn i do 15500 mg kg<sup>-1</sup>, dok je u studiji Bani *et al.* (2010) na ultramafitima u Bugarskoj detektovana koncentracija od 13600 mg kg<sup>-1</sup> Ni u nadzemnim delovima biljaka. U studiji Likar *et al.* (2010) u neposrednoj blizini topionice olova, na lokalitetima Mežice i Žerjav u Sloveniji, u nadzemnim delovima *N. praecox* zabeležene su koncentracije Zn više od 8000 mg kg<sup>-1</sup>, kao i koncentracije Cd više od 2000 mg kg<sup>-1</sup>. Visoke koncentracije Zn (> 4000 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležene su i u uzorcima vrste *N. kovatsii* (Heuff.) F.K.Mey. (Bani *et al.* 2010), dok je na ultramafitima Bugarske kod ove vrste zabeležena i koncentracija Ni viša od 21000 mg kg<sup>-1</sup> (Bani *et al.* 2010).

Visok stepen varijabilnosti u potencijalu za toleranciju i hiperakumulaciju Ni, Zn i Cd utvrđen među populacijama *N. caerulescens* detaljno je analiziran *in situ*, ali i u eksperimentalnim uslovima (Assunção *et al.* 2001, 2003; Gonneau *et al.* 2014, 2017; Sterckeman *et al.* 2017; Kozhevnikova *et al.* 2020). Iako su široko rasprostanjene na Balkanskom poluostvru, istraživanja fakultatativnih serpentinofita *N. kovatsii* i *N. praecox*, u smislu njihovog potencijala za hiperakumulaciju nikla u Srbiji i regionu do sada su uglavnom bila ograničena na ultramafitske lokalitete, a akumulacija Ni analizirana je isključivo *in situ* (Bani *et al.* 2010; Tomović *et al.* 2013; Matko Stamenković *et al.* 2017).

#### 1.6 Fiziološki odgovori biljaka na nikl

Nikl predstavlja esencijalni mikronutrijent za biljke, a čini integralni deo nekoliko enzima koji su značajni za odvijanje različitih biohemijskih i fizioloških procesa. Nikl je svrstan u grupu esencijalnih elemenata za biljke kada je otkriveno da ulazi u sastav ureaze, a daljim istraživanjima je utvrđeno da ulazi u sastav većeg broja enzima, kao što su hidrogenaza, peptid deformilaza, acetil-S-koenzim A sintaza, metilkoenzim M reduktaza, kao i superoksid dismutaza koja sadrži Ni (NiSOD) (Shahzad *et al.* 2018). Koncentracije ovog elementa kod većine biljaka kreću se u opsegu od 0,01 do 5 mg kg<sup>-1</sup>, a studijama je utvrđeno da je kod većine biljaka za obavljanje fizioloških procesa optimalna koncentracija Ni 0,1 mg kg<sup>-1</sup> (Seregin & Kozhevnikova 2006). Deficit nikla izuzetno retko se javlja kod biljaka usled činjenice da je za njihov optimalan rast i razvoj ovaj metal neophodan u vrlo niskim koncentracijama. Istovremeno, povišene koncentracije Ni uzrokuju različite simptome toksičnosti. Toksični efekti nikla na biljke zavise od velikog broja faktora koji uključuju i biljnu vrstu i/ili ekotip,

razvojni stadijum, uslove kultivacije, kao i koncentraciju nikla i vreme izlaganja u zemljištu ili medijumu (Assunção *et al.* 2003; Shahzad *et al.* 2018).

Simptomi toksičnosti nikla uključuju redukciju biomase, oštećenje fotosintetičkog aparata, kao i redukciju sadržaja hlorofila. Redukcija biomase i korenova i nadzemnih delova biljaka pri izlaganju povišenim koncentracijama Ni zabeležena je kod većeg broja poljoprivrednih kultura (Seregin *et al.* 2003; Seregin & Kozhevnikova 2006), a toksični efekti nikla odražavaju se i na smanjenu produkciju semena i plodova (Chen *et al.* 2009). Analiza odnosa biomase kontrolnih biljaka i biljaka tretiranih niklom smatra se jednim od najpouzdanijih pokazatelja stepena tolerancije date biljne vrste na Ni (Seregin & Kozhevnikova 2006). Nikl dovodi do oštećenja ćelija mezofila, smanjenja koncentracije hlorofila *a* i *b*, kao i poremećaja njihovog odnosa, a može dovesti i do smanjenja koncentracija ksantofila i karotenoida (Chen *et al.* 2009). Sniženje koncentracije hlorofila pri izlaganju biljaka niklu može biti uzrok pojave hloroza izazvanih deficitom Fe i Mg, ali i rezultat inhibicije sinteze hlorofila ili njegove pojačane degradacije (Khalid & Tinsley 1980; Piccini & Malavolta 1992; Ewais 1997).

Usvajanje Ni od strane korenova može imati izražene efekte i na usvajanje drugih esencijalnih elemenata, što se takođe odražava na brojne fiziološke i biohemijske procese biljaka. Antagonizam između jona Ni<sup>2+</sup> i Zn<sup>2+</sup> zabeležen je kod hiperakumulatorskih vrsta kao što su *Noccaea montana* (L.) F.K.Mey., *N. caerulescens* i *Streptanthus polygaloides* A.Gray, dok je kod vrste *N. montana* zabeležen i antagonizam Ni<sup>2+</sup> i Fe<sup>2+</sup> (Seregin & Kozhevnikova 2006). Istovremeno, kod *N. caerulescens* je zabeleženo da deficit Zn ili Fe može stimulisati apsorpciju Ni, dok Co može značajno smanjiti usvajanje Ni (Deng *et al.* 2019).

Pored navedenog, visoke koncentracije Ni kod biljaka mogu indukovati oksidativni stres, tj. povećanu produkciju reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) koje mogu dovesti do lipidne peroksidacije, tj. serije reakcija koje dovode do oksidativnih oštećenja membranskih lipida. Iako Ni nije redoksaktivan metal, te ne može direktno dovesti do produkcije reaktivnih vrsta kiseonika, u visokim koncentracijama može prouzrokovati produkciju superoksid radikala, hidroksil radikala i vodonik peroksida. U odgovor na oksidativni stres uključeni su antioksidativni enzimi, ali i neenzimske komponente odgovora na oksidativni stres koje uključuju i karotenoide, antocijane i brojna druga fenolna jedinjenja, kao i prolin (Gajewska *et al.* 2006; Liang *et al.* 2013). Akumulacija prolina predstavlja jedan od odgovora biljaka na stres indukovan potencijalno toksičnim metalima i može imati ulogu u zaštiti enzima od oksidativnog stresa, formiranjem kompleksa sa slobodnim radikalima. Povećana akumulacija prolina pri odgovoru na stres metalima zabeležena je kod većeg broja biljnih vrsta (Gupta *et al.* 2017), a egzogena aplikacija prolina pri izlaganju graška (*Pisum sativum* L.) povišenim koncentracijama Ni dovela je do smanjenja lipidne peroksidacije (Sachan & Lal 2017). Efekti optimalnih, ali i toksičnih koncentracija nikla na biljke prikazani su na Slici 3.

Iako povišene koncentracije Ni kod većine biljaka dovode do toksičnih efekata, određenom broju vrsta adaptacije omogućavaju toleranciju visokih koncentracija ovog metala u zemljištu. Među njima su i hiperakumulatori Ni koji su razvili odgovarajuće adaptacije za akumulaciju, translokaciju i detoksifikaciju Ni. Jedan od mehanizama koji je uočen kod većeg broja hiperakumulatora Ni jeste depozicija Ni u metabolički manje aktivne delove ćelije, te se Ni prvenstveno deponuje u vakuolama epidermalnih ćelija, što je zabeleženo kod nekoliko hiperakumulatorskih vrsta iz roda *Noccaea*, kao što su *N. caerulescens* (Mattarozzi *et al.* 2015) i *N. tymphaea* (Hausskn.) F.K.Mey. (van der Ent *et al.* 2019).

Utvrđeno je da kod fakultativnih hiperakumulatora, stepen tolerancije nikla može u znatnoj meri da varira između populacija, sa značajnim razlikama u njegovoj akumulaciji i translokaciji, što je I pokazano na većem broju populacija vrste *N. caerulescens* (Assunção *et al.* 2003; Sterckeman *et al.* 2017). Prema dostupnim podacima, eksperimentalne studije potencijala za hiperakumulaciju i toleranciju Ni kod vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* nisu vršene.



Slika 3. Odgovori biljaka na nikl (modifikovano prema Shahzad et al. 2018).

#### 1.7 Rod Noccaea Moench, Suppl. Meth.: 89 (1802)

Veliki broj vrsta koje su danas klasifikovane u okviru roda *Noccaea* (fam. Brassicaceae) tradicionalno su bile uključene u rod *Thlaspi*. Koncept roda *Thlaspi* postavio je Line (Linnaeus 1753), a kasnije je u ovaj rod uključen veliki broj vrsta. U bazi International Plant Names Index (IPNI 2021) u okviru ovog roda navodi se 426 imena, dok je prema podacima Global Biodiversity Information Facility (GBIF 2021) u rod *Thlaspi* uključeno 145 taksona. Ovako široko definisan rod ne odgovara realnoj filogenetskoj situaciji, te je stoga, prvenstveno na osnovu anatomije semenjače, izvršena revizija roda i veliki broj vrsta klasifikovan je u znatno preciznije definisan rod *Noccaea* (Koch & German 2013).

Iako je reviziju izvršio Meyer (1973, 1979), rod Noccaea prvi put navodi Moench 1802. godine (Moench 1802) koji je u ovaj rod uključio samo jednu vrstu – Noccaea rotundifolia (L.) Moench, poznatu kao Iberis rotundifolia (L.) ili Lepidium rotundifolium (L.) All, a kasnije široko prihvaćenu kao Thlaspi rotundifolium (L.) Gaudin. Pored roda Noccaea, Meyer (1973, 1979) je definisao još 11 rodova u koje su uključene vrste prethodno svrstane u Thlaspi sensu lato. Interesantno je da je u okviru roda Noccaea klasifikovana većina hiperakumulatorskih vrsta iz roda Thlaspi, čineći monofiletsku grupu (Koch & German 2013). Kasnijim istraživanjima, primenom metoda molekularne biologije, koncept koji je predložio Meyer (1973, 1979) u velikoj meri je potvrđen, a utvrđeno je i da neki od rodova izdvojenih iz roda Thlaspi s.l. međusobno nisu srodni. Takav je i primer Thlaspi s.str., koji je nakon analiza svrstan u tribus Thlaspideae koji je udaljen i nije srodan tribusu Coluteocarpae u kome je rod Noccaea (Franzke et al. 2011; Al-Shehbaz 2012). Daljom reevaluacijom Meyer (2006) je u rod Noccaea svrstao 67 vrsta grupisanih u četiri sekcije i dalje se u velikoj meri oslanjajući na vegetativne odlike, kao i epidermalne ćelije semenog omotača kao karaktere za razdvajanje sekcija u okviru roda, a što značajno ograničava primenljivost ključa za identifikaciju. U sinopsisu roda Noccaea Al-Shehbaz (2014) navodi ukupno 128 vrsta uz precizne bibliografske podatke i tipifikaciju. Kontinuirano ažurirana lista taksona u okviru roda Noccaea data je u bazi za familiju Brassicaceae (Koch et al. 2018; http://brassibase.cos.uni-heidelberg.de). Filogenetska pozicija vrsta N. kovatsii i N. praecox koje su predmet ove doktorske disertacije u okviru tribusa Coluteocarpae prikazana je na Slici 4.



Slika 4. Filogenetska pozicija vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* u okviru tribusa Coluteocarpae (Brassicaceae). Preuzeto iz onlajn baze podataka "Brassibase" (dostupno na <u>http://brassibase.cos.uni-heidelberg.de</u>).

1.7.1 Noccaea praecox (Wulfen) F.K.Mey., Feddes Repert. 84: 462 (1973)

#### (Thlaspi praecox Wulfen, T. cuneifolium Griseb., Noccaea cuneifolia (Griseb.) Holub)

Višegodišnja biljka nerazgranatog korena sa brojnim lisnim rozetama koje mogu biti sterilne ili cvetne, a često su busenasto zbijene. Stabljike su uspravne, nerazgranate, okrugle na poprečnom preseku. Listovi rozete su dužine od 2 do 4 cm, okruglasto do izduženo lopatičasti, suženi u dugačku lisnu dršku, celog oboda ili nazubljeni, na naličju su često ljubičasti. Listovi stabla su uvoliko prošireni pri osnovi, izduženo jajasti, sedeći i obuhvataju stabljiku, na vrhu manje-više šiljati i većinom po obodu fino nazubljeni. Svi listovi su kožasti, plavičastozeleni i goli. Cvetovi su složeni u zbijene, a kasnije izdužene grozdaste cvasti. Čašični listići su uzano eliptični, dugački 2 do 3 mm, duž oboda beli, a u vršnom delu manje-više ljubičasti. Krunični listići su beli ili bledoljubičasti, dugački 5 do 7 mm, dva ili više puta duži od čašice, izduženo klinastog oblika, na vrhu gotovo odsečeni. Širina listića krunice je 2 do 3 mm, a prema osnovi se sužavaju u kratak nokatac. Prašnici su mnogo kraći od kruničnih listića, prašnice su žute. Plod (ljuščica) je dužine 7 do 9 mm, trouglasto obrnuto srcast, a pri osnovi je klinasto sužen. Plod je na vrhu većinom široko i plitko urezan, u donjoj četvrtini je uzano, a naviše široko krilat. Krila su na vrhu široka kao komore ploda, a vrhovi krila su manje-više tupi. Krila su unutrašnjim delom srasla sa osnovom stubića koji je dužine 2 do 3 mm, ređe 3,5 mm, tanak i štrči daleko izvan zareza na plodu. U svakoj komori se nalaze 2 do 4 semena. Semena su okruglasto eliptična, spljoštena, dužine oko 1,2 mm, svetložute boje (Diklić 1972). Broj hromozoma 2n = 14 (Druskovic & Lovka 1995).

Raste na padinama pokrivenim žbunjem, na kamenjarima, livadama, u svetlim šumama. U Srbiji je zabeležena u livadskim i šumskim biljnim zajednicama *Brometum erecti* i *Fageto-Hyrcaneto-Colurnetum* (Diklić 1972).

Vrsta je konstatovana u Albaniji, Austriji, Bosni i Hercegovini, Crnoj Gori, Hrvatskoj, Italiji, Srbiji i Sloveniji (Marhold 2011; Slika 5).

### 1.7.2 Noccaea kovatsii (Heuff.) F.K.Mey., Feddes Repert. 84: 461 (1973)

(*Thlaspi kovatsii* Heuff., *T. affine* Schott & Kotschy ex Boiss., *T. longiracemosum* Schur, *T. pawlowskii* Dvořáková, *T. alpinum* var. *affine* (Schott & Kotschy ex) Stoj. & Stef., *T. kovatsii* var. *affine* (Schott & Kotschy ex Boiss.) Nyár; *T. avalanum* Pančić, *T. trojagense* Zapalł., *T. kovatsii* subsp. *schudichii* (Soó) Soó, *Noccaea pawlowskii* (Dvořáková) Holub) (Marhold 2011).

Dvogodišnja ili višegodišnja biljka sa vretenastim korenom. Lisne rozete formiraju rastresite busenove u kojima su prisutne sterilne i cvetne rozete. Stabljike su gole, uspravne ili ređe poluuspravljene, nerazgranate ili ređe sa 1 do 2 tanke grančice. Visina stabljika je od 8 do 25 cm, ređe i do 60 cm. Listovi rozete su široko jajasti, eliptični ili okrugli, nekada širi od svoje dužine. Obod listova rozete je ceo, ređe nazubljen, a na vrhu zaokrugljen; listovi se naglo sužavaju u lisnu dršku. Liska je nekada srcasto urezana. Listovi stabla su izduženo jajasti ili lancetasti, sedeći, a pri osnovi duboko strelasto urezani, obuhvataju stabljiku šiljatim uvolikim proširenjem, a na vrhu su tupi ili zaokrugljeni i nenazubljeni (Diklić 1972). Cvasti su grozdaste, najčešće razgranate, štitolike i guste; zrele cvasti se jako izdužuju. Čašični listići su izduženo jajasti, dužine 2 do 2,5 mm, beli ili zelenkastožućkasti. Krunični listići su beli, obrnuto jajasti i postepeno se sužavaju u klinasti nokatac. Dužina listića krunice je od 5 do 5,5 mm, dok je širina 1 do 1,5 mm. Krunični listići su duplo duži od čašičnih listića. Prašnici su jednostavni, dužine 2 do 3 mm. Drške plodova (ljuščica) su horizontalne, dužine 6 do 10 mm, obično duže od ljuščice. Zreo plod je dužine 5 do 6 mm, klinasto trouglasto obrnuto jajast, a na vrhu manje-više slabo urezan, a nekada gotovo odsečen. Krila na plodu su uska, za polovinu uža od komore. Vrhovi krila se razilaze, a stubić je dužine 1 do 1,5 mm. U svakoj komori se najčešće nalazi 2 do 4 jajasta semena, dužine oko 2 mm, otvorenomrke boje (Diklić 1972). Broj hromozoma 2n = 14 (Druskovic & Lovka 1995).

Raste na suvim pašnjacima, zatravljenim padinama i kamenjarima, a česta je u kserofitnim zajednicama *Poterieto-Festucetum vallesiacae*, *Potentilleto-Caricetum humilis*, *Lamieto-Brometum erecti*, *Agrostidetum vulgaris* (Diklić 1972).

Vrsta je rasprostranjena na području Karpata i Balkanskog poluostrva, a njeno prisustvo zabeleženo je u Albaniji, Bosni i Hercegovini, Bugarskoj, Grčkoj, Mađarskoj, Makedoniji, Rumuniji, Srbiji i Ukrajini. Za Crnu Goru se navodi na osnovu nepouzdanih podataka (sumnjivo prisustvo), dok se u Češkoj vrsta navodi kao introdukovana (Marhold 2011; Slika 5).



Slika 5. Rasprostranjenje vrsta N. praecox (A) i N. kovatsii (B). Karte preuzete iz Marhold (2011).

# 2. CILJEVI RADA

Predmet istraživanja u okviru ove doktorske disertacije je proučavanje potencijala za akumulaciju mikro- i makroelemenata u populacijama vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* poreklom sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa, kao i analiza sposobnosti odabranih populacija za akumulaciju nikla u eksperimentalnim uslovima. Predmet ove disertacije je i utvrđivanje ekofizioloških i biohemijskih odgovora populacija analiziranih vrsta sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa na varijabilni sadržaj nikla u eksperimentalnim uslovima, kao i procena stepena tolerancije na nikl različitih populacija ovih vrsta. U tu svrhu definisani su sledeći ciljevi:

- Ekološka analiza koja podrazumeva utvrđivanje stanišnih preferenci vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* u odnosu na nadmorsku visinu, tip geološke podloge, edafske i klimatske karakteristike, kao i vegetacijsku pripadnost, tj. tip staništa na kome je prisustvo ovih vrsta zabeleženo terenskim istraživanjima u okviru ove doktorske disertacije.
- Utvrđivanje fizičko-hemijskih karakteristika zemljišta na kome se razvijaju populacije vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* analizom granulometrijskog sastava, aktivne (pH<sub>H2O</sub>) i supstitucione kiselosti (pH<sub>KCl</sub>), sadržaja organskog ugljenika i humusa, ukupnog azota (N), lako pristupačnog kalijuma (K) i fosfora (P), magnezijuma (Mg) i kalcijuma (Ca), sadržaja pristupačnih i ukupnih esencijalnih i neesencijalnih hemijskih elemenata (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn).
- Određivanje interpopulacione varijabilnosti potencijala za bioakumulaciju i translokaciju mikro- (Co, Cd, Cr, Cu, Ni, Mn, Pb, Zn) i makroelemenata (Ca, Fe, K, Mg) vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa, analizom njihovog sadržaja u korenovima i nadzemnim delovima biljaka.
- Utvrđivanje potencijala za akumulaciju nikla odabranih populacija analiziranih vrsta sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa u kontrolisanim uslovima i određivanje efekata odabranih koncentracija nikla na produkciju biomase.
- Definisanje fiziološko-biohemijskih odgovora na sadržaj nikla kod populacija vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa u kontrolisanim uslovima, analizom sledećih parametara:
  - sadržaj hlorofila *a* i *b*, ukupnih hlorofila, karotenoida i antocijana
  - koncentracija prolina u listovima
  - stepen oštećenja lipida membrane merenjem količine malondialdehida
  - koncentracija pojedinačnih fenolnih kiselina i flavonoida u listovima biljaka
- Histohemijska lokalizacija nikla u listovima gajenih biljaka

# 3. MATERIJAL I METODE

# 3.1 Istraživano područje

Uzorkovanje zemljišta i biljnog materijala izvršeno je na 29 lokaliteta, prvenstveno na području Srbije (27), dok je po jedan uzorak uzet na lokalitetima u Crnoj Gori i Hrvatskoj (Slika 6; Tabele 2 i 3). Geološka podloga na svim lokalitetima na kojima je izvršeno uzorkovanje je određena pomoću geoloških karti (Filipović *et al.* 1967; Brković *et al.* 1968; Anonymous 1970a, b; Rakić *et al.* 1974; Anđelković *et al.* 1975; Mojsilović *et al.* 1975, 1977, 1978; Babović & Cvetković 1976; Vujisić *et al.* 1977; Olujić & Karović 1985), a prema tipu geološke podloge su lokaliteti grupisani kao ultramafitski i neultramafitski (Tabele 2 i 3). Iako na lokalitetu Tara, Zaovine, Beli Rzav (P4) prema podacima sa geološke karte geološku podlogu čine slojeviti i bankoviti mikriti, laporoviti mikriti i laporci (Olujić & Karović 1985), rezultati fizičko-hemijskih analiza zemljišta u potpunosti odgovaraju karakteristikama zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom, te je za potrebe daljih analiza dati lokalitet grupisan kao ultramafitski.

## 3.2 Klasifikacija staništa

Za klasifikaciju staništa na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* i *N. praecox* korišćen je EUNIS sistem. EUNIS klasifikacija staništa predstavlja sveobuhvatan panevropski sistem za identifikaciju staništa. Klasifikacija je hijerarhijska i obuhvata sve vrste staništa, uključujući i prirodna i veštačka (Davies *et al.* 2004). Tipovi staništa identifikuju se odgovarajućim kodovima, imenima i opisima. Za potrebe ove doktorske disertacije identifikacija staništa vršena je do IV nivoa.

## 3.3 Bioklimatski faktori

Bioklimatski parametri za svaki lokalitet na kome je izvršeno uzorkovanje zemljišta i biljnog materijala dobijeni su iz WorldClim skupa globalnih klimatskih podataka u rezoluciji od 30 lučnih sekundi (~ 1 km<sup>2</sup>) korišćenjem softvera DIVA-GIS 7.5 (Hijmans *et al.* 2012). Oznake svih analiziranih bioklimatskih parametara date su u Tabeli 1.

BIO1	Srednja godišnja temperatura
BIO2	Srednji mesečni temperaturni opseg (max temp - min temp)
BIO3	Izotermalnost (BIO2/BIO7) (×100)
BIO4	Temperaturna sezonalnost (standardna devijacija ×100)
BIO5	Maksimalna temperatura najtoplijeg meseca
BIO6	Minimalna temperatura najhladnijeg meseca
BIO7	Godišnji opseg temperatura (BIO5-BIO6)
BIO8	Srednja temperatura najvlažnijeg kvartala
BIO9	Srednja temperature najsuvljeg kvartala
BIO10	Srednja temperatura najtoplijeg kvartala
BIO11	Srednja temperatura najhladnijeg kvartala
BIO12	Godišnja precipitacija
BIO13	Precipitacija najvlažnijeg meseca
BIO14	Precipitacija najsuvljeg meseca
BIO15	Sezonalnost precipitacije (koeficijent varijacije)
BIO16	Precipitacija najvlažnijeg kvartala
BIO17	Precipitacija najsuvljeg kvartala
BIO18	Precipitacija najtoplijeg kvartala
BIO19	Precipitacija najhladnijeg kvartala



Slika 6. Položaj lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje biljnog materijala i zemljišta. Crvenom bojom označeni su ultramafitski lokaliteti, a zelenom neultramafitski. Oznake lokaliteta sa prefiksom K odnose se na lokalitete na kojima su uzeti uzorci *N. kovatsii*, prefiks P se odnosi na uzorke *N. praecox.* Oznake država date su prema ISO 3166-2 (1998).

Takson	Oznaka	Država	Širi lokalitet	Uži lokalitet	Geografska širina (°)	Geografska dužina (°)	Nadmorska visina (m.n.v.)	Geološka podloga - tip	Geološka podloga - podtip
N. kovatsii	K1	Srbija	Avala	kružni put	44,68733	20,510752	362	neultramafit	Krečnjaci, laporci, peščari
N. kovatsii	K2	Srbija	Uvac	Mastirine, kod hranilista	43,42536	19,926193	1134	neultramafit	Bankoviti i masivni krečnjaci
N. kovatsii	K3	Srbija	Kablar	vidikovac na vrhu	43,91265	20,190733	871	neultramafit	Masivni krečnjaci
N. kovatsii	K4	Srbija	Pirot	Basara, planinarski dom	43,17301	22,66739	937	neultramafit	Krečnjaci sa kremenim kvrgama
N. kovatsii	K5	Srbija	Pirot	klisura Dobrodolske reke	43,18997	22,596904	428	neultramafit	Sprudni i subsprudni laporoviti krečnjaci
N. kovatsii	K6	Srbija	Jelašnička klisura	stene pored puta	43,27975	22,063355	323	neultramafit	Bankoviti i slojeviti krečnjaci i dolomiti
N. kovatsii	K7	Srbija	Gučevo	Crni vrh	44,48866	19,176023	766	neultramafit	Krečnjaci, peščari i glinoviti škriljci
N. kovatsii	K8	Srbija	Kopaonik	Suvo rudište	43,2728	20,8297	1862	neultramafit	Sericitsko-hloritski i epidot- hloritski škriljci, metapeščari, kvarciti, mermeri
N. kovatsii	K9	Srbija	Gornji Milanovac	Brđanska klisura, gradska deponija	43,99301	20,428714	368	ultramafit	Serpentiniti, serpentinisani peridotiti i peridotiti
N. kovatsii	K10	Srbija	Tučkovo	klisura Vrnčanske reke	43,91717	20,136607	421	ultramafit	Serpentiniti, serpentinisani peridotiti i peridotiti
N. kovatsii	K11	Srbija	Kopaonik	Nebeske stolice	43,261	20,83178	1858	ultramafit	Serpentiniti i serpentinisani peridotiti
N. kovatsii	K12	Srbija	Kopaonik	Treska	43,2605	20,7845	1615	ultramafit	Serpentiniti i serpentinisani peridotiti
N. kovatsii	K13	Srbija	Pešter	Tuzinje	43,12783	20,121927	1223	ultramafit	Serpentinisani harcburgiti
N. kovatsii	K14	Srbija	Trstenik	Pečeni grob	43,53197	21,072304	298	ultramafit	Serpentinisani peridotiti
N. kovatsii	K15	Srbija	Goč	Gvozdac	43,55905	20,734351	816	ultramafit	Harcburgiti
N. kovatsii	K16	Srbija	Kraljevo	Maglič, vrh	43,61416	20,552664	371	ultramafit	Harcburgiti

Tabela 2. Osnovne karakteristike lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii*. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

Takson	Oznaka	Država	Širi lokalitet	Uži lokalitet	Geografska širina (°)	Geografska dužina (°)	Nadmorska visina (m.n.v.)	Geološka podloga - tip	Geološka podloga - podtip
N. praecox	P1	Crna Gora	Durmitor	Tepačko polje	43,16043	19,15565	1380	neultramafit	Krečnjak
N. praecox	P2	Hrvatska	Ćićarija	Male mune	45,45514	14,14503	648	neultramafit	Krečnjak
N. praecox	P3	Srbija	Tara	Zborište	43,85609	19,45499	1408	neultramafit	Biomikrospariti i intrabiospariti
N. praecox	P4	Srbija	Tara	Zaovine, Beli Rzav	43,86204	19,40669	751	neultramafit	Slojeviti i bankoviti mikriti, laporoviti mikriti, laporci
N. praecox	P5	Srbija	Maljen	Pitomine	44,12134	20,01472	1020	ultramafit	Harcburgiti
N. praecox	P6	Srbija	Maljen	Kraljev sto	44,12188	20,02763	1047	ultramafit	Harcburgiti
N. praecox	P7	Srbija	Maljen	Crni vrh, planinars ka staza	44,09909	19,99621	1014	ultramafit	Harcburgiti
N. praecox	P8	Srbija	Maljen	Crni vrh, nova žičara	44,09691	19,99947	1089	ultramafit	Harcburgiti
N. praecox	P9	Srbija	Maljen	Golubac	44,10728	19,97695	998	ultramafit	Harcburgiti
N. praecox	P10	Srbija	Maljen	Hotel Pepa	44,10268	19,99095	947	ultramafit	Harcburgiti
N. praecox	P11	Srbija	Tara	Zaovine, Đurići	43,84204	19,41242	788	ultramafit	Harcburgiti, ređe lerzoliti
N. praecox	P12	Srbija	Tara	Paljevine	43,87823	19,41675	942	ultramafit	Harcburgiti, ređe lerzoliti
N. praecox	P13	Srbija	Zlatibor	Tornik	43,65658	19,63705	1427	ultramafit	Serpentinisani harcburgiti i harcburgiti

Tabela 3. Osnovne karakteristike lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. praecox*. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

## 3.4 Reagensi

- Dejonizovana voda
- Kalijum hlorid (KCl), Zorka Pharma, Srbija
- Natrijum heksametafosfat (NaPO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>, Merck Millipore, Indija
- Azotna kiselina (HNO<sub>3</sub>) 68%, Zorka Pharma, Srbija
- Mlečna kiselina (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), Kemika, Hrvatska
- Sirćetna kiselina (CH<sub>3</sub>COOH), Zorka Pharma, Srbija
- Amonijum acetat (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>), Zorka Pharma, Srbija
- Kalijum di-hidrogenfosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), Carlo Erba, Italija
- Amonijum-molibdat tetrahidrat (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> ×4 H<sub>2</sub>O, Merck, Nemačka
- EDTA
- Sumporna kiselina (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 96%, Fisher Chemicals, UK
- Askorbinska kiselina (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>), Sinek, Srbija
- Kalaj(II) hlorid di-hidrat (SnCl<sub>2</sub>  $\times$  2H<sub>2</sub>O), Merck, Nemačka
- Hlorovodonična kiselina (HCl) 37%, Zorka Pharma, Srbija
- Stroncijum hlorid heksahidrat (SrCl<sub>2</sub>  $\times$  6H<sub>2</sub>O), Merck, Nemačka
- Litijum hlorid (LiCl), Sigma Chemicals, SAD
- Kalijum dihromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), Merck, Nemačka
- Srebro-sulfat (Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Merck, Nemačka
- Fenilantranilna kiselina (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>), Merck, Nemačka
- Amonijum gvožđe (II) sulfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O), Zorka Pharma, Srbija
- Standardni rastvori za rad na atomskom apsorpcionom spektrofotometru, Merck, Nemačka
- Standardni puferni rastvor pH 4, Carlo Erba, Italija
- Standardni puferni rastvor pH 7, Carlo Erba, Italija
- Ni (II) acetat tetrahidrat (Ni(OCOCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> × 4H<sub>2</sub>O), ACROS Organics, Nemačka
- Etanol (C<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) 96%, Zorka Pharma
- n propil alkohol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), Superlab, Srbija
- Trihlorsirćetna kiselina (C<sub>2</sub>HCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>), Centrohem, Srbija
- Tiobarbiturna kiselina (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S), Tokyo Chemical Industry, Japan
- 5-Sulfosalicilna kiselina-2-hidrat (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S × 2H<sub>2</sub>O), Centrohem, Srbija
- Toluen (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>), Zorka Pharma
- Ninhidrin (C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>), VWR, Belgija
- Fosforna kiselina (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), Centrohem, Srbija
- L-prolin (C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>), SERVA, Nemačka
- Metanol (CH<sub>3</sub>OH) HPLC
- Dimetilglioksim (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Carl Roth, Nemačka
- Kalijum hidroksid (KOH), Centrohem, Srbija
- Natrijum tetraborat (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>  $\times$  10H<sub>2</sub>O), Sigma-Aldrich, Nemačka

### 3.5 Oprema

- GPS Garmin eTrex10, Švajcarska
- Laboratorijska sušnica, Binder, Nemačka
- Rotirajući šejker, INEP
- pH metar Iskra MA 5730, Slovenija
- Termošejker TS-100, Biosan, Letonija
- Homogenizator tkiva, TissueLyser II QIAGEN, Nemačka
- Centrifuga Centric200R, Tehtnica, Slovenija

- Vorteks, VELP Scientifica, Italija
- Spektrofotometar Ultrospec 2000 UV/Vis, UK
- Spektrofotometar Agilent 8453 UV-VIS, SAD
- Spektrofotometar za mikrotitar ploče MULTISKAN Sky, Thermo Scientific, SAD
- Atomski apsorpcioni spektrofotometar Shimadzu AA-7000, Japan
- Analitička vaga Pioneer, Ohaus, Nemačka
- Kvantitativni filter papir Sartorius No. 391 Stedim, Nemačka
- Špric-filteri, celulozni, Filter Lab, Španija

## 3.6 Analize zemljišta

# 3.6.1 Uzorkovanje zemljišta

Uzorci zemljišta su uzeti iz zone korena svih biljnih individua (5 do 15) prikupljenih na svakom od lokaliteta, spojeni tako da čine kompozitni uzorak i transportovani do laboratorije u polietilenskim kesama. Nakon sušenja na vazduhu, uzorci su prosejani kroz sito promera 2 mm i do analize čuvani u neizbeljenim papirnim kesama. Deo uzorka zemljišta je neposredno pred analizu sušen do konstantne mase na 85°C i korišćen za određivanje mehaničkog sastava zemljišta i pseudototalnog sadržaja metala, dok su sve ostale analize vršene na delu uzorka osušenom na sobnoj temperaturi. Koordinate lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje zemljišta, kao i tip geološke podloge i nadmorske visine prikazani su u Tabeli 1 za lokalitete na kojima je uzorkovan biljni materijal *N. kovatsii* i Tabeli 2 za *N. praecox*. Geografski položaj lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje zemljišta i biljnog materijala prikazan je na Slici 6.

## 3.6.2 Mehanički sastav zemljišta

Analiza mehaničkog sastava zemljišta vršena je kombinovanom metodom vlažnog prosejavanja (> 0,05 mm) i pipetiranja (van Reeuwijk 2002). Frakcije zemljišta određene su kao krupni pesak (2,0 - 0,2 mm), sitni pesak (0,2 - 0,05 mm), prah (0,05 - 0,002 mm) i glina (< 0,002 mm). Teksturne klase zemljišta određene su na osnovu teksturnog trougla prema USDA (United States Department of Agriculture) klasifikaciji (Rowell 2014).

# 3.6.3 Određivanje pH vrednosti zemljišta

Određivanje pH vrednosti zemljišta vršeno je pri odnosu čvrste i tečne faze 1:2,5 (w/v) metodom ISO 10390 (1994). Za potrebe određivanja aktivne kiselosti (pH<sub>a</sub> ili pH<sub>H2O</sub>) odmereno je 10 g suvog zemljišta, preliveno sa 25 ml destilovane vode i promešano. Nakon 30 min pH vrednost je izmerena pH-metrom (Iskra MA 5730). Supstituciona kiselost (pH<sub>e</sub> ili pH<sub>KCl</sub>) je određena na isti način u rastvoru 1 M KCl.

# 3.6.4 Određivanje sadržaja organske materije

Sadržaj organske materije u zemljištu određen je oksidacijom 0,4 N rastvorom kalijum-dihromata u sumpornoj kiselini (FAO 1974). Nakon zagrevanja 0,1 g uzorka u rastvoru kalijum-dihromata u trajanju od 5 min, vršena je titracija 0.1 N Morovom solju (gvožđe-II-amonijum-sulfat - (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) do pojave zelene boje, pri čemu je kao indikator korišćena fenilatranilna kiselina.

# 3.6.5 Određivanje koncentracije lako pristupačnog fosfora i kalijuma

Koncentracije lako pristupačnog fosfora i kalijuma određene su u rastvoru 0,1 M amonijum laktata i 0,4 M sirćetne kiseline (Egnér *et al.* 1960). Sadržaj fosfora je meren spektrofotometrijski metodom

molibdenskog plavog na talasnoj dužini od 830 nm (spektrofotometar Pharmacia Biotech Ultrospec 2000, UK), dok su koncentracije kalijuma određene plamenoemisionom spektrometrijom (Shimadzu AA 7000, Kyoto, Japan).

#### 3.6.6 Određivanje koncentracije kalcijuma i magnezijuma u zemljištu

Koncentracije izmenljivih Ca i Mg određene su atomskom apsorpcionom spektrometrijom (Shimadzu AA 7000, Kjoto, Japan) nakon ekstrakcije 1M rastvorom amonijum acetata (van Reeuwijk 2002).

#### 3.6.7 Analiza sadržaja metala u zemljištu

Koncentracije metala (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Cr, Pb i Cd) u uzorcima zemljišta određene su metodom atomske apsorpcione spektrometrije (Shimadzu AA 7000, Kyoto, Japan). Ekstrakcija za određivanje pseudototalnog sadržaja hemijskih elemenata vršena je zagrevanjem 3 g uzorka zemljišta, prosejanog i osušenog do konstantne mase na temperaturi od  $85^{\circ}$ C, u ključaloj smeši hlorovodonične i azotne kiseline u odnosu 3:1 (*aqua regia*) metodom ISO 11466 (1995). Navedenom metodom u određenoj meri se potcenjuje ukupan sadržaj metala u uzorcima zemljišta, usled nemogućnosti rastvaranja određenih oksida gvožđa za koje mogu biti vezani različiti metali prvenstveno u ultramafitskim zemljištima. Usled toga se koncentracija metala u zemljištu dobijena *aqua regia* ekstrakcijom označava kao pseudototalna, a ova metoda se standardno koristi za poređenje sadržaja metala u zemljištima razvijenim na različitim tipovima geološke podloge (Pillon *et al.* 2019). Paralelno sa uzorcima zemljišta analiziran je i referentni materijal BIPEA Soil 90–0115-0106, a dobijene vrednosti su bile u opsegu ± 5%. Apsorbanca uzoraka je izmerena na atomskom apsorpcionom spektometru (Shimadzu AA 7000, Kyoto, Japan). Koncentracije metala u uzorcima su određene na osnovu standardne krive za svaki od ispitivanih metala.

Za procenu frakcije metala pristupačnih biljkama u uzorcima zemljišta, korišćena je ekstrakcija 0,05 M etilendiamintetrasirćetnom kiselinom (EDTA) na pH 7, metodom prema McGrath (1996). Prednost ekstrakciji pomoću EDTA u odnosu na DTPA je data iz razloga što je u brojnim radovima utvrđen visok stepen korelacije između sadržaja Ni, Zn, Cd, ali i drugih metala u frakciji ekstrahovanoj pomoću EDTA i sadržaja datih elemenata u biljkama (Gupta & Sinha 2006; Manouchehri & Bermond 2009). Navedenom metodom je analizirana i frakcija metala dostupnih biljkama u zemljištu razvijenom na različitim tipovima geoloških podloga na području Balkanskog poluostrva u većem broju studija (hiper)akumulacije (Tumi *et al.* 2012; Tomović *et al.* 2013, 2018; Jakovljević *et al.* 2015; Đurović *et al.* 2016), što omogućava direktnu komparaciju rezultata ovog istraživanja sa rezultatima datih studija. U daljem tekstu će za koncentraciju metala u zemljištu dobijenu EDTA ekstrakcijom biti korišćen termin "pristupačni" metali.

#### 3.7 Analize biljnog materijala

### 3.7.1 Uzorkovanje biljnog materijala

U zavisnosti od brojnosti i biomase, na svakom od lokaliteta je uzorkovano 5 do 15 biljaka koje su spojene tako da čine kompozitni uzorak. Biljke su uzorkovane u fazi cvetanja ili početka formiranja ljuščica. Podzemni i nadzemni delovi biljaka su odvojeni i u polietilenskim kesama transportovani do laboratorije. Biljni materijal je temeljno ispran česmenskom, pa demineralizovanom vodom kako bi se uklonile čestice zemljišta, a zatim sušen na temperaturi od 70°C do konstantne mase. Nakon mlevenja do finog praha, materijal je čuvan u neizbeljenim papirnim kesama do analize.

Vaučer primerci biljnog materijala deponovani su u herbarijumu Univerziteta u Beogradu (BEOU; Thiers 2021). Identifikacija materijala izvršena je pomoću relevatne botaničke literature (Jovanović-Dunjić *et al.* 1972; Clapham & Akeroyd 1993). Geografski položaj lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* i *N. praecox* prikazan je na Slici 6. Geografska širina, geografska dužina, nadmorska visina, kao i tip geološke podloge na kome je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* 

prikazani su u Tabeli 1, dok su ovi parametri za lokalitete na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. praecox* prikazani u Tabeli 2.

# 3.7.2 Analiza sadržaja hemijskih elemenata u biljnom materijalu

Digestija biljnog materijala vršena je u ključaloj smeši azotne i sumporne kiseline neznatno modifikovanim protokolom prema ISO 6636/2 (1981). Koncentracija fosfora u biljnom materijalu određena je spektrofotometrijski metodom molibdenskog plavog (Chen *et al.* 1956), dok su apsorbance očitane na talasnoj dužini od 750 nm (spektrofotometar Pharmacia Biotech Ultrospec 2000, UK). Sadržaj magnezijuma i kalcijuma u biljnom materijalu meren je metodom plamenoemisione spektrometrije, dok su koncentracije metala (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Cr, Pb i Cd) određene atomskom apsorpcionom spektrometrijom (atomski apsorpcioni spektrometar Shimadzu AA 7000, Kyoto, Japan). Serija standardnih rastvora pripremljena je od rastvora polazne koncentracije 1 g L<sup>-1</sup> (Carlo Erba, Italija).

# 3.7.3 Potencijal za bioakumulaciju i translokaciju analiziranih elemenata

Potencijal za bioakumulaciju i translokaciju analiziranih elemenata određen je izračunavanjem sledećih faktora:

- biokoncentracioni faktor (BCF = [Element]koren/[Element]zemljište);
- bioakumulacioni faktor (BAF = [Element]nadzemni deo/[Element]zemljište)
- translokacioni faktor (TF = [Element]nadzemni deo/[Element]koren)

Za izračunavanje biokoncentracionog i bioakumulacionog faktora korišćene su EDTA dostupne koncentracije metala u zemljištu (pristupačni metali).

# 3.8 Gajenje biljaka u kontrolisanim uslovima

# 3.8.1 Prikupljanje semena

Semena *N. kovatsii* i *N. praecox* prikupljena su tokom juna i jula 2017. i 2018. godine. U svakoj populaciji su semena prikupljana sa 25 do 30 jedinki. Uzorci su osušeni u papirnim kesicama i nakon toga čuvani u frižideru na temperaturi od 4°C. Podaci o lokalitetima na kojima su sakupljena semena dati su u Tabeli 4.

Takson	Država	Širi lokalitet	Uži lokalitet	Ozna ka lokal iteta	Geografs ka širina (°)	Geografs ka dužina (°)	Nadmorsk a visina (m.n.v.)	Tip podloge
N. kovatsii	Srbija	Avala	kružni put	K1	44,68733	20,51075	362	neultrama fit
N. kovatsii	Srbija	Kablar	vidikova c na vrhu	K3	43,91260	20,19073	871	neultrama fit
N. kovatsii	Srbija	Kopaonik	Nebeske stolice	K11	43,26179	20,83556	1788	ultramafit
N. praecox	Hrvatska	Ćićarija	Male mune	P2	45,45514	14,14503	648	neultrama fit
N. praecox	Srbija	Maljen	Pitomine	P5	44,12134	20,01472	1020	ultramafit
N. praecox	Srbija	Zlatibor	Tornik	P13	43,65657	19,63704	1427	ultramafit

Tabela 4. Lokaliteti 1	na kojima je izvršer	o uzorkovanje semena <i>N</i> .	kovatsii i N. praecox.
	0 0	0	*

## 3.8.2 Isklijavanje

Semena su isklijavana 14 dana u smeši perlit:vermikulit = 3:1 i po potrebi zalivana demineralizovanom vodom. Isklijavanje je vršeno pri temperaturi od 20°C i režimu svetlo:mrak = 12 h:12 h. Nakon 14 dana, klijanci ujednačene veličine su pažljivo presađeni u supstrat.

### 3.8.3 Priprema supstrata i dizajn eksperimenta

Za gajenje biljaka korišćen je komercijalni supstrat Potgrond H. Prema specifikacijama proizvođača, pH vrednost supstrata je u opsegu 5,5-6,5, električna provodljivost – 40 ms m<sup>-1</sup> (± 25%), uz dodatak 1,5 kg m<sup>-3</sup> đubriva (NPK 14:10:18). Obe vrste su tretirane sa tri koncentracije nikla u supstratu: 1000, 2000 i 4000 mg kg<sup>-1</sup>, uz postojanje kontrolne grupe (bez dodatog nikla) kod obe vrste. Oznake eksperimentalnih grupa korišćenih u daljem tekstu date su u Tabeli 5. Nikl je dodat u supstrat u formi vodenog rastvora nikl (II) acetata (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>NiO<sub>4</sub>) i temeljno promešan. Tokom sedam dana supstrat je svakodnevno mešan, nakon čega je korišćen za sadnju.

Koncentracija	Oznaka	Lokalitet	Oznaka	Eksperimentalna	Takson
Ni u supstratu	tretmana		lokaliteta	grupa	
(mg kg <sup>-1</sup> )					
Bez dodatka	K	Avala	А	A_K	N. kovatsii
1000	А	Avala	А	A_A	N. kovatsii
2000	В	Avala	А	A_B	N. kovatsii
4000	С	Avala	А	A_C	N. kovatsii
Bez dodatka	K	Kablar	K	K_K	N. kovatsii
1000	А	Kablar	Κ	K_A	N. kovatsii
2000	В	Kablar	K	K_B	N. kovatsii
4000	С	Kablar	K	K_C	N. kovatsii
Bez dodatka	K	Kopaonik	Кор	Kop_K	N. kovatsii
1000	А	Kopaonik	Кор	Kop_A	N. kovatsii
2000	В	Kopaonik	Кор	Kop_B	N. kovatsii
4000	С	Kopaonik	Кор	Kop_C	N. kovatsii
Bez dodatka	K	Ćićarija	Ć	Ć_K	N. praecox
1000	А	Ćićarija	Ć	Ć_A	N. praecox
2000	В	Ćićarija	Ć	Ć_B	N. praecox
4000	С	Ćićarija	Ć	Ć_C	N. praecox
Bez dodatka	K	Maljen	М	M_K	N. praecox
1000	А	Maljen	М	M_A	N. praecox
2000	В	Maljen	М	M_B	N. praecox
4000	С	Maljen	М	M_C	N. praecox
Bez dodatka	K	Zlatibor	Ζ	Z_K	N. praecox
1000	A	Zlatibor	Ζ	Z_A	N. praecox
2000	В	Zlatibor	Ζ	Z_B	N. praecox
4000	C	Zlatibor	Ζ	Z_C	N. praecox

Tabela 5. Dizajn eksperimenta - oznake eksperimentalnih grupa i koncentracije nikla u supstratu za gajenje.

# 3.8.4 Uslovi gajenja

U plastične saksije sa po 300 g supstrata su posađena po tri klijanca ujednačene veličine. Za svaki tretman je postavljeno minimalno po tri saksije. Biljke su gajene u kontrolisanim uslovima 90 dana u komori za gajenje. Temperatura je tokom trajanja eksperimenta varirala u opsegu od 20 do 25°C, a vlažnost vazduha u opsegu od 50 do 75%. Eksperiment je sproveden pri uslovima dugog dana (16 sati svetlo, 8h mrak), a kao izvor svetlosti korišćene su hladne fluorescentne sijalice T5H StarLite snage 2×55W postavljene na visini od 70 cm iznad biljaka. Biljke su na police postavljene po principu slučajnosti, a njihov raspored na polici je menjan na svakih sedam dana. Biljke su po potrebi zalivane demineralizovanom vodom. Komora za gajenje biljaka sa postavljenim eksperimentom prikazana je na Slici 7.



Slika 7. Komora za gajenje biljaka sa postavljenim eksperimentom.

## 3.8.5 Priprema biljnog materijala za analize

Nakon 90 dana deo biljaka je izvađen iz supstrata, a korenovi su pažljivo očišćeni. Izmerena je sveža masa korenova i nadzemnih delova biljaka, materijal je opran česmenskom i demineralizovanom vodom i sušen na 70°C do konstantne mase. Nakon merenja suve mase, napravljeni su kompozitni uzorci korenova i nadzemnih delova biljaka po tretmanu i čuvani u papirnim kesicama do analize sadržaja odabranih elemenata. Priprema biljnog materijala za analizu sadržaja hemijskih elemenata vršena je po protokolu koji je prethodno naveden za analize biljnog materijala sakupljenog u prirodi (poglavlje 3.7.2).

Uzorci listova za analize fiziološko-biohemijskih parametara uzeti su sa preostalih biljaka iz svih eksperimentalnih grupa. Listovi su zamrznuti u tečnom azotu i do analize čuvani na -70°C. Lokalizacija nikla u biljnim tkivima vršena je na svežem materijalu.

# **3.9** Analiza biohemijsko-fizioloških parametara biljaka izlaganih niklu u eksperimentalnim uslovima

### 3.9.1 Određivanje koncentracije fotosintetičkih pigmenata

Za izolaciju fotosintetičkih pigmenata korišćeno je 10 do 15 mg zamrznutih listova. Odmerena masa materijala je macerirana u mikrotubama zapremine 2 ml pomoću plastičnog tučka, uz dodatak 2 ml 96% etanola u porcijama. Ekstrakti su inkubirani 10 min na 70°C u termošejkeru, nakon čega su centrifugirani 10 min na 10000 rpm. Supernatant je odliven u kvarcnu kivetu i apsorbance ekstrakata su merene na talasnim dužinama 470, 648 i 664 nm (spektrofotometar Agilent 8453 UV-VIS). Koncentracije hlorofila a, hlorofila b i karotenoida izračunate su prema formulama koje navodi Lichtenthaler (1987):

$C_{(a+b)} = 5,24 \times A_{664} + 22,24 \times A_{648}$	ukupna količina hlorofila (µg ml <sup>-1</sup> )
$Ca = 13,36 \times A_{664} - 5,19 \times A_{648}$	količina hlorofila <i>a</i> (μg ml <sup>-1</sup> )
$Cb = 27,43 \times A_{648} - 8,12 \times A_{664}$	količina hlorofila $b$ (µg ml <sup>-1</sup> )
$C_{(x+c)} = (1000 \times A_{470} - 2,13 \times Ca - 97,64 \times Cb) / 209$	količina karotenoida (µg ml <sup>-1</sup> )

Koncentracija pigmenata izražena je po gramu sveže mase biljnog materijala prema sledećoj formuli: C  $[mg/l] \times v [ml] \times r$ 

$$C [mg/g] = \frac{C [mg/I] \times V [mI]}{m [mg]}$$

r – razređenje (ukoliko je uzorak razređivan prilikom očitavanja),

v – zapremina ekstrakta

m – masa biljnog materijala

Sve faze ekstrakcije fotosintetičkih pigmenata vršene su pri redukovanom osvetljenju kako ne bi došlo do fotodegradacije pigmenata.

### 3.9.2 Određivanje sadržaja antocijana

Određivanje koncentracije antocijana u biljnom materijalu vršeno je modifikovanom metodom prema Skórzyńska-Polit *et al.* (2010). Odmereno je 0,1 g mase listova i materijal je maceriran pomoću plastičnog tučka u mikrotubama zapremine 2 ml uz postepeno dodavanje 2 ml ekstrakcionog rastvora (n propanol:HCl:H<sub>2</sub>O u odnosu 18:1:81). Uzorci su inkubirani 10 min na temperaturi od 100°C u termošejkeru (bioSan TS-100), a nakon toga u frižideru na temperaturi od 4°C u trajanju od 24 h. Ekstrakti su centrifugirani na 15000 rpm 10 min. Apsorbance ekstrakta očitavane su na 535 i 650 nm na spektrofotometru (Agilent 8453 UV-VIS). Koncentracija antocijana prikazana je kao A<sub>535</sub> po gramu sveže mase lista nakon korekcije A<sub>535</sub> = A<sub>535</sub> – 0.22 × A<sub>650</sub>.

#### 3.9.3 Analiza lipidne peroksidacije

U cilju procene oštećenja ćelijskih membrana, analizirana je peroksidacija lipida membrane određivanjem sadržaja malondialdehida (MDA) protokolom prema Heath & Packer (1968). Odmereno je 10 – 15 mg zamrznutih listova i materijal je maceriran u mikrotubi uz dodatak 0,5 ml 0,1% w/v rastvora trihlorsirćetne kiseline (TCA). Ekstrakti su centrifugirani 10 min na 15000 rpm i temperaturi od 4°C, nakon čega je 0,5 ml supernatanta izdvojeno u novu ependorf tubu i dodato 1,5 ml 0,5% tiobarbiturne kiseline (TBA) rastvorene u 20% (w/v) TCA. Ekstrakti su vorteksovani i inkubirani 25 min u termošejkeru na 95°C, nakon čega je reakcija zaustavljena stavljanjem uzoraka na led. Nakon ponovnog centrifugiranja u trajanju od 5 min pri istim uslovima, apsorbanca ekstrakta je merena na 532 i 600 nm. Koncentracija malondialdehida u uzorcima izračunata je prema sledećoj formuli:

MDA ekvivalenti (nmol × ml<sup>-1</sup>) =  $[(A_{532} - A_{600})/155 \ 000] \times 10^6$ MDA (nmol/g) = (MDA ekvivalenti × v) / m

v – zapremina uzorka m – masa uzorka

#### 3.9.4 Analiza sadržaja prolina u listovima gajenih biljaka

Za potrebe analize sadržaja prolina odmereno je po 0,1 g listova biljaka, nakon čega su uzorci uz dodatak 0,5 ml 3% sulfosalicilne kiseline homogenizovani u mehaničkom homogenizatoru (Tissue lyser II, Qiagen) na 300 rpm u trajanju od 4 min. Uzorci su potom centrifugirani 5 min na 15000 rpm, a 100 µl dobijenog supernatanta je prebačeno u novu mikrotubu u kojoj je pripremljena reakciona smeša koja sadrži 200 µl glacijalne sirćetne kiseline, 100 µl 3% sulfosalicilne kiseline i 200 µl kiselog ninhidrinskog reagensa. Nakon dodavanja supernatanta u reakcionu smešu, uzorci su vorteksovani i inkubirani 1 h na temperaturi od 96°C. Reakcija je prekinuta na ledu, nakon čega je u mikrotutube sa reakcionom smešom i ekstraktima dodat po 1 ml toluena. Smeša sa toluenom je vorteksovana kako bi se izdvojile faze, a apsorbanca obojene frakcije sa toluenom merena je na 520 nm. Sva merenja vršena su u mikrotitar pločama korišćenjem spektrofotometra Multiskan Sky (Thermo Scientific), a kao slepa proba je korišćen toluen (Ábrahám *et al.* 2010). Kalibraciona kriva je konstruisana u opsegu od 0 do 1000 µg/ml prolina.

#### 3.9.5 Analiza sadržaja fenolnih jedinjenja u listovima gajenih biljaka

Odmereno je 0,2 g mase zamrznutih listova prethodno maceriranih u tečnom azotu. U mikrotube sa uzorcima je dodat 1 ml 96% metanola HPLC čistoće, uzorci su vorteksovani i inkubirani preko noći na temperaturi od 4°C. Nakon inkubacije, uzorci su ekstrahovani 15 min u ultrazvučnom kupatilu na sobnoj temperaturi i centifugirani 15 min na 8000 g. Supernatant je filtriran kroz špric-filter sa celuloznom membranom prečnika pora 0,2 µm u staklene vajle sa poklopcem i čuvan u frižideru do analize.

Analiza dobijenih ekstrakata vršena je korišćenjem Dionex Ultimate 3000 UHPLC sistema (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) sa binarnom pumpom, vakuum degaserom, termostatom za kolone, auto-semplerom i UV/VIS detektorom (DAD, eng. diode array detector). UHPLC sistem je konfigurisan sa triple-quadrupole masenim spektrofotometrom (TSQ Quantum Access MAX, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) sa elektron sprej jonizacijom (HESI, eng. Heated electrospray ionization). Za hromatografsko razdvajanje korišćena je Hypersil gold C18 kolona (50×2.1 mm) koja se odlikuje veličinom čestica od 1.9  $\mu$  (Thermo Fisher Scientific, USA), i koja je termostatirana na 30°C. Za sve analize su korišćeni rastvori MS čistoće. Injekciona zapremina uzoraka je bila 10  $\mu$ L. Za kontrolu uređaja je korišćen Chromeleon softver (verzija 2.1).

Identifikacija jedinjenja prisutnih u ekstraktima je vršena na osnovu njihovih UV, MS i MS/MS spektara, a korišćenjem odgovarajućih standarda. Rastvori standarda su pripremljeni rastvaranjem 1 mg supstance u 1 ml metanola. Kvantifikacija jedinjenja je urađena na osnovu
površine dobijenih pikova, metodom eksternog standarda. Radni standardni rastvori su pripremljeni u 15 kalibracionih nivoa, u opsegu koncentracija od 10  $\mu$ g ml<sup>-1</sup> do 5 ng ml<sup>-1</sup>. Kvantifikacija jedinjenja je urađena na osnovu površine pikova Regresiona analiza je urađena za svaku od kalibracionih kriva, koje su pokazale zadovoljavajuću linearnost sa koeficijentima korelacije između r = 0,990 i 0,999, p < 0,001.

# 3.9.6 Lokalizacija nikla u listovima gajenih biljaka

Lokalizacija nikla u tkivima listova gajenih biljaka vršena je histohemijski, korišćenjem reakcije sa dimetilglioksimom (DMG) koji sa niklom formira obojene komplekse. Dimetilglioksim se visokom osetljivošću i selektivnošću vezuje za jone nikla, formirajući kompleks crvenkasto-braonkaste boje koji se može koristiti za vizuelizaciju distribucije nikla u biljnim tkivima. Bojeni kompleksi DMG mogu biti formirani i sa jonima Cu i Cd, ali je njihova boja značajno manjeg intenziteta od boje kompleksa Ni-DMG, te se ovaj reagens može koristiti za lokalizaciju nikla u biljnim tkivima kada su Cu i Cd prisutni u istim ili nižim koncentracijama od jona Ni (Seregin *et al.* 2003; Gramlich *et al.* 2011).

U studiji Gramlich *et al.* (2011) analizirani su različiti rastvori DMG prethodno korišćeni za lokalizaciju Ni u biljnim tkivima i utvrđeno je da je najpogodniji reagens pripremljen rastvaranjem 1 g DMG i 0,18 g KOH u 100 ml 0,025 M rastvora boraksa (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> ×10H<sub>2</sub>O), te je on korišćen i u ovoj studiji. Nakon dva sata mešanja, rastvor je čuvan u frižideru do nedelju dana.

Preseci listova napravljeni su žiletom, postavljeni na predmetno staklo, preliveni sa 30  $\mu$ L reagensa i fotografisani 30 s nakon dodavanja reagensa kako bi se izbeglo formiranje kristala. Svi preseci su posmatrani pod svetlosnim mikroskopom Leica DMLS i fotografisani digitalnom kamerom Leica DFC295.

#### 3.10 Statistička analiza rezultata

Rezultati analize fizičko-hemijskih karakteristika zemljišta, kao i elementarni sastav biljnog materijala prikazani su kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija. Normalnost raspodele testirana je Shapiro Wilk testom, nakon čega je za dalje analize razlika između analiziranih parametara korišćen neparametrijski Kruskal-Wallis H test. Kruskal-Wallis H test korišćen je i za analizu razlika u bioklimatskim karakteristikama među lokalitetima na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* i *N. praecox.* Za utvrđivanje veza među analiziranim parametrima u zemljištu i biljnom materijalu korišćena je Spirmanova korelacija rangova ( $\rho$ ). Razlike analiziranih parametara među tretmanima kod biljaka gajenih u kontrolisanim uslovima analizirane su jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA), a kao *post hoc* test korišćen je Bonferroni. Ove analize su vršene u softveru Statistica 7.0 (StatSoft 2004).

Spirmanove korelacije rangova računate su u softverskom paketu R (R Core Team 2019), a za vizuelno prikazivanje i kreiranje korelograma korišćen je paket corrplot (Wei & Simko 2017). Deskriptivna statistika za bioklimatske faktore dobijena je u softveru XISTAT (verzija 2020.1.1).

# 4. REZULTATI

### 4.1 Tipovi staništa na kojima je zabeleženo prisustvo N. kovatsii i N. praecox

Pregled tipova staništa, prema EUNIS klasifikaciji, na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* dat je u Tabeli 6, dok je pregled tipova staništa za vrstu *N. praecox* dat u Tabeli 7.

Prisustvo *N. kovatsii* zabeleženo je na različitim tipovima šumskih i nešumskih staništa na kojima je i izvršeno uzorkovanje materijala za analize elementarnog sastava korenova i nadzemnih delova biljaka, kao i uzoraka zemljišta. Na ultramafitskim staništima, prisustvo *N. kovatsii* zabeleženo je na obodu šume klasifikovane u tip jugoistočnih subtermofilnih hrastovih šuma (G1.75). Na neultramafitskim staništima je uzorkovanje *N. kovatsii* izvršeno u šumi koja se klasifikuje kao šuma hrasta, jasena i graba na eutrofnim i mezotrofnim zemljištima (G1.A1), u šumama u klisurama i na strmim padinama (G1.A4), kao i na obodu mezijske bukove šume (G1.69). Među nešumskim staništima, uzorci *N. kovatsii* dominantno su prikupljeni na staništima klasifikovanim kao serpentinske stepe (E1.2B). Istovremeno na lokalitetima gde geološku podlogu čine neultramafiti, prisustvo *N. kovatsii* zabeleženo je i na suvim subkontinentalnim stepskim travnim formacijama (E1.22), kao i na oro-mezijskim acidofilnim travnim formacijama (E4.39). Pored šuma i travnih staništa, uzorci *N. kovatsii* prikupljeni su i sa staništa na stenama koje pripadaju Ilirsko-grčkobalkanskim klifovima sa *Potentilla* (H3.2A).

Kao i *N. kovatsii*, i uzorci *N. praecox* prikupljeni su sa šumskih i nešumskih tipova staništa. Na ultramafitskoj geološkoj podlozi, uzorci su dominantno prikupljeni na serpentinskim stepama (E1.2B), kao i u šumama bora koje pripadaju zapadnobalkanskim crnoborovim šumama (G3.52), ali i centralnobalkanskim crnoborovo-beloborovim šumama na serpentinitu (G3.58). Na neultramafitskim staništima, uzorci *N. praecox* prikupljeni su sa različitih tipova travnih staništa koja uključuju zatvorene kalcifilne alpijske travne formacije (E4.41), istočne submediteranske travne formacije (E1.55), kao i suve kontinentalne stepske formacije (E1.22). Posebno je interesantan nalaz vrste *N. praecox* na obodu pregrada ili zastora od višegodišnjih visokih zeljastih biljaka duž vodotokova (visoke zeleni) (E5.41) uz obalu reke Beli Rzav.

Takson	Oznaka	Tip staništa- EUNIS kod III nivo	Tip staništa-EUNIS naziv III nivo	Tip staništa- EUNIS kod IV nivo	Tip staništa-EUNIS naziv IV nivo
Noccaea kovatsii	K1	G1.A	Mezo- i eutrofne šume sa <i>Quercus, Carpinus,</i> <i>Fraxinus, Acer, Tilia, Ulmus</i> i srodne šume	G1.A1	Šume hrastova <i>Quercus</i> - jasena <i>Fraxinus</i> i graba <i>Carpinus betulus</i> na eutrofnim i mezotrofnim zemljištima
Noccaea kovatsii	K2	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.22	Suve subkontinentalne stepske travne formacije ( <i>Festucion valesiacae</i> )
Noccaea kovatsii	K3	G1.A	Mezo- i eutrofne šume sa <i>Quercus, Carpinus,</i> <i>Fraxinus, Acer, Tilia, Ulmus</i> i srodne šume	G1.A4	Šume u klisurama i strmim padinama
Noccaea kovatsii	K4	G1.A	Mezo- i eutrofne šume sa <i>Quercus, Carpinus,</i> <i>Fraxinus, Acer, Tilia, Ulmus</i> i srodne šume	G1.A4	Šume u klisurama i strmim padinama
Noccaea kovatsii	K5	G1.A	Mezo- i eutrofne šume sa <i>Quercus</i> , <i>Carpinus</i> , <i>Fraxinus</i> , <i>Acer</i> , <i>Tilia</i> , <i>Ulmus</i> i srodne šume	G1.A4	Šume u klisurama i strmim padinama
Noccaea kovatsii	K6	H3.2	Bazični i ultra bazični unutarkontinentalni klifovi	H3.2A	Ilirsko-grčko-balkanski klifovi sa Potentilla
Noccaea kovatsii	K7	G1.6	Bukove Fagus šume	G1.69	Mezijske bukove Fagus šume
Noccaea kovatsii	K8	E4.3	Acidofilne alpijske i subalpijske travne formacije	E4.39	Oro-mezijske acidofilne travne formacije
Noccaea kovatsii	K9	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea kovatsii	K10	G1.7	Termofilne listopadne šume	G1.75	Jugoistočne subtermofilne hrastove <i>Quercus</i> šume
Noccaea kovatsii	K11	E4.4	Kalcifilne alpijske i subalpijske travne formacije	E4.43	Kalcifilni stepoliki pašnjaci i travnjaci
Noccaea kovatsii	K12	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea kovatsii	K13	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea kovatsii	K14	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea kovatsii	K15	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea kovatsii	K16	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe

Tabela 6. Tipovi staništa na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii*. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

Takson	Oznaka	Tip staništa- EUNIS kod III nivo	Tip staništa-EUNIS naziv III nivo	Tip staništa- EUNIS kod IV nivo	Tip staništa-EUNIS naziv IV nivo
Noccaea praecox	P1	E4.4	Kalcifilne alpijske i subalpijske travne formacije	E4.41	Zatvorene kalcifilne alpijske travne formacije
Noccaea praecox	P2	E1.5	Mediteransko-montane travne formacije	E1.55	Istočne submediteranske travne formacije
Noccaea praecox	P3	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.22	Suve subkontinentalne stepske travne formacije ( <i>Festucion valesiacae</i> )
Noccaea praecox	P4	E5.4	Mokra i vlažna staništa visokih zeleni, rubna papratišta i livade	E5.41	Pregrade ili zastori od višegodišnjih visokih zeljastih biljaka duž vodotokova
Noccaea praecox	P5	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea praecox	P6	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea praecox	P7	G3.5	Crnoborove šume	G3.58	Centralnobalkanske crnoborovo <i>Pinus nigra</i> - beloborove <i>Pinus sylvestris</i> šume na serpentinitu
Noccaea praecox	P8	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea praecox	P9	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea praecox	P10	E1.2	Višegodišnje krečnjačke travne formacije i stepe na bazičnoj podlozi	E1.2B	Serpentinske stepe
Noccaea praecox	P11	G3.5	Crnoborove šume	G3.52	Zapadnobalkanske crnoborove šume
Noccaea praecox	P12	G3.5	Crnoborove šume	G3.52	Zapadnobalkanske crnoborove šume
Noccaea praecox	P13	G3.5	Crnoborove šume	G3.58	Centralnobalkanske crnoborovo <i>Pinus nigra</i> - beloborove <i>Pinus sylvestris</i> šume na serpentinitu

Tabela 7. Tipovi staništa na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. praecox.* Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

**4.2 Bioklimatske karakteristike lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje** *N. kovatsii* i *N. praecox* 

Vrednosti 19 bioklimatskih faktora za lokalitete na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* i *N. praecox* prikazane su u Tabeli 8. U Tabeli je prikazana i statistička značajnost razlika između bioklimatskih karakteristika lokaliteta na kojima su uzorkovani *N. kovatsii* i *N. praecox*.

Razlika u srednjoj godišnjoj temperaturi (BIO1) između lokaliteta na kojima su uzorkovani *N. kovatsii* i *N. praecox* nije statistički značajna, ali opseg srednjih godišnjih temperatura (BIO 7) pokazuje statističku značajnost i nešto je širi na lokalitetima gde je prisutna vrsta *N. kovatsii* u odnosu na opseg temperatura na kojima je zabeleženo prisustvo *N. praecox*. Visok stepen statističke značajnosti zabeležen je i za razliku u temperaturnoj sezonalnosti (BIO4) koja je nešto viša kod *N. kovatsii*. Srednja temperatura najvlažnijeg kvartala (BIO8), takođe se statistički značajno razlikuje među lokalitetima na kojima su prisutne ove vrste, sa višim vrednostima na lokalitetima na kojima je prisutna vrsta *N. kovatsii*.

Rezultati ukazuju da se svi bioklimatski faktori povezani sa precipitacijom, izuzev BIO15, (BIO12 – BIO19) statistički značajno razlikuju među lokalitetima na kojima su zabeležene ove dve vrste. Uočava se da je godišnja precipitacija (BIO12) znatno viša na lokalitetima na kojima je zabeleženo prisustvo *N. praecox* u odnosu na *N. kovatsii*. Precipitacija najvlažnijeg (BIO13) i precipitacija najsuvljeg meseca (BIO14), takođe, su statistički značajno više na lokalitetima na kojima je prisutna vrsta *N. praecox* u odnosu na lokalitete sa *N. kovatsii*.

Faktor	Vrsta	Minimum	Maksimum	Srednja vrednost	Standardna devijacija	F	р
BIO1	N. kovatsii	2,867	11,104	8,232	2,666	0.0504	0.220
BIO1	N. praecox	5,371	10,446	7,329	1,285	0,9304	0,559
BIO2	N. kovatsii	7,483	10,442	9,171	0,980	8 633	0.007
BIO2	N. praecox	7,108	9,283	8,335	0,576	8,055	0,007
BIO3	N. kovatsii	29,346	33,902	31,665	1,524	6 15	0.020
BIO3	N. praecox	28,320	32,234	30,339	1,157	0,15	0,020
BIO4	N. kovatsii	668,004	777,777	727,926	32,099	12 32	0.002
BIO4	N. praecox	665,137	715,037	701,166	18,740	12,32	0,002
BIO5	N. kovatsii	16,400	27,400	23,381	3,574	2 264	0 127
BIO5	N. praecox	19,200	24,300	21,615	1,438	2,304	0,137
BIO6	N. kovatsii	-9,100	-3,500	-5,506	1,813	0.0045	0.047
BIO6	N. praecox	-7,200	-0,800	-5,831	1,588	0,0043	0,947
BIO7	N. kovatsii	25,500	30,900	28,888	1,791	10.000	0.004
BIO7	N. praecox	25,100	28,800	27,446	1,011	10,099	0,004
BIO8	N. kovatsii	2,967	18,367	14,492	4,295	1 6161	0.042
BIO8	N. praecox	2,883	15,033	12,750	3,187	4,0104	0,042
BIO9	N. kovatsii	-4,117	16,067	2,068	4,658	0 021808	0.884
BIO9	N. praecox	-2,067	13,983	0,896	4,126	0,021008	0,004
BIO10	N. kovatsii	10,850	20,117	16,876	3,004	1.4568	0.239
	3.7	1	1	1	1	1,1000	0,200

15,700

-1,007

-1,515

835,250

984,000

93,750

111,077

53,875

61,846

18,568

19,913

259,875

315,692

172,750

193,923

231,625

279,308

186,625

212,308

1,364

2,178

1,402

143,216

123,129

13,015

11,835

10,966

10,455

3,607

3,946

37,266

31,341

35,141

32,887

36,551

11,383

36,526

40,940

0,145337

19,51

25,907

12,369

0,0194

29,774

10,014

17,723

12,524

0,706

0,000

0,000

0,002

0,890

0,000

0,004

0,000

0,002

18,750

1,417

2,550

1040,000

1303,000

110,000

145,000

73,000

87,000

25,560

24,176

304,000

410,000

233,000

269,000

279,000

301,000

251,000

300,000

BIO10

BIO11

BIO11

BIO12

BIO12

BIO13

BIO13

BIO14

BIO14

BIO15

BIO15

BIO16

BIO16

BIO17

BIO17

BIO18

BIO18

BIO19

BIO19

N. praecox

N. kovatsii

N. praecox

13,483

-5,383

-3,200

598,000

892,000

70,000

101,000

39,000

54,000

12,508

13,434

189,000

290,000

122,000

169,000

162,000

260,000

132,000

183,000

Tabela 8. Deskriptivna statistika bioklimatskih faktora za lokalitete na kojima su prikupljeni uzorci

# 4.3 Fizičko-hemijske karakteristike zemljišta

# 4.3.1 Granulometrijski sastav zemljišta

Granulometrijski sastav analiziranih uzoraka zemljišta prikazan je u Tabeli 9. Analizirani uzorci dominantno su klasifikovani kao praškasta ilovača i peskovita ilovača, zatim kao ilovača, praškasto glinasta ilovača, a na po jednom lokalitetu prisutni su glinasta ilovača i ilovašti pesak.

Oznaka lokaliteta	krupan pesak 2,00-0,2 mm	fini pesak 0,2-0.05 mm	Prah 0.05- 0,002 mm	Glina < 0,002 mm	USDA klasa
K1	4,3	3,8	59,5	32,4	praškasto glinasta ilovača
K2	31,8	7	38,3	22,9	ilovača
K3	30,7	9,5	46,9	12,9	ilovača
K4	17,4	6,4	45	31,2	glinasta ilovača
K5	73,3	7,3	17,1	2,3	ilovasti pesak
K6	35	4,7	53,1	7,2	praškasta ilovača
K7	8,8	2,5	56,1	32,6	praškasto glinasta ilovača
K8	18,6	3,8	69,9	7,7	praškasta ilovača
K9	26,9	5,1	51,5	16,5	praškasta ilovača
K10	17,8	6,4	63,4	12,4	praškasta ilovača
K11	22,4	9	59,7	8,9	praškasta ilovača
K12	28,7	7,5	60,4	3,4	praškasta ilovača
K13	45,4	14,5	23,2	16,9	praškasta ilovača
K14	65,2	10,3	13,1	11,4	peskovita ilovača
K15	54,3	10,1	26,2	9,4	peskovita ilovača
K16	22,1	13,5	56,0	8,4	praškasta ilovača
P1	17	4,3	76	2,7	praškasta ilovača
P2	65,4	2,8	31,2	0,6	peskovita ilovača
P3	33,2	6,1	37,0	23,7	ilovača
P4	44,6	9,2	31,6	14,6	peskovita ilovača
P5	13	7,8	70,2	9	praškasta ilovača
P6	29,4	7,7	55,6	7,3	praškasta ilovača
P7	23,9	1,1	71,8	3,2	praškasta ilovača
P8	15,7	3,2	74,6	6,5	praškasta ilovača
P9	49	10,6	35	5,4	peskovita ilovača
P10	11,9	4,5	73,7	9,9	praškasta ilovača
P11	30,7	8,8	49,4	11,1	ilovača
P12	48,2	7,3	31,3	13,2	peskovita ilovača
P13	46,5	5,5	46,8	1,2	peskovita ilovača

Tabela 9. Granulometrijski sastav analiziranih uzoraka zemljišta.

#### 4.3.2 pH zemljišta, sadržaj organske materije, azota, fosfora i kalijuma

U Tabeli 10 prikazane su aktivna i supstituciona kiselost uzoraka zemljišta, sadržaj organske materije (OM), azota, fosfora i kalijuma.

Kiselost uzoraka zemljišta varirala je od kisele do umereno bazne. U vodenom rastvoru su izmerene vrednosti u opsegu od 5,15 (Kopaonik, Suvo rudište - K8) do 8,10 (Pirot, Basara - K4), dok su vrednosti merene u 1M KCl nešto niže, u opsegu od 3,97 (Kopaonik, Suvo rudište - K8) do 7,27 (Pirot, Klisura Dobrodolske reke - K5). Na Slici 8 prikazane su pH vrednosti uzoraka sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta u vodenom rastvoru (Slika 8A) i 1M KCl (Slika 8B). Kruskal-Wallis testom nije utvrđena statistički značajna razlika između pH vrednosti zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta merenih u vodenom rastvoru (p = 0,058), dok je pH u 1M KCl statistički značajno niža na neultramafitskim lokalitetima (p = 0,036). Opseg variranja pH vrednosti (mereno u vodenom rastvoru) na lokalitetima na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* kreće se od 5,15 do 8,10, dok je uzorkovanje *N. praecox* izvršeno na lokalitetima na kojima pH<sub>H20</sub> vrednost zemljišta varira u znatno užem opsegu, tj. od 5,96 do 7,65.



Slika 8. Aktivna i supstituciona kiselost uzoraka zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniži sadržaj organske materije (OM) zabeležen je na Avali (K1 = 3,95%), dok je najviši izmeren na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1 = 32,6%). Sadržaj azota u zemljištu varira od 0,155% na lokalitetu Tara, Paljevine (P12) do 1,48% na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1) i pozitivno je korelisana sa sadržajem organske materije (Slika 47), a rezultati Kruskal-Wallis testa nisu pokazali statistički značajnu razliku u sadržaju OM i N između ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (p = 0,1577 i p = 0,5637, respektivno; Slika 9, Tabela 10).

Koncentracije fosfora i kalijuma na analiziranim lokalitetima variraju u širokom opsegu i sadržaj ovih elemenata značajno je niži na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (p < 0,0001 i p < 0,0004, respektivno, Slika 10). Najniže koncentracije fosfora i kalijuma izmerene su na ultramafitskim lokalitetima Tara, Paljevine (P12 = 0,771 mg kg<sup>-1</sup>) i Maljen, Golubac (P9 = 11,3 mg kg<sup>-1</sup>) respektivno, dok je i najviša koncentracija P zabeležena na ultramafitskom lokalitetu Kraljevo, Maglič (K16 = 170 mg kg<sup>-1</sup>), a K na neultramafitskom lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1 = 478 mg kg<sup>-1</sup>) (Tabela 10).



Slika 9. Koncentracija azota (A) i organske materije (B) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.



Slika 10. Koncentracija fosfora (A) i kalijuma (B) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Oznaka	pH <sub>H2O</sub>	рНксі	OM (%)	N (%)	$P (mg kg^{-1})$	$\frac{1}{K} (mg kg^{-1})$
K1	7,51	6,32	$3,95 \pm 0,05$	$0,208 \pm 0,006$	$10,01 \pm 0,133$	313 ± 1,64
K2	5,76	4,88	$10,61 \pm 0,43$	$0,555 \pm 0,006$	$40,2 \pm 0,772$	$380 \pm 1,16$
K3	7,31	6,70	$16,7 \pm 0,214$	$0,822 \pm 0,024$	$55,5 \pm 1,81$	$232 \pm 3,14$
K4	8,10	7,21	$5,44 \pm 0,368$	$0,168 \pm 0,016$	$14,8 \pm 0,067$	$224 \pm 3,40$
K5	7,89	7,27	8,02±0,15	$0,218 \pm 0,022$	$169 \pm 1,27$	97,8±1,96
K6	7,76	7,13	$19,8 \pm 0,563$	$0,838 \pm 0,027$	$73,0 \pm 0,808$	$213 \pm 4,65$
K7	7,85	7,14	$8,8 \pm 0,554$	$0,233 \pm 0,006$	$6,07 \pm 0,577$	201 ± 18,2
K8	5,15	3,97	$24,6 \pm 0,699$	$0,733 \pm 0,04$	$46,4 \pm 0,263$	$262 \pm 1,46$
K9	7,68	6,87	$8,\!47 \pm 0,\!486$	$0,324 \pm 0,005$	$14,7 \pm 0,110$	$192 \pm 2,41$
K10	7,42	6,48	$10,3 \pm 0,138$	$0,405 \pm 0,013$	$2,14 \pm 0,087$	$87,5 \pm 2,20$
K11	6,10	5,25	$23,6 \pm 0,448$	$0,860 \pm 0,025$	$9,50 \pm 0,202$	$258 \pm 1,67$
K12	6,22	5,36	$23,2 \pm 0,611$	$0,963 \pm 0,004$	$20,0 \pm 0,157$	$306 \pm 1,51$
K13	6,23	5,16	$16,8\pm 0,241$	$0,78 \pm 0,030$	$8,42 \pm 1,20$	$239 \pm 1,56$
K14	7,57	6,36	$5,81 \pm 0,105$	$0,183 \pm 0,021$	$12,3 \pm 0,182$	$206 \pm 2,59$
K15	7,08	6,14	$9,08 \pm 0,396$	$0,317 \pm 0,015$	$24,7 \pm 0,424$	$223 \pm 1,28$
K16	6,82	6,14	$20,7\pm0,406$	$1,07 \pm 0,015$	$170 \pm 1,83$	$399 \pm 18,8$
P1	6,01	5,30	$32,6 \pm 2,31$	$1,\!48 \pm 0,\!01$	$37,6 \pm 0,483$	$478 \pm 4,82$
P2	7,65	7,14	$23,7 \pm 1,42$	$0,621 \pm 0,025$	$32,6 \pm 0,110$	$200 \pm 5,97$
P3	6,42	5,44	$26,4 \pm 0,465$	$0,973 \pm 0,011$	$13,4 \pm 0,77$	$188 \pm 2,78$
P4	7,46	6,49	$5,62 \pm 0,121$	$0,182 \pm 0,01$	$6,71 \pm 0,101$	$289 \pm 1,61$
P5	5,96	5,25	$13,2 \pm 0,297$	$0,\!612 \pm 0,\!007$	$22,6 \pm 1,12$	$19,7 \pm 0,142$
P6	6,76	5,83	$7,33 \pm 0,125$	$0,336 \pm 0,01$	$4,83 \pm 0,549$	$16,9 \pm 0,053$
P7	6,79	6,18	$30,7 \pm 0,458$	$1,15 \pm 0,005$	$66,6 \pm 2,52$	$22,6 \pm 0,079$
P8	6,62	5,81	$11,5 \pm 0,300$	$0,465 \pm 0,024$	$12,6 \pm 0,605$	$34,8 \pm 0,188$
P9	7,52	6,81	$6,15 \pm 0,21$	$0,238 \pm 0,017$	$9,56 \pm 1,15$	$11,3 \pm 0,340$
P10	6,20	5,42	$19,0\pm0,408$	$0,835 \pm 0,062$	$36,2 \pm 1,26$	$29,1 \pm 0,258$
P11	7,03	5,77	$7,72 \pm 0,220$	$0,\!298 \pm 0,\!007$	$5,22 \pm 0,206$	$127 \pm 0,267$
P12	7,30	6,05	$4,38 \pm 0,291$	$0,\!155 \pm 0,\!006$	$0,771 \pm 0,05$	$1\overline{10,2\pm0,486}$
P13	7,22	6,63	$14, 4 \pm 0,838$	$0,\!448 \pm 0,\!009$	$10,7 \pm 0,20$	$159 \pm 2,33$

Tabela 10. Aktivna (pH<sub>H2O</sub>) i supstituciona (pH<sub>KCl</sub>) kiselost, sadržaj organske materije, N, P i K u uzorcima zemljišta (prikazane kao srednje vrednosti ± standardne devijacije). Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

#### 4.3.3 Koncentracije kalcijuma i magnezijuma

Koncentracija kalcijuma statistički je značajno viša na neultramafitskim u odnosu na ultramafitske lokalitete (p < 0,0001; Slika 11A), dok je koncentracija magnezijuma statistički značajno viša na ultramafitskim lokalitetima (p < 0,0001; Slika 11B). Odnos koncentracija Ca/Mg takođe se značajno razlikuje između ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (Tabela 11) i znatno je niži na ultramafitima. Najniži odnos koncentracija Ca/Mg zabeležen je na ultramafitskim lokalitetima Maljen, Crni vrh (P7 = 0,63) i Tara, Paljevine (P12 = 0,62), dok je najviši odnos detektovan na krečnjačkom lokalitetu Gučevo, Crni vrh (K7 = 253) (Tabela 11).

Tabela 11. Koncentracije Ca i Mg izražene u mg kg <sup>-1</sup> i odnos koncentracija Ca/Mg u uzorcima
zemljišta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Svetlo sivom bojom su označeni
neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

Oznaka	Ca	Mg	Ca/Mg
K1	5570 ± 424	$181 \pm 6,23$	30,7
K2	$3970 \pm 63,1$	$216 \pm 14,4$	18,4
K3	$10500 \pm 465$	$252 \pm 54,2$	41,5
K4	$14800\pm300$	$60,5 \pm 3,77$	244
K5	$13600\pm249$	$79,7\pm 5,15$	171
K6	$15500\pm262$	$107\pm6{,}72$	144
K7	$14100\pm139$	$55,7 \pm 4,33$	253
K8	$1780 \pm 55,3$	$90,3 \pm 4,24$	19,7
K9	$9860\pm557$	$1630 \pm 49,1$	6,04
K10	$2320\pm25{,}6$	$2630\pm61{,}8$	0,883
K11	$2920\pm187$	$1290 \pm 33,7$	2,26
K12	$3070 \pm 48,\! 6$	$2010\pm97$	1,53
K13	$2820\pm38{,}9$	$1930 \pm 22,4$	1,46
K14	$2060\pm92{,}6$	$2000 \pm 7,47$	1,03
K15	$3090\pm80{,}9$	$1430\pm8,\!36$	2,16
K16	$8090 \pm 176$	$1780 \pm 13{,}9$	4,54
P1	$7530 \pm 146$	$285 \pm 3{,}23$	26,4
P2	$14800\pm362$	$105 \pm 6,26$	141
P3	$10200\pm92{,}8$	$565 \pm 13{,}5$	18,0
P4	$8130 \pm 15{,}9$	$1090 \pm 25,1$	7,48
P5	$3120\pm50{,}1$	$1180 \pm 28,4$	2,64
P6	$1790 \pm 2{,}80$	$1680 \pm 17,3$	1,07
P7	$2350\pm74{,}6$	$3720 \pm 42{,}7$	0,63
P8	$2910\pm120$	$2650\pm44$	1,10
P9	$17600 \pm 8{,}69$	$1690 \pm 12{,}6$	1,04
P10	$5360 \pm 33{,}3$	$1880 \pm 8{,}32$	2,85
P11	$2220 \pm 15,7$	$1330 \pm 14,2$	1,67
P12	$834 \pm 61$	$1350 \pm 3,61$	0,62
P13	$9510 \pm 126$	$1210 \pm 81,7$	7,88



Slika 11. Koncentracije kalcijuma (A) i magnezijuma (B) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta izražene u mg kg<sup>-1</sup>.

#### 4.3.4 Koncentracije gvožđa, mangana, cinka i bakra

Pseudototalne i pristupačne koncentracije Fe i Mn prikazane su u Tabeli 12. Pseudototalne i pristupačne koncentracije Fe u zemljištu statistički su značajno više na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (p < 0,0001 i p < 0,0001, respektivno; Slika 12). Najviša koncentracija psedototalnog Fe (125000 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležena je na lokalitetu Maljen, Kraljev sto (P6), dok su psedototalne koncentracije Fe > 100000 mg kg<sup>-1</sup> zabeležene i na lokalitetima Maljen, Crni vrh – žičara (P8) i Tara, Paljevine (P12). Najniža koncentracija pseudototalnog Fe izmerena je u klisuri Dobrodolske reke (K5 = 11700 mg kg<sup>-1</sup>), dok su koncentracije pseudototalnog Fe < 20000 mg kg<sup>-1</sup> izmerene i u Jelašničkoj klisuri (K6), kao i na lokalitetima Durmitor, Tepačko polje (P1) i Ćićarija, Male mune (P2). Pristupačan sadržaj Fe varirao je u opsegu od 99,7 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Pirot, Basara (K4) do 2780 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8).

Koncentracije Mn (pseudototalne i pristupačne) znatno su više na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (p < 0,0001; Slika 13). Najviše pseudototalne koncentracije Mn (> 2500 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležene su na ultramafitskim lokalitetima Maljen, Kraljev sto (P6), Goč, Gvozdac (K15), Trstenik, Pečeni grob (K14), i Maljen, Crni vrh (P8). Najniža koncentracija pseudototalnog Mn izmerena je na krečnjačkom lokalitetu u Istri - Ćićarija, Male mune (P2 = 296 mg kg<sup>-1</sup>). Najviše koncentracije pristupačnog Mn (> 1700 mg kg<sup>-1</sup>) izmerene su na lokalitetima Kablar (K3) i Tara, Paljevine (P12), dok su najniže koncentracije (< 300 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležene na lokalitetima Pirot, Basara (K4) i Ćićarija, Male mune (P2).

Pseudototalne i pristupačne koncentracije Zn i Cu prikazane su u Tabeli 13. Pseudototalne koncentracije Zn variraju u opsegu od 23,9 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Maljen, Golubac (P9) do vrednosti od 1310 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1). Na navedenim lokalitetima zabeležene su i najniža (4,14 mg kg<sup>-1</sup>) i najviša (962 mg kg<sup>-1</sup>) koncentracija pristupačnog Zn. Koncentracija Zn statistički se značajno razlikuje u uzorcima sa ultramafitskih u poređenju sa neultramafitskim lokalitetima (p < 0,0001 pseudototalni Zn; p = 0,0182 pristupačan Zn; Slika 14).

Najniže pseudototalne koncentracije Cu (< 15 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležene su na lokalitetima Trstenik, Pečeni grob (K14), Maljen, Pitomine (P5) i Tara, Paljevine (P12), dok su najviše koncentracije od 93,3 mg kg<sup>-1</sup> i 66,8 mg kg<sup>-1</sup> zabeležene na lokalitetima Uvac, Mastirine (K2) i Kablar (K3), respektivno. Najniže pristupačne koncentracije Cu (2,44 mg kg<sup>-1</sup>) izmerene su u uzorcima sa lokaliteta Trstenik, Pečeni grob (K14) i Tara, Paljevine (P12), dok je najviša koncentracija pristupačnog Cu izmerena na lokalitetu Uvac, Mastirine (K2 = 31,6 mg kg<sup>-1</sup>). Pseudototalna i pristupačna koncentracija Cu statistički je značajno niža u uzorcima sa ultramafitskih lokaliteta u odnosu na neultramafitske (p < 0,0001 i p = 0,0394, respektivno; Slika 15).

Oznaka	Fe_uk.	Fe_prist.	Mn_uk.	Mn_prist.
K1	$34500 \pm 4410$	$370 \pm 5,46$	$1100 \pm 28,1$	$617 \pm 6,83$
K2	$30400 \pm 492$	$385 \pm 8,13$	$2070 \pm 8,33$	$1680 \pm 31,4$
K3	$33400 \pm 295$	$992 \pm 5,86$	$2360 \pm 16,7$	$1700 \pm 9,74$
K4	$33500 \pm 343$	$99,7 \pm 1,59$	$668 \pm 4,42$	$293 \pm 3,04$
K5	$11700 \pm 57,4$	$191 \pm 3,28$	$467 \pm 8,75$	$308 \pm 3,04$
K6	$19400 \pm 554$	$425 \pm 3,63$	$594 \pm 3,94$	537 ± 3,94
K7	$32500 \pm 916$	$109 \pm 4,35$	$1180 \pm 33$	$593 \pm 5,70$
K8	$29400\pm397$	$2780 \pm 13$	$769 \pm 4,62$	$482 \pm 3,77$
K9	$78300\pm960$	$404 \pm 8,15$	$1540 \pm 36,9$	564 ± 7,31
K10	$98200 \pm 1580$	$1700 \pm 14,2$	$1840 \pm 25,1$	$1150 \pm 35,8$
K11	$73020\pm1010$	$2090 \pm 11,1$	$1690 \pm 17,8$	$834 \pm 4,30$
K12	$66700 \pm 1310$	$1820\pm8{,}48$	$1440 \pm 13,7$	$807 \pm 4,41$
K13	$69600 \pm 1530$	$933 \pm 4,41$	$2360 \pm 24,3$	$648 \pm 5,37$
K14	$75900 \pm 1230$	$636 \pm 3,56$	$2570\pm60{,}8$	$832\pm2{,}69$
K15	$52800 \pm 921$	$524 \pm 2,54$	$2580 \pm 8,46$	$733 \pm 3,17$
K16	$49100 \pm 669$	901 ± 4,66	$1730 \pm 44,6$	$718 \pm 2,17$
P1	$19600\pm555$	$610 \pm 5,36$	$950 \pm 46,1$	$472 \pm 6{,}08$
P2	$12900\pm717$	$264 \pm 3,04$	$296 \pm 22,2$	$247 \pm 3,38$
P3	$26600\pm906$	$537 \pm 1,\!48$	$912 \pm 26$	$413 \pm 2,86$
P4	$75900\pm538$	$888 \pm 5,94$	$1050 \pm 8,96$	$534 \pm 1,47$
P5	$95900 \pm 2560$	$1640 \pm 65,8$	$2150\pm90{,}9$	$1320 \pm 64,5$
P6	$125000\pm3330$	$1290\pm40{,}8$	$2650\pm87$	$1400\pm22{,}7$
P7	$52600\pm2610$	$2240\pm30$	$1065 \pm 30,3$	$1160 \pm 27,1$
P8	$115000\pm1701$	$1670 \pm 8{,}62$	$2530\pm77{,}9$	$1190 \pm 49,5$
P9	$81900 \pm 1250$	$1460 \pm 34,1$	$1710 \pm 50,6$	$858 \pm 27{,}2$
P10	$70130 \pm 1300$	$2100 \pm 34,1$	$\overline{1490\pm8,\!48}$	$1020 \pm 17,7$
P11	$89000 \pm 2930$	$1280 \pm 10,6$	$1780 \pm 37,7$	$1210 \pm 7,86$
P12	$114000 \pm 905$	$1180 \pm 23$	$2070 \pm 11$	$1740 \pm 32,1$
P13	$75100 \pm 1220$	$929 \pm 6,53$	$1290 \pm 24,1$	$491 \pm 3,39$

Tabela 12. Pseudototalne (uk.) i pristupačne (prist.) koncentracije Fe i Mn u uzorcima zemljišta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

Oznaka	Zn_uk.	Zn_prist.	Cu_uk.	Cu_prist.
K1	$152 \pm 3,34$	$8,40 \pm 0,18$	$32,8 \pm 0,35$	8,01 ± 0,123
K2	$139 \pm 2,24$	$19,1 \pm 0,323$	$93,3 \pm 2,90$	$31,6 \pm 0,07$
K3	$252 \pm 10,8$	$34,2 \pm 0,834$	$66,8 \pm 0,455$	$18,3 \pm 0,16$
K4	$136 \pm 1,64$	$2,54 \pm 0,34$	$23,1 \pm 0,261$	$4,15 \pm 0,09$
K5	93,6 ± 2,36	$16,5 \pm 0,55$	$15,8 \pm 0,365$	$5,41 \pm 0,042$
K6	$121 \pm 1,14$	$25,3 \pm 0,390$	$32,1 \pm 0,996$	$11,3 \pm 0,326$
K7	$183 \pm 5,62$	$4,19 \pm 0,16$	$35,7 \pm 1,03$	$4,10 \pm 0,086$
K8	$142 \pm 2,41$	$24,8 \pm 0,31$	$66,7 \pm 1,84$	$16,3 \pm 0,115$
K9	$166 \pm 2,10$	$11,2 \pm 0,31$	$20,1 \pm 1,22$	$7,26 \pm 0,136$
K10	$123 \pm 3,11$	$5,67 \pm 0,284$	$18,1\pm0,09$	$9,09 \pm 0,131$
K11	$225 \pm 6,13$	$49,0 \pm 0,545$	$34,1 \pm 0,105$	$12,2 \pm 0,161$
K12	$187 \pm 17,2$	$38,3 \pm 0,677$	$20,9\pm0,94$	$7,3 \pm 0,101$
K13	$73,0 \pm 0,85$	$13,9 \pm 0,13$	$24,6 \pm 0,40$	$5,75 \pm 0,237$
K14	$60,8 \pm 2,34$	$7,\!37 \pm 0,\!08$	$12,3 \pm 0,27$	$2,44 \pm 0,114$
K15	$69,4 \pm 0,985$	$35 \pm 0,95$	$31,2 \pm 0,26$	$8,63 \pm 0,036$
K16	$78,1 \pm 1,84$	$25,5 \pm 0,753$	$23,8 \pm 0,48$	$11,9 \pm 0,099$
P1	$1310 \pm 58,1$	$962 \pm 1,79$	$25\pm0{,}92$	$7,23 \pm 0,18$
P2	$126 \pm 9,36$	$41,7 \pm 1,25$	$16,9\pm0,705$	$5,46 \pm 0,337$
P3	$158 \pm 4,\!39$	$25,4 \pm 0,59$	$19,4 \pm 0,291$	$5,63 \pm 0,157$
P4	$43,2 \pm 0,18$	$2,68 \pm 0,101$	$17,0\pm0,162$	$4,11 \pm 0,08$
P5	$75,7 \pm 6,72$	$13,3 \pm 0,303$	$14,7 \pm 0,846$	$4,18 \pm 0,13$
P6	$63,7 \pm 1,96$	$7,\!45 \pm 0,\!035$	$18,5 \pm 0,373$	$4,\!64 \pm 0,\!068$
P7	$57 \pm 2,78$	$22,1 \pm 1,62$	$16,6 \pm 0,242$	$7,36 \pm 0,06$
P8	$72,2 \pm 1,18$	$6,\!28 \pm 0,\!09$	$18,2 \pm 0,172$	$4,31 \pm 0,035$
P9	$23,9 \pm 3,18$	$4,14 \pm 0,14$	$15,2 \pm 0,461$	$4,11 \pm 0,069$
P10	$73,9 \pm 2,86$	$19,8 \pm 0,29$	$16,3 \pm 0,318$	$5,\!68 \pm 0,\!078$
P11	$47,1 \pm 0,61$	$3,70 \pm 0,19$	$2\overline{3,8} \pm 0,33$	$7,31 \pm 0,16$
P12	$39,6 \pm 0,01$	$3,98 \pm 0,33$	$12,9 \pm 0,115$	$2,44 \pm 0,05$
P13	$123 \pm 9,44$	$11,3 \pm 0,67$	$16,6 \pm 0,049$	$5,63 \pm 0,155$

Tabela 13. Pseudototalne (uk.) i pristupačne (prist.) koncentracije Zn i Cu u uzorcima zemljišta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.



Slika 12. Koncentracije gvožđa (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.



Slika 13. Koncentracije mangana (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.



Slika 14. Koncentracije cinka (mg kg-1) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.



Slika 15. Koncentracije bakra (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.

#### 4.3.5 Koncentracije nikla i hroma

Pseudototalne i pristupačne koncentracije nikla i hroma prikazane su u Tabeli 14, a olova, kadmijuma i kobalta u Tabeli 15. Koncentracije nikla (pseudototalne i pristupačne) varirale su u širokom opsegu, s tim da su bile značajno više u uzorcima sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p < 0,0001; Slika 16). Na ultramafitskim lokalitetima, pseudototalne koncentracije Ni varirale su u opsegu od 753 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Kopaonik, Nebeske stolice (K11) do 2340 mg kg<sup>-1</sup> Maljenu, Kraljev sto (P6), dok su na neultramafitskim lokalitetima zabeležene koncentracije Ni u opsegu od 17,8 mg kg<sup>-1</sup> na Kopaoniku, Suvo rudište (K8) do 119 mg kg<sup>-1</sup> na Uvcu, Mastirine (K2). Izmerene koncentracije pristupačnog Ni na ultramafitskim lokalitetima su u opsegu od 149 mg kg<sup>-1</sup> u Brđanskoj klisuri (K9), do 704 mg kg<sup>-1</sup> na Crnom vrhu (P7), dok su vrednosti na neultramafitskim lokalitetima znatno niže – od 2,64 mg kg<sup>-1</sup> na Durmitoru, Tepačko polje (P1) do 30 mg kg<sup>-1</sup> na Kablaru (K3).



Slika 16. Koncentracije nikla (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.

Pseudototalne koncentracije hroma u uzorcima pokazuju sličan obrazac kao Ni, sa znatno višim vrednostima na ultramafitskim lokalitetima (p < 0,0001; Slika 17) i to sa > 1000 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetima Pešter, Tuzinje (K13), Kopaonik, Kopaonik, Treska (K12) i Nebeske stolice (K11), kao i Maljen, Crni vrh (P8). Najniže pseudototalne koncentracije Cr na ultramafitskim lokalitetima (< 200 mg kg<sup>-1</sup>) izmerene su na lokalitetima Trstenik, Pečeni grob (K14) i Tara, Paljevine (P12). Na neultramafitskim lokalitetima pseudototalne koncentracije Cr variraju u opsegu od 12,2 mg kg<sup>-1</sup> u klisuri Dobrodolske reke (K5) do 77,5 mg kg<sup>-1</sup> na Kablaru (K3). Koncentracije pristupačnog hroma bile su ispod nivoa detekcije u uzorcima sa lokaliteta Avala (K1), Uvac, Mastirine (K2), Durmitor, Tepačko polje (P1) i Tara, Paljevine (P12), dok su najviše koncentracije pristupačnog Cr (> 9 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležene na lokalitetima Kopaonik, Treska (K12), Kopaonik, Nebeske stolice (K11) i Požega, Tučkovo (K10).



Slika 17. Koncentracije hroma (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.

#### 4.3.6 Koncentracije olova, kadmijuma i kobalta

Najviše pseudototalne koncentracije olova (> 500 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležene su na lokalitetima Kopaonik, Nebeske stolice (K11) i Kopaonik, Treska (K12) na Kopaoniku, dok je najniža vrednost izmerena na lokalitetu Trstenik, Pečeni grob (K14). Najviše pristupačne koncentracije Pb takođe su zabeležene na lokalitetima Kopaonik, Nebeske stolice (K11 = 376 mg kg<sup>-1</sup>) i Kopaonik, Treska (K12 = 444 mg kg<sup>-1</sup>), a najniža na lokalitetu Trstenik, Pečeni grob (K14 = 2,03 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracije Pb statistički su značajno više na neultramafitskim u odnosu na ultramafitske lokalitete (p = 0,0002 Pb\_uk i p = 0,0001 Pb\_prist.; Slika 18).



Slika 18. Koncentracije olova (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.

Pseudototalne koncentracije Cd varirale su u opsegu od 1,1 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8) do 3,11 mg kg<sup>-1</sup> u klisuri Dobrodolske reke (K5). Pristupačna koncentracija Cd bila je ispod nivoa detekcije u Tučkovu (K10), dok je najviša koncentracija pristupačnog Cd izmerena na Kablaru (K3 = 2,35 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracija pseudototalnog i pristupačnog Cd statistički je značajno viša na neultramafitskim u odnosu na ultramafitske lokalitete (p < 0,0001 Cd\_uk i p < 0,0001 Cd\_prist.; Slika 19).



Slika 19. Koncentracije kadmijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.

Sadržaj Co (pseudototalni i pristupačni) znatno je viši u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p < 0,0001 Co\_uk i p < 0,0001 Co\_prist.; Slika 20). Najviša koncentracija pseudototalnog i pristupačnog Co izmerena je na lokalitetu Tara, Paljevine (P12 = 218 mg kg<sup>-1</sup> i 126 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno), dok je najniža koncentracija pseudototalnog Co izmerena na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8 = 11,5 mg kg<sup>-1</sup>). Najniži sadržaj pristupačnog Co detektovan je na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1 = 2,46 mg kg<sup>-1</sup>).



Slika 20. Koncentracije kobalta (mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta: A-pseudototalne; B – pristupačne.

Oznaka	Ni_uk.	Ni_prist.	Cr_uk.	Cr_prist.
K1	$74,5 \pm 0,88$	$7,12 \pm 0,107$	$63,7 \pm 0,410$	n.d.
K2	$119 \pm 2,75$	$14,7 \pm 1,97$	$52,9 \pm 3,01$	n.d.
K3	$78,3 \pm 0,65$	$30 \pm 0,\!49$	$77,5 \pm 6,30$	$2,\!87\pm0,\!06$
K4	$52,5 \pm 0,81$	$9,34 \pm 0,42$	$51{,}5\pm0{,}58$	$1,26 \pm 0,09$
K5	$25,7 \pm 0,56$	$5,72 \pm 1,80$	$12,2 \pm 0,412$	$1,37 \pm 0,04$
K6	$28,5 \pm 0,42$	$6,\!17\pm0,\!106$	$24 \pm 1,62$	$1,\!27\pm0,\!05$
K7	$60,5 \pm 1,27$	$5,33 \pm 0,33$	$53,4 \pm 1,45$	$1,\!36\pm0,\!08$
K8	$17,8\pm0,24$	$11 \pm 0,525$	$29,8 \pm 1,26$	$3{,}58 \pm 0{,}05$
K9	$1330 \pm 29,7$	$149 \pm 4,24$	$659 \pm 15,3$	$3,\!99 \pm 0,\!18$
K10	$1570 \pm 6,69$	$258 \pm 5{,}37$	$653 \pm 5,91$	9,31 ± 0,045
K11	753±39,5	$236 \pm 5{,}56$	$1120 \pm 43,5$	$9,33 \pm 0,34$
K12	$1020 \pm 14,5$	$246 \pm 4{,}59$	$1250 \pm 91,7$	$9,8\pm0,096$
K13	$1140 \pm 22,5$	$355 \pm 2,13$	$1830\pm29$	$4,74 \pm 0,11$
K14	$2190 \pm 12,5$	$378 \pm 6{,}64$	$126 \pm 2,79$	$0,077 \pm 0,021$
K15	$1510 \pm 4,62$	$249 \pm 5{,}09$	$609 \pm 11,8$	$2,66 \pm 0,16$
K16	$1170 \pm 40,6$	$295 \pm 2,06$	$435\pm9,\!52$	$4,\!49 \pm 0,\!11$
P1	$32,1 \pm 0,45$	$2,64 \pm 0,22$	$40,2 \pm 0,45$	n.d.
P2	$30,5 \pm 0,41$	$6,85 \pm 0,525$	$17,8 \pm 0,366$	$0,\!67\pm0,\!04$
P3	$68 \pm 2,13$	$9,29 \pm 0,161$	$72,8 \pm 1,85$	$0,91 \pm 0,023$
P4	$1710 \pm 15,7$	$167 \pm 2,69$	$440 \pm 5,51$	$2,84 \pm 0,27$
P5	$1280 \pm 36,4$	$261 \pm 14$	$881 \pm 27,4$	$4,5 \pm 0,127$
P6	$2340 \pm 55,4$	$355 \pm 5,63$	$791 \pm 21,5$	$1,83 \pm 0,104$
P7	$1320 \pm 38,6$	$704 \pm 7,\!98$	$311 \pm 5,86$	$0,703 \pm 0,047$
P8	$1800 \pm 14,2$	$393.0 \pm 8,59$	$1021 \pm 14,5$	$3,66 \pm 0,423$
P9	$1870\pm34{,}8$	$310 \pm 6,17$	$717 \pm 22,1$	$1,63 \pm 0,04$
P10	$1250 \pm 9,02$	$413 \pm 2,63$	$371 \pm 3,52$	$3,90 \pm 0,352$
P11	$2087 \pm 5,31$	$466 \pm 4,22$	$5\overline{53} \pm 4,66$	$3,13 \pm 0,074$
P12	$2260 \pm 12$	$383 \pm 9,17$	$183 \pm 3,44$	n.d.
P13	$1190 \pm 22,9$	$1\overline{53 \pm 1,98}$	$6\overline{67 \pm 6,34}$	$3,60 \pm 0,178$

Tabela 14. Pseudototalne (uk.) i pristupačne (prist.) koncentracije Ni i Cr u uzorcima zemljišta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti. n.d. – ispod nivoa detekcije.

n.d. – ispod nivoa detekcije

Oznaka	Pb uk.	Pb prist.	Cd uk.	Cd prist.	Co uk.	Co prist.
K1	-73,6 ± 0,456	$34,4 \pm 0,712$	 1,92 ±0,026	$0,82 \pm 0,011$	$\frac{-}{25,3\pm0,106}$	$\frac{-1}{8,5\pm0,090}$
K2	$47,1 \pm 1,22$	$18,5 \pm 0,17$	2,88 ± 0,121	$1,88 \pm 0,03$	32,8 ± 0,349	10,6 ± 1,19
K3	$144 \pm 4,32$	80,7 ± 0,419	$2,68 \pm 0,025$	$2,35 \pm 0,035$	$34,5 \pm 1,77$	$17,9 \pm 0,416$
K4	$59,2 \pm 0,671$	$14,6 \pm 0,51$	2,31 ± 0,015	$0,65 \pm 0,036$	$25{,}6\pm0{,}598$	$7,51 \pm 0,507$
K5	$77,4 \pm 4,76$	$36,7 \pm 0,456$	$3,11 \pm 0,060$	$0,\!453 \pm 0,\!038$	$19,2 \pm 0,214$	3,93 ± 0,218
K6	$110 \pm 4,99$	81,9 ± 11,0	$2,\!09\pm0,\!02$	$0,767 \pm 0,021$	$16,8 \pm 1,32$	$6,52 \pm 0,312$
K7	$71,5 \pm 0,818$	$24,4 \pm 0,569$	$2,25 \pm 0,03$	$1,16 \pm 0,036$	$23,0 \pm 0,526$	$6,32 \pm 0,145$
K8	$261 \pm 6,70$	$245 \pm 2,25$	$1,1 \pm 0,029$	$0,553 \pm 0,04$	$11,5 \pm 0,617$	$5,71 \pm 0,076$
K9	$71,5 \pm 0,774$	$33,8 \pm 1,36$	$2,24 \pm 0,03$	$0,72 \pm 0,026$	$128 \pm 3,78$	$42,2 \pm 0,431$
K10	$69,8 \pm 1,44$	$24,1 \pm 0,421$	$1,41 \pm 0,025$	n.d.	$153 \pm 1,79$	$116 \pm 2,46$
K11	$506 \pm 10,2$	$376 \pm 4,09$	$1,86 \pm 0,026$	$1,24 \pm 0,035$	$86,7 \pm 1,8$	$64 \pm 0,\!69$
K12	566 ± 3,63	$444 \pm 5,43$	$2,\!19\pm0,\!02$	$1,79 \pm 0,046$	$119 \pm 0,344$	94,9 ± 0,233
K13	$48,7 \pm 0,572$	$11,4 \pm 1,05$	$1,72 \pm 0,021$	$0,163 \pm 0,015$	$123 \pm 1,04$	$71,6 \pm 1,73$
K14	$28,1 \pm 1,01$	$2,03 \pm 0,123$	$1,55 \pm 0,021$	$0,01 \pm 0$	$179 \pm 2,31$	$109,2 \pm 2,53$
K15	$46,6 \pm 1,87$	$14,9 \pm 0,17$	$1,64 \pm 0,021$	$0,203 \pm 0,011$	$107 \pm 2,92$	$54,4 \pm 0,968$
K16	$115 \pm 0,458$	80,9 ± 0,350	$1,85 \pm 0,025$	$0,463 \pm 0,015$	$106 \pm 2,39$	$75,7 \pm 1,09$
P1	$65,3 \pm 2,52$	$38,7 \pm 0,526$	$2,23 \pm 0,042$	$1,34 \pm 0,015$	$12,9 \pm 0,046$	$2,46 \pm 0,131$
P2	$91,3 \pm 4,43$	$63,7 \pm 0,404$	$2,59 \pm 0,03$	$0,753 \pm 0,030$	$16,6 \pm 0,90$	$4,32 \pm 0,326$
P3	$97,8 \pm 2,56$	$54,0 \pm 0,787$	$1,90 \pm 0,064$	$1,71 \pm 0,055$	$14,0 \pm 0,093$	$4,20 \pm 0,199$
P4	$31,2 \pm 1,72$	9,63 ± 0,282	$1,44 \pm 0,006$	$0,22 \pm 0,01$	99,01 ± 0,537	$45,02 \pm 0,621$
P5	$54,0 \pm 1,90$	$20,3 \pm 0,629$	$1,\!44 \pm 0,\!10$	$0,427 \pm 0,021$	$147 \pm 5,14$	$62,3 \pm 2,08$
P6	$58,8 \pm 0,982$	$13,8 \pm 0,371$	$1,83 \pm 0,087$	$0,347 \pm 0,015$	$192 \pm 4,89$	$63,5 \pm 1,18$
P7	$44,2 \pm 0,635$	$25,6 \pm 0,179$	$1,28 \pm 0,026$	$0,593 \pm 0,006$	$59,7 \pm 1,31$	$31,2 \pm 1,03$
P8	$51,2 \pm 0,37$	$14,8 \pm 0,595$	$1,64 \pm 0,026$	$0,36 \pm 0,03$	$172 \pm 0,372$	$56,8 \pm 0,825$
P9	$29,7 \pm 0,918$	$5,39 \pm 0,325$	$1,\!47 \pm 0,\!067$	$0,\!15 \pm 0,\!026$	$131 \pm 2,86$	$40,1 \pm 1,06$
P10	$50,0 \pm 0,625$	$25,2 \pm 0,707$	$1,50 \pm 0,011$	$0,753 \pm 0,015$	$108\pm0,\!993$	$48,8\pm0,532$
P11	$69,9 \pm 0,705$	$13,3 \pm 0,352$	$1,59 \pm 0,03$	$0,223 \pm 0,006$	$152 \pm 1,44$	82,03 ± 1,34
P12	$34,4 \pm 0,297$	$9,05 \pm 0,152$	$1,64 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01$	$218\pm0,\!856$	$126 \pm 1,64$
P13	80,1 ± 2,35	$28,2 \pm 0,352$	$1,36 \pm 0,04$	$0,443 \pm 0,042$	$115 \pm 2,79$	$40,6 \pm 0,849$

Tabela 15. Pseudototalne (uk.) i pristupačne (prist.) koncentracije Pb, Cd i Co u uzorcima zemljišta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti

n.d. – ispod nivoa detekcije

#### 4.4 Analize biljnog materijala

4.4.1 Sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* 

Koncentracije fosfora, kalijuma, kalcijuma, magnezijuma i gvožđa u korenovima vrste *N. kovatsii* prikazane su u Tabeli 16. Koncentracije navedenih elemenata u nadzemnim delovima date su u Tabeli 17.

Najviše koncentracije P u korenovima *N. kovatsii* (Tabela 16) zabeležene su u uzorcima sa lokaliteta Avala (K1 = 1420 mg kg<sup>-1</sup>) i Uvac, Mastirine (K2 = 1490 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najniža zabeležena na Kopaoniku, Nebeske stolice (K11 = 115 mg kg<sup>-1</sup>). Najviša koncentracija P u nadzemnim delovima *N. kovatsii* (Tabela 17) izmerena je na lokalitetu Kablar (K3 = 2410 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najniža zabeležena na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8 = 82,2 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracija P generalno je viša u nadzemnim u odnosu na podzemne delove analiziranih biljaka, a nije utvrđena statistički značajna razlika između sadržaja P na ultramafitskim i neultramafitskim lokalitetima ni u korenu ni u nadzemnim delovima (Slika 21; p = 0,1415 koren; p = 0,5995 nadzemni deo).



Slika 21. Koncentracije fosfora (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniža koncentracija K u korenovima *N. kovatsii* (Tabela 16) od 4320 mg kg<sup>-1</sup> zabeležena je na lokalitetu Kablar (K3), dok je najviša od 50000 mg kg<sup>-1</sup> zabeležena na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8). Koncentracije K u nadzemnim delovima *N. kovatsii* (Tabela 17) varirale su u opsegu od 1570 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Pešter, Tuzinje (K13) do 37800 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Brđanska klisura (K9). Nije uočena statistički značajna razlika u koncentracijama K u korenovima i nadzemnim delovima biljaka između ultramafitskih i neultramafitskih staništa (Slika 22; p = 0,0742 koren; p = 0,2480 nadzemni deo).



Slika 22. Koncentracije kalijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracije Ca u korenovima *N. kovatsii* (Tabela 16) na analiziranim lokalitetima varirale su u širokom opsegu od 715 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Tučkovo, klisura Vrnčanske reke (K10) do 5370 mg kg<sup>-1</sup> u Jelašničkoj klisuri (K6), dok su u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 17) zabeležene koncentracije u opsegu od 423 mg kg<sup>-1</sup> na Gučevu, Crni vrh (K7) do 3790 mg kg<sup>-1</sup> na Tučkovu (K10). Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji Ca ni u korenovima ni u nadzemnim delovima biljaka sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,0742 koren, p = 0,9164 nadzemni; Slika 23).



Slika 23. Koncentracije kalcijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniža koncentracija Mg u korenovima *N. kovatsii* (Tabela 16) zabeležena je kod biljaka sa lokaliteta Kraljevo, Maglič (K16 = 635 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najviša koncentracija Mg u korenovima zabeležena na lokalitetu Brđanska klisura (K9 = 3030 mg kg<sup>-1</sup>). Najniža koncentracija Mg u nadzemnim delovima (Tabela 17) izmerena na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8 = 638 mg kg<sup>-1</sup>), dok su najviše koncentracije izmerene na lokalitetima Brđanska klisura (K9 = 4000 mg kg<sup>-1</sup>) i Tučkovo (K10 = 4020 mg kg<sup>-1</sup>). Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji Mg ni u korenovima (p =0,5995) ni u nadzemnim delovima biljaka (p =0,0587) sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (Slika 24), iako su generalno koncentracije Mg u nadzemnim delovima biljaka nešto više na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete.



Slika 24. Koncentracije magnezijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniže koncentracije Fe u korenovima *N. kovatsii* (Tabela 16) zabeležene su u uzorcima sa lokaliteta Kopaonik, Nebeske stolice (K11 =  $63.9 \text{ mg kg}^{-1}$ ), dok su najviše izmerene na lokalitetu

Gučevo, Crni vrh (K7 = 483 mg kg<sup>-1</sup>). Najniže koncentracije Fe u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 17) zabeležene su u uzorcima sa lokaliteta Kopaonik, Suvo rudište (K8 = 84,3 mg kg<sup>-1</sup>), dok su najviše izmerene u uzorcima sa lokaliteta Gučevo, Crni vrh (K7 = 1380 mg kg<sup>-1</sup>. Statistički značajna razlika u sadržaju Fe u uzorcima korenova i nadzemnih delova biljaka sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete nije utvrđena (p = 0,7527 koren, p = 0,0587 nadzemni; Slika 25).



Slika 25. Koncentracije gvožđa (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Tabela 16. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u korenovima *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Р	K	Ca	Mg	Fe				
K1	$1420 \pm 97,3$	$25900 \pm 132$	$2710\pm207$	$1350\pm107$	$276 \pm 8{,}36$				
K2	$1490 \pm 170$	$21600 \pm 2260$	$2470 \pm 197$	$1240\pm68{,}5$	$267 \pm 16{,}5$				
K3	$1160 \pm 27,7$	$4320\pm294$	$5010\pm244$	$1120 \pm 21,9$	$135 \pm 5,32$				
K4	$1370 \pm 57,1$	$7250\pm295$	$2880 \pm 104$	$1870\pm25{,}7$	$254 \pm 31,4$				
K5	$1280\pm25{,}8$	$5370\pm251$	$2390\pm37{,}2$	$1420 \pm 16{,}8$	$100 \pm 6,12$				
K6	$448 \pm 85,7$	$6130\pm310$	$5370 \pm 157$	$1240 \pm 10,2$	$74,1 \pm 14,2$				
K7	$392 \pm 13,6$	$4800\pm86{,}7$	$2720\pm399$	$848 \pm 25{,}5$	$483 \pm 10,4$				
K8	$118 \pm 8{,}64$	$50000 \pm 497$	$1340 \pm 28,5$	$729 \pm 52{,}7$	$85,7 \pm 4,35$				
K9	$1170 \pm 54,7$	$23700\pm421$	$2170 \pm 159$	$3030 \pm 110$	$384 \pm 11,2$				
K10	$1020\pm131$	$4830\pm594$	$715 \pm 159$	$1390 \pm 166$	$268 \pm 24{,}2$				
K11	$115 \pm 8,63$	$9610\pm86{,}5$	$1710 \pm 23,3$	$1490 \pm 56{,}9$	$63,9 \pm 1,59$				
K12	$148 \pm 7{,}09$	$7730 \pm 186$	$1720\pm29{,}8$	$1110 \pm 86,7$	$213 \pm 14,1$				
K13	$520 \pm 46,4$	$8750\pm 648$	$2710\pm226$	$1350 \pm 30,7$	$228\pm50{,}2$				
K14	$878 \pm 91{,}4$	$24800\pm503$	$1080\pm70{,}6$	$1700 \pm 77,5$	$406 \pm 14,5$				
K15	592 ± 34,0	$23800 \pm 2300$	$2210 \pm 76,5$	$978 \pm 46,4$	$148 \pm 6,82$				
K16	$316 \pm 22,8$	$26800 \pm 995$	$1930 \pm 118$	$635 \pm 58,6$	$116 \pm 1,86$				

Tabela 17. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u nadzemnim delovima *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti

	Р	K	Ca	Mg	Fe
K1	$643 \pm 27,5$	$32700 \pm 201$	$2040\pm130$	$1130 \pm 35,7$	$138 \pm 27,1$
K2	$729 \pm 38{,}2$	$29500\pm557$	$2200\pm28{,}5$	$856\pm180$	$99,4 \pm 7,64$
K3	$2410 \pm 9{,}06$	$37000\pm583$	$2420\pm409$	$3150\pm93{,}9$	$106 \pm 5,\!60$
K4	$1420\pm140$	$31600\pm622$	$1010\pm206$	$1450\pm95{,}8$	$183 \pm 11,4$
K5	$1280\pm45{,}2$	$26800\pm655$	$2110\pm396$	$2430\pm63{,}6$	$151 \pm 11,4$
K6	$1023 \pm 30,3$	$31800\pm575$	$2088 \pm 44{,}5$	$1780\pm20{,}4$	$114 \pm 6{,}08$
K7	941 ± 42,0	$27700\pm423$	$423 \pm 46,\! 4$	$1160 \pm 34,8$	$1380 \pm 24,4$
K8	$82,2 \pm 2,60$	$15900\pm104$	$673 \pm 42,2$	$638 \pm 1,\!60$	$84,3 \pm 1,59$
K9	$2280\pm104$	$37800\pm506$	$2810\pm316$	$4000\pm90{,}9$	$325\pm8{,}51$
K10	$1910 \pm 40,1$	$35600\pm104$	$3790\pm341$	$4020 \pm 35,1$	$198 \pm 1{,}37$
K11	$227 \pm 16,1$	$13100\pm508$	$1590\pm31{,}2$	$2370 \pm 46{,}6$	$118 \pm 4,\!45$
K12	$209 \pm 13{,}6$	$15800 \pm 110$	$1070\pm54{,}2$	$1920 \pm 17{,}3$	$199 \pm 3{,}07$
K13	$963 \pm 22,3$	$1570 \pm 38,4$	$1970\pm50{,}9$	$2510\pm73{,}2$	$346 \pm 11,2$
K14	$1970\pm158$	$27300\pm757$	$951 \pm 37,5$	$2780\pm37{,}2$	$347 \pm 4,22$
K15	$1080 \pm 68,6$	$25800 \pm 490$	$1370 \pm 41,1$	$1410 \pm 24,1$	$133 \pm 9,47$
K16	$1190 \pm 90,2$	$\overline{28200\pm155}$	$1550 \pm 27,2$	$1180 \pm 35,9$	$1\overline{89 \pm 18,9}$

Koncentracije mangana, cinka, bakra, nikla, hroma, olova, kadmijuma i kobalta u korenovima vrste *N. kovatsii* prikazani su u Tabeli 18. Koncentracije navedenih elemenata u nadzemnim delovima date su u Tabeli 19.

Koncentracije Mn u korenovima analiziranih biljaka (Tabela 18) variraju u opsegu od 12 mg kg<sup>-1</sup> na Kopaoniku – Nebeske stolice (K11) do 50,2 mg kg<sup>-1</sup> na Gučevu, Crni vrh (K7), dok su koncentracije Mn u nadzemnim delovima (Tabela 19) na svim lokalitetima više nego u korenu i sa vrednostima u opsegu od 18,3 mg kg<sup>-1</sup> u Jelašničkoj klisuri (K6) do 92,0 mg kg<sup>-1</sup> na Kopaoniku – Suvo rudište (K8). Koncentracije Mn u uzorcima korenova i nadzemnih delova biljaka ne razlikuju se značajno na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,5995 koren; p = 0,5995 nadzemni deo; Slika 26).



Slika 26. Koncentracije mangana (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Na lokalitetu Kopaonik – Suvo rudište (K8) zabeležena je najviša koncentracija cinka u korenovima (Tabela 18; 958 mg kg<sup>-1</sup>), kao i u nadzemnim delovima biljaka (4920 mg kg<sup>-1</sup>). Izmerena koncentracija Zn u nadzemnim delovima biljaka sa ovog lokaliteta (Tabela 19) prevalazi definisani prag hiperakumulacije od 3000 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent *et al.* 2013), dok su vrednosti u nadzemnim delovima biljaka sa ostalih lokaliteta znatno niže, u opsegu od 27,7 mg kg<sup>-1</sup> na Gučevu, Crni vrh (K7) do 675 mg kg<sup>-1</sup> na Goču, Gvozdac (K15). Koncentracije Zn su generalno više u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na koncentracije u uzorcima korenova, a statistički značajna razlika u koncentraciji Zn u uzorcima biljaka sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete nije utvrđena (p = 0,4623 koren, p = 0,5286 nadzemni deo; Slika 27).



Slika 27. Koncentracije cinka (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracija bakra u korenovima *N. kovatsii* bila je ispod nivoa detekcije na lokalitetu Kraljevo, Maglič (K16), dok su koncentracije  $< 1 \text{ mg kg}^{-1}$  zabeležene na lokalitetima Kopaonik, Nebeske stolice (K11), Trstenik, Pečeni grob (K14) i Goč, Gvozdac (K15). Najviše koncentracije Cu od 36,8 mg kg<sup>-1</sup> i 38,1 mg kg<sup>-1</sup> izmerene su u uzorcima korenova sa lokaliteta Avala (K1) i Uvac, Mastirine (K2), respektivno (Tabela 18). Najniža koncentracija Cu u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 19) utvrđena je na lokalitetu Trstenik, Pečeni grob (K14 = 0,843 mg kg<sup>-1</sup>), dok su daleko najviše koncentracije izmerene na lokalitetima Avala (K1 = 20,0 mg kg<sup>-1</sup>) i Uvac, Mastirine (K2 = 18,5 mg kg<sup>-1</sup>). Iako su koncentracije Cu generalno nešto više u uzorcima korenova i nadzemnih delova sa neultramafitskih u odnosu na ultramafitske lokalitete, statistički značajna razlika utvrđena je samo u sadržaju Cu u uzorcima korenova (p = 0,0206 koren, p = 0,0742 nadzemni deo; Slika 28).



Slika 28. Koncentracije bakra (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracija nikla višestruko je viša i u uzorcima korenova i nadzemnih delova biljaka sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,0008 koren, p = 0,0008 nadzemni deo; Tabela 18; Tabela 19.; Slika 29). Koncentracije Ni > 1000 mg kg<sup>-1</sup> u uzorcima korenova zabeležene su na lokalitetima Kopaonik, Treska (K12 = 1340 mg kg<sup>-1</sup>) i Trstenik, Pečeni grob (K14 = 1500 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracije Ni u nadzemnim delovima biljaka na svim ultramafitskim lokalitetima prevazilaze prag hiperakumulacije od 1000 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent *et al.* 2013), a najviša koncentracija od 8110 mg kg<sup>-1</sup> zabeležena je na lokalitetu Trstenik, Pečeni grob (K14). Koncentracije Ni znatno su više u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na koren na svim ultramafitskim lokalitetima, dok ovaj obrazac nije jasno izražen na neultramafitskim lokalitetima.



Slika 29. Koncentracije nikla (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Na lokalitetu Kablar (K3) koncentracija hroma u uzorcima korenova *N. kovatsii* (Tabela 18) bila je ispod nivoa detekcije, dok je koncentracija < 1 mg kg<sup>-1</sup> izmerena u uzorcima korenova na lokalitetu Kraljevo, Maglič (K16), kao i u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 19) sa lokaliteta Kablar (K3), Pirot, Basara (K4), Pirot, klisura Dobrodolske reke (K5) i Jelašnička klisura (K6). Najviša koncentracija Cr u korenovima zabeležena je na lokalitetima Avala (K1 = 18,8 mg kg<sup>-1</sup>) i Uvac, Mastirine (K2 = 20,6 mg kg<sup>-1</sup>), a najviše koncentracije u nadzemnim delovima biljaka od 6,84 mg kg<sup>-1</sup> i 14,5 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno, detektovane su na lokalitetima Pešter, Tuzinje (K13) i Gučevo, Crni vrh (K7). Koncentracija Cr u nadzemnim delovima biljaka sa ultramafitskih lokaliteta statistički je značajno viša u odnosu na nadzemne delove biljaka sa neultramafitskih lokaliteta (p = 0,0209), dok nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji Cr u uzorcima korenova sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,0491; Slika 30).



Slika 30. Koncentracije hroma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracija olova u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* (Tabele 18 i 19) je na većem broju lokaliteta ispod nivoa detekcije, dok je najviša koncentracija i u korenu i nadzemnom delu biljaka izmerena u uzorcima sa lokaliteta Pešter, Tuzinje (K13 = 26,2 mg kg<sup>-1</sup> i 10,1 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno). Detektovane koncentracije Pb generalno su više u korenovima u odnosu na nadzemne delove biljaka, a nije utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju Pb u biljnim tkivima sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,5940 koren; p = 0,5836 nadzemni deo; Slika 31).



Slika 31. Koncentracije olova (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracija kadmijuma (Tabele 18 i 19) bila je ispod nivoa detekcije u uzorcima korenova i nadzemnih delova *N. kovatsii* sa lokaliteta Pešter, Tuzinje (K13), kao i u uzorcima korenova sa lokaliteta Tučkovo, klisura Vrnčanske reke (K10). Najviša koncentracija Cd izmerena je u korenovima i nadzemnim delovima biljaka sa lokaliteta Kopaonik, Suvo rudište (K8 = 30,6 mg kg<sup>-1</sup> i 22,01 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno). Nije zabeležena statistički značajna razlika u koncentraciji Cd u biljnim tkivima sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,2976 koren; p = 0,9079 nadzemni deo; Slika 32).



Slika 32. Koncentracije kadmijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracija kobalta ispod nivoa detekcije izmerena je u uzorcima korenova i nadzemnih delova *N. kovatsii* (Tabele 18 i 19) sa lokaliteta Kablar (K3), kao i u uzorcima korenova sa lokaliteta Tučkovo, klisura Vrnčanske reke (K10) i Kraljevo, Maglič (K16). Najviša koncentracija Co zabeležena je u uzorcima korenova sa lokaliteta Pešter, Tuzinje (K13 = 28,4 mg kg<sup>-1</sup>), kao i u nadzemnim delovima biljaka sa lokaliteta Trstenik, Pečeni grob (K14 = 18,1 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracija Co u nadzemnim delovima biljaka sa ultramafitskih lokaliteta značajno je viša u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,0016), dok za uzorke korenova razlika u sadržaju Co nije statistički značajna (p = 0,8332; Slika 33).



Slika 33. Koncentracije kobalta (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
K1	$27,1 \pm 2,50$	$70,2 \pm 2,40$	$36{,}8\pm0{,}94$	$20,2 \pm 1,10$	$18,8\pm0,34$	n.d.	$4{,}98 \pm 0{,}57$	$5,\!49 \pm 1,\!34$
K2	$35,8 \pm 2,33$	$78,7 \pm 3,63$	$38,1 \pm 1,16$	$25,8\pm2,91$	$20{,}6\pm0{,}54$	n.d.	$4,25 \pm 0,175$	$11,7 \pm 0,306$
K3	$27,3 \pm 0,18$	$74,6 \pm 2,18$	$2,93 \pm 0,16$	$4,17 \pm 0,413$	n.d.	n.d.	$0,207 \pm 0,067$	n.d.
K4	$15,8 \pm 1,36$	$31,4 \pm 1,37$	$2,\!88\pm0,\!62$	$16,7 \pm 1,20$	$8{,}62\pm0{,}88$	$21{,}5\pm0{,}09$	$2,41 \pm 0,182$	$8{,}93 \pm 0{,}328$
K5	$22,2 \pm 0,63$	$62,8 \pm 0,810$	$2,\!14\pm0,\!05$	$4,83 \pm 0,70$	$2,21 \pm 0,51$	$8{,}29\pm0{,}897$	$0,693 \pm 0,061$	$3,\!82\pm0,\!599$
K6	$14,0\pm0,09$	$100 \pm 1,30$	$3,82 \pm 1,45$	$16,2 \pm 0,47$	$3,93 \pm 0,301$	$17,5 \pm 0,346$	$1,94 \pm 0,455$	$4,\!85\pm0,\!758$
K7	$50,2 \pm 1,52$	$36,1 \pm 1,30$	$2,\!87\pm0,\!83$	$13,7 \pm 0,24$	$6,57 \pm 1,41$	$11,9\pm1,82$	$1,35 \pm 0,439$	$7{,}67 \pm 0{,}276$
K8	$26,6 \pm 1,29$	$958 \pm 81{,}0$	$1,59 \pm 0,102$	$7,\!87\pm0,\!926$	$2,\!18\pm0,\!03$	$2,27 \pm 0,442$	$30,6 \pm 0,329$	$5,73 \pm 0,123$
K9	$35,0 \pm 1,70$	$52,0\pm0,76$	$2,9 \pm 0,24$	$286 \pm 8{,}81$	$7,16 \pm 0,323$	$3,7 \pm 0,365$	$1,24 \pm 0,015$	$3,72 \pm 0,364$
K10	$19,3 \pm 1,18$	$29,6 \pm 0,416$	$2{,}53\pm0{,}04$	$244 \pm 17,3$	$2,\!34\pm0,\!07$	n.d.	n.d.	n.d.
K11	$12,0 \pm 0,18$	$125 \pm 8,84$	$0{,}78\pm0{,}02$	$142 \pm 4,80$	$2,05 \pm 0,16$	$2,04 \pm 0,107$	$0,93 \pm 0,090$	$4,53 \pm 0,212$
K12	$16,4 \pm 1,10$	$136 \pm 9,17$	$1,\!18\pm0,\!18$	$1340 \pm 36,0$	$4,91 \pm 0,24$	$1,63 \pm 0,185$	$1,58 \pm 0,091$	$4,\!44 \pm 0,\!425$
K13	$31,5 \pm 1,76$	$164 \pm 10,1$	$2{,}28\pm0{,}10$	$354 \pm 19,4$	$2,\!09\pm0,\!25$	$26,2 \pm 1,86$	n.d.	$\textbf{28,4} \pm \textbf{0,797}$
K14	$32,0 \pm 1,68$	$37,3 \pm 0,141$	$0{,}81\pm0{,}07$	$1500 \pm 31,6$	$2,04 \pm 0,51$	$1,38 \pm 0,03$	$2,38 \pm 0,06$	$13{,}6\pm0{,}978$
K15	$24,9 \pm 1,30$	$183 \pm 11,9$	$0,50 \pm 0,03$	$708 \pm 13,2$	3,36 ± 0,211	$1,6 \pm 0,35$	$4,59 \pm 0,187$	$20,1 \pm 2,11$
K16	$19,5 \pm 2,89$	$112 \pm 6,81$	n.d.	$439 \pm 14,0$	$0,6 \pm 0,04$	n.d.	$1,33 \pm 0,159$	n.d.

Tabela 18. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u korenovima *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

\* n.d. – ispod nivoa detekcije

	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
K1	$24,6 \pm 0,23$	$44,9 \pm 5,96$	$20,0\pm1,06$	$10,7\pm2,52$	$3,82 \pm 0,271$	n.d.	$1,\!91 \pm 0,\!07$	$4,\!42 \pm 0,\!52$
K2	$26{,}4\pm0{,}24$	$94,9 \pm 2,41$	$18{,}5\pm0{,}55$	$45,1 \pm 1,29$	$3,85 \pm 0,299$	$3,\!88 \pm 0,\!40$	$1,56 \pm 0,12$	$6,\!63 \pm 0,\!669$
K3	$31,6 \pm 1,34$	$410\pm7{,}58$	$2,92 \pm 0,11$	$16{,}5\pm0{,}94$	$0,82 \pm 0,145$	n.d.	$0,72 \pm 0,136$	n.d.
K4	$35{,}8\pm0{,}97$	$52,5 \pm 1,57$	$2{,}54\pm0{,}09$	$15,3 \pm 0,21$	$0,\!487 \pm 0,\!112$	$2{,}98 \pm 0{,}26$	$0,757 \pm 0,021$	$2{,}52\pm0{,}309$
K5	$33,3 \pm 1,37$	$276 \pm 4{,}98$	$2,34 \pm 0,101$	$3,\!67 \pm 0,\!03$	$0,\!38 \pm 0,\!191$	n.d.	$0,\!593 \pm 0,\!067$	$0,957 \pm 0,351$
K6	$18,3 \pm 0,44$	$296 \pm 13{,}8$	$2{,}73\pm0{,}07$	$4,12 \pm 0,236$	$0,283 \pm 0,055$	$2,\!15\pm0,\!59$	$0,\!69 \pm 0,\!011$	$1,15 \pm 0,124$
K7	$69,7 \pm 1,05$	$27,7 \pm 0,65$	$3,39 \pm 0,09$	$16{,}8\pm0{,}32$	$14,5 \pm 0,841$	n.d.	$0,503 \pm 0,074$	$0,667 \pm 0,336$
K8	$92,0\pm0,6$	$4920\pm170$	$1,92 \pm 0,19$	$18,7\pm0,584$	$1,63 \pm 0,10$	$2,\!49 \pm 0,\!41$	$22,0\pm0,619$	$3{,}67 \pm 0{,}072$
K9	$47,\!6\pm0,\!50$	$191 \pm 5,15$	$2{,}76\pm0{,}04$	$2090 \pm 49,6$	$4,\!60 \pm 0,\!721$	$0,86 \pm 0,278$	$0,\!59 \pm 0,\!01$	$6,\!49 \pm 1,\!15$
K10	$27,\!6\pm0,\!42$	$80,8 \pm 2,83$	$2,\!44 \pm 0,\!05$	$3280 \pm 9,23$	$3,91 \pm 0,330$	n.d.	$0,\!56 \pm 0,\!03$	$4,51 \pm 1,21$
K11	$22,5 \pm 0,35$	$372 \pm 2,77$	$3,\!26 \pm 0,\!07$	$1880 \pm 4{,}02$	$2,\!07\pm0,\!165$	$5,22 \pm 0,405$	$1,01 \pm 0,155$	$7,\!95 \pm 0,\!23$
K12	$19,7\pm0,35$	$392 \pm 6{,}69$	$1,13 \pm 0,152$	$3670 \pm 31,8$	$3,\!95 \pm 0,\!078$	$3,03 \pm 0,072$	$1,\!41 \pm 0,\!08$	$15,1\pm0,\!68$
K13	$60,3 \pm 6,01$	$158 \pm 3{,}05$	$2,72 \pm 0,120$	$3370 \pm 79,0$	$6,84 \pm 0,133$	$10,1\pm0,65$	n.d.	$15,1 \pm 0,311$
K14	$48,5\pm0,84$	$41,8 \pm 0,22$	$0,843 \pm 0,025$	$8110 \pm 111$	$4,16 \pm 0,144$	$0,\!49 \pm \! 0,\!09$	$1,\!39\pm0,\!075$	$18,1\pm0,\!605$
K15	$27,7 \pm 0,305$	$675 \pm 23,6$	$2,05 \pm 0,166$	$4870 \pm 52,8$	$4,44 \pm 0,355$	n.d.	$1,36 \pm 0,035$	$7{,}89 \pm 0{,}534$
K16	$21,4 \pm 0,43$	415± 3,45	$1,07 \pm 0,021$	$3530 \pm 35,3$	$4,62 \pm 0,22$	n.d.	$1,\!16 \pm 0,\!171$	$9,8 \pm 0,452$

Tabela 19. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u nadzemnim delovima *N. kovatsii* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

\* n.d. – ispod nivoa detekcije

# 4.4.2 Sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima *N. praecox*

Koncentracije fosfora, kalijuma, kalcijuma, magnezijuma i gvožđa u korenovima *N. praecox* prikazane su u Tabeli 20, dok su koncentracije navedenih elemenata u nadzemnim delovima date u Tabeli 21.

Koncentracije fosfora u korenovima *N. praecox* (Tabela 20) variraju u opsegu od 350 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Ćićarija, Male mune (P2) do 1850 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Tara, Paljevine (P12), dok su u nadzemnim delovima (Tabela 21) zabeležene koncentracije od 380 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetima Maljen, Golubac (P9) i Tara, Paljevine (P12), do 1560 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Zlatibor, Tornik (P13). Nije zabeležena statistički značajna razlika u koncentracijama P između uzoraka sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa, ni u podzemnim, niti u nadzemnim delovima *N. praecox* (Slika 34).



Slika 34. Koncentracije fosfora (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

U vrlo širokom opsegu variraju i koncentracije kalijuma kod *N. praecox.* U podzemnim delovima biljaka (Tabela 20) su zabeležene vrednosti od 1590 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Ćićarija, Male mune (P2) do 31900 na lokalitetu Maljen, hotel Pepa (P10), dok su u nadzemnim delovima (Tabela 21) koncentracije u opsegu od 2020 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Tara, Zborište (P3) do 33400 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Zlatibor, Tornik (P13). Koncentracije K u podzemnim i nadzemnim delovima *N. praecox* ne razlikuju se statistički značajno između uzoraka sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitska staništa (p = 0,0630 koren; p = 0,6121 nadzemni deo; Slika 35).



Slika 35. Koncentracije kalijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracije kalcijuma u korenovima *N. praecox* (Tabela 20) variraju u širokom opsegu od 1450 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Zaovine, obala Belog Rzava (P4) do 4380 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Ćićarija, Male mune (P2), dok su u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 21) zabeležene koncentracije od 1220 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Maljen, Crni vrh (P8) do 11200 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Ćićarija, Male mune (P2). Koncentracija Ca u nadzemnim delovima biljaka značajno je viša na neultramafitskim u odnosu na ultramafitske lokalitete (p = 0,0280), dok u korenovima to nije slučaj (p = 0,6121; Slika 36).



Slika 36. Koncentracije kalcijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniža koncentracija magnezijuma u uzorcima korenova i nadzemnih delova *N. praecox* (Tabele 20 i 21) izmerena je na krečnjačkom lokalitetu Tara, Zborište (P3 = 433 mg kg<sup>-1</sup> i 664 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno), dok je najviša koncentracija takođe zabeležena na Tari, ali na lokalitetu Zaovine, obala Belog Rzava (P4 = 2900 mg kg<sup>-1</sup> i 3920 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno). Na svim analiziranim lokalitetima koncentracija Mg viša je u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na koren. Koncentracije Mg u korenovima i nadzemnim delovima biljuaka sa ultramafitskih lokaliteta statistički su značajno više u odnosu na koncentracije na neultramafitskim lokalitetima (p = 0,0280 koren; p = 0,0180 nadzemni deo; Slika 37).



Slika 37. Koncentracije magnezijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracije gvožđa u korenovima *N. praecox* (Tabela 20) variraju u opsegu od 34,8 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Ćićarija, Male mune (P2) do 500 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Zaovine, obala Belog Rzava (P4), dok su izmerene koncentracije u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 21) u opsegu od 64,2 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Tara, Zborište (P3) do 541 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Maljen, Kraljev sto (P6). Koncentracije Fe u nadzemnim delovima biljaka su statistički značajno više na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete, dok se koncentracije Fe u korenovima ne razlikuju značajno između ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (Slika 38).



Slika 38. Koncentracije gvožđa (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Tabela 20. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u korenovima *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Р	K	Ca	Mg	Fe
P1	$1140 \pm 93,8$	$20600\pm861$	$2160\pm42{,}7$	953 ± 13,9	$101 \pm 14,5$
P2	$350 \pm 45{,}0$	$1590\pm256$	$4380\pm220$	$1010\pm131$	$34,8 \pm 9,31$
P3	$594 \pm 75{,}6$	$11800\pm945$	$1510\pm160$	$433 \pm 34,1$	$316 \pm 24,7$
P4	$988 \pm 94{,}6$	$20000\pm710$	$1450\pm52{,}7$	$2900\pm201$	$500 \pm 14,5$
P5	$860\pm100$	$27800\pm2110$	$1570\pm75{,}7$	$1340\pm40{,}9$	$279 \pm 16{,}5$
P6	$497 \pm 53{,}6$	$21000\pm1980$	$1750\pm117$	$1090 \pm 24,6$	$375 \pm 10,3$
P7	$1430 \pm 54,6$	$28900\pm1890$	$2330\pm264$	$1790 \pm 135$	$173 \pm 23,8$
P8	$419 \pm 48{,}6$	$17400\pm5500$	$1650\pm95{,}6$	$1430\pm80{,}9$	$363 \pm 16,3$
P9	$476 \pm 47,\! 2$	$30400\pm2150$	$1550\pm131$	$1770\pm203$	$481 \pm 19,2$
P10	$550\pm115$	$31900\pm5720$	$2140\pm79{,}8$	$530 \pm 43{,}9$	$197\pm6{,}30$
P11	$1640\pm155$	$31600\pm570$	$1610\pm40{,}1$	$2160\pm101$	$275 \pm 4{,}09$
P12	$1850\pm148$	$31700 \pm 497$	$2320 \pm 118$	$2040 \pm 90,2$	$283 \pm 9,00$
P13	$633 \pm 14\overline{3}$	$7000 \pm 407$	$2440\pm246$	$2260\pm 338$	$181 \pm 33,3$

	Р	K	Ca	Mg	Fe
P1	$442 \pm 38,7$	$25100\pm65{,}5$	$4550\pm49{,}1$	$1210\pm110$	$74,2 \pm 1,65$
P2	$1380\pm61{,}9$	$32700\pm2380$	$11200\pm660$	$2070\pm50{,}1$	$87,3\pm15,7$
P3	$916 \pm 66,4$	$2020\pm137$	$3480 \pm 89{,}6$	$664 \pm 18,3$	$64,2 \pm 3,10$
P4	$462 \pm 44,5$	$26500\pm737$	$2800\pm180$	$3920\pm48{,}5$	$273 \pm 16,2$
P5	$602\pm60{,}0$	$23700\pm724$	$1710\pm168$	$3340\pm57{,}8$	$157 \pm 3,\!99$
P6	$737 \pm 78{,}5$	$26300\pm2290$	$2700\pm343$	$3400\pm132$	$541 \pm 16,5$
P7	$684 \pm 93{,}2$	$24700 \pm 1200$	$1480 \pm 189$	$3320\pm87{,}9$	$131 \pm 17,2$
P8	$879 \pm 123$	$22200\pm425$	$1220\pm144$	$2990 \pm 87{,}7$	$511 \pm 7,45$
P9	$380\pm96{,}0$	$22300\pm253$	$1670\pm125$	$2740 \pm 19{,}3$	$365\pm8{,}68$
P10	$554 \pm 67,2$	$29200\pm797$	$1560\pm273$	$1340\pm117$	$80,1\pm10,9$
P11	$388 \pm 27,3$	$31500\pm101$	$6810\pm451$	$3480\pm70{,}8$	$334 \pm 7,95$
P12	$380 \pm 35,1$	$33000 \pm 90,7$	$2010\pm89{,}4$	$3230 \pm 25,9$	$334 \pm 4,16$
P13	$1560 \pm 29,7$	$33400 \pm 732$	$1240 \pm 75,6$	$3650 \pm 101$	$176 \pm 13,1$

Tabela 21. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u nadzemnim delovima *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti

Koncentracije mangana, cinka, bakra, nikla, hroma, olova, kadmijuma i kobalta Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, u korenovima *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta prikazane su u Tabeli 22, dok su koncentracije ovih metala u nadzemnim delovima prikazane u Tabeli 23.

Najviša koncentracija mangana u uzorcima korenova i nadzemnih delova *N. praecox* (Tabele 22 i 23) izmerena je na lokalitetu Tara, Zborište (P3 = 76,6 mg kg<sup>-1</sup> i 64,8 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno), dok su najniže vrednosti u korenovima izmerene na lokalitetu Maljen, Crni vrh (P7 = 12,8 mg kg<sup>-1</sup>), a u nadzemnim delovima biljaka na Tepačkom polju na Durmitoru (P1 = 12,1 mg kg<sup>-1</sup>). Nije utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju Mn u biljnim tkivima sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (p = 0,6121 koren; p = 0,6121 nadzemni deo; Slika 39).



Slika 39. Koncentracije mangana (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniža koncentracija cinka u uzorcima korenova *N. praecox* (Tabela 22) izmerena je na lokalitetu Tara, Zaovine (P11 = 25,2 mg kg<sup>-1</sup>), dok su najniže koncentracije u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 23) zabeležene na lokalitetima Zaovine, obala Belog Rzava (P4 = 40,1 mg kg<sup>-1</sup>) i Tara, Paljevine (P12 = 40,8 mg kg<sup>-1</sup>). Najviše koncentracije cinka u uzorcima korenova i nadzemnih delova biljaka izmerene su na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1 = 868 mg kg<sup>-1</sup> i 1080 mg kg<sup>-1</sup>, respektivno). Koncentracije Zn generalno su više u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na koncentracije u korenu. Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentracijama Zn u biljnim tkivima na ultramafitskim i neultramafitskim lokalitetima (p = 0,0910 koren; p = 0,1282 nadzemni deo; Slika 40).



Slika 40. Koncentracije cinka (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracija bakra u uzorcima korenova (Tabela 22) sa lokaliteta Maljen, hotel Pepa (P10) bila je ispod nivoa detekcije, dok su na lokalitetima Maljen, Crni vrh (P8) i Maljen, Golubac (P9) izmerene koncentracije < 1 mg kg<sup>-1</sup>. Najviše koncentracije Cu u korenu zabeležene su u uzorcima sa Durmitora, Tepačko polje (P1 = 35,2 mg kg<sup>-1</sup>), kao i sa tri ultramafitska lokaliteta na Tari - Zaovine, obala Belog Rzava (P4 = 25,0 mg kg<sup>-1</sup>), Zaovine, Đurići (P11 = 30,7 mg kg<sup>-1</sup>) i Paljevine (P12 = 25,4 mg kg<sup>-1</sup>). Najniža koncentracija Cu u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 23) zabeležena je na lokalitetu Maljen, hotel Pepa (P10 = 0,483 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najviša izmerena u uzorcima sa lokaliteta Tara, Zaovine, Đurići (P11 = 24,9 mg kg<sup>-1</sup>). Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentracijama Cu u biljnim tkivima među ultramafitskim i neultramafitskim lokalitetima (p = 0,2367 koren; p = 0,2361; Slika 41).



Slika 41. Koncentracije bakra (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

U uzorcima korenova (Tabela 22) sa lokaliteta Maljen, Pitomine (P5), Maljen, Crni vrh pored žičare (P8), Maljen, Golubac (P9) i Maljen, hotel Pepa (P10) izmerene su koncentracije Ni > 2000 mg kg<sup>-1</sup>, dok je na lokalitetu Maljen, Crni vrh, pored planinarske staze (P7) zabeležena koncentracija > 4000 mg kg<sup>-1</sup>. Koncentracije nikla u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 23) na svim ultramafitskim lokalitetima znatno su više od praga hiperakumulacije od 1000 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent et al. 2013), a najviše koncentracije (> 10000 mg kg<sup>-1</sup>) su izmerene u uzorcima sa lokaliteta Maljen, Pitomine (P5 = 14600 mg kg<sup>-1</sup>), Maljen, Golubac (P9 = 11500 mg kg<sup>-1</sup>) i Tara, Zaovine, Đurići (P11 = 11100 mg kg<sup>-1</sup>). Na neultramafitskim lokalitetima koncentracije Ni u uzorcima korenova variraju u opsegu od 8,6 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Tara, Zborište (P3) do 35,9 na Durmitoru, Tepačko polje (P1), dok koncentracije u nadzemnim delovima biljaka variraju u opsegu od 8,63 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Ćićarija, Male mune (P2) do 49,7 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Tara, Zborište (P3). Koncentracije Ni u korenovima biljaka sa ultramafitskih lokaliteta znatno su niže u odnosu na koncentracije u nadzemnim delovima, dok ovaj obrazac nije jasno izražen u uzorcima sa neultramafitskih lokaliteta. Koncentracije nikla u korenovima i nadzemnim delovima biljaka značajno su više na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0.0112 koren; p =0,0112 nadzemni deo; Slika 42).



Slika 42. Koncentracije nikla (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.
Koncentracije hroma u korenovima *N. praecox* (Tabela 22) sa krečnjačkog lokaliteta Tara, Zborište (P3) i ultramafitskog lokaliteta Maljen, hotel Pepa (P10) bile su ispod nivoa detekcije, kao i u uzorcima nadzemnih delova biljaka (Tabela 23) sa krečnjačkog lokaliteta lokaliteta Tara, Zborište (P3) i ultramafitskih Maljen, Pitomine (P5), Maljen, Crni vrh (P7) i Maljen, hotel Pepa (P10). Najviše koncentracije Cr (> 20 mg kg<sup>-1</sup>) u uzorcima korenova izmerene su u uzorcima sa krečnjačkog lokaliteta Durmitor, Tepačko polje (P1 = 21,7 mg kg<sup>-1</sup>) i ultramafitskih lokaliteta Zaovine, Beli Rzav (P4 = 23,0 mg kg<sup>-1</sup>), Tara, Zaovine, Đurići (P11 = 24,3 mg kg<sup>-1</sup>) i Tara, Paljevine (P12 = 21,2 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najviša koncentracija u nadzemnim delovima biljaka (9,73 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležena na ultramafitskom lokalitetu Maljen, Kraljev sto (P6). Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentracijama Cr između ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta ni za korenove (p = 0,9326) ni za nadzemne delove biljaka (p = 0,2261; Slika 43).



Slika 43. Koncentracije hroma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Koncentracije olova u korenovima *N. praecox* (Tabela 22) sa lokaliteta Durmitor, Tepačko polje (P1), Zaovine, obala Belog Rzava (P4), Zaovine, Đurići (P11) i Tara, Paljevine (P12) bile su ispod nivoa detekcije, kao i koncentracija u nadzemnim delovima biljaka (Tabela 23) sa lokaliteta Zaovine, Đurići (P11). U uzorcima korenova sa lokaliteta Ćićarija, Male mune (P2) zabeležena je najviša koncentracija Pb (32,9 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najviša koncentracija Pb u nadzemnim delovima biljaka izmerena u uzorcima sa lokaliteta Tara, Zborište (P3 = 12,6 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracije Pb statistički su značajno više u nadzemnim delovima biljaka sa neultramafitskih lokaliteta u poređenju sa ultramafitskim (p = 0,0280), dok u uzorcima korenova nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji Pb (p = 0,3458; Slika 44).



Slika 44. Koncentracije olova (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniže koncentracije Cd izmerene su u uzorcima korenova *N. praecox* (Tabela 22) sa lokaliteta Maljen, Golubac (P9 = 1,05 mg kg<sup>-1</sup>), dok su najviše koncentracije Cd zabeležene u uzorcima korenova sa lokaliteta Tara, Zborište (P3 = 22,4 mg kg<sup>-1</sup>). U uzorcima nadzemnih delova biljaka (Tabela 23) su najniže koncentracije Cd zabeležene na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1 = 0,77 mg kg<sup>-1</sup>), dok su. najviše koncentracije izmerene u uzorcima biljaka sa lokaliteta Tara, Zborište (P3 = 29,5 mg kg<sup>-1</sup>). Kod većine analiziranih uzoraka koncentracije Cd su više u korenovima u odnosu na nadzemne delove biljaka, a nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji Cd u biljnim tkivima na ultramafitskim i neultramafitskim lokalitetima (p = 0,2367 koren, p = 0,4990; Slika 45).



Slika 45. Koncentracije kadmijuma (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Najniža koncentracija Co u korenovima *N. praecox* (Tabela 22) zabeležena je u uzorcima biljaka sa lokaliteta Maljen, Golubac (P9 = 1,38 mg), dok je najviša koncentracija Co izmerena u uzorcima korenova sa lokaliteta Ćićarija, Male mune (P2 = 21,6 mg kg<sup>-1</sup>). Najniže vrednosti u uzorcima nadzemnih delova biljaka (Tabela 23) izmerene su na lokalitetu Maljen, Crni vrh (P7 = 3,13 mg kg<sup>-1</sup>), dok je najviša koncentracija u nadzemnim delovima biljaka izmerena na lokalitetu Tara, Paljevine (P12 = 15,6 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracije Co u korenovima biljaka značajno su više na neultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (p = 0,425), dok nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji Co u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na podzemne (p = 0,6121; Slika 46).



Slika 46. Koncentracije kobalta (mg kg<sup>-1</sup>) u korenovima (A) i nadzemnim delovima (B) *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta.

Tabela 22. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u korenovima *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
P1	$14,7 \pm 1,12$	$868\pm39{,}3$	$35{,}2\pm0{,}57$	$35,9 \pm 1,23$	$21,7 \pm 0,834$	n.d.	$2,29 \pm 0,170$	$8,27 \pm 0,269$
P2	$13,3 \pm 0,76$	$276 \pm 36{,}0$	$3,\!67 \pm 0,\!10$	$28,1 \pm 2,13$	$10,7 \pm 3,12$	$32,9 \pm 3,04$	$13,0 \pm 0,781$	$21,6 \pm 3,23$
P3	$76,6 \pm 4,08$	$167 \pm 11,9$	$2,57 \pm 0,125$	8,6 ± 1,8	n.d.	$25,3 \pm 2,85$	$22,4 \pm 0,304$	$16,7 \pm 1,65$
P4	$44,3 \pm 0,82$	$41,0 \pm 1,48$	$25,0\pm0,61$	$809 \pm 3{,}85$	$23,0 \pm 0,994$	n.d.	$3,11 \pm 0,361$	$12,3 \pm 1,75$
P5	$26,0 \pm 1,17$	$198 \pm 22,1$	$1,76 \pm 0,303$	$2780\pm46{,}7$	$0,\!64 \pm 0,\!062$	$0{,}287 \pm 0{,}04$	$1,86 \pm 0,108$	$3,18 \pm 0,185$
P6	$20,4 \pm 0,57$	$180 \pm 9,10$	$1,12 \pm 0,135$	$576 \pm 6{,}68$	$3,92 \pm 0,355$	$1,01 \pm 0,259$	$14,8 \pm 0,261$	$3,63 \pm 0,446$
P7	$12,8 \pm 0,88$	$256 \pm 23{,}2$	$1,10 \pm 0,179$	$4110\pm277$	$0,\!413 \pm 0,\!09$	$1,\!59 \pm 0,\!34$	$5,18 \pm 0,254$	$8,8 \pm 0,963$
P8	$17,9 \pm 0,54$	$175 \pm 11,8$	$0,\!67 \pm 0,\!209$	$2400\pm246$	$0,\!43 \pm 0,\!069$	$0,357 \pm 0,098$	$5,23 \pm 0,460$	$2,\!89\pm0,\!789$
P9	$26,5 \pm 0,33$	$70,2 \pm 5,34$	$0,78 \pm 0,169$	$2790 \pm 62,8$	$2,30 \pm 0,342$	$3,15 \pm 0,733$	$1,05 \pm 0,153$	$1,38 \pm 0,127$
P10	$19,6 \pm 0,55$	$193 \pm 10,\! 2$	n.d.	$2290 \pm 44,1$	n.d.	$2{,}69 \pm 0{,}719$	$1,29 \pm 0,202$	$1,83 \pm 0,271$
P11	$23,8 \pm 0,45$	$25,2 \pm 1,41$	$30,7 \pm 0,348$	$723 \pm 19{,}2$	$24,3 \pm 0,397$	n.d.	$4,34 \pm 0,068$	$8,26 \pm 0,787$
P12	$18,8 \pm 0,55$	$43,7 \pm 4,41$	$25,4 \pm 1,22$	$504 \pm 22,1$	$21,2 \pm 0,421$	n.d.	$3,21 \pm 0,345$	$9,95 \pm 1,43$
P13	$20,4 \pm 4,\overline{15}$	$56,7 \pm 1,93$	$4,37 \pm 0,598$	$298 \pm 6,\overline{76}$	$16,3 \pm 0,932$	$26,4 \pm 4,27$	$3,42 \pm 0,615$	$7,72 \pm 2,17$

\* n.d. – ispod nivoa detekcije

Tabela 23. Koncentracije P, K, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u nadzemnim delovima *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
P1	$12,1 \pm 0,202$	$1080\pm20{,}2$	$15,3 \pm 0,355$	$11,6 \pm 0,779$	$4,4 \pm 0,425$	$2,82 \pm 0,133$	$0,77 \pm 0,144$	$4,54 \pm 0,121$
P2	$23,2 \pm 1,73$	$1007 \pm 8{,}91$	$2,63 \pm 0,182$	$8,63 \pm 1,25$	$2,71 \pm 0,225$	6,41 ± 1,23	$4,\!49 \pm 0,\!712$	$3,87 \pm 0,706$
P3	$64,8 \pm 3,17$	$170 \pm 5{,}82$	$2{,}20\pm0{,}08$	$49,7 \pm 2,53$	n.d.	$12,6 \pm 1,51$	$29,5 \pm 0,463$	$14,7 \pm 2,46$
P4	$31,0 \pm 0,83$	$40,1 \pm 1,50$	$14,\!4\pm0,\!98$	$8470 \pm 124$	$4,64 \pm 0,286$	$2{,}28\pm0{,}455$	$1,54 \pm 0,119$	$13,6 \pm 0,753$
P5	$26,6 \pm 0,202$	$501 \pm 20,7$	$0,\!86\pm0,\!18$	$14600\pm1040$	n.d.	$1,61 \pm 0,214$	$1,35 \pm 0,087$	$4,37 \pm 0,388$
P6	$40,6 \pm 2,50$	$659 \pm 5{,}92$	$1,\!45 \pm 0,\!07$	$3460\pm279$	$9,73 \pm 1,21$	$0,\!19 \pm 0$	$4,65 \pm 0,516$	$6{,}18 \pm 1{,}07$
P7	$21,2 \pm 2,48$	$569 \pm 24,0$	$0,917 \pm 0,125$	$5240 \pm 173$	n.d.	$1,73 \pm 0,28$	$1,35 \pm 0,221$	$3,13 \pm 0,09$
P8	$35,4 \pm 0,74$	$391 \pm 4,72$	$0,957 \pm 0,159$	$9690\pm629$	$6,\!69 \pm 0,\!400$	$1,55 \pm 0,214$	$2,54 \pm 0,105$	$12,4 \pm 0,199$
P9	$33,8 \pm 0,89$	$117 \pm 0,65$	$0,857 \pm 0,179$	$11500\pm597$	$2,8\pm0,320$	$0,503 \pm 0,098$	$1,\!29 \pm 0,\!087$	$10,8\pm0,876$
P10	$20,0 \pm 0,527$	$683 \pm 23,3$	$0,\!483 \pm 0,\!050$	$5470 \pm 190$	n.d.	$1,76 \pm 0,238$	$1,37 \pm 0,125$	$4,67 \pm 0,673$
P11	$27,8 \pm 1,31$	$44,7 \pm 1,59$	$24{,}9\pm0{,}76$	$11100\pm195$	$7,64 \pm 0,414$	n.d.	$2,13 \pm 0,122$	$11,8 \pm 0,626$
P12	$27,8 \pm 0,233$	$40,8 \pm 0,73$	$20,2 \pm 0,906$	$7260 \pm 190$	$8,86 \pm 0,266$	$2,66 \pm 0,351$	$1,75 \pm 0,035$	$15,6 \pm 0,907$
P13	$34,6 \pm 0,45$	$206 \pm 4,99$	$1,82 \pm 0,087$	$3470 \pm 33,7$	$3,37 \pm 0,657$	$6,55 \pm 0,592$	$1,71 \pm 0,14$	8,07 ± 0,182

\* n.d. – ispod nivoa detekcije

### 4.5 Potencijal za akumulaciju

Izračunate vrednosti biokoncentracionog, bioakumulacionog i translokacionog faktora za analizirane elemente u uzorcima *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafiskih lokaliteta prikazane su u Tabelama 24, 25 i 26, respektivno.

Najviše vrednosti biokoncentracionog faktora kod obe analizirane vrste zabeležene su za Mg, Zn, Ni, Cr i Cd (Tabela 24). Vrednosti biokoncentracionog faktora za Ni kod vrste *N. kovatsii* izračunate su u opsegu od 0,14 do 4,45, dok su kod *N. praecox* u opsegu od 0,93 do 13,6. Izuzetno visoke vrednosti biokoncentracionog faktora izračunate su za uzorak *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Suvo rudište (K8), Trstenik, Pečeni grob (K14), kao i za uzorak *N. praecox* sa lokaliteta Maljen, Kraljev sto (P6) i Tara, Paljevine (P12). Visoke vrednosti bioakumulacionog faktora takođe su zabeležene za Mg, Zn, Ni, Cr i Cd (Tabela 25). Posebno je značajno istaći visoke vrednosti bioakumulacionog faktora za Cd zabeležene na lokalitetima Kopaonik, Suvo rudište (K8) i Trstenik, Pečeni grob (K14) za vrstu *N. kovatsii*, kao i na lokalitetu Tara, Zborište (P3) za vrstu *N. praecox*. Kod obe analizirane vrste zabeležene su i visoke vrednosti bioakumulacionog faktora za Ni, sa znatno višim vrednostima BAF na lokalitetima sa ultramafitskom geološkom podlogom. Kod vrste *N. kovatsii*, vrednosti bioakumulacionog faktora su zabeležene u opsegu od 0,55 do 21,5, dok su vrednosti za *N. praecox* bile u opsegu od 1,26 do 55,9. Vrednosti BAF za Zn su kod obe analizirane vrste više od izračunatih vrednosti BAF za sve druge analizirane metale, a visoke vrednosti su zabeležene i na ultramafitskim i na neultramafitskim lokalitetima.

Visoke vrednosti translokacionog faktora za Ni zabeležene su na ultramafitskim lokalitetima kod obe analizirane vrste, dok ovaj obrazac nije jasno izražen na neultramafitskim lokalitetima (Tabela 26). Kod vrste *N. kovatsii*, vrednosti translokacionog faktora su izračunate u opsegu od 0,25 do 13,4, dok kod *N. praecox* variraju u opsegu od 0,31 do 15,4. Vrednosti biokoncentracionog, bioakumulacionog i translokacionog faktora generalno su < 1 za Fe i Cu, dok su za Mn i Co vrednosti BCF i BAF generalno < 1, ali su zabeležene vrednosti TF > 1.

pod	lebliar	ne i poč	lvučene	. Svetlo	sivom	boiom	su ozna	ačeni ne	ultram	afitski.	a tamn	iie sivo	m
F	<u>j</u>				ultra	mafitsk	i lokali	iteti.		,		-j	
							1	1					

BCF	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Co
K1	0,49	7,45	0,75	0,11	8,35	4,60	2,84	-	-	6,10	0,65
K2	0,62	5,73	0,69	0,05	4,11	1,21	1,76	-	-	2,26	1,11
K3	0,48	4,45	0,14	0,04	2,18	0,16	0,14	-	-	0,09	-
K4	0,19	<u>30,9</u>	2,55	0,11	<u>12,4</u>	0,69	1,79	6,86	1,46	3,71	1,19
K5	0,18	<u>17,9</u>	0,53	0,20	3,80	0,40	0,84	1,61	0,23	1,53	1,13
K6	0,35	<u>11,6</u>	0,17	0,19	3,96	0,34	2,63	3,09	0,21	2,53	0,74
K7	0,19	<u>15,2</u>	4,45	0,06	8,62	0,70	2,57	4,82	0,49	1,16	1,21
K8	0,75	8,07	0,03	1,99	<u>38,7</u>	0,10	0,72	0,61	0,01	<u>55,2</u>	1,00
K9	0,22	1,86	0,95	0,09	4,63	0,40	1,92	1,79	0,11	1,72	0,09
K10	0,31	0,53	0,16	0,03	5,23	0,28	0,95	0,25	-	-	-
K11	0,59	1,16	0,03	0,15	2,55	0,06	0,60	0,22	0,01	0,75	0,07
K12	0,56	0,55	0,12	0,17	3,57	0,16	5,45	0,50	0,00	0,88	0,05
K13	0,96	0,70	0,24	0,25	<u>11,8</u>	0,40	1,00	0,44	2,30	-	0,40
K14	0,53	0,85	0,64	0,04	5,06	0,33	3,99	<u>26,6</u>	0,68	<u>238</u>	0,12
K15	0,71	0,68	0,28	0,25	5,23	0,06	2,85	1,26	0,11	<u>22,6</u>	0,37
K16	0,24	0,36	0,13	0,16	4,38	-	1,49	0,13	-	2,86	-
P1	0,29	3,35	0,17	1,84	0,90	4,87	<u>13,6</u>	-	-	1,71	3,36
P2	0,30	9,68	0,13	1,12	6,63	0,67	4,11	16,1	0,52	<u>17,3</u>	5,01
P3	0,15	0,77	0,59	0,40	6,58	0,46	0,93	-	0,47	<u>13,1</u>	3,97
P4	0,18	2,67	0,56	0,08	<u>15,3</u>	6,09	4,83	8,11	-	<u>14,1</u>	0,27
P5	0,50	1,13	0,17	0,15	<u>14,9</u>	0,42	<u>10,7</u>	0,14	0,01	4,36	0,05
P6	0,97	0,65	0,29	0,13	<u>24,2</u>	0,24	1,62	2,14	0,07	<u>42,7</u>	0,06
P7	0,99	0,48	0,08	0,22	<u>11,6</u>	0,15	5,84	0,59	0,06	8,72	0,28
P8	0,57	0,54	0,22	0,15	<u>27,9</u>	0,16	6,11	0,12	0,02	<u>14,5</u>	0,05
P9	0,88	1,05	0,33	0,08	<u>17,0</u>	0,19	9,01	1,41	0,58	6,98	0,03
P10	0,40	0,28	0,09	0,19	<u>9,75</u>	-	5,55	-	0,11	1,71	0,04
P11	0,72	1,63	0,22	0,02	<u>6,81</u>	4,21	1,55	7,79	-	<u>19,4</u>	0,10
P12	2,79	1,51	0,24	0,03	<u>11,0</u>	<u>10,4</u>	1,32	-	-	<u>53,6</u>	0,08
P13	0,26	1,87	0,19	0,12	5,02	0,78	1,95	4,55	0,94	7,71	0,19

BAF	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Co
K1	0,37	6,25	0,37	0,04	5,34	2,50	1,50	-	-	2,34	0,52
K2	0,56	3,97	0,26	0,02	4,96	0,58	3,07	-	0,21	0,83	0,63
K3	0,23	<u>12,5</u>	0,11	0,02	<u>12,0</u>	0,16	0,55	0,29	-	0,31	-
K4	0,07	<u>24,0</u>	1,84	0,12	<u>20,7</u>	0,61	1,64	0,39	0,20	1,16	0,34
K5	0,16	<u>30,5</u>	0,79	0,11	<u>16,7</u>	0,43	0,64	0,28	-	1,31	0,28
K6	0,13	<u>16,7</u>	0,27	0,03	<u>11,7</u>	0,24	0,67	0,22	0,03	0,90	0,18
K7	0,03	<u>20,9</u>	<u>12,7</u>	0,12	6,61	0,83	3,16	10,6	-	0,43	0,11
K8	0,38	7,06	0,03	0,19	<u>199</u>	0,12	1,70	0,45	0,01	<u>39,8</u>	0,64
K9	0,28	2,45	0,80	0,08	<u>17,0</u>	0,38	<u>14,0</u>	1,15	0,03	0,82	0,15
K10	1,64	1,53	0,12	0,02	<u>14,3</u>	0,27	<u>12,7</u>	0,42	-	-	0,04
K11	0,54	1,84	0,06	0,03	7,58	0,27	7,97	0,22	0,01	0,81	0,12
K12	0,35	0,96	0,11	0,02	<u>10,2</u>	0,16	<u>14,9</u>	0,40	0,01	0,79	0,16
K13	0,70	1,30	0,37	0,09	11,38	0,47	9,51	1,44	0,89	-	0,21
K14	0,46	1,39	0,54	0,06	5,68	0,35	<u>21,5</u>	<u>54,3</u>	0,24	<u>139</u>	0,17
K15	0,44	0,98	0,25	0,04	<u>19,3</u>	0,24	<u>19,6</u>	1,67	-	6,67	0,14
K16	0,19	0,66	0,21	0,03	<u>16,2</u>	0,09	<u>12,0</u>	1,03	-	2,50	0,13
P1	0,60	4,25	0,12	0,03	1,13	2,12	4,40	-	0,07	0,58	1,85
P2	0,76	<u>19,7</u>	0,33	0,09	<u>16,9</u>	0,48	1,26	4,07	0,10	5,96	0,90
P3	0,34	1,18	0,12	0,16	6,71	0,39	5,35	-	0,23	<u>17,2</u>	3,50
P4	0,34	3,61	0,31	0,06	<u>15,0</u>	3,50	<u>50,7</u>	1,64	0,24	6,98	0,30
P5	0,55	2,84	0,10	0,02	<u>37,6</u>	0,20	<u>55,9</u>	-	0,08	3,16	0,07
P6	1,51	2,03	0,42	0,03	<u>88,6</u>	0,31	9,73	5,32	0,01	<u>13,4</u>	0,10
P7	0,63	0,89	0,06	0,02	<u>25,8</u>	0,12	7,44	-	0,07	2,28	0,10
P8	0,42	1,13	0,31	0,03	<u>62,3</u>	0,22	<u>24,7</u>	1,83	0,10	7,06	0,22
P9	0,95	1,62	0,25	0,04	<u>28,4</u>	0,21	<u>37,1</u>	1,71	0,09	8,60	0,27
P10	0,30	0,71	0,04	0,02	<u>34,5</u>	0,09	<u>13,2</u>	-	0,07	1,82	0,10
P11	3,06	2,62	0,26	0,02	<u>12,1</u>	3,41	23,8	2,44	-	9,55	0,14
P12	2,40	2,40	0,28	0,02	<u>10,2</u>	8,27	<u>18,9</u>	-	0,29	<u>29,2</u>	0,12
P13	0,13	3,02	0,19	0,07	<u>18,2</u>	0,32	22,7	0,94	0,23	3,86	0,20
		1					1		1	1	1

Tabela 25. Vrednosti bioakumulacionog faktora za *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta. Vrednosti >1 su podebljane, vrednosti >10 su podebljane i podvučene. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti

Tabela 26. Vrednosti translokacionog faktora za <i>N. kovatsii</i> i <i>N. praecox</i> sa ultramafitskih i
neultramafitskih lokaliteta. Vrednosti >1 su podebljane, vrednosti >10 su podebljane i podvučene.
Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

TF	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Co
K1	0,75	0,84	0,50	0,91	0,64	0,54	0,53	0,20	-	0,38	0,81
K2	0,89	0,69	0,37	0,74	1,21	0,48	1,75	0,19	-	0,37	0,57
K3	0,48	2,80	0,79	1,16	5,49	1,00	3,96	-	-	3,50	-
K4	0,35	0,78	0,72	2,27	1,67	0,88	0,92	0,06	0,14	0,31	0,28
K5	0,88	1,71	1,51	1,50	4,39	1,09	0,76	0,17	-	0,86	0,25
K6	0,39	1,45	1,54	1,31	2,95	0,71	0,25	0,07	0,12	0,36	0,24
K7	0,16	1,37	2,86	1,39	0,77	1,18	1,23	2,20	-	0,37	0,09
K8	0,50	0,88	0,98	3,46	5,14	1,21	2,38	0,75	1,09	0,72	0,64
K9	1,30	1,32	0,85	1,36	3,67	0,95	7,30	0,64	0,23	0,48	1,74
K10	5,31	2,88	0,74	1,43	2,73	0,96	<u>13,4</u>	1,67	-	-	-
K11	0,93	1,59	1,85	1,88	2,97	4,20	<u>13,3</u>	1,01	2,56	1,09	1,75
K12	0,62	1,73	0,93	1,20	2,87	0,96	2,75	0,80	1,86	0,89	3,40
K13	0,73	1,86	1,52	1,91	0,97	1,19	9,52	3,28	0,39	-	0,53
K14	0,88	1,63	0,85	1,51	1,12	1,04	5,39	2,04	0,36	0,59	1,34
K15	0,62	1,44	0,90	1,11	3,69	4,07	6,88	1,32	-	0,30	0,39
K16	0,80	1,85	1,63	1,10	3,70	-	8,04	7,69	-	0,87	-
P1	2,11	1,27	0,73	0,82	1,25	0,44	0,32	0,20	-	0,34	0,55
P2	2,55	2,04	2,51	1,74	2,55	0,72	0,31	0,25	0,19	0,34	0,18
P3	2,30	1,53	0,20	0,85	1,02	0,86	5,78	-	0,50	1,32	0,88
P4	1,92	1,35	0,55	0,70	0,98	0,57	<u>10,5</u>	0,20	-	0,49	1,10
P5	1,09	2,50	0,56	1,03	2,52	0,49	5,25	-	5,63	0,72	1,37
P6	1,54	3,10	1,44	1,99	3,66	1,29	6,01	2,48	0,19	0,31	1,70
P7	0,64	1,85	0,75	1,65	2,22	0,83	1,27	-	1,09	0,26	0,36
P8	0,74	2,09	1,41	1,98	2,24	1,43	4,03	<u>15,6</u>	4,34	0,49	4,30
P9	1,08	1,55	0,76	1,28	1,67	1,09	4,11	1,22	0,16	1,23	7,83
P10	0,75	2,53	0,41	1,02	3,54	-	2,39	-	0,66	1,06	2,56
P11	4,24	1,61	1,21	1,17	1,78	0,81	<u>15,4</u>	0,31	-	0,49	1,42
P12	0,86	1,59	1,18	1,48	0,93	0,79	<u>14,4</u>	0,42	-	0,54	1,56
P13	0,51	1,62	0,97	1,70	3,63	0,42	<u>11,6</u>	0,21	0,25	0,50	1,04

#### 4.6 Korelacione analize

Za utvrđivanje odnosa među analiziranim fizičko-hemijskim karakteristikama zemljišta korišćena je Spirmanova korelacija rangova, a rezultati su prikazani na Slici 47 i u Prilogu 1.

Sadržaj Zn (pseudototalni i pristupačan) pozitivno je korelisan sa pseudototalnim i pristupačnim sadržajem Cu, Pb i Cd, kao i sa sadržajem P, K, OM, N i Ca, dok se negativna korelisanost uočava u odnosu pseudototalnog Zn i pseudototalnog i pristupačnog nikla. Izražen je antagonizam između kiselosti zemljišta i koncentracija N, OM i pristupačnog Fe. Istovremeno, pseudototalna koncentracija Fe negativno je korelisana sa pseudototalnim i pristupačnim sadržajem Zn, Cu, Pb i Cd, kao i sa sadržajem P i K. Izražen je i antagonizam između pseudototalnog sadržaja Cd. Nasuprot tome pseudototalni, kao i pristupačni sadržaj Fe u pozitivnoj je korelaciji sa koncentracijama pseudototalnog i pristupačnog Mn, Ni, Cr i Co. Koncentracija pseudototalnog i pristupačnog nikla u negativnoj je korelaciji sa pristupačnim i pseudototalnim sadržajem Pb i Cd (Slika 47; Prilog 1). Koncentracije elemenata čije su koncentracije konstitutivno povišene u zemljištima koja se razvijaju na ultramafitskoj geološkoj podlozi (Mg, Fe, Ni, Cr, Mn, Co) međusobno su visoko pozitivno korelisane, dok su ovi elementi u negativnoj korelaciji sa sadržajem Ca. Koncentracije P i K takođe su negativno korelisane sa sadržajem navedenih elemenata tipičnih za ultramafitska zemljišta.



Slika 47. Spirmanova korelacija rangova za fizičko-hemijske karakteristike zemljišta. Plavom bojom je prikazana pozitivna korelacija, crvenom negativna. Prazna polja označavaju korelaciju koja nije statistički značajna (p> 0.05); "uk" označava pseudototalnu koncentraciju elementa, "prist." označava pristupačnu koncentraciju.

Rezultati korelacione analize sadržaja analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* prikazani su na Slici 48, dok su za *N. praecox* prikazani na Slici 49 i u Prilogu 2.

Koncentracija Ni u korenovima *N. kovatsii* u pozitivnoj je korelaciji sa sadržajem ovog elementa u nadzemnim delovima biljaka, sadržajem K u korenu, ali i Cr i Co u nadzemnim delovima biljaka. Sadržaj Zn u korenovima takođe je u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem ovog elementa u nadzemnim delovima biljaka, a isti obrazac važi i za sadržaj Cd (Slika 49; Prilog 2). Istovremeno, zabeležen je i izražen antagonizam između sadržaja Mg u nadzemnim delovima biljaka i Cd u korenu, kao i Fe u korenu i Zn u nadzemnom delu biljke.



Slika 48. Spirmanova korelacija rangova za sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii*. Plavom bojom je prikazana pozitivna korelacija, crvenom negativna. Prazna polja označavaju korelaciju koja nije statistički značajna (p> 0.05) ; "uk" označava pseudototalnu koncentraciju elementa, "prist." označava pristupačnu koncentraciju.

Kod *N. praecox* uočava se izražen antagonizam između sadržaja K u korenovima biljaka i P u nadzemnim delovima. Istovremeno, sadržaj Ca u korenovima u negativnoj je korelaciji sa sadržajem Fe i Mn u korenovima *N. praecox*, ali i sa sadržajem Ni i Co u nadzemnim delovima biljaka.

Koncentracija Zn u korenu *N. praecox* negativno je korelisana sa koncentracijama Mg, Fe, Mn i Cr i u korenovima i u nadzemnim delovima biljaka. Antagonizam je zabeležen i između sadržaja Zn u biljnim organima i sadržaja Co u nadzemnom delu biljke. Koncentracija Zn u korenovima i nadzemnim delovima *N. praecox* negativno je korelisana sa sadržajem Ni u nadzemnim delovima biljaka, ali ne i u korenovima. Posebno je izražen antagonizam između sadržaja Zn u korenovima i nadzemnim delovima *N. praecox* i koncentracije Co u nadzemnim delovima biljaka, ali ne i u korenovima. Sadržaj Mg, Zn, Cu i Cd u korenovima biljaka pozitivno je korelisan sa sadržajem datog elementa u nadzemnom delu *N. praecox* (Slika 49; Prilog 3).



Slika 49. Spirmanova korelacija rangova za sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima *N. praecox*. Plavom bojom je prikazana pozitivna korelacija, crvenom negativna. Prazna polja označavaju korelaciju koja nije statistički značajna (p> 0.05) ; "uk" označava pseudototalnu koncentraciju elementa, "prist." označava pristupačnu koncentraciju.

4.7 Sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u biljkama gajenim u eksperimentalnim uslovima

Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u korenovima i u nadzemnim delovima *N. kovatsii* prikazane su u Tabelama 27 i 28, dok su koncentracije ovih elemenata u u korenovima i nadzemnim delovima *N. praecox* prikazane su u Tabelama 29 i 30. Usled nedovoljne količine materijala, analize sadržaja svih analiziranih elemenata nije bilo moguće izvršiti u korenovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar, korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Avala u eksperimentalnoj grupi C, kao i nadzemnim delovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar u eksperimentalnoj grupi C.

# 4.7.1 Koncentracije fosfora i kalijuma

Koncentracije fosfora u korenovima *N. kovatsii* sa Kopaonika su niže pri tretmanu niklom, dok su kod biljaka iz populacije Avala koncentracije nešto više u odnosu na kontrolnu grupu. Kod vrste *N. kovatsii*, koncentracije P su generalno više u nadzemnim delovima biljaka pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolnu grupu, sa najizraženijom promenom u odnosu na kontrolnu grupu kod biljaka iz populacije sa Kopaonika (Tabela 28). U korenovima biljaka iz populacije Avala izraženo je povećanje koncentracije K pri tretmanu niklom, dok je kod biljaka sa Kopaonika uočen drugačiji obrazac uz

niže koncentracije K pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 27). Nasuprot tome, kod svih populacija *N. kovatsii* izraženo je povećanje koncentracije K u nadzemnim delovima biljaka pri tretmanu niklom (Tabela 28).

Koncentracije fosfora pri tretmanu niklom generalno su niže u odnosu na kontrolnu grupu u korenovima *N. praecox* iz ultramafitskih populacija populacija Maljen i Zlatibor, dok je kod biljaka sa Ćićarije uočen suprotan trend (Tabela 29). Sličan obrazac je uočen i kod koncentracija P u nadzemnim delovima *N. praecox* iz ultramafitskih populacija Maljen i Zlatibor, gde pri tretmanu niklom dolazi do smanjenja koncentracije P u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka sa Ćićarije dolazi do povećanja koncentracija P (Tabela 30).

Koncentracije K u korenovima *N. praecox* u populacijama Zlatibor i Ćićarija su generalno više pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka iz populacije Maljen nije utvrđen jednoznačan odgovor sa povećanjem koncentracije Ni (Tabela 29). Koncentracije K u nadzemnim delovima *N. praecox* sa Maljena su pri tretmanu niklom nešto niže u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka iz populacija sa Zlatibora i Ćićarije generalno dolazi do povećanja koncentracije K sa povećanjem koncentracije Ni u supstratu, koje je u slučaju biljaka sa Ćićarije nešto više izraženo.

### 4.7.2 Koncentracije kalcijuma i magnezijuma

Kod vrste *N. kovatsii* sa povećanjem koncentracije Ni kod biljaka iz populacije Kopaonik dolazi do smanjenja koncentracije Ca u korenovima, dok kod biljaka sa Avale tretman niklom dovodi do povećanja koncentracije Ca (Tabela 27). Povećanje koncentracije Ni dovodi do povećanja koncentracije Ca u nadzemnim delovima biljaka iz populacije sa Kopaonika i smanjenja koncentracije Ca kod biljaka poreklom sa Kablara, dok se kod biljaka iz populacije sa Avale koncentracija Ca ne menja jednoznačno sa povećanjem koncentracije Ni (Tabela 28).

U korenovima biljaka iz populacije Kopaonik povećanje koncentracije Ni uzrokuje pad koncentracije Mg u odnosu na kontrolnu grupu, uz odstupanje u eksperimentalnoj grupi B, dok kod biljaka sa Avale dolazi do povećanja koncentracije Mg u korenovima sa porastom koncentracije Ni (Tabela 27). Povećanje koncentracije Ni u supstratu dovodi do povećanja koncentracije Mg u nadzemnim delovima *N. kovatsii* iz svih populacija, s tim da je ova promena kod biljaka sa Avale slabije izražena (Tabela 28).

Povećanje koncentracije Ca pri izlaganju niklu uočeno je u korenovima *N. praecox* poreklom sa Zlatibora, ali su u populacijama sa Maljena i sa Ćićarije koncentracije Ca pri tretmanu Ni niže u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 29). Koncentracije Ca u nadzemnim delovima *N. praecox* pri tretmanu niklom generalno su više u odnosu na kontrolnu grupu.

U korenovima *N. praecox* iz populacija sa Zlatibora i sa Ćićarije tretman niklom uglavnom dovodi do povećanja koncentracije Mg u odnosu na kontrolnu grupu, dok je u populaciji sa Maljena zabeležen suprotan trend. Tretman niklom kod *N. praecox* poreklom sa Zlatibora i sa Ćićarije uglavnom dovodi do povećanja koncentracije Mg u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na kontrolnu grupu, koje je posebno izraženo kod biljaka sa Ćićarije. Kod biljaka poreklom sa Maljena nije utvrđena jednoznačna promena koncentracije Mg u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na tretman niklom (Tabela 30).

#### 4.7.3 Koncentracije gvožđa

Promene koncentracije Fe ne prate jasan obrazac u zavisnosti od koncentracije Ni u supstratu ni u korenovima, niti u nadzemnim delovima *N. kovatsii* iz gotovo svih analiziranih populacija. Trend povećanja je jasan jedino u nadzemnim delovima *N. kovatsii* iz populacije sa Avale (Tabela 28).

Promene koncentracija Fe u korenovima *N. praecox* iz populacija sa Maljena i Ćićarije ne prate jasan trend promena koncentracija Ni u supstratu (Tabela 29). Kod biljaka poreklom iz populacije Zlatibor, koncentracije Fe u korenovima su pri tretmanu Ni više u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod nadzemnih delova biljaka ovaj obrazac nije jasno izražen (Tabele 29 i 30).

Povećanje koncentracije Ni u supstratu kod *N. praecox* iz populacije sa Maljena dovodi do smanjenja koncentracije Fe u nadzemnim delovima biljaka, dok kod biljaka poreklom sa Ćićarije uzrokuje suprotan odgovor tj. pri tretmanu Ni su koncentracije Fe više u odnosu na kontrolnu grupu.

		Р	K	Ca	Mg	Fe						
ionik	Kop_K	$7990 \pm 140$	$8540\pm34{,}7$	$2720\pm28{,}1$	$597 \pm 6{,}75$	$264 \pm 4,65$						
	Kop_A	$7090 \pm 58{,}1$	$6210 \pm 13{,}8$	$2630\pm26{,}7$	$570 \pm 8{,}58$	$167 \pm 3,25$						
3do	Kop _B	$6020\pm48{,}3$	$6340 \pm 24,5$	$2290 \pm 25{,}4$	$659 \pm 17{,}7$	$824 \pm 5,1$						
Ň	Kop_C	$7180 \pm 77,6$	$7450 \pm 29{,}8$	$1630 \pm 52$	$469 \pm 5,63$	$346 \pm 6,81$						
	A_K	$4580 \pm 167$	$10900\pm116$	$2710\pm27{,}5$	$120\pm5{,}38$	$101 \pm 2,4$						
ala	A_A	$4990 \pm 53{,}6$	$14500\pm399$	$3050\pm78{,}8$	$190\pm7{,}16$	$168 \pm 8,74$						
Ava	A_B	$4860\pm46$	$14700 \pm 121$	$4340 \pm 33$	$209 \pm 5{,}65$	$97,2 \pm 1,93$						
	A_C											

Tabela 27. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u korenovima *N. kovatsii* (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

Tabela 28. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u nadzemnim delovima *N. kovatsii* (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Oznaka	Р	K	Ca	Mg	Fe
k	Kop_K	$4870 \pm 55{,}3$	$58200\pm 608$	$3040\pm64{,}8$	$545 \pm 5,61$	$65,9 \pm 3,3$
ioni	Kop_A	$7530 \pm 22{,}4$	$63100 \pm 194$	$6320 \pm 44{,}6$	$828 \pm 9{,}9$	$57,8 \pm 1,4$
Kopa	Kop _B	$7540\pm30{,}6$	$63400\pm411$	$4640\pm66{,}2$	$898 \pm 7{,}32$	$64,4 \pm 2,05$
	Kop_C	$7140 \pm 74,\! 9$	$105000\pm4530$	$9220\pm94{,}7$	$777 \pm 7,55$	$67,4 \pm 3,56$
	A_K	$4090 \pm 57{,}9$	$48900 \pm 121$	$3040 \pm 117$	$555\pm7{,}78$	$43,6 \pm 2,31$
ala	A_A	$3940\pm32{,}9$	$49300\pm146$	$1900\pm3{,}32$	$576 \pm 9{,}69$	$44,\!4 \pm 0,\!64$
Av	A_B	$4460\pm40{,}5$	$56300\pm516$	$3390 \pm 29{,}5$	$560 \pm 7{,}81$	$45,8 \pm 1,74$
	A_C					
	K_K	$1660 \pm 165$	$1870\pm69{,}8$	$1510\pm120$	$1510 \pm 21,7$	$32,1 \pm 3,54$
Kablar	K_A	$2430\pm218$	$3450\pm542$	$835\pm80{,}2$	$1730\pm27{,}8$	$52,2 \pm 1,07$
	K_B	$2020\pm151$	$4100\pm256$	$1420\pm174$	$1900\pm157$	$37,3 \pm 0,88$
	K_C					

Tabela 29. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u korenovima *N. praecox* (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Oznaka	Р	K	Ca	Mg	Fe
	M_K	$4550\pm75{,}7$	$16400\pm369$	$4270 \pm 55{,}8$	$292 \pm 5,04$	$106 \pm 5,83$
ljen	M_A	$4390 \pm 26,3$	$14700\pm255$	$3390 \pm 59,1$	$213 \pm 3,93$	$132 \pm 6,24$
Mal	M_B	$5020\pm87{,}4$	$16100\pm166$	$2960 \pm 38,1$	$211 \pm 6,28$	$86,9 \pm 2,10$
	M_C	$3580 \pm 19{,}7$	$17300\pm145$	$2520\pm22{,}3$	$226 \pm 6,11$	$104 \pm 1,82$
r	Z_K	$3280 \pm 179$	$11000\pm 623$	$4640 \pm 157$	$4020 \pm 61,3$	$39,4 \pm 2,02$
ibo	Z_A	$4080\pm360$	$14000\pm70{,}4$	$4800\pm283$	$7270\pm480$	$59,1 \pm 5,78$
Zlat	Z_B	$3080 \pm 150$	$12500\pm798$	$5560\pm209$	$4930 \pm 124$	$51,1 \pm 1,53$
	Z_C	$2740\pm296$	$11600\pm383$	$6550\pm331$	$5490\pm369$	$45,7 \pm 4,80$
r r	Ć_K	$4850\pm20{,}0$	$13600\pm195$	$2480 \pm 31,0$	$164 \pm 4,00$	$235 \pm 7{,}08$
Čićarije	Ć_A	$7220\pm99{,}2$	$19400\pm159$	$1150\pm49{,}7$	$276 \pm 6{,}09$	$579 \pm 8{,}39$
	Ć_B	$9210\pm50{,}6$	$22900 \pm 222$	$1310 \pm 15,9$	$372 \pm 7,67$	$144 \pm 2,65$
	Ć_C	$9520 \pm 105$	$23900 \pm 322$	$1290 \pm 34,6$	$576 \pm 7,21$	$669 \pm 9,50$

ogon su označen neutramanski, a taminje stvom utramanski lokaneti.											
	Oznaka	Р	K	Ca	Mg	Fe					
_	M_K	$4250 \pm 28,1$	$46900\pm290$	$721 \pm 10,5$	$564 \pm 5,16$	$53,2 \pm 2,72$					
ljen	M_A	$3310 \pm 35,7$	$36200\pm790$	$1080 \pm 30,0$	$338\pm252$	$18,2 \pm 0,40$					
Mal	M_B	$2780 \pm 13,1$	$40100\pm 669$	$1070 \pm 45,6$	$638 \pm 9,90$	$13,8 \pm 0,36$					
	M_C	$4030 \pm 21,5$	$38400\pm368$	$1220 \pm 35,1$	$521 \pm 8,40$	$36,0 \pm 0,24$					
or	Z_K	$708 \pm 46,5$	$45600 \pm 71,9$	$1510 \pm 50,6$	$3020 \pm 76,9$	$36,0 \pm 1,36$					
ibo	Z_A	535 ± 31,6	$44700 \pm 164$	$3720\pm619$	$3290 \pm 93{,}3$	$32,3 \pm 2,00$					
.lat	Z_B	$480 \pm 96,1$	$46100\pm389$	$1240 \pm 159$	$3190 \pm 45{,}5$	$37,3 \pm 0,83$					
Z	Z_C	$620 \pm 114$	$47900 \pm 1340$	$5200\pm348$	$3220\pm98{,}8$	$36,8 \pm 1,12$					
a	Ć_K	$4210 \pm 54,5$	$47300\pm320$	$3670 \pm 51,9$	$541 \pm 10,2$	$35,8 \pm 1,84$					
Ćićarija	Ć_A	$5890 \pm 46,0$	$56800\pm811$	$4900 \pm 50,5$	$630 \pm 1,57$	$51,6 \pm 0,98$					
	Ć_B	$6940 \pm 29,7$	$111000 \pm 2300$	$5490 \pm 65,2$	$1770 \pm 42,9$	$157 \pm 4,68$					
	Ć_C	$7660 \pm 54,6$	$145000 \pm 3230$	$10500 \pm 249$	$3920 \pm 50,7$	87,8 ± 1,99					

Tabela 30. Koncentracije P, K, Ca, Mg i Fe u nadzemnim delovima *N. praecox* (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

#### 4.7.4 Koncentracije mangana

Tretman niklom dovodi do smanjenja koncentracije Mn u korenovima *N. kovatsii* iz svih analiziranih populacija u odnosu na kontrolnu grupu, što je uočeno i u analiziranim nadzemnim delovima biljaka (Tabela 31).

U korenovima *N. praecox* sa Maljena i sa Zlatibora nije jasno izražena promena koncentracije Mn sa povećanjem koncentracije Ni, dok je u korenovima biljaka sa Ćićarije sadržaj Mn viši u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 33). Koncentracija Mn u nadzemnim delovima *N. praecox* poreklom sa Maljena i sa Zlatibora pri tretmanu niklom generalno je niža u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka sa Ćićarije nije uočen jasan trend promene koncentracije Mn u zavisnosti od koncentracije Ni u supstratu (Tabela 34).

#### 4.7.5 Koncentracije cinka

Kod *N. kovatsii* iz populacije sa Kopaonika koncentracija Zn u korenovima je niža pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka iz populacije sa Avale koncentracija Zn u korenovima raste pri povećanju koncentracije Ni u supstratu.

Kod vrste *N. kovatsii* povećanje koncentracije Ni u supstratu dovodi i do značajnog smanjenja koncentracije Zn u nadzemnim delovima biljaka iz populacije sa ultramafita na Kopaoniku, kao i kod neultramafitske populacije sa Avale, dok kod biljaka sa Kablara koncentracija Ni u supstratu ne utiče značajno na koncentraciju Zn u nadzemnim delovima.

Koncentracije Zn su više u uzorcima korenova iz gajenih ultramafitskih populacija *N. praecox* sa Maljena i Zlatibora pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolnu grupu, dok je kod biljaka sa Ćićarije koncentracija Zn u korenovima pri tretmanu Ni niža u odnosu na kontrolu.

Povećanje koncentracije Ni u supstratu dovodi do smanjenja koncentracije Zn u tkivima nadzemnih organa *N. praecox* iz populacija Maljen i Zlatibor poreklom sa ultramafita, dok su kod biljaka iz krečnjačke populacije Ćićarija koncentracije Zn u nadzemnim delovima pri tretmanu Ni više u odnosu na kontrolu (Tabela 34).

# 4.7.6 Koncentracije bakra

Pri tretmanu niklom, koncentracija Cu se u korenovima *N. kovatsii* iz populacija sa Kopaonika i Avale povećava u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 31), dok u nadzemnim delovima obrazac nije jasno izražen, s tim da u eksperimentalnoj grupi B u populaciji Avala dolazi do znatnog povećanja koncentracije Cu u odnosu na kontrolu (Tabela 32).

U populaciji *N. praecox* sa Maljena pri tretmanu Ni dolazi do povećanja koncentracije Cu u korenovima u odnosu na kontrolu (Tabela 33), dok je u nadzemnim delovima pri tretmanu Ni koncentracija Cu niža u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 34). U korenovima biljaka iz populacije sa Zlatibora, pri tretmanu niklom nije izražen jasan obrazac promene koncentracija Cu (Tabela 33), dok je u nadzemnim delovima koncentracija Cu nešto niža u odnosu na kontrolu, uz izuzetak eksperimentalne grupe B (Tabela 34). U korenovima biljaka sa Ćićarije, pri tretmanu niklom u eksperimentalnim grupama B i C dolazi do smanjenja koncentracije Cu u odnosu na kontrolu (Tabela 33), dok u navedenim eksperimentalnim grupama istovremeno dolazi do povećanja koncentracije Cu u nadzemnim delovima biljaka u odnosu na kontrolu (Tabela 34).

#### 4.7.7 Koncentracije nikla

Kod biljaka iz populacije Kablar, usled nedovoljne količine materijala, koncentracije elemenata u korenovima nisu određene, dok je kod biljaka iz populacija Kopaonik i Avala koncentracija Ni u svim eksperimentalnim grupama, izuzev u kontroli, bila višestruko niža u korenovima u odnosu na koncentracije ovog elementa u nadzemnim delovima biljaka (Tabele 31 i 32).

Povećanje koncentracije Ni u supstratu dovodi i do povećanja koncentracije ovog elementa u tkivima biljaka iz svih gajenih populacija vrste *N. kovatsii* (Tabele 31 i 32). Najviše koncentracije Ni u tkivima nadzemnih organa u svakoj od eksperimentalnih grupa zabeležene su kod biljaka iz populacije sa Kopaonika, sa koncentracijom Ni u grupi C od 5730 mg kg<sup>-1</sup>. Pri svim primenjenim koncentracijama Ni, koncentracija ovog metala u tkivima nadzemnih organa bila je iznad nominalnog nivoa hiperakumulacije (van der Ent *et al.* 2013).

Kod svih analiziranih populacija *N. praecox*, povećanje koncentracije Ni u supstratu dovodi do povećanja koncentracije ovog elementa u odnosu na kontrolnu grupu i u korenovima i u nadzemnim delovima biljaka (Tabele 33 i 34). Koncentracija nikla je u svim eksperimentalnim grupama kod svih analiziranih populacija *N. praecox* viša u nadzemnim delovima u odnosu na koren, izuzimajući kontrole. Pri svim testiranim koncentracijama Ni u supstratu, koncentracije u tkivima nadzemnih organa višestruko prelaze nominalni prag hiperakumulacije (1000 mg kg<sup>-1</sup>; van der Ent *et al.* 2013). Za svaku od primenjenih koncentracija Ni u supstratu, najviša koncentracija Ni u tkivima nadzemnih organa zabeležena je kod biljaka iz populacije Zlatibor, sa koncentracijom od 14300 mg kg<sup>-1</sup> u tkivima nadzemnih organa u eksperimentalnoj grupi C.

#### 4.7.8 Koncentracije hroma

U korenovima *N. kovatsii* sa povećanjem koncentracije Ni u supstratu dolazi do povećanja koncentracije Cr kod biljaka iz populacije Avala, dok kod biljaka sa Kopaonika do porasta koncentracije Cr dolazi pri tretmanu najvišom korišćenom koncentracijom Ni u eksperimentalnoj grupi C (Tabela 31). Kod biljaka iz populacije sa Avale dolazi do smanjenja koncentracije Cr u nadzemnim delovima biljaka pri tretmanu Ni, kod biljaka sa Kopaonika se uočava suprotan obrazac, dok kod biljaka sa Kablara nije uočen jednoznačan odgovor u promeni koncentracije Cr sa povećanjem koncentracije Ni u supstratu (Tabela 32).

Kod *N. praecox* sa Maljena dolazi do smanjenja koncentracije Cr u korenovima pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolu, dok se kod biljaka sa Ćićarije uočava suprotan obrazac (Tabela 33). U korenovima i nadzemnim delovima biljaka sa Zlatibora su koncentracije Cr bile ispod nivoa detekcije. Istovremeno, u nadzemnim delovima biljaka sa Maljena i Ćićarije su koncentracije Cr pri tretmanu niklom više u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 34).

# 4.7.9 Koncentracije olova

Koncentracije Pb u korenovima *N. kovatsii* sa Kopaonika su više u odnosu na kontrolnu grupu pri tretmanu niklom, dok su kod biljaka sa Avale koncentracije Pb u korenovima ispod nivoa detekcije (Tabela 31). U nadzemnim delovima *N. kovatsii* nije uočen jasan obrazac promene koncentracija Pb pri tretmanu Ni (Tabela 32). Jasan obrazac promene koncentracije Pb pri tretmanu niklom nije moguće uočiti ni u podzemnim ni u nadzemnim delovima *N. praecox* u svim gajenim populacijama (Tabele 33 i 34).

# 4.7.10 Koncentracije kadmijuma

Koncentracije Cd u korenovima *N. kovatsii* sa Avale pri tretmanu niklom su niže u odnosu na kontrolnu grupu, dok je kod biljaka sa Kopaonika uočeno da je koncentracija Cd viša u odnosu na kontrolnu grupu u eksperimentalnoj grupi B (Tabela 31). U nadzemnim delovima *N. kovatsii* u populaciji sa Kopaonika dolazi do povećanja koncentracije Cd pri tretmanu Ni u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka iz populacije Avala dolazi do smanjenja koncentracije Cd (Tabela 32).

U korenovima *N. praecox* sa Maljena je koncentracija Cd pri tretmanu niklom viša u odnosu na kontrolu, dok se kod ostalih analiziranih populacija ne uočava jasan odgovor (Tabela 33). Istovremeno, kod svih analiziranih populacija su pri tretmanu niklom koncentracije Cd u nadzemnim delovima biljaka više u odnosu na kontrolu (Tabela 34).

# 4.7.11 Koncentracije kobalta

U korenovima *N. kovatsii* sa Kopaonika zabeležene su neuobičajeno visoke koncentracije Co u kontrolnoj grupi i eksperimentalnoj grupi C, što bi moglo biti uslovljeno malom količinom materijala dostupnog za analizu i vrednostima apsorbanci neposredno iznad nivoa detekcije. U korenovima biljaka sa Avale, u eksperimentalnoj grupi B dolazi do povećanja koncentracije Co u odnosu na kontrolu (Tabela 31). U nadzemnim delovima biljaka iz svih analiziranih populacija pri tretmanu niklom dolazi do povećanja koncentracije Co, izuzev u eksperimentalnoj grupi A kod biljaka sa Kablara (Tabela 32).

U korenovima *N. praecox* sa Maljena i Ćićarije je koncentracija Co generalno viša pri tretmanu niklom, a u nekoliko eksperimentalnih grupa koncentracija Co je ispod nivoa detekcije (Tabela 33). U nadzemnim delovima *N. praecox* iz svih analiziranih populacija koncentracija Co pri tretmanu Ni je viša u odnosu na kontrolu (Tabela 34).

		Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
ik	Kop_K	$90,8\pm3,77$	$174 \pm 1,\!24$	$5,33 \pm 0,07$	$86,2 \pm 1,32$	$41,1 \pm 1,53$	$1,\!22 \pm 0,\!14$	$24,\!6\pm0,\!26$	$129 \pm 2{,}27$
Kopaoni	Kop_A	$50,9 \pm 1,3$	$145 \pm 1,15$	$8\pm0,03$	$378 \pm 5{,}96$	$25,1 \pm 0,95$	$5,\!44 \pm 0,\!43$	$24,1\pm0,15$	$79,6 \pm 1,57$
	Kop _B	$72 \pm 1,32$	$134\pm0{,}18$	$6,73 \pm 0,03$	$771 \pm 0{,}72$	$27,2 \pm 1,03$	$20{,}5\pm0{,}61$	$36{,}9\pm1{,}72$	$46,4 \pm 2,64$
	Kop_C	$46,7\pm0,89$	$134 \pm 0,63$	$8{,}78 \pm 0{,}02$	$561 \pm 6{,}77$	$64,7 \pm 1,2$	$29,1 \pm 2,21$	$24,1\pm0,61$	$126,7\pm0,97$
	A_K	$89,3\pm0,98$	$114 \pm 1,23$	$3,\!24 \pm 0,\!03$	$29,3 \pm 2,74$	$9{,}98 \pm 0{,}65$	n.d.	$8{,}57 \pm 0{,}38$	$10,3\pm0,58$
ala	A_A	$42,1 \pm 1,2$	$116\pm0{,}82$	$5{,}59 \pm 0{,}07$	$227 \pm 5{,}04$	$11,9\pm0,32$	n.d.	$2{,}69 \pm 0{,}17$	$10,\!6\pm0,\!27$
Av	A_B	$50{,}9\pm1{,}07$	$169 \pm 1,5$	$7,\!22 \pm 0,\!03$	$343 \pm 2{,}09$	$20{,}6\pm0{,}17$	n.d.	$1{,}59\pm0{,}12$	$25,5 \pm 1,34$
	A_C								

Tabela 31. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u korenovima *N. kovatsii* (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

n.d. – ispod nivoa detekcije

Tabela 32. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u nadzemnim delovima *N. kovatsii* (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Oznaka	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
Kopaonik	Kop_K	$227 \pm 4{,}45$	$208 \pm 2{,}45$	$2{,}49 \pm 0{,}02$	$4,\!24 \pm 0,\!52$	$10,5 \pm 0,49$	$0,\!16 \pm 0,\!02$	$1,\!29 \pm 0,\!21$	$3,4 \pm 0,35$
	Kop _A	$101 \pm 75,5$	$107 \pm 2{,}83$	$2,\!42\pm0,\!02$	$3500\pm20{,}3$	$12,3 \pm 0,44$	n.d.	$2,83 \pm 0,26$	$15,1 \pm 0,43$
	Kop _B	$175 \pm 4{,}87$	$117 \pm 1,\!48$	$1,\!98\pm0,\!04$	$5370\pm40{,}8$	$11,6 \pm 0,42$	$2,\!92\pm0,\!17$	$2{,}67 \pm 0{,}12$	$16,4 \pm 0,44$
	Kop_C	$195\pm5{,}74$	$105 \pm 2,63$	$2{,}9\pm0{,}02$	$5730 \pm 12,2$	$18,1 \pm 0,76$	$1,11 \pm 0,11$	$3,\!48 \pm 0,\!14$	$19,4 \pm 0,66$
	A_K	$141 \pm 1,78$	$339 \pm 2{,}93$	$2,71 \pm 0,05$	$20{,}9\pm1{,}73$	$5{,}35 \pm 0{,}05$	n.d.	$1,\!24 \pm 0,\!08$	$2,\!27 \pm 0,\!46$
Avala	A_A	$102 \pm 2,9$	$85{,}6\pm0{,}78$	$2{,}57 \pm 0{,}04$	$2380 \pm 15{,}9$	$4,\!24 \pm 0,\!18$	$1,\!58 \pm 0,\!43$	$1,\!04 \pm 0,\!05$	$7,\!92\pm0,\!35$
	A_B	$112 \pm 4,36$	$78,9 \pm 1,56$	$6{,}81 \pm 0{,}07$	$2920\pm25{,}1$	$4,\!44 \pm 0,\!25$	$0,\!39\pm0,\!09$	$0,\!45 \pm 0,\!1$	$10,7\pm0,66$
	A_C								
Kablar	K_K	$68 \pm 2,73$	$71,7 \pm 3,39$	$1,75 \pm 0,06$	$8,\!44 \pm 1,\!05$	$11,9\pm1,95$	$12,6 \pm 1,51$	n.d.	$14,9\pm3,\!98$
	K_A	$31 \pm 5,33$	$76{,}9\pm2{,}7$	$0,73 \pm 0,03$	$2090 \pm 68,\!9$	$17 \pm 0,24$	$0,\!01 \pm 0$	n.d.	$10{,}5\pm0{,}79$
	K_B	$29,2 \pm 1,44$	$70,3 \pm 4,38$	$2,4 \pm 0,08$	$2410 \pm 103$	$14,3 \pm 0,9$	$16,1 \pm 0,46$	n.d.	$20,9 \pm 0,39$
	K_C								

n.d. – ispod nivoa detekcije

	Oznaka	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
Maljen	M_K	$94,0\pm1,\!86$	$109 \pm 1,81$	$4,53 \pm 0,07$	$4,83 \pm 0,22$	44,5 ±0,81	n.d.	$8,35 \pm 0,64$	$10,6 \pm 0,46$
	M_A	$67,9 \pm 1,35$	$159 \pm 1{,}72$	$7,03 \pm 0,04$	$1270\pm10{,}7$	$31,5 \pm 0,75$	n.d.	$9,51 \pm 0,11$	$24,8 \pm 1,37$
	M_B	$106 \pm 3,91$	$208 \pm 2,16$	$6,31 \pm 0,07$	$1580 \pm 13,1$	$34,3 \pm 0,42$	8,71 ± 1,21	$11,1 \pm 0,15$	$34,2 \pm 0,62$
	M_C	$82,0\pm1,\!68$	$153 \pm 2,50$	$5,\!15 \pm 0,\!03$	$1640 \pm 13,4$	$30,8\pm0,66$	$7,\!39 \pm 0,\!34$	$10{,}7\pm0{,}19$	n.d.
Zlatibor	Z_K	$33,4 \pm 3,95$	$42,5 \pm 0,72$	$2{,}02\pm0{,}14$	$2,3 \pm 1,35$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Z_A	$18,4 \pm 2,23$	$87,9 \pm 2,91$	$0,\!93 \pm 0,\!21$	$814 \pm 3,63$	n.d.	n.d.	$1,\!88 \pm 0,\!03$	$2{,}29\pm0{,}06$
	Z_B	$60,7\pm2,09$	$70,8 \pm 4,03$	$1,\!63\pm0,\!82$	$869 \pm 29{,}7$	n.d.	n.d.	$0,\!18 \pm 0,\!03$	n.d.
	Z_C	$17,3 \pm 2,11$	$79,8 \pm 3,32$	$3,46 \pm 1,00$	$1010\pm66{,}9$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ćićarija	Ć_K	$36{,}5\pm0{,}59$	$193 \pm 2,43$	$6{,}16\pm0{,}05$	$36,6 \pm 2,08$	$21,5 \pm 1,07$	$23,1 \pm 1,94$	$12,2 \pm 0,73$	$15,9 \pm 0,24$
	Ć_A	$62,4 \pm 1,37$	$128\pm0{,}59$	$6{,}73 \pm 0{,}05$	$333 \pm 4,00$	$56{,}6\pm0{,}89$	$25,0\pm0,32$	$18,0\pm0,11$	$64,0 \pm 1,70$
	Ć_B	$46,4 \pm 1,04$	$170 \pm 1,96$	$1,84 \pm 0,05$	$436 \pm 3,13$	$64,7 \pm 0,72$	n.d.	$12,3 \pm 0,22$	$34,2 \pm 1,68$
	Ć_C	$51,0 \pm 1,58$	$137 \pm 0,76$	$0,\!40 \pm 0,\!08$	$545\pm6{,}99$	$66,2 \pm 1,75$	n.d.	n.d.	n.d.

Tabela 33. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u korenovima *N. praecox* (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

# n.d. – ispod nivoa detekcije

Tabela 34. Koncentracije Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd i Co u nadzemnim delovima *N. praecox* (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija). Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

	Oznaka	Mn	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd	Со
Maljen	M_K	$276 \pm 4{,}39$	$294 \pm 1,67$	$2,10 \pm 0,05$	n.d.	$2,50 \pm 0,11$	n.d.	$1,95 \pm 0,10$	$7,2 \pm 0,31$
	M_A	$160 \pm 1,\!49$	$199 \pm 1{,}89$	$1,\!67 \pm 0,\!05$	$4900 \pm 34,5$	$5,12 \pm 0,03$	n.d.	$2,\!36 \pm 0,\!07$	$11,4 \pm 0,41$
	M_B	$184 \pm 2,80$	$97,4 \pm 1,01$	$1,91 \pm 0,03$	$6300 \pm 20,1$	$3,22 \pm 0,15$	$0,\!52 \pm 0,\!19$	$3{,}46 \pm 0{,}07$	$12,0 \pm 1,02$
	M_C	$184 \pm 2,29$	$82,4 \pm 1,81$	$1,86 \pm 0,02$	$5810 \pm 165$	$4,27 \pm 0,12$	$4,37 \pm 0,25$	$3,63 \pm 0,13$	$14,0 \pm 0,24$
Zlatibor	Z_K	$95,2 \pm 3,43$	$238 \pm 8{,}33$	$1,85 \pm 0,11$	$3,00 \pm 0,36$	n.d.	n.d.	$1,27 \pm 0,03$	n.d.
	Z_A	$58{,}8\pm0{,}38$	$236 \pm 6,92$	$1,74 \pm 0,08$	$9980\pm373$	n.d.	n.d.	$1,84 \pm 0,05$	$2,25 \pm 0,21$
	Z_B	$82,3 \pm 2,30$	$227 \pm 3,14$	$1,\!89 \pm 0,\!15$	$12900\pm116$	n.d.	n.d.	$1,52 \pm 0,03$	$2{,}28\pm0{,}06$
	Z_C	$38,1\pm0,78$	$188 \pm 2,13$	$1,62 \pm 0,18$	$14300\pm191$	n.d.	$1,95 \pm 0,10$	$1,57 \pm 0,03$	$2{,}67 \pm 0{,}08$
Ćićarija	Ć_K	$114 \pm 4,16$	$229 \pm 2{,}38$	$2{,}74\pm0{,}02$	$5,75 \pm 0,14$	$3{,}59 \pm 0{,}07$	$0,33 \pm 0,10$	$2,\!36\pm0,\!08$	$6{,}12\pm0{,}06$
	Ć_A	$115 \pm 5,36$	$359 \pm 6,02$	$2,56 \pm 0,09$	$3600 \pm 13,2$	$4,16 \pm 0,05$	n.d.	$6,36 \pm 0,10$	$17,3 \pm 0,23$
	Ć_B	$107 \pm 2,90$	$251 \pm 15,1$	$3,07 \pm 0,05$	$4430 \pm 16,5$	8,81 ± 0,09	$5,52 \pm 0,29$	$9,58 \pm 0,25$	$50,8 \pm 1,44$
	Ć_C	$137 \pm 1,75$	$246 \pm 1,09$	$3,76 \pm 0,05$	$5770 \pm 8,15$	$15,4 \pm 0,05$	$4,65 \pm 0,26$	$14,\!6\pm0,\!88$	$69,5 \pm 0,91$

n.d. – ispod nivoa detekcije

# 4.8 Biomase gajenih biljaka

Biomase korenova i nadzemnih delova N. kovatsii tretiranih rastućim koncentracijama nikla u eksperimentalnim uslovima prikazane su na Slikama 50 (populacija Kopaonik), 52 (Kablar) i 54 (Avala). Uporedni prikaz biomasa nadzemnih delova N. kovatsii iz svih populacija tretiranih rastućim koncentracijama nikla dat je na Slici 56 i Prilogu 4. Kod biljaka iz populacije Kopaonik sa ultramafitske geološke podloge tretman rastućim koncentracijama nikla dovodi do ravnomernog smanjenja biomase u odnosu na kontrolnu grupu pri svim koncentracijama nikla, ali zabeleženo smanjenje biomase u odnosu na kontrolnu grupu nije statistički značajno. Najveće vrednosti biomase nadzemnih delova u kontrolnoj grupi zabeležena je kod biljaka iz populacije sa Kablara. Kod biljaka iz ove populacije, tretman rastućim koncentracijama nikla dovodi do redukcije biomase u grupama A i B koja nije statistički značajna, dok tretman najvišom koncentracijom (grupa C) dovodi do vrlo izraženog pada produkcije biomase. Kod biljaka iz populacije Avala, tretman rastućim koncentracijama nikla dovodi do redukcije biomase u odnosu na kontrolnu grupu koja je u eksperimentalnoj grupi B statistički značajna. Najviša primenjena koncentracija nikla (grupa C) bila je letalna za biljke iz populacije Avala, tj. nijedna od biljaka u ovoj eksperimentalnoj grupi nije preživela do kraja eksperimenta. Najveća biomasa u kontrolnoj grupi izmerena je kod biljaka iz populacije Kablar, dok je najniža izmerena kod biljaka sa Avale. Istovremeno, pri najvišoj primenjenoj koncentraciji Ni u eksperimentalnoj grupi C, najveća biomasa izmerena je kod biljaka iz ultramafitske populacije Kopaonik (Slika 56).



Slika 50. Biomasa korena i nadzemnog dela vrste *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05), nezavisno za koren i nadzemni deo.



Slika 51. Fotografije reprezentativnih jedinki *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik tretiranih rastućim koncentracijama nikla na kraju eksperimenta.



Slika 52. Biomasa korena i nadzemnog dela vrste *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05), nezavisno za koren i nadzemni deo.



Slika 53. Fotografije reprezentativnih jedinki *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar tretiranih rastućim koncentracijama nikla na kraju eksperimenta.



Slika 54. Biomasa korena i nadzemnog dela *N. kovatsii* sa lokaliteta Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05), nezavisno za koren i nadzemni deo.



Slika 55. Fotografije reprezentativnih jedinki *N. kovatsii* sa lokaliteta Avala tretiranih rastućim koncentracijama nikla na kraju eksperimenta.





Biomase korenova i nadzemnih delova *N. praecox* tretiranih rastućim koncentracijama nikla u eksperimentalnim uslovima prikazane su na Slikama 57 (populacija Zlatibor), 59 (Maljen) i 61 (Ćićarija), dok su fotografije reprezentativnih biljaka iz svih eksperimentalnih grupa prikazane na Slikama 58, 60 i 62, respektivno. Tretman rastućim koncentracijama nikla u ultramafitskim populacijama Zlatibor i Maljen ne dovodi do statistički značajnog smanjenja biomase korenova i nadzemnih delova biljaka. Nasuprot tome, kod biljaka poreklom sa krečnjačkog lokaliteta Ćićarija tretman svim primenjenim koncentracijama nikla dovodi do statistički značajnog smanjenja biomase i korenova i nadzemnih delova u odnosu na kontrolnu grupu. Biomase korenova generalno prate trend koji je uočen kod nadzemnih delova biljaka u svim gajenim populacijama. Najveća biomasa nadzemnih delova biljaka sa Zlatibora. Nasuprot tome, kod biljaka sa Ćićarije, dok je najniža biomasa izmerena kod biljaka sa Zlatibora. Nasuprot tome, kod biljaka sa Ćićarije je zabeležena najniža biomasa nadzemnih delova biljaka pri tretmanu najvišom primenjenom koncentracijom nikla, dok su pri ovom tretmanu najveću biomasu imale biljke sa Maljena (Slika 63). U eksperimentalnim grupama A, B i C, najveće biomase nadzemnih delova zabeležene su kod biljaka sa Maljena (Slika 63; Prilog 4).



Slika 57. Biomasa korena i nadzemnog dela vrste *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05), nezavisno za koren i nadzemni deo.



Slika 58. Fotografije odabranih jedinki *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor tretiranih rastućim koncentracijama nikla na kraju eksperimenta.



Slika 59. Biomasa korena i nadzemnog dela vrste *N. praecox* sa lokaliteta Maljen. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05), nezavisno za koren i nadzemni deo.



Slika 60. Fotografije odabranih jedinki *N. praecox* sa lokaliteta Maljen tretiranih rastućim koncentracijama nikla na kraju eksperimenta.



Slika 61. Biomasa korena i nadzemnog dela *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0.05), nezavisno za koren i nadzemni deo.



Slika 62. Fotografije odabranih jedinki *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija tretiranih rastućim koncentracijama nikla na kraju eksperimenta.





#### 4.9 Koncentracije fotosintetičkih pigmenata

Analizom listova gajenih biljaka *N. kovatsii* kod biljaka poreklom iz populacije sa ultramafita na Kopaoniku nije zabeleženo statistički značajno smanjenje koncentracije analiziranih pigmenata čak ni pri izlaganju najvišim koncentracijama nikla u supstratu (Slika 64; Prilog 5).

Kod biljaka poreklom iz neultramafitske populacije na Kablaru utvrđeno je da izlaganje najvišoj primenjenoj koncentraciji Ni dovodi do statistički značajnog smanjenja koncentracije ukupnih hlorofila, hlorofila *a* i *b*, ali ne i koncentracije karotenoida u odnosu na kontrolnu grupu biljaka. U eksperimentalnoj grupi B statistički je značajno niža koncentracija hlorofila *b*, ali ne i ostalih praćenih parametara (Slika 65; Prilog 5).

Biljke iz neultramafitske populacije *N. kovatsii* sa Avale nisu preživele tretman najvišom koncentracijom Ni u eksperimentalnoj grupi C, ali u preostalim gupama (A i B) nije utvrđena statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu ni za jedan od merenih pigmenata (Slika 66; Prilog 5).

Povećanje odnosa koncentracija hlorofila a/b pri tretmanu niklom zabeleženo je kod biljaka iz populacije sa Avale, dok je kod biljaka iz populacije sa ultramafitske podloge na Kopaoniku zabeležen suprotan efekat, tj. povećanje koncentracije Ni dovelo je do smanjenja odnosa koncentracija hlorofila a/b, koje je posebno izraženo pri tretmanu najvišom primenjenom koncentracijom Ni (Tabela 35). Kod biljaka poreklom iz neultramafitske populacije na Kablaru tretman niklom nije imao izražen efekat na odnos koncentracija hlorofila a i b (Tabela 35).



Slika 64. Koncentracija ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N*. *kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 65. Koncentracija ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N*. *kovatsii* sa lokaliteta Kablar tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 66. Koncentracija ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Avala tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).

Koncentracija ukupnih hlorofila u listovima *N. praecox* poreklom iz populacije sa ultramafita na Zlatiboru statistički je značajno niža u odnosu na kontrolu tek pri izlaganju biljaka najvišoj testiranoj koncentraciji nikla. Pri izlaganju ovoj koncentraciji Ni dolazi do statistički značajnog opadanja koncentracije hlorofila *a*, ali ne i do značajne promene koncentracije hlorofila *b* u odnosu na kontrolnu grupu (Slika 67; Prilog 6). Statistički značajno sniženje koncentracije karotenoida takođe je zabeleženo samo u eksperimentalnoj grupi biljaka tretiranih najvišom primenjenom koncentracijom Ni (Slika 67; Prilog 6).

Kod biljaka iz populacije sa Maljena statistički značajno opadanje u odnosu na kontrolu zabeleženo je samo za koncentraciju ukupnih hlorofila i hlorofila *a* u eksperimentalnoj grupi B (Slika 68; Prilog 6).

Porast koncentracije nikla u supstratu kod *N. praecox* poreklom iz populacije u Istri sa krečnjačke geološke podloge dovodi do snižavanja koncentracije hlorofila *a* i hlorofila *b*, kao i ukupnih hlorofila (Slika 69; Prilog 6). Statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu uočena je u eksperimentalnim grupama B i C. Statistički značajno opadanje koncentracije karotenoida zabeleženo je pri izlaganju biljaka najvišoj testiranoj koncentraciji Ni (eksperimentalna grupa C).

Tretman niklom kod biljaka iz populacije u Istri dovodi do povećanja odnosa koncentracija hlorofila a/b, dok kod ultramafitskih populacija sa Maljena i Zlatibora dovodi do smanjenja tog odnosa (Tabela 35).



Slika 67. Koncentracija ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N*. *praecox* sa lokaliteta Zlatibor tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0.05).



Slika 68. Koncentracija ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N*. *praecox* sa lokaliteta Maljen tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 69. Koncentracija ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N*. *praecox* sa lokaliteta Ćićarija tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).

Vrsta	Populacija	Tretman	Hl a/b
N. kovatsii	Avala	K	2,70
N. kovatsii	Avala	А	2,93
N. kovatsii	Avala	В	2,86
N. kovatsii	Avala	C	-
N. kovatsii	Kablar	K	2,36
N. kovatsii	Kablar	А	2,33
N. kovatsii	Kablar	В	2,31
N. kovatsii	Kablar	С	2,35
N. kovatsii	Kopaonik	K	2,78
N. kovatsii	Kopaonik	А	2,78
N. kovatsii	Kopaonik	В	2,71
N. kovatsii	Kopaonik	С	1,85
N. praecox	Ćićarija	K	2,51
N. praecox	Ćićarija	А	2,77
N. praecox	Ćićarija	В	2,91
N. praecox	Ćićarija	С	3,26
N. praecox	Maljen	K	2,15
N. praecox	Maljen	A	1,95
N. praecox	Maljen	В	1,65
N. praecox	Maljen	С	1,82
N. praecox	Zlatibor	K	2,60
N. praecox	Zlatibor	A	2,57
N. praecox	Zlatibor	В	2,46
N. praecox	Zlatibor	С	2,25

Tabela 35. Odnos koncentracija hlorofila a i b (Hl *a/b*) kod *N. kovatsii* i *N. praecox* tretiranih rastućim koncentracijama nikla.

# 4.10 Koncentracija antocijana

Koncentracija antocijana u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala prikazana je na Slici 70 i Prilogu 7.1. Kod biljaka sa lokaliteta Avala uočeno je smanjenje koncentracije antocijana sa povećanjem koncentracije Ni u supstratu, dok je kod biljaka sa Kablara i sa Kopaonika povećanje koncentracije Ni u supstratu dovelo i do statistički značajnog povećanja koncentracije antocijana u odnosu na kontrolu u eksperimentalnoj grupi A kod biljaka sa Kopaonika i eksperimentalnoj grupi B kod biljaka sa Kablara.



Slika 70. Koncentracija antocijana u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0.05).



Slika 71. Koncentracija antocijana u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0.05).

Koncentracije antocijana u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija prikazane su na Slici 71 i u Prilogu 7.2. Pri tretmanu niklom, koncentracija antocijana u listovima *N. praecox* sa krečnjačkog lokaliteta Ćićarija je niža u odnosu na kontrolu, a ova razlika je statistički značajna pri svim primenjenim koncentracijama Ni. Kod biljaka sa ultramafitskih lokaliteta Zlatibor

i Maljen je uočen nešto drugačiji trend. Naime, koncentracija antocijana se pri tretmanu rastućim koncentracijama nikla povećava u odnosu na kontrolnu grupu, ali je razlika statistički značajna u odnosu na kontrolu samo pri tretmanu najvišom testiranom koncentracijom Ni.

# 4.11 Intenzitet lipidne peroksidacije

Intenzitet lipidne peroksidacije u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala, izražen preko koncentracije MDA, prikazan je na Slici 72 i u Prilogu 8.1. Kod biljaka sa lokaliteta Kopaonik i Kablar tretman niklom ne dovodi do statistički značajne promene koncentracije MDA u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka sa lokaliteta Avala u eksperimentalnoj grupi B dolazi do statistički značajnog smanjenja koncentracije MDA, dok u eksperimentalnoj grupi C biljke nisu preživele tretman niklom. Rezultati koncentracije MDA u listovima biljaka sa Kablara nisu prikazani zbog nedovoljne količine materijala za analizu.



Slika 72. Koncentracija malondialdehida u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0.05).

Intenzitet lipidne peroksidacije u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija prikazan je na Slici 73 i u Prilogu 8.2. Kod biljaka iz ultramafitskih populacija Zlatibor i Maljen nije uočena statistički značajna razlika u koncentraciji MDA pri tretmanu rastućim koncentracijama nikla, dok je kod biljaka sa lokaliteta Ćićarija koncentracija MDA statistički značajno niža u odnosu na kontrolu u eksperimentalnim grupama B i C.



Slika 73. Koncentracija malondialdehida u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).

# 4.12 Koncentracija prolina

Koncentracije prolina u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala prikazane su na Slikama 74, 75 i 76, respektivno i u Prilogu 9.1. Najviša koncentracija prolina u kontrolnoj grupi zabeležena je kod biljaka sa lokaliteta Kablar. Pri povećanju koncentracije nikla u supstratu kod biljaka sa ovog lokaliteta dolazi do smanjenja koncentracije prolina u odnosu na kontrolnu grupu, dok je sličan obrazac uočen i kod biljaka sa lokaliteta Kopaonik, izuzev u eksperimentalnoj grupi B, gde je zabeležena koncentracija prolina statistički značajno viša u odnosu na kontrolnu grupu. Nasuprot tome, kod biljaka sa lokaliteta Avala dolazi do povećanja koncentracije prolina u odnosu na kontrolnu grupu pri izlaganju niklu, a razlika je statistički značajna kod biljaka iz eksperimentalne grupe B. Usled nedovoljne količine materijala za analizu, koncentracija prolina u listovima biljaka tretiranih najvišom koncentracijom nikla nije prikazana.

Koncentracije prolina u listovima *N. praecox* iz populacija Zlatibor, Maljen i Ćićarija gajenih u eksperimentalnim uslovima prikazane su na Slikama 77, 78 i 79, respektivno i u Prilogu 9.2. Najviša koncentracija prolina u kontrolnoj grupi zabeležena je u listovima biljaka sa lokaliteta Ćićarija. Kod biljaka sa navedenog lokaliteta uočava se generalni trend povećanja koncentracije prolina sa povećanjem koncentracije nikla u supstratu, ali je razlika u sadržaju prolina u odnosu na kontrolnu grupu statistički značajna samo kod biljaka iz eksperimentalne grupe B. Nasuprot tome, kod biljaka iz ultramafitskih populacija Zlatibor i Maljen pri povećanju koncentracije nikla u supstratu dolazi do statistički značajnog smanjenja koncentracije prolina u listovima *N. praecox*.



Slika 74. Koncentracija prolina u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik pri tretmanima različitim koncentracijama Ni. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 75. Koncentracija prolina u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar pri tretmanima različitim koncentracijama Ni. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 76. Koncentracija prolina u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Avala pri tretmanima različitim koncentracijama Ni. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 77. Koncentracija prolina u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor pri tretmanima različitim koncentracijama Ni. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 78. Koncentracija prolina u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Maljen pri tretmanima različitim koncentracijama Ni. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).



Slika 79. Koncentracija prolina u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija pri tretmanima različitim koncentracijama Ni.. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije. Različita slova označavaju statistički značajne razlike (p < 0,05).

#### 4.13 Koncentracije fenolnih jedinjenja

Kod obe analizirane vrste registrovano je prisustvo po devet različitih fenolnih jedinjenja, od kojih je šest zajedničkih, tj. detektovanih kod obe vrste u barem jednoj populaciji (Tabele 36 i 37). U svim populacijama obe analizirane vrste uočeno je prisustvo pet fenolnih kiselina - neohlorogenska kiselina, 4-hidroksibenzoeva kiselina, siringinska kiselina, ferulinska kiselina i sinapinska kiselina. Kod obe vrste detektovano je i prisustvo kaempferol 7-O glukozida, izuzev u populaciji *N. kovatsii* sa Kablara. Prisustvo vanilinske kiseline registrovano je samo u populaciji *N. praecox* sa Maljena, a ova populacija je karakteristična i po prisustvu naringina koji nije zabeležen ni u jednoj drugoj analiziranoj populaciji obe vrste. Narcisin i rutin su u koncentracijama iznad nivoa detekcije pronađeni u listovima *N. kovatsii* iz populacija sa Avale i Kablara. Kod *N. kovatsii* sa Kablara utvrđeno je i prisustvo izorhamnetin 3-O glukozida, koji nije detektovan u ostalim populacijama obe vrste. U populacijama *N. praecox* sa Ćićarije i Zlatibora utvrđeno je prisustvo luteolina.

U populacijama *N. kovatsii* sa neultramafita (Avala i Kablar) tretman niklom dovodi do smanjenja koncentracije neohlorogene kiseline u odnosu na kontrolu, dok kod populacije sa ultramafita na Kopaoniku dolazi do povećanja koncentracije, izuzev u eksperimentalnoj grupi C sa najvišim sadržajem Ni (Tabela 36). Kod vrste *N. praecox*, tretman niklom u svim analiziranim populacijama dovodi do povećanja koncentracije neohlorogene kiseline, izuzev biljaka iz populacije Maljen, gde u eksperimentalnoj grupi A dolazi do porasta koncentracije ove fenolne kiseline, nakon čega koncentracija opada u odnosu na kontrolu (Slika 84; Tabela 37). Najniže koncentracije neohlorogenske kiseline zabeležene su u uzorcima *N. praecox* poreklom sa Ćićarije, dok je najviši sadržaj zabeležen u eksperimentalnoj grupi C kod biljaka poreklom sa Zlatibora (Slika 83; Tabela 37).

Generalno, promena koncentracije 4-hidroksibenzoeve kiseline u zavisnosti od koncentracije Ni u supstratu kod obe vrste ekvivalenta je obrascu zabeleženom za neohlorogenu kiselinu. Kod *N. kovatsii* porekom sa Kopaonika i Kablara dolazi do opadanja koncentracije 4-hidroksibenzoeve kiseline pri izlaganju niklu (Slike 80 i 81). Kod biljaka iz populacije sa Avale u eksperimentalnoj grupi A dolazi do opadanja koncentracije u odnosu na kontrolnu grupu, dok je u eksperimentalnoj grupi B koncentracija viša u odnosu na kontrolu (Slika 82; Tabela 36). Koncentracija 4hidroksibenzoeve kiseline se kod *N. praecox* poreklom sa Ćićarije smanjuje sa porastom koncentracije Ni u supstratu, dok kod biljaka iz populacije sa Zlatibora dolazi do porasta koncentracije ove fenolne kiseline pri tretmanu niklom. Kod biljaka iz populacije sa Maljena, u eksperimentalnoj grupi A dolazi do porasta koncentracije 4-hidroksibenzoeve kiseline, ali pri izlaganju višim koncentracijama Ni sadržaj ove kiseline opada u odnosu na kontrolu. Koncentracija 4-hidroksibenzoeve kiseline kod *N. praecox* sa Maljena i za nekoliko redova veličine je viša u odnosu na koncentracije zabeležene u ostalim analiziranim populacijama obe vrste (Slika 84; Tabela 37).

Tretman niklom kod *N. kovatsii* sa Avale i Kablara generalno dovodi do porasta koncentracije siringinske kiseline u odnosu na kontrolu, dok je kod biljaka sa Kopaonika registrovana niža koncentracija ove kiseline pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolnu grupu (Slika 80; Tabela 36). Tretman niklom kod *N. praecox* sa Zlatibora dovodi do višestrukog porasta koncentracije siringinske kiseline u odnosu na kontrolu, dok su i kod biljaka sa Maljena generalno zabeležene više koncentracije ove kiseline pri izlaganju niklu. Kod biljaka sa Ćićarije sadržaj siringinske kiseline se ne menja značajno pri tretmanu niklom (Slike 83 i 84; Tabela 37).

Sadržaj ferulinske kiseline kod obe gajene vrste je izrazito varijabilan i ne uočava se jasan obrazac odgovora u odnosu na tretman niklom, izuzev u populaciji *N. praecox* sa Zlatibora gde je zabeležen značajan porast koncentracije sa povećanjem koncentracije Ni u supstratu (Slika 84; Tabela 37).

Kod svih analiziranih populacija *N. kovatsii* tretman niklom dovodi do porasta koncentracije sinapinske kiseline u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 36). Sličan obrazac uočen je i kod *N. praecox* sa Zlatibora, gde je u grupi C zabeležena i najviša koncentracija sinapinske kiseline kod obe analizirane vrste. U populaciji *N. praecox* sa Ćićarije tretman niklom dovodi do opadanja koncentracije sinapinske kiseline u odnosu na kontrolnu grupu, kao i kod biljaka iz populacije sa Maljena, izuzev eksperimentalne grupe A u kojoj je koncentracija sinapinske kiseline viša u odnosu na kontrolu (Slika 84; Tabela 37).
Koncentracija kaempferol 7-O-glukozida u populacijama *N. kovatsii* sa Avale i Kopaonika generalno je niža pri tretmanu niklom u odnosu na kontrolu (Slike 80 i 82; Tabela 36), što je zabeleženo i kod *N. praecox* poreklom sa Maljena (Slika 84; Tabela 37). Nasuprot tome koncentracije kaempferol 7-O-glukozida kod *N. praecox* iz populacija Ćićarija i Zlatibor su u eksperimentalnim grupama tretiranim niklom generalno više u odnosu na kontrolu, izuzev eskperimentalne grupe A u populaciji Zlatibor (Slika 84; Tabela 37).

U populaciji *N. kovatsii* sa Avale koncentracije rutina i narcisina opadaju prilikom izlaganja niklu, dok je u populaciji sa Kablara zabeležen drugačiji obrazac, tj. povećanje koncentracija rutina i narcisina pri tretmanu niklom (Slika 81; 82; Tabela 36).

Prisustvo vanilinske kiseline i naringina zabeleženo je samo u populaciji *N. praecox* sa Maljena (Slika 84; Tabela 37). Tretman niklom dovodi do sniženja koncentracije vanilinske kiseline u odnosu na kontrolnu grupu, dok izlaganje niklu uzrokuje povećanje koncentracije naringina (Tabela 37).

Vrs ta	Lokali tet	Tret man	Neohlo rogena kiselin a	4- hidroksibe nzoeva kiselina	Vanili nska kiseli na	Siringin ska kiselina	Rutin	Narcisin	Feruli nska kiselin a	Sinapinska kiselina	Naring in	Izorham netin_3- O- glukozid	Kaempfe rol_7-O- glukozid	Luteolin
N. kovatsii	Kopao nik	K	0,14± 0,01	0,69±0,17	n.d.	4,19± 0,23	n.d.	n.d.	$0,332\pm 0,05$	1,55±0,25	n.d.	n.d.	0,404± 0,02	n.d.
		А	0,209± 0,01	0,207±0,06	n.d.	0,753± 0,15	n.d.	n.d.	0,291± 0,05	1,85±0,10	n.d.	n.d.	$0,152 \pm 0,07$	n.d.
		В	0,178± 0,02	0,187±0,07	n.d.	2,99± 0,43	n.d.	n.d.	0,491± 0,06	1,98±0,26	n.d.	n.d.	$0,252\pm 0,02$	n.d.
		С	0,066± 0,004	0,082±0,04	n.d.	1,76± 0,43	n.d.	n.d.	0,567± 0,04	2,66±0,36	n.d.	n.d.	$0,307\pm 0,02$	n.d.
	Kablar	K	0,401± 0,02	5,18±0,32	n.d.	0,329± 0,06	0,253± 0,01	$0,144 \pm 0,02$	$0,835\pm 0,14$	0,503±0,13	n.d.	0,056± 0,01	n.d.	n.d.
		А	0,244± 0,08	2,4±0,74	n.d.	$1,55\pm 0,60$	0,466± 0,09	$0,626\pm 0,07$	1,96± 0,17	3,42±0,74	n.d.	0,256± 0,07	n.d.	n.d.
		В	0,216± 0,01	2,58±0,14	n.d.	1,22± 0,37	0,325± 0,02	0,642± 0,03	$0,617\pm 0,16$	1,53±0,04	n.d.	$0,142\pm 0,004$	n.d.	n.d.
	Avala	K	0,673± 0,01	4,07±0,13	n.d.	3,74± 0,31	0,097± 0,01	0,103± 0,01	$0,348\pm 0,03$	0,5±0,12	n.d.	n.d.	0,662± 0,03	n.d.
		А	0,588± 0,01	2,64±0,36	n.d.	$3,65\pm 0,66$	0,049± 0,01	$0,02\pm 0,002$	$0,455\pm 0,1$	1,36±0,11	n.d.	n.d.	$0,427 \pm 0,02$	n.d.
		В	0,369± 0,09	4,39±0,17	n.d.	4,2± 0,96	0,06± 0,01	$0,051\pm 0,01$	$0,354\pm 0,05$	1,85±0,82	n.d.	n.d.	$0,434 \pm 0,06$	n.d.

Tabela 36. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. kovatsii* tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>, a prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  standardne devijacije. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

\*n.d. – ispod nivoa detekcije

Vr st a	Lokalit et	Tre tm an	Neohlor ogenska kisleina	4- hidroksibe nzoeva kiselina	Vanili nska kiselin a	Siringins ka kiselina	Rutin	Narci sin	Ferulinska kiselina	Sinapinska kiselina	Narin gin	Izorha mnetin_ 3-O- glukozi d	Kaempfer ol_7-O- glukozid	Luteoli n
N. praecox	Zlatibor	K	0,067± 0,01	3,09±2,69	n.d.	3,02±0,94	n.d.	n.d	0,416±0,25	3,12±1,73	n.d	n.d	0,931±0,49	0,337± 0,15
		А	$0,175 \pm 0,18$	11,2±8,86	n.d.	58,9±15,5	n.d	n.d	0,847±0,42	7,34±1,53	n.d	n.d	0,726±0,44	$0,52\pm 0,26$
		В	$0,477 \pm 0,03$	14,2±2	n.d.	28,7±13	n.d	n.d	1,84±0,50	5,49±0,46	n.d	n.d	1,53±0,35	0,292± 0,03
		С	$0,762 \pm 0,04$	17,4±1,02	n.d.	24,1±1,29	n.d	n.d	4,07±0,56	9,26±2,51	n.d	n.d	2,3±0,04	0,466± 0,07
	Maljen	K	$0,25\pm 0,02$	262±5,2	5,61± 0,58	2,53±0,63	n.d	n.d	0,171±0,09	1,06±0,54	0,354 ±0,20	n.d	0,546±0,04	n.d
		А	0,656± 0,04	361±13,3	2,19± 0,72	4,19±0,87	n.d	n.d	0,388±0,07	1,57±0,55	0,399 ±0,12	n.d	0,26±0,03	n.d
		В	0,223± 0,01	222±16,7	3,46± 0,62	2,46±0,34	n.d	n.d	0,142±0,05	0,183±0,07	0,55± 0,12	n.d	0,112±0,04	n.d
		С	0,182± 0,002	125±15,7	1,76± 0,28	4,65±0,38	n.d	n.d	0,086±0,03	0,295±0,05	0,509 ±0,16	n.d	0,107±0,02	n.d
	Ćićarija	K	0,051±7 0,01	0,843±0,04	n.d.	1,4±0,18	n.d	n.d	0,198±0,06	0,953±0,33	n.d	n.d	0,285±0,04	0,133± 0,002
		А	0,06± 0,01	0,576±0,09	n.d.	1,1±0,33	n.d	n.d	0,075±0,03	0,696±0,11	n.d	n.d	1,06±0,21	0,131± 0,02
		В	$0,063\pm 0,01$	0,478±0,23	n.d.	1,44±0,40	n.d	n.d	0,16±0,16	0,679±0,34	n.d	n.d	0,572±0,14	0,085± 0,004

Tabela 37. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. praecox* tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Sve koncentracije su izražene u mg kg<sup>-1</sup>, a prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  standardne devijacije. Svetlo sivom bojom su označeni neultramafitski, a tamnije sivom ultramafitski lokaliteti.

\*n.d. – ispod nivoa detekcije



Slika 80. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik tretiranih rastućim koncentracijama nikla.



Slika 81. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar tretiranih rastućim koncentracijama nikla.



Slika 82. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Avala tretiranih rastućim koncentracijama nikla.



Slika 83. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor tretiranih rastućim koncentracijama nikla.



Slika 84. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Maljen tretiranih rastućim koncentracijama nikla.



Slika 85. Koncentracija fenolnih jedinjenja u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija tretiranih rastućim koncentracijama nikla.

#### 4.14 Histohemijska lokalizacija nikla u listovima gajenih biljaka

Pozitivna reakcija sa dimetilglioksimom (DMG) utvrđena je na poprečnim presecima listova obe biljne vrste tretirane rastućim koncentracijama nikla, dok kod biljaka iz kontrolnih grupa pozitivne reakcije nije bilo. U daljem tekstu su prikazani preseci listova obe biljne vrste iz kontrolnih grupa, kao i preseci listova iz eksperimentalne grupe B, koja je odabrana kao grupa tretirana najvišom koncentracijom Ni pri kojoj su preživele sve biljke iz svih gajenih populacija obe vrste. Na poprečnim presecima listova prikazanim na Slici 86 za vrstu *N. kovatsii* i Slici 87 za vrstu *N. praecox* u eksperimentalnoj grupi B se jasno uočava razvoj ružičaste boje koja ukazuje na prisustvo nikla u epidermalnim ćelijama lica i naličja listova. Istovremeno, razvoj ružičaste boje se može uočiti i u elementima provodnog sistema. Na presecima se uočavaju i ćelije ljubičaste boje, što je rezultat prisustva antocijana u ovim ćelijama. Kod biljaka iz kontrolne grupe sa Kablara, došlo je do promene boje ovih ćelija sa antocijanima iz ljubičaste u zelenu, najverovatnije usled promene pH vrednosti pri dodatku DMG reagensa.



Slika 86. Poprečni preseci listova *N. kovatsii* iz kontrolne grupe i eksperimentalne grupe B tretirane reagensom sa dimetilglioksimom u cilju lokalizacije nikla u tkivima. Strelicama (DMG) su obeležene zone u kojima je zabeležena ružičasta boja koja ukazuje na prisustvo Ni. "ANT" označava ćelije u kojima su prisutni antocijani.



Slika 87. Poprečni preseci listova *N. praecox* iz kontrolne grupe i eksperimentalne grupe B tretirane reagensom sa dimetilglioksimom u cilju lokalizacije nikla u tkivima. Strelicama (DMG) su obeležene zone u kojima je zabeležena ružičasta boja koja ukazuje na prisustvo Ni. "ANT" označava ćelije u kojima su prisutni antocijani.

## 5. DISKUSIJA

#### 5.1 Tipovi staništa na kojima je izvršeno uzorkovanje N. kovatsii i N. praecox

Vrste *N. kovatsii* i *N. praecox*, koje su predmet ove doktorske disertacije, uzorkovane su na većem broju šumskih i nešumskih staništa. Staništa su klasifikovana pomoću panevropskog EUNIS sistema klasifikacije.

Istraživanjima vezanim za ovu doktorsku disertaciju, vrsta *N. kovatsii* je konstatovana na suvim stepskim travnim formacijama, prvenstveno na ultramafitskoj geološkoj podlozi, ali i na neultramafitskim staništima, uključujući i oro-mezijske acidofilne travne formacije, što je u skladu sa podacima dostupnim u Flori Srbije (Diklić 1972), gde se kao staništa ove vrste navode suvi pašnjaci, zatravnjene padine i kamenjari. Pored suvih travnih staništa, prisustvo ove vrste je zabeleženo i na šumskim staništima, uključujući i šume u klisurama i na nagibima. Prisustvo ove vrste je prvenstveno vezano za šume otvorenog sklopa, ili prosvetljene šumske površine.

Vrsta *N. praecox* je takođe konstatovana na različitim tipovima travnih staništa, uključujući i serpentinske stepe u kojima može dostići i izuzetno velike brojnosti populacija, a uzorkovana je i u šumama crnog bora, kao i mešovitim šumama crnog i belog bora na serpentinitima. Kao i kod vrste *N. kovatsii*, značajno je pomenuti da se vrsta u šumama javlja u delovima otvorenijeg sklopa, ili po obodima šuma, a često se javlja i po obodima saobraćajnica. Ovi podaci su u skladu sa navodima Diklića (1972), prema kome se vrsta *N. praecox* javlja u svetlim šumama, na padinama pokrivenim žbunjem, kao i u livadskim zajednicama. Interesantno je pomenuti da se ova vrsta može naći i uz obode potoka (Mišljenović *et al.* 2018), kao i na obalama reka.

5.2 Bioklimatske karakteristike lokaliteta na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* i *N. praecox* 

Rezultati analize bioklimatskih karakteristika lokaliteta na kojima je vršeno uzorkovanje *N. kovatsii* i *N. praecox* ukazuju na određene jasne razlike u ekološkim preferencijama ove dve vrste. Iako je prisustvo obe vrste zabeleženo na suvim staništima, godišnja količina padavina između lokaliteta na kojima se javljaju *N. kovatsii* i *N. praecox* značajno se razlikuje. Naime, pored činjenice da je srednja godišnja količina padavina na lokalitetima na kojima se javlja *N. praecox* znato viša u odnosu na lokalitete na kojima se javlja *N. kovatsii*, uočava se i da je temperatura najvlažnijeg kvartala znatno viša kod vrste *N. kovatsii*.

Analizom ekoloških preferencija vrste *N. caerulescens* na planinskom masivu Vogezi u Francuskoj utvrđeno je da najpogodnija staništa za ovu vrstu predstavljaju područja sa više od 1000 mm padavina, što odgovara i zabeleženim vrednostima godišnje precipitacije za staništa na kojima se javlja *N. praecox*, vrsta filogenetski vrlo bliska vrsti *N. caerulescens* (Likar *et al.* 2010). Istovremeno, vrsta *N. kovatsii* se javlja na staništima sa znatno nižim vrednostima ukupne godišnje količine padavina. Naime, najniža vrednost precipitacije na lokalitetima na kojima je izvršeno uzorkovanje *N. kovatsii* iznosi 598 mm, dok za vrstu *N. praecox* minimalna godišnja količina padavina na istraživanim lokalitetima iznosi 892 mm. Dobijene vrednosti bioklimatskih karakteristika moguće je dovesti u vezu i sa opsegom nadmorskih visina na kojima je u okviru ove doktorske disertacije zabeleženo prisustvo analiziranih vrsta. Naime, iako je vrsta *N. kovatsii* prisutna i na visokoplaninskim staništima, najmanja nadmorska visina na kojoj je izvršeno uzorkovanje ove vrste iznosi 323 m, dok vrsta *N. praecox* ovim istraživanjima nije zabeležena na nadmorskoj visini manjoj od 648 m.

#### 5.3 Fizičko-hemijske karakteristike zemljišta

Prema FAO klasifikaciji (Sadovski 2019), aktivna kiselost uzoraka zemljišta varira od umereno kisele do blago bazne. Najniža vrednost aktivne kiselosti pH<sub>a</sub> izmerena je na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8), na kome geološku podlogu čine hloritski škriljci (Babović & Cvetković 1976) dok je najviša vrednost zabeležena na krečnjačkom lokalitetu Pirot, Basara (K4). Opseg variranja pH vrednosti nešto je manji na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete, sa zabeleženim vrednostima koje odgovaraju kiselosti uzoraka zemljišta sa većeg broja ultramafitskih lokaliteta na području Balkanskog poluostrva (Bani et al. 2010; Tomović et al. 2013; Salihaj et al. 2018), kao i prosečnoj vrednosti pH ultramafitskih zemljišta (6,8) koju navodi Brooks (1987). Vrednosti supstitucione kiselosti su na svim lokalitetima niže od aktivne kiselosti, usled činjenice da aktivna kiselost predstavlja trenutnu kiselost rastvora, dok supstituciona kiselost uključuje i rezervnu kiselost zemljišnih koloida (Sadovski 2019). Jedan od faktora koji pored tipa geološke podloge može uticati na pH vrednost zemljišta je i nadmorska visina. Zilioli et al. (2011) navode negativnu korelaciju između pH vrednosti zemljišta i nadmorske visine, usled sporijeg razlaganja organske materije i intenzivne acidifikacije uslovljene većom količinom padavina na većim nadmorskim visinama. Ova pojava je očigledna na lokalitetima sa različitim tipovima geoloških podloga, uključujući ultramafitske lokalitete na Kopaoniku (Nebeske stolice - K11 i Treska - K12), kao i krečnjačke lokalitete na Durmitoru (Tepačko polje - P1) i Tari (Zborište - P3).

Sadržaj organske materije varira u širokom opsegu, ali nije utvrđena statistički značajna razlika u njenom sadržaju između ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta. Visok stepen korelacije između sadržaja azota i organske materije (Slika 47) ukazuje na to da visok procenat azota u zemljištu vodi poreklo iz organske materije i biomase prisutne na lokalitetima. Niske koncentracije makronutrijenata, prvenstveno fosfora i kalijuma, predstavljaju jednu od karakteristika zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom (Brooks 1987; Kazakou *et al.* 2008), i uzrokovane su pre svega, mineraloškim sastavom matičnog supstrata (Košanin & Gajić 2008), što pokazuju i rezultati ovog istraživanja. Naime, koncentracije fosfora i kalijuma značajno su niže u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete (Slika 10). Izmerene koncentracije P i K odgovaraju vrednostima koje su zabeležene na većem broju ultramafitskih lokaliteta na području Balkanskog poluostrva (Jakovljević *et al.* 2015; Đurović *et al.* 2016; Tomović *et al.* 2018).

Jednu od tipičnih karakteristika zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom predstavljaju i visoke koncentracije magnezijuma, niske koncentracije kalcijuma i posledično nizak odnos Ca/Mg koji je često < 1 (Brooks 1987; Kazakou *et al.* 2008), što je posledica specifičnog mineraloškog sastava matičnog supstrata (Burt *et al.* 2003; Kazakou *et al.* 2008). Koncentracije Ca u ovom istraživanju znatno su više na neultramafitskim u odnosu na ultramafitske lokalitete, dok su u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih lokaliteta koncentracije Mg znatno više (Tabela 11; Slika 11). Iako je na većem broju ultramafitskih lokaliteta u ovoj doktorskoj disertaciji zabeležen odnos Ca/Mg >1, ovaj odnos je znatno niži na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete. Dobijene vrednosti odnosa Ca/Mg u skladu su sa vrednostima za veći broj analiziranih lokaliteta na području Balkanskog poluostrva (Tomović *et al.* 2013, 2018; Jakovljević *et al.* 2021b).

Pseudototalne i pristupačne koncentracije gvožđa statistički su značajno više na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete. Visoke koncentracije Fe su karakteristične za zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom (Brooks 1987; Alexander 2004), a vrednosti zabeležene ovim istraživanjima odgovaraju koncentracijama Fe navedenim u većem broju studija na lokalitetima sa ovim tipom geološke podloge na Balkanskom poluostrvu (Bani *et al.* 2010; Jakovljević *et al.* 2015, 2019; Đurović *et al.* 2016; Tomović *et al.* 2018). Uprkos tome što su koncentracije pristupačnog gvožđa na ultramafitskim lokalitetima generalno višestruko više u odnosu na neultramafitske, najviša koncentracija pristupačnog Fe zabeležena je na neultramafitskom lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8). Iako je pseudototalna koncentracija Fe na ovom lokalitetu višestruko niža u odnosu na ultramafitske lokalitete, izrazito visoka koncentracija pristupačnog Fe bi mogla biti direktno uslovljena visokim sadržajem organske materije i izrazito niskom pH vrednošću

zemljišta (Lindsay & Schwab 1982). U ovoj studiji je zabeležena i izrazita negativna korelacija između pristupačnog sadržaja Fe u zemljištu i aktivne i supstitucione kiselosti (Slika 47).

Značajno više koncentracije Mn na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete (Slika 13) u skladu su sa visokim sadržajem Mn u zemljištima razvijenim nad ultramafitskom geološkom podlogom (Brooks 1987). Istovremeno, uzimajući u obzir visoku varijabilnost koncentracija Mn u različitim tipovima zemljišta u opsegu od 20 mg kg<sup>-1</sup> do 10000 mg kg<sup>-1</sup> (Adriano 2001), visoke koncentracije Mn nisu neuobičajene ni na neultramafitskim lokalitetima, što pokazuju vrednosti zabeležene na nekoliko neultramafitskih lokaliteta, uključujući Uvac, Mastirine (K2) i Kablar (K3).

Najviša koncentracija Zn zabeležena je na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1). Iako je koncentracija Zn statistički značajno viša na neultramafitskim lokalitetima, uočen je visok stepen varijabilnosti koncentracija Zn i na ultramafitskim i na neultramafitskim lokalitetima. Prosečni opseg koncentracija Zn u različitim tipovima zemljišta globalno prema Kabata-Pendias (2010) je između 60 i 89 mg kg<sup>-1</sup>, ali vrednosti mogu znatno da variraju, čak do 1000 mg kg<sup>-1</sup> na nezagađenim lokalitetima (Adriano 2001). U neposrednoj blizini lokaliteta Tepačko polje nisu zabeleženi potencijalni izvori zagađenja cinkom, pa je izmerena koncentracija od 1310 mg kg<sup>-1</sup> neuobičajeno visoka. I pored toga, ona bi se mogla objasniti fenomenom "recikliranja pomoću vegetacije" koji navode Nowack *et al.* (2001) za zemljišta u alpijskoj zoni jednog nacionalnog parka u Švajcarskoj. Naime, usvajanje Zn od strane biljaka i razgradnja biomase *N. praecox* sa ekstremno visokim koncentracijama Zn u biljnim tkivima doprinosi koncentrovanju i zadržavanju ovog elementa u površinskim slojevima zemljišta (Mišljenović *et al.* 2020). Nowack *et al.* (2001) takođe navode visok stepen korelacije između distribucije Zn po zemljišnim profilima sa sadržajem organske materije, što ide u prilog navedenoj hipotezi. Visok stepen pozitivne korelacije između koncentracije pristupačnog Zn u zemljištu i sadržaja organske materije i azota uočen je i u ovoj studiji (Slika 47).

Koncentracije bakra u različitim tipovima zemljišta globalno variraju od 14 mg kg<sup>-1</sup> do 109 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias 2010), što odgovara opsezima izmerenih koncentracija na svim analiziranim lokalitetima. Koncentracije Cu su statistički značajno više na neultramafitskim lokalitetima u odnosu na ultramafitske, te su upravo na neultramafitskim lokalitetima Uvac, Mastirine (K2), Kablar (K3) i Kopaonik, Suvo rudište (K8) i zabeležene najviše koncentracije ovog elementa. Povišene koncentracije Cu na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8) posledica su blizine rudnika u kome je eksploatisana ruda gvožđa i bakra (Mišljenović *et al.* 2020), ali su one višestruko niže od vrednosti koje se navode za područje direktno pogođeno rudarskim aktivnostima na lokalitetu Suvo rudište u studiji Tomović *et al.* (2018).

Jedna od tipičnih karakteristika ultramafitskih supstrata je visoka koncentracija nikla koja se kreće u opsegu od 500 mg kg<sup>-1</sup> do 3000 mg kg<sup>-1</sup> (Alexander *et al.* 2007). To pokazuju i vrednosti analiziranih uzoraka, budući da su koncentracije nikla značajno više u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete. Širok opseg variranja pseudototalnih i pristupačnih koncentracija Ni među ultramafitskim lokalitetima može biti rezultat delovanja većeg broja faktora, uključujući tip ultramafitske stene, stepen serpentinizacije, ali i brojne fizičko-hemijske karakteristike zemljišta (Proctor & Woodell 1975; Echevarria 2018; Hseu *et al.* 2018; Mišljenović *et al.* 2018, 2020). Iako koncentracije nikla u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih lokaliteta u ovom istraživanju značajno variraju, dobijene vrednosti su u skladu sa rezultatima većeg broja studija sa područja Balkanskog poluostrva (Tomović *et al.* 2013, 2018; Đurović *et al.* 2016; Salihaj *et al.* 2018; Jakovljević *et al.* 2019). Na mobilnost nikla u zemljištu može značajno uticati i procenat organske materije; u zemljištima bogatim organskom materijom Ni, ali i Mn su posebno mobilni (Kabata-Pendias 2010).

Visoke koncentracije hroma predstavljaju jednu od konstitutivnih osobina zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskim stenama (Brooks 1987; Proctor 1999), te su i u ovoj studiji koncentracije Cr statistički značajno više u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete. Iako koncentracije hroma u ultramafitskim zemljištima mogu biti u rangu koncentracija nikla, ili čak i znatno više, najveći deo hroma nalazi se u formi nerastvornih minerala i biljkama je slabo dostupan (Kazakou *et al.* 2008). Otuda su pristupačne koncentracije hroma u ovoj studiji,

prvenstveno na ultramafitskim zemljištima, višestruko niže od njegovih pseudototalnih koncentracija. Na većem broju ultramafitskih lokaliteta pristupačne koncentracije hroma čine < 1% pseudototalne koncentracije ovog elementa u zemljištu, što je u skladu sa rezultatima istraživanja na području Balkanskog poluostrva (Tumi *et al.* 2012; Tomović *et al.* 2018; Jakovljević *et al.* 2019).

Koncentracije olova u različitim tipovima nezagađenog zemljišta globalno prosečno variraju u opsegu od 3 do 90 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias 2010), što odgovara opsegu izmerenih koncentracija Pb na većini analiziranih lokaliteta, uz nekoliko lokaliteta na kojima su ove vrednosti i znatno više. Najviše koncentracije olova zabeležene su na tri lokaliteta na Kopaoniku, > 200 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetu Suvo rudište (K8) i > 500 mg kg<sup>-1</sup> na lokalitetima Nebeske stolice (K11) i Treska (K12). Povišene koncentracije olova na nekoliko lokaliteta na Kopaoniku registrovane su i u studijama Đurović et al. (2016), Tomović et al. (2018) i Jakovljević et al. (2021b), što ukazuje na specifičnost geološke podloge na istraživanim lokalitetima Kopaonika. Iako je olovo jedan od najmanje mobilnih elemenata u zemljištu (Kabata-Pendias 2010), na većem broju analiziranih lokaliteta su zabeležene visoke koncentracije pristupačnog Pb, koje iznose i do 80% pseudototalnih koncentracija. Slični rezultati dobijeni su na većem broju lokaliteta i u studijama, kao što su Đurović et al. (2016), Tomović et al. (2018, 2021) i Jakovljević et al. (2019), u kojima je za proceduru pristupačnosti elemenata takođe korišćena EDTA ekstrakcija. Na mobilnost olova značajno utiče pH vrednost zemljišta; olovo je izrazito slabo dostupno u zemljištima jako bazne reakcije. Istovremeno, jedan od dominantnih faktora koji utiče na biodostupnost olova je sadržaj organske materije u zemljištu (Kabata-Pendias 2010). Slično pristupačnom Zn, i za pristupačno Pb je utvrđena visoka pozitivna korelisanost sa sadržajem organske materije u zemljištu (Slika 47).

Iako su izmerene koncentracije Cd na većem broju analiziranih lokaliteta nešto više od svetskog proseka koji iznosi 0,1 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias 2010), one su u skladu sa vrednostima koje se navode u većem broju studija na području Balkanskog poluostrva (Tomović *et al.* 2013, 2018; Matko Stamenković *et al.* 2017; Jakovljević *et al.* 2019). Osnovnim antropogenim izvorima Cd u životnoj sredini smatraju se eksploatacija i prerada ruda, a dominantno nastaje kao nusproizvod pri preradi ruda Zn (Kabata-Pendias 2010). Pored toga, kadmijum u zemljište može dospevati i procesima spiranja iz različitih tipova stena, ali i korišćenjem kontaminiranih otpadnih voda za navodnjavanje useva, prekomernom upotrebom đubriva, kao i emisijom iz vozila i industrije (Khan *et al.* 2017).

Jednu od tipičnih karakteristika ultramafitskih zemljišta predstavljaju i povišene koncentracije kobalta, čije poreklo u zemljištu je dominantno vezano za matičnu stenu (Kabata-Pendias 2010). Prosečna koncentracija Co u zemljištu globalno iznosi 10 mg kg<sup>-1</sup>, ali u ultramafitskim zemljištima koncentracije kobalta mogu biti i > 500 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias 2010). Koncentracija Co u uzorcima sa ultramafitskih lokaliteta statistički je značajno viša u poređenju sa neultramafitskim, a dobijene vrednosti su u skladu sa koncentracijama Co zabeleženim u većem broju studija na području Balkanskog poluostrva (Bani *et al.* 2010; Tomović *et al.* 2013, 2018; Jakovljević *et al.* 2019).

#### 5.4 Sadržaj analiziranih elemenata u biljnom materijalu

#### 5.4.1 Fosfor i kalijum

Iako koncentracije fosfora u biljnim tkivima *N. kovatsii* i *N. praecox* variraju u širokom opsegu, zabeležene vrednosti za najveći deo analiziranih populacija nalaze se u opsegu "normalnih" (Reeves & Baker 2000) ili su nešto niže, dok se za koncentracije zabeležene u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* sa sva tri lokaliteta na Kopaoniku (K8, K11 i K12) može reći da su niske (< 300 mg kg<sup>-1</sup>). Koncentracije fosfora višestruko su više u korenovima i nadzemnim delovima biljaka u odnosu na sadržaj u zemljištu, što rezultuje visokim vrednostima biokoncentracionog i bioakumulacionog faktora (Tabele 24 i 25).

Iako biljke na ultramafitskim lokalitetima karakteriše nešto niži sadržaj fosfora u odnosu na populacije iste vrste sa neultramafitskih lokaliteta (Reeves & Baker 1984; Kazakou *et al.* 2010), ova pravilnost nije uočena u našoj studiji. Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji

fosfora ni u korenovima ni u nadzemnim delovima N. kovatsii i N. praecox sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete. Fosfor je značajan makronutrijent koji predstavlja gradivnu komponentu brojnih biomolekula, a uključen je u kontrolu ključnih enzima i metaboličkih puteva, te je njegovo usvajanje i transport u biljci pod snažnom metaboličkom kontrolom (Schachtman et al. 1998). U slučajevima deficijencije fosfora u zemljištu, što je jedna od karakteristika ultramafitskih zemljišta (Brooks 1987), adaptacije biljaka uključuju razvijeniji korenov sistem, povećanje stope transporta P iz korenova u nadzemne delove biljaka, realokaciju P iz starijih listova (Tian & Liao 2015), ali značajnu ulogu u obezbeđivanju dovoljnih količina fosfora može imati i mikoriza. Eksperimentalno je pokazano da kod vrste N. praecox na metalifernom supstratu arbuskularna mikoriza značajno utiče na poboljšano usvajanje makronutrijenata, uključujući i fosfor (Vogel-Mikuš et al. 2006). Značajnu ulogu mikorize u usvajanju fosfora potvrđuju i eksperimenti sa izolatima mikoriznih gljiva iz ultramafitskih i neultramafitskih populacija Knautia arvensis Coult. Dobijeni rezultati ukazuju na to da izolati gljiva iz ultramafitskih populacija imaju znatno izraženiji efekat u stimulaciji rasta i usvajanju fosfora, istovremeno neispoljavajući značajan efekat na usvajanje Mg, Ca i Ni, te se pretpostavlja da je upravo pojačano usvajanje fosfora ključni mehanizam pomoću koga se ostvaruje pozitivan efekat mikorize na rast biljaka na ultramafitima (Doubková et al. 2012).

Deficit kalijuma predstavlja jednu od osnovnih karakteristika zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom (Brooks 1987; Brady *et al.* 2005), a brojne studije pokazuju da je sadržaj K u biljkama sa ultramafitskih lokaliteta nešto niži u odnosu na koncentraciju u biljkama sa neultramafitskih lokaliteta. Tako npr. Reeves & Baker (1984) navode da je sadržaj kalijuma niži u eksperimentalnim grupama u kojima su semena *N. goesingensis* poreklom iz ultramafitskih populacija gajena na različitim tipovima ultramafitskih zemljišta sa širokim spektrom koncentracija nikla, u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su semena iste vrste poreklom iz neultramafitskih populacija gajena na istim tipovima zemljišta. Nasuprot tome, utvrđeno je i da vrsta *Homalium kanaliense* Briq. ima mogućnost obezbeđivanja adekvatnih koncentracija kalijuma i u uslovima njegovog izrazitog deficita u ultramafitskom zemljištu, kao i izraženog antagonizma za usvajanje sa različitim elementima u zemljištu (Lee *et al.* 1977).

Koncentracije kalijuma zabeležene u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* i *N. praecox* variraju u vrlo širokom opsegu, ali su na većini analiziranih lokaliteta nešto više od koncentracija koje Reeves & Baker (2000) navode kao "normalne" za biljke. Iako su koncentracije kalijuma u korenovima *N. kovatsii* sa ultramafitskih lokaliteta nešto više u odnosu na uzorke sa neultramafitskih lokaliteta, ova razlika nije statistički značajna. Nasuprot tome, kod vrste *N. praecox* utvrđena je statistički značajno viša koncentracija K u korenovima biljaka sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete. Sadržaj kalijuma u nadzemnim delovima obe vrste ne razlikuje se statistički značajno u uzorcima sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete. Kalijum je jedan od najznačajnijih mineralnih elemenata u biljkama, uključen je u aktivaciju enzima, membranski transport, neutralizaciju anjona i osmoregulaciju, kao i brojne fiziološke procese (Clarkson & Hanson 1980). Adaptacije biljaka na deficit kalijuma, kao u slučaju ultramafitskih zemljišta, uključuju kompleksne signalne puteve i regulatornu fiziološku mrežu koja im omogućava opstanak u uslovima deficita ovog elementa (Wang & Wu 2017).

Iako je koncentracija K u uzorcima zemljišta u našoj studiji statistički značajno niža u uzorcima sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete, na većini ultramafitskih lokaliteta ona se nalazi u opsegu optimalnih koncentracija (Milić *et al.* 2011), te deficit ovog elementa nije izražen. Takođe, na svim istraživanim lokalitetima na planini Maljen na kojima je uzorkovana vrsta *N. praecox* (P5 – P10), zemljište karakteriše izrazit deficit kalijuma, ali su koncentracije K u biljnim tkivima i na ovim lokalitetima u opsegu "normalnih" koncentracija za biljke, što ukazuje na efikasnu adaptaciju ove vrste na deficit K na utramafitskim zemljištima.

#### 5.4.2 Kalcijum i magnezijum

Koncentracije kalcijuma i magnezijuma u korenovima i nadzemnim delovima vrste *N. kovatsii* sa ultramafitskih lokaliteta se ne razlikuju statistički značajno u odnosu na koncentracije ovih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima biljaka sa neultramafitskih lokaliteta. Nasuprot tome, kod vrste *N. praecox* koncentracija Mg statistički je značajno viša u uzorcima korenova i nadzemnih delova biljaka sa ultramafitskih u odnosu na koncentracije u uzorcima sa neultramafitskih lokaliteta, dok je sadržaj Ca značajno niži na ultramafitskim lokalitetima isključivo u nadzemnim delovima biljaka, ali ne i u korenovima. Koncentracije Ca i Mg u gotovo svim analiziranim uzorcima obe vrste su niže od koncentracija Ca i Mg u tkivima nekoliko vrsta iz roda *Noccaea* sa ultramafitskih lokaliteta na Balkanskom poluostrvu (Bani *et al.* 2010; Šinzar-Sekulić *et al.* 2019), ali su u skladu sa koncentracijama zabeleženim u tkivima tri vrste iz roda *Armeria* na ultramafitskim i neultramafitskim lokalitetima na području Balkanskog poluostrva (Tomović *et al.* 2018).

Jedna od adaptacija biljaka koje se razvijaju na ultramafitskom zemljištu je i veća efikasnost u usvajanju Ca u odnosu na biljke na neultramafitskim lokalitetima (Walker *et al.* 1955), što je u skladu i sa rezultatima ove doktorske disertacije. Vrednosti bioakumulacionog faktora za Ca generalno su više kod ultramafitskih populacija obe vrste u odnosu na neultramafitske populacije ukazujući na izraženiju akumulaciju ovog elementa na ultramafitskim zemljištima. Rezultati ove disertacije ukazuju i na smanjeno usvajanje Mg (niže vrednosti BAF) kod obe vrste na ultramafitskim lokalitetima u odnosu na populacije sa neultramafitskih lokaliteta, što bi mogao biti mehanizam zaštite biljaka od toksičnosti Mg prisutnog u visokim koncentracijama u ultramafitskim zemljištima. Dobijeni rezultati koji ukazuju na izraženiju akumulaciju Ca i redukciju usvajanja Mg u skladu su sa rezultatima studije O'Dell & Claassen (2006) na *A. millefolium*.

#### 5.4.3 Gvožđe

Koncentracije gvožđa u tkivima *N. kovatsii* i *N. praecox* na ultramafitskim i neultramafitskim lokalitetima generalno su < 500 mg kg<sup>-1</sup> i nalaze se u opsegu "normalnih" koncentracija Fe u biljkama (60 - 600 mg kg<sup>-1</sup>) koji navode Reeves & Baker (2000). Znatno viša koncentracija (1380 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležena je samo u nadzemnim delovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Gučevo, Crni vrh (K7). Koncentracije Fe > 1000 mg kg<sup>-1</sup> nisu neuobičajene kod vrsta iz roda *Noccaea* i prethodno su zabeležene u tkivima nadzemnih organa *N. ochroleuca*, *N. tymphaea*, *N. kovatsii*, kao i *N. praecox* na području Balkanskog poluostrva (Bani *et al.* 2010). Izmerene koncentracije Fe u istraživanjima predstavljenim u ovoj doktorskoj disertaciji takođe su u skladu sa koncentracijama Fe navedenim za populacije vrste *N. kovatsii* na ultramafitskim staništima u Srbiji i Bosni i Hercegovini (Šinžar-Sekulić *et al.* 2019).

Iako su koncentracije Fe nešto više u uzorcima nadzemnih delova obe biljne vrste na ultramafitskim u odnosu na neultramafitske lokalitete, razlika je statistički značajna samo kod vrste *N. praecox*, ali ne i kod *N. kovatsii*, dok u sadržaju Fe u korenovima obe vrste nije utvrđena statistički značajna razlika između ultramafitskih i neultramafitskih populacija. Vrednosti biokoncentracionog, bioakumulacionog i translokacionog faktora generalno su < 1 (Tabele 24, 25 i 26). Na usvajanje gvožđa iz zemljišta mogu uticati brojne interakcije biljke i zemljišta, kao i interakcije Fe sa drugim elementima. Visoke koncentracije Ni, Mn i Co, prisutne u ultramafitskim zemljištima, mogu dovesti do smanjenja apsorpcije Fe. Nasuprot tome, visoke koncentracije Fe mogu uzrokovati deficit Ni i Mn (Kabata-Pendias 2010).

#### 5.4.4 Mangan

Zabeležene koncentracije mangana u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* i *N. praecox* znatno su niže od pseudototalnih koncentracija ovog elementa u zemljištu, a generalno su niže i od pristupačnih koncentracija Mn, što rezultuje niskim vrednostima biokoncentracionog i bioakumulacionog faktora (BCF < 1; BAF < 1). Izmerene koncentracije Mn u biljnim tkivima obe

analizirane vrste nalaze se u opsegu "normalnih" koncentracija za biljke (20 - 400 mg kg<sup>-1</sup>) koje navode Reeves & Baker (2000), uprkos visokim koncentracijama ovog elementa u zemljištu na ultramafitskim, ali i na nekoliko neultramafitskih lokaliteta. Ovo može biti objašnjeno činjenicom da se biljke prema strategijama tolerancije toksičnih koncentracija metala u zemljištu (Baker 1981) mogu ponašati kao ekskluderi mangana i održavati niske koncentracije ovog elementa u biljnim tkivima uprkos visokim koncentracijama u zemljištu (Kazakou *et al.* 2010).

Koncentracije Mn u korenovima i nadzemnim delovima *N. kovatsii* i *N. praecox* na ultramafitskim lokalitetima ne razlikuju se statistički značajno u odnosu na neultramafitske, dok su koncentracije Mn u korenovima generalno niže od zabeleženih koncentracija u nadzemnim delovima biljaka (TF > 1), što ukazuje na aktivnu kontrolu apsorpcije i transporta Mn. Koncentracije mangana u tkivima nadzemnih organa pozitivno su korelisane sa koncentracijama u korenu (Slike 48 i 49). Inhibitorno dejstvo na usvajanje Mn mogu imati visoke koncentracije Ni u zemljištu (Palacios *et al.* 1998), što je često slučaj u zemljištima koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom. Koncentracije mangana u tkivima *N. kovatsii* i *N. praecox* obuhvaćenih ovim istraživanjima u skladu su sa vrednostima koje za nekoliko vrsta iz roda *Noccaea* sa ultramafitskih lokaliteta na Balkanskom poluostvu navode Bani *et al.* (2010) i Šinžar-Sekulić *et al.* (2019), kao i sa koncentracijama Mn u tkivima *Armeria canescens* (Host) Boiss. i *A. rumelica* Boiss. sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta na Balkanskom poluostvu (Tomović *et al.* 2018).

#### 5.4.5 Cink

Koncentracija cinka koja prevazilazi nominalni prag hiperakumulacije od 3000 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent *et al.* 2013) zabeležena je samo u jednoj populaciji *N. kovatsii*, na lokalitetu Kopaonik, Suvo Rudište (K8) sa koncentracijom od 4920 mg kg<sup>-1</sup> Zn u tkivima nadzemnih organa, što predstavlja prvi podatak o hiperakumulaciji Zn u okviru vrsta iz roda *Noccaea* u Srbiji. Analiza elementarnog sastava uzoraka vrste *N. kovatsii*, prema nama dostupnim podacima, do sada je vršena isključivo na ultramafitskim lokalitetima na kojima hiperakumulacija Zn nije zabeležena. U studiji Šinžar-Sekulić *et al.* (2019) zabeležene koncentracije Zn u nadzemnim delovima *N. kovatsii* na ultramafitima Bosne i Hercegovine i Srbije su u opsegu od 87 do 1120 mg kg<sup>-1</sup>, što je u skladu sa vrednostima dobijenim i u ovom istraživanju, dok Bani *et al.* (2010) u tkivima nadzemnih organa *N. kovatsii* na ultramafitima Bugarske navode koncentracije Zn u opsegu od 478 do 902 mg kg<sup>-1</sup>. Jedini dostupan literaturni podatak o hiperakumulaciji Zn kod vrste *N. kovatsii* odnosi se na studiju Reeves & Brooks (1983) u kojoj se na osnovu analize herbarijumskog materijala navodi koncentracija Zn u listovima od 4850 mg kg<sup>-1</sup>.

Hiperakumulacija Zn kod vrste *N. praecox* u ovoj studiji nije zabeležena ni na ultramafitskim ni na neultramafitskim lokalitetima, ali je na lokalitetu Durmitor, Tepačko polje (P1) zabeležena koncentracija Zn > 1000 mg kg<sup>-1</sup> u nadzemnim delovima biljke. Hiperakumulacija Zn kod ove vrste prvi put se navodi u studiji Reeves & Brooks (1983) sa izmerenom koncentracijom od 15500 mg kg<sup>-1</sup> Zn. Na dva ultramafitska lokaliteta u Bugarskoj, Bani *et al.* (2010) navode visoke koncentracije Zn u tkivima nadzemnih organa *N. praecox* (> 1600 mg kg<sup>-1</sup> Zn), koje su ispod nominalnog praga hiperakumulacije. Visoke koncentracije Zn u nadzemnim delovima *N. praecox* izmerene su i na nekoliko lokaliteta u Sloveniji; na nekontaminiranim lokalitetima zabeležene su koncentracije do 4300 mg kg<sup>-1</sup>, dok su na metalifernom zemljištu u blizini topionica izmerene koncentracije do 16500 mg kg<sup>-1</sup> Zn (Likar *et al.* 2010).

Hiperakumulacija Zn kao konstitutivna osobina sa visokom intraspecijskom varijabilnošću zabeležena je kod vrste *N. caerulescens* (Escarré *et al.* 2000; Assunção *et al.* 2003). Visoku intraspecijsku varijabilnost u sadržaju cinka Vogel-Mikuš *et al.* (2006) navode i kod vrste *N. praecox*, dok ova grupa istraživača u svojoj narednoj studiji iznosi hipotezu da je hiperakumulacija Zn takođe konstitutivna osobina vrste *N. praecox* (Likar *et al.* 2010). Navedenu hipotezu podržavaju i rezultati ove doktorske disertacije. Naime, visoke vrednosti bioakumulacionog faktora, kao i visoke vrednosti translokacionog faktora za Zn zabeležene su kod uzoraka *N. praecox* sa ultramafitskih, kao i sa neultramafitskih lokaliteta. I kod vrste *N. praecox*, kao i kod *N. kovatsii*, vrednosti bioakumulacionog faktora za Zn na neultramafitskim lokalitetima više su od vrednosti BAF za sve druge analizirane

metale, što je u skladu sa rezultatima Molitor *et al.* (2005) za populacije *N. caerulescens* u Luksemburgu. Na većini ultramafitskih lokaliteta, više vrednosti bioakumulacionih faktora izračunate su samo za nikl. Dobijene visoke vrednosti BAF i TF za Zn kod vrste *N. kovatsii*, kao i zabeležena koncentracija Zn iznad praga hiperakumulacije na jednom lokalitetu predstavljaju osnov za hipotezu da bi se hiperakumulacija Zn mogla smatrati konstitutivnom osobinom i vrste *N. kovatsii*.

Kompeticija za usvajanje Ni i Zn opisana je kod nekoliko vrsta iz roda *Noccaea*. Kod vrste *N. pindica*, koja je hiperakumulator Ni, dodatak cinka u hranljivi medijum inhibira usvajanje nikla (Taylor & Macnair 2006), dok je kod vrste *N. caerulescens* uočena preferencija za usvajanje Zn, kada je sa niklom prisutan u istim koncentracijama u supstratu (Assunção *et al.* 2001). Na ultramafitskim lokalitetima, sa znatno višim koncentracijama nikla u zemljištu, obe analizirane vrste su hiperakumulatori Ni, dok su koncentracije cinka u biljnim tkivima znatno niže od koncentracija nikla usled njegove niže koncentracije u zemljištu, kao i opisane kompeticije sa jonima Ni.

#### 5.4.6 Bakar

Koncentracije Cu u biljnim tkivima *N. kovatsii* i *N. praecox* dobijene analizama materijala sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta nalaze se u opsegu "normalnih" koncentracija za biljke (5 – 25 mg kg<sup>-1</sup>) koji navode Reeves & Baker (2000), a odgovaraju koncentracijama Cu detektovanih istraživanjima nekoliko vrsta roda *Noccaea* sa ultramafitskih područja Balkanskog poluostrva (Salihaj *et al.* 2018; Šinžar-Sekulić *et al.* 2019). Dobijene koncentracije Cu u biljnim tkivima odgovaraju i koncentracijama koje se navode u studiji Tomović *et al.* (2018) za nekoliko populacija *Armeria canescens*, *A. rumelica* i *A. alpina* (DC.) Willd. sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta Balkanskog poluostrva. Vrednosti bioakumulacionog, biokoncentracionog i translokacionog faktora generalno su < 1. Neuobičajeno visoke koncentracije ovog elementa nisu zabeležene ni u tkivima *N. caerulescens* na nekoliko metalifernih staništa u Francuskoj sa visokim koncentracijama Cu u supstratu (Reeves *et al.* 2001).

#### 5.4.7 Nikl

Koncentracije nikla u uzorcima nadzemnih delova N. kovatsii i N. praecox na svim ultramafitskim lokalitetima prevazilaze definisani prag hiperakumulacije od 1000 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent *et al.* 2013), dok su koncentracije na neultramafitskim lokalitetima značajno niže. Hiperakumulacija nikla kod vrsta N. kovastii i N. praecox navodi se u rezultatima istraživanja Bani et al. (2010). Na tri ultramafitska lokaliteta u Bugarskoj, u nadzemnim delovima N. kovatsii zabeležene su koncentracije Ni u opsegu od 14100 do 21500 mg kg<sup>-1</sup>, dok su koncentracije Ni u nadzemnim organima N. praecox bile u opsegu od 1100 do 13600 mg kg<sup>-1</sup>. Za vrstu N. praecox Reeves & Brooks (1983), na osnovu analize herbarijumskog materijala, navode koncentracije nikla u listovima do 15500 mg kg<sup>-1</sup>. Iako su maksimalne koncentracije Ni zabeležene u nadzemnim delovima N. kovatsii i N. praecox u ovom istraživanju nešto niže od maksimalnih vrednosti navedenih u studijama Reeves & Brooks (1983) i Bani et al. (2010), dobijene vrednosti na svim ultramafitskim lokalitetima mogu se smatrati izuzetno visokim. Najviša koncentracija Ni u nadzemnim delovima *N. kovatsii* (8110 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležena je na lokalitetu Trstenik, Pečeni grob (K14), gde su detektovane i najviše koncentracije ukupnog i pristupačnog nikla. Nešto više koncentracije zabeležene su u uzorcima vrste N. praecox. Naime, najviša koncentracija nikla u nadzemnim delovima N. praecox (14600 mg kg<sup>-1</sup>) izmerena je na lokalitetu Maljen, Pitomine (P5), dok su koncentracije  $> 11000 \text{ mg kg}^{-1}$  u tkivima nadzemnih organa ove vrste zabeležene i na lokalitetima Maljen, Golubac (P9) i Tara, Zaovine, Đurići (P11). Iako su koncentracije Ni u nadzemnim delovima N. kovatsii sa ultramafitskih lokaliteta nešto niže od koncentracija nikla u uzorcima N. praecox, ova razlika nije statistički značajna. Koncentracija nikla u tkivima nadzemnih organa obe vrste na ultramafitskim lokalitetima znatno je viša od koncentracije nikla u korenovima (TF > 1), dok ovaj obrazac nije jasno izražen kod biljaka sa neultramafitskih lokaliteta. Sličan obrazac uočen je i kod odnosa koncentracija pristupačnog nikla u zemljištu i koncentracije nikla u tkivima nadzemnih organa, sa znatno višim vrednostima bioakumulacionog faktora kod ultramafitskih populacija obe vrste.

Hiperakumulacija nikla navodi se kao konstitutivna osobina kod vrsta N. goesingensis (Reeves & Baker 1984) i N. fendleri subsp. glauca (Boyd & Martens 1998), dok je kod vrste N. caerulescens variranje ove osobine znatno složenije. Naime, visok stepen translokacije Ni se smatra konstitutivnom osobinom kod N. caerulescens, dok je visok stepen tolerancije i akumulacije specifičan za populacije sa ultramafitskih lokaliteta (Assunção et al. 2003; Richau & Schat 2009). Zabeležena visoka varijabilnost u sadržaju nikla kod vrsta N. kovatsii i N. praecox u skladu je i sa rezultatima studije Sirguey et al. (2018) u kojoj je analiziran sadržaj nikla u 67 populacija vrste N. caerulescens u Francuskoj, a hiperakumulacija ovog elementa zabeležena je samo u jednoj analiziranoj ultramafitskoj populaciji. Osim visoke interpopulacione varijabilnosti, Sirguey et al. (2018) navode i visok stepen intrapopulacione varijabilnosti u sadržaju nikla i podatak da je samo u oko 5% od ukupnog broja analiziranih jedinki na neultramafitskim lokalitetima zabeležena koncentracija nikla iznad definisanog praga hiperakumulacije iako su medijane koncentracija nikla na nivou populacija bile znatno ispod 1000 mg kg<sup>-1</sup>. Koncentracija nikla analizirana je i u 15 populacija *N. caerulescens* na nemetalifernim zemljištima u Luksemburgu (Molitor et al. 2005), a zabeležene su koncentracije Ni u opsegu od 38 do 473 mg kg<sup>-1</sup>. Koncentracije nikla zabeležene u uzorcima N. kovatsii i N. praecox sa istraživanih neultramafitskih lokaliteta znatno su niže od vrednosti navedenih u studiji Molitor et al. (2005), ali se nalaze u opsegu koncentracija na nemetalifernim zemljištima koje za vrstu N. caerulescens navode Sirguey et al. (2018). Pollard et al. (2014) takođe ističu visoku intraspecijsku varijabilnost u hiperakumulaciji metala, ali kao jedan od najznačajnijih faktora koji na nju utiče ističu karakteristike zemljišta, tj. prvenstveno sadržaj datog elementa u supstratu.

Dobijeni rezultati ukazuju na to da je za razumevanje hiperakumulacije nikla kod dve analizirane vrste, pored njegove koncentracije u zemljištu, neophodno uzeti u obzir i složene interakcije u zemljištu. Pavlova & Karadjova (2013) na osnovu studije Bani *et al.* (2010) navode da su sve ultramafitske populacije *N. kovatsii* i *N. praecox* u Bugarskoj hiperakumulatori nikla, uz izraženu varijabilnost u sadržaju, što pored genetičkih karakteristika, najverovatnije može biti uzrokovano karakteristikama zemljišta. Uzorci *N. praecox* sa planine Maljen (P5 – P10) posebno dobro ilustruju varijabilnost u sadržaju nikla u biljnim tkivima u zavisnosti od kompleksnih mikroedafskih karakteristika, uključujući dubinu i razvijenost zemljišta (Alexander 2009; Echevarria 2018), vlažnost zemljišta, kao i sadržaj organske materije, što je detaljno analizirano u studiji Mišljenović *et al.* (2018). Naime, najviša koncentracija nikla u nadzemnim organima *N. praecox* zabeležena je na lokalitetu Maljen, Paljevine (P5), na kome je zabeležena i najniža koncentracija pristupačnog nikla u poređenju sa svim istraživanim lokalitetima na ovoj planini.

Prema do sada dostupnim podacima, hiperakumulacija nikla kod vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* utvrđena je isključivo na ultramafitskim lokalitetima, što potvrđuju i rezultati ove studije uz višestruko više vrednosti bioakumulacionog i translokacionog faktora za nikl kod ultramafitskih populacija obe vrste u poređenju sa neultramafitskim.

#### 5.4.8 Hrom

Koncentracije hroma u analiziranim uzorcima korenova i nadzemnih delova *N. kovatsii* i *N. praecox* nešto su niže od koncentracija Cr navedenih za veći broj vrsta iz roda *Noccaea* analiziranih na području Balkanskog poluostrva (Bani *et al.* 2010; Salihaj *et al.* 2018; Šinžar-Sekulić *et al.* 2019). Koncentracije Cr u nadzemnim delovima obe analizirane vrste su dominantno < 10 mg kg<sup>-1</sup>, dok su u uzorcima korenova koncentracije na najvećem broju lokaliteta više od koncentracija zabeleženih u nadzemnim delovima (TF < 1).

Iako su koncentracije hroma izuzetno visoke u ultramafitskim zemljištima, ovaj element je slabo mobilan, a većina usvojenog hroma se zadržava u korenovima. Shukla *et al.* (2007) navode da se Cr dominantno akumulira u korenovima biljaka i slabo transportuje u nadzemne delove što potvrđuju i dobijeni rezultati. Visoke koncentracije gvožđa u ultramafitskim zemljištima mogle bi dodatno uticati na nizak stepen usvajanja hroma od strane biljaka uprkos njegovim visokim

koncentracijama. Pokazano je da prisustvo Fe u hranljivom medijumu smanjuje usvajanje Cr od strane biljaka, verovatno usled kompeticije za transport ili precipitacije oksida Fe sa Cr (VI) (Mallick *et al.* 2010; Shahid *et al.* 2017).

Koncentracija Cr statistički je značajno viša u uzorcima nadzemnih delova *N. kovatsii* sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete, dok se sadržaj Cr u uzorcima korenova ne razlikuje statistički značajno. Kod vrste *N. praecox* sadržaj hroma ne razlikuje se statistički značajno između ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta ni u uzorcima korenova ni u nadzemnim delovima, što može biti uslovljeno niskom mobilnošću hroma, sprečavanjem usvajanja i sekvestracijom u korenovima.

#### 5.4.9 Olovo

Koncentracije olova kod obe analizirane vrste generalno su više u podzemnim organima u odnosu na koncentracije u nadzemnim delovima, što ukazuje da se većina akumuliranog olova zadržava u korenovima (TF < 1). Strategija sekvestracije Pb u korenovima uočena je za veći broj populacija vrste N. kovatsii u Srbiji i Bosni i Hercegovini (Šinžar-Sekulić et al. 2019), a transport olova iz podzemnih u nadzemne biljne organe je izuzetno ograničen i kod većine biljnih vrsta se ispod 3% olova usvojenog iz zemljišta transportuje u nadzemne biljne delove (Kabata-Pendias 2010). Koncentracije Pb u tkivima biljaka sa lokaliteta na kojima nije prisutna kontaminacija zemljišta olovom retko prevazilaze 10 mg kg<sup>-1</sup> (Zitka et al. 2013), što je u skladu i sa rezultatima ove doktorske disertacije. Neuobičajeno visoke koncentracije Pb nisu zabeležene ni u biljnim tkivima vrste N. kovatsii na lokalitetima sa visokim koncentracijama ovog elementa u zemljištu prvenstveno na planini Kopaonik, gde su pseudototalne koncentracije Pb na lokalitetima Kopaonik, Nebeske stolice (K11) i Kopaonik, Treska (K12) bile > 500 mg kg<sup>-1</sup>. Uprkos ovoj činjenici, prethodnim istraživanjima su na nekoliko lokaliteta u blizini topionica ruda olova i cinka u Sloveniji zabeležene koncentracije Pb u nadzemnim delovima ove vrste iznad nominalnog praga hiperakumulacije od 1000 mg kg<sup>-1</sup> (Vogel-Mikuš *et al.* 2006). Visoke koncentracije Pb u nadzemnim delovima biljaka često mogu biti i rezultat depozicije čestica prašine ili kontaminiranog zemljišta, koje ne mogu biti uklonjene standardnim procedurama pranja materijala prilikom pripreme za analizu. Eksperimentalnom ekspozicijom N. praecox gradijentu koncentracija olova u kojima je moguće zanemariti atmosfersku depoziciju, zabeležene su visoke koncentracije Pb u nadzemnim delovima biljaka, čak 950 mg kg<sup>-1</sup>, dok su koncentracije Pb u korenovima ipak bile višestruko više (Vogel-Mikuš et al. 2006; Likar et al. 2010). Utvrđeno je i da obrasci lokalizacije Pb u tkivima N. praecox odgovaraju obrascima lokalizacije Cd, ukazujući na potencijalne zajedničke mehanizme transporta i sekvestracije ovih metala (Likar et al. 2010). Osim vrste N. praecox, hiperakumulacija Pb zabeležena je kod nekoliko drugih vrsta roda Noccaea sa metalifernih zemljišta izuzetno bogatih Pb, uključujući i N. caerulescens (van der Ent et al. 2013). Istraživanjima predstavljenim u ovoj doktorskoj disertaciji hiperakumulacija Pb nije zabeležena ni na jednom od lokaliteta, pri čemu je jasno utvrđeno da je sekvestracija olova u korenovima dominantna strategija tolerancije na olovo kod obe analizirane vrste.

#### 5.4.10 Kadmijum

Koncentracije Cd kritično toksične za biljke kreću se u opsegu od 6 do 10 mg kg<sup>-1</sup> (Krämer 2010), dok su koncentracije zabeležene u uzorcima korenova i nadzemnih delova *N. kovatsii* i *N. praecox* na gotovo svim lokalitetima obuhvaćenim ovim istraživanjima znatno ispod navedenih vrednosti. Neuobičajeno visoke koncentracije Cd, koje se mogu smatrati toksičnim za biljke, ali i dalje ispod nominalnog praga hiperakumulacije od 100 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent *et al.* 2013) zabeležene su u tkivima nadzemnih organa *N. kovatsii* na lokalitetu Kopaonik, Suvo Rudište – K8 (22,0 mg kg<sup>-1</sup>), kao i *N. praecox* na lokalitetu Tara, Zborište – P3 (29,5 mg kg<sup>-1</sup>). Ove koncentracije višestruko su više od ukupnih i pristupačnih koncentracija Cd u zemljištu sa visokim vrednostima bioakumulacionog faktora (BAF = 40 na lokalitetu K8 i BAF = 17 na lokalitetu P3). Izračunate visoke vrednosti BAF, kao i visoke koncentracije Cd u biljnim tkivima vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* sa dva navedena

lokaliteta ukazuju na visok potencijal za akumulaciju Cd u datim populacijama, uprkos niskom sadržaju ovog metala u zemljištu. Iako su kod nekoliko populacija obe vrste zabeležene i više vrednosti BAF od navedenih, koncentracije Cd u biljnim tkivima bile su znatno niže, a visoke vrednosti BAF posledica su izuzetno niskih koncentracija pristupačnog Cd u zemljištu na ovim lokalitetima (neposredno iznad nivoa detekcije).

Ni kod jedne analizirane vrste nije zabeležena statistički značajna razlika u koncentracijama Cd između populacija sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta. Prema do sada dostupnim podacima, hiperakumulacija Cd kod vrste *N. kovatsii* još uvek nije zabeležena i sadržaj Cd kod ove vrste je retko analiziran. Koncentracije Cd u tkivima korenova i nadzemnih organa vrste *N. kovatsii* dobijene ovim istraživanjima u skladu su sa vrednostima dobijenim za osam analiziranih populacija ove vrste sa ultramafita Bosne i Hercegovine i Srbije (Šinžar-Sekulić *et al.* 2019). Nasuprot tome, hiperakumulacija Cd kod vrste *N. praecox* zabeležena je i na metalifernim i na nemetalifernim zemljištima u Sloveniji (Vogel-Mikuš *et al.* 2006; Likar *et al.* 2010), a potvrđena je i većim brojem eksperimentalnih studija (Tolrà *et al.* 2006; Koren *et al.* 2013; Llugany *et al.* 2013a, b; Regvar *et al.* 2013; Zemanová *et al.* 2016).

Za razliku od vrste *N. caerulescens*, kod koje se efikasan transport Cd iz korena u nadzemni deo biljke smatra konstitutivnom osobinom (TF > 1), koncentracije Cd u nadzemnim delovima biljaka kod populacija vrste *N. praecox*, kao i *N. kovatsii* bile su niže od koncentracija zabeleženih u korenu (TF < 1). Dobijene vrednosti ukazuju na to da bi kod obe analizirane vrste transport Cd mogao biti kontrolisan sekvestracijom u vakuolama ćelija korena, što je mehanizam opisan kod većeg broja vrsta iz roda *Noccaea* (Xing *et al.* 2008; Martos *et al.* 2016). Vrednosti TF < 1 kod vrste *N. kovatsii* zabeležene su i u studiji Šinžar-Sekulić *et al.* (2019).

Visok stepen varijabilnosti stepena akumulacije Cd zabeležen u ovom istraživanju navodi se i za veliki broj različitih populacija vrste *N. caerulescens*, uključujući i populacije sa kalaminskih zemljišta sa vrlo visokim zabeleženim koncentracijama Cd (Assunção *et al.* 2003). Rezultati istraživanja Rosenfeld *et al.* (2018) ukazuju na to da na akumulaciju Cd kod vrste *N. caerulescens* u velikoj meri mogu da utiču različiti geohemijski faktori, kao i složene interakcije između zemljišta i biljke. Strategije (hiper)akumuacije i tolerancije Cd kod vrsta iz roda *Noccaea* mogu se značajno razlikovati i među populacijama iste vrste, što je pokazano u studiji Martos *et al.* (2016) za populacije *N. brachypetala* (Jord.) F. K. Mey. sa metalifernih i nemetalifernih zemljišta u istočnim Pirinejima. Interesantno je i da se za nekoliko populacija *N. caerulescens* navodi pozitivna korelacija u efikasnosti za translokaciju Cd i Zn, što ukazuje na potencijalni zajednički mehanizam transporta ovih metala iz korena u nadzemne delove biljke (Xing *et al.* 2008), što je u skladu sa zabeleženom hiperakumulacijom Zn kod vrste *N. kovatsii* na lokalitetu Kopaonik, Suvo rudište (K8) u kojoj je zabeležena i visoka koncentracija Cd.

#### 5.4.11 Kobalt

"Normalne" koncentracije kobalta u biljkama su generalno niske i u opsegu su od 0,03 do 2 mg kg<sup>-1</sup>, a čak i na ultramafitskim zemljištima sa visokim sadržajem Co koncentracije u biljkama retko prevazilaze 20 mg kg<sup>-1</sup> (Gupta *et al.* 2013), što je u skladu sa rezultatima ove doktorske disertacije. Koncentracije kobalta u uzorcima korenova *N. kovatsii* i *N. praecox* sa neultramafitskih lokaliteta generalno su više od koncentracija u tkivima nadzemnih organa (TF < 1), dok je na ultramafitskim lokalitetima uočen suprotan trend, sa višim koncentracijama Co u nadzemnim delovima biljaka. Iako je kod određenog broja hiperakumulatora nikla zabeležena i simultana hiperakumulacija Co sa koncentracijama oba elementa i do 1500 mg kg<sup>-1</sup> (van der Ent *et al.* 2018), rezultati prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji ne ukazuju na takvu sposobnost analiziranih vrsta. Naime, koncentracije Co su znatno niže u biljnim tkivima u odnosu na zabeležene ukupne i pristupačne koncentracije ovog elementa u zemljištu, što rezultuje niskim vrednostima biokoncentracionog i bioakumulacionog faktora (BCF < 1; BAF < 1). Izmerene koncentracije Co nešto su niže od koncentracija koje se za *N. kovatsii* navode u studiji Šinžar-Sekulić *et al.* (2019), kao i vrednosti koje za *N. kovatsii* i *N. praecox* navode Bani *et al.* (2010).

# 5.5 Koncentracije nikla kod gajenih biljaka i njegovi efekti na akumulaciju analiziranih potencijalno toksičnih metala

Pri svim primenjenim koncentracijama nikla u supstratu, koncentracije ovog metala u nadzemnim delovima *N. praecox* i *N. kovatsii* bile su znatno iznad definisanog nominalnog praga hiperakumulacije (1000 mg kg<sup>-1</sup>; van der Ent *et al.* 2013). Hiperakumulacija nikla zabeležena je i kod biljaka poreklom iz populacija sa ultramafita, kao i kod biljaka sa neultramafitskih lokaliteta. Uočeno je i da su pri svim primenjenim koncentracijama Ni u supstratu, koncentracije ovog elementa više u nadzemnim delovima biljaka iz ultramafitskih populacija, u poređenju sa neultramafitskim. Takođe, u eksperimentima su koncentracije nikla kod ultramafitskih i kod neultramafitskih populacija bile više kod *N. praecox* u poređenju sa *N. kovatsii*, što je u skladu i sa rezultatima dobijenim analizama koncentracija nikla kod biljaka uzorkovanih sa prirodnih staništa.

Hiperakumulacija Ni je potvrđena i kod ultramafitskih i neultramafitskih populacija vrste N. caerulescens (Sterckeman et al. 2017). U datoj studiji u eksperimentalnim uslovima su koncentracije Ni u većem broju populacija sa nemetalifernih zemljišta bile i znatno više u poređenju sa ultramafitskim populacijama, što nije zabeleženo našim istraživanjima ni kod vrste N. kovatsii, kao ni kod N. praecox. Slični rezultati prikazani su i u studiji Gonneau et al. (2014) na N. caerulescens, sa koncentracijama Ni koje su više kod biljaka sa nemetalifernih lokaliteta u poređenju sa ultramafitskim populacijama pri izlaganju umerenim koncentracijama nikla u eksperimentalnim uslovima. Sadržaj nikla kod populacija vrste N. caerulescens poreklom sa različitih tipova podloge analiziran je i u studiji Assunção et al. (2003) u hidroponskim eksperimentima. Hiperakumulacija nikla pri izlaganju u hidroponima, zabeležena je i u populaciji sa ultramafitskog lokaliteta, kao i kod populacija sa kalaminskih zemljišta, ali i kod biljaka sa nemetalifernih zemljišta. Najviše koncentracije Ni zabeležene su kod biljaka sa ultramafitskog lokaliteta, što je u skladu i sa rezultatima ove doktorske disertacije. Slična pojava uočena je i u studiji Kozhevnikova et al. (2020), sa najvišim koncentracijama Ni kod ultramafitskih ekotipova N. caerulescens pri eksperimentalnom izlaganju gradijentu koncentracija ovog metala, ali uz izraženu varijabilnost među i unutar populacija u okviru različitih edafskih grupa (nemetaliferne, kalaminske i ultramafitske). Na visoku varijabilnost ukazuje i činjenica da kod određenih populacija N. caerulescens u okviru studije Kozhevnikova et al. (2020) koncentracije nikla nisu bile više u odnosu na koncentracije kod srodnih neakumulatorskih vrsta uključenih u istraživanje, što potvrđuje zaključke Assunção et al. (2003) da hiperakumulacija i hipertolerancija nikla nisu osobine karakteristične za vrstu kod N. caerulescens, već mogu značajno varirati kod različitih edafskih ekotipova.

Više koncentracije nikla u tkivima nadzemnih organa u odnosu na koren kod obe vrste uključene u eksperimente, izuzev u kontrolnim grupama, ukazuju na aktivan transport nikla iz podzemnih u nadzemne delove biljaka, što je u skladu i sa rezultatima studija Assunção *et al.* (2003), Sterckeman *et al.* (2017) i Kozhevnikova *et al.* (2020) na *N. caerulescens.* 

Mehanizmi vezani za usvajanje i transport nikla nisu u potpunosti poznati i svakako nisu proučeni u meri u kojoj je to slučaj sa mehanizmima usvajanja i transporta Zn (Gupta *et al.* 2016) i Cd (Qiu *et al.* 2012) kod hiperakumulatora ovih metala. Poznato je da prisustvo nikla u visokim koncentracijama može uticati na usvajanje drugih elemenata, ali i da određeni elementi mogu uticati na apsorpciju nikla (Deng *et al.* 2019). Kod populacija *N. caerulescens* u kojima je zabeležena hiperakumulacija Ni i Zn, ukoliko su izložene ekvivalentnim koncentracijama ova dva metala, dolazi do preferencijalnog usvajanja Zn, što je u skladu sa činjenicom da se hiperakumulacija Zn smatra konstitutivnom osobinom ove vrste (Assunção *et al.* 2001, 2003). Ovi rezultati ukazuju i na to da kod vrsta roda *Noccaea* koje su hiperakumulatori i nikla i cinka postoje Zn- specifični transporteri visokog afiniteta za usvajanje Ni/Zn (Deng *et al.* 2018). Pretpostavlja se da je ZIP10 jedan od transportera Zn niskog afiniteta, kojim se vrši i transport Ni, a očekuje se da će biti identifikovani i drugi transporteri koji su uključeni u ovaj process (Deng *et al.* 2018). Brojni

transporteri iz ZIP familije mogu istovremeno omogućavati usvajanje nekoliko divalentnih katjona, uključujući Zn(II), Fe(II), Ni(II) i Mn(II) (Deng et al. 2018). Iako bi na osnovu navedenog moglo biti očekivano da izlaganje visokim koncentracijama Ni utiče i na apsorpciju i transport Fe, kod većine gajenih populacija u okviru istraživanja obuhvaćenih ovom doktorskom disertacijom to nije uočeno, izuzev kod N. praecox poreklom sa Maljena, gde je zabeležen izražen antagonizam u koncentracijama Ni/Fe u nadzemnim delovima biljaka. Iako se pretpostavlja da u transportu nikla ulogu mogu imati i transporteri Zn i transporteri Fe niskog afiniteta, rezultati Deng et al. (2018) ukazuju na to da znatno izraženiju ulogu u transportu Ni imaju transporteri Zn. U svim gajenim populacijama obe vrste, sa ultramafitskih i neultramafitskih lokaliteta, koncentracija Co u tkivima nadzemnih organa pri tretmanu niklom viša je u odnosu na koncentraciju ovog elementa u kontrolnoj grupi. Proučavajući interakcije Ni i Co kod vrste Alyssum troodii Boiss. pri eksperimentalnom izlaganju gradijentu koncentracija ovih metala, Homer et al. (1991) navode mogućnost postojanja zajedničkog mehanizma kontrole usvajanja ova dva metala. Pri izlaganju A. troodii jednakim koncentracijama Ni i Co, dolazi do intenzivnijeg usvajanja Co, što ukazuje na to da mehanizmi vezivanja za različite ligande u korenu favorizuju Co u odnosu na Ni. U studiji Deng et al. (2019) je kod vrste N. caerulescens takođe pokazana izražena kompeticija za usvajanje Ni i Co, što ukazuje na zajedničke mehanizme usvajanja i transporta. Pošto specifični transporteri Co nisu identifikovani, može se pretpostaviti da se i Ni i Co apsorbuju pomoću nespecifičnih transportera kod vrsta iz roda *Noccaea*. Očekivani antagonizam za usvajanje između Ni i Co u ovoj doktorskoj disertaciji nije zabeležen, što bi moglo biti objašnjeno činjenicom da su koncentracije Ni u supstratu bile višestruko više u odnosu na koncentracije Co.

#### 5.6 Biomase

Promena biomase u odnosu na kontrolnu grupu pri izlaganju biljaka gradijentu koncentracija metala može se koristiti kao jedan od osnovnih biomarkera za procenu toksičnosti (OECD 2006), te se ovakvi testovi mogu koristiti i za procenu tolerancije biljaka na nikl. U studiji Krämer *et al.* (1997) analizirana je tolerancija vrsta *N. goesingensis*, hiperakumulatora Ni i nehiperakumulatorske vrste *Thlaspi arvense* na ovaj metal, a kao jedan od pokazatelja tolerancije korišćena je promena u biomasi biljaka pri izlaganju gradijentu koncentracija Ni.

Pri izlaganju biljaka iz odabranih populacija *N. kovatsii* i *N. praecox* gradijentu koncentracija nikla u istraživanjima obuhvaćenim ovom doktorskom disertacijom, utvrđen je različit stepen tolerancije analiziranih populacija obe vrste na tretman niklom.

Najviša biomasa *N. kovatsii* u kontrolnim grupama zabeležena je kod biljaka poreklom sa neultramafitske podloge – Kablar, ali je istovremeno kod biljaka sa neultramafita na Avali zabeležena najniža produkcija biomase u kontrolnoj grupi. Kod biljaka sa Avale uočava se i da pri izlaganju najvišoj testiranoj koncentraciji Ni u supstratu ni jedna od biljaka nije preživela do kraja eksperimenta, a u grupama A i B izlaganje niklu dovodi do smanjenja biomase biljaka u odnosu na kontrolnu grupu. Istovremeno, kod biljaka poreklom sa neultramafitske podloge na Kablaru, pri izlaganju najvišoj testiranoj koncentraciji Ni dolazi do statistički značajnog smanjenja biomase u odnosu na kontrolnu grupu, ali uz preživljavanje biljaka do kraja eksperimenta. Razlike u stepenu tolerancije na nikl biljaka iz različitih populacija sa nemetaliferne podloge u skladu su sa rezultatima studija na vrsti *N. caerulescens* (Gonneau *et al.* 2014; Sterckeman *et al.* 2017) koji ukazuju na visok stepen varijabilnosti u toleranciji nikla među populacijama sa nemetalifernih zemljišta. Najviši stepen tolerancije na nikl utvrđen je kod *N. kovatsii* poreklom sa ultramafitske podloge na lokalitetu Kopaonik, gde su primenjene koncentracije Ni dovele do blagog smanjenja biomase u odnosu na kontrolnu grupu koje nije statistički značajno.

Kod *N. praecox* poreklom sa neultramafitske podloge u Istri pri tretmanu niklom uočava se vrlo izraženo, statistički značajno, smanjenje biomase nadzemnih delova biljaka u odnosu na kontrolnu grupu, dok kod biljaka poreklom iz populacija sa ultramafita – Maljen i Zlatibor, čak ni pri izlaganju najvišim koncentracijama Ni ne dolazi do statistički značajnog smanjenja biomase u odnosu na kontrolnu grupu. Dobijeni rezultati ukazuju na to da su analizirane populacije *N. praecox* sa

ultramafitske geološke podloge znatno bolje adaptirane na prisustvo visokih koncentracija Ni u supstratu u poređenju sa biljkama sa Ćićarije. Međutim, biomasa biljaka sa Ćićarije u kontrolnoj grupi bila je statistički značajno viša od biomasa kontrola sa Maljena i Zlatibora. Jedna od adaptacija serpentinofita uključuje i manju produkciju biomase u odnosu na biljke sa nemetalifernih staništa usled alokacije značajnog dela resursa u obezbeđivanje visokog stepena tolerancije na stres, uključujući i visoke koncentracije nikla (Brady *et al.* 2005). Niska stopa rasta, koja može biti i genetički predodređena, predstavlja jednu od adaptacija serpentinofita (Kazakou *et al.* 2008; O'Dell & Rajakaruna 2011), čime se može objasniti uočena razlika u biomasi biljaka u kontrolnoj grupi iz populacija sa ultramafita i neultramafita kod *N. praecox.* 

Kod obe analizirane vrste, biljke poreklom sa ultramafitskih lokaliteta pokazuju visok stepen tolerancije na nikl bez statistički značajnog smanjenja biomase pri svim primenjenim koncentracijama Ni u supstratu, dok znatno viši stepen osetljivosti na Ni pokazuju *N. kovatsii* poreklom sa neultramafitske podloge na Avali i *N. praecox* poreklom sa neultramafita sa Ćićarije. Istovremeno, najviši stepen tolerancije na Ni među neultramafitskim populacijama obe vrste pokazuje *N. kovatsii* poreklom sa Kablara, gde do vrlo izraženog pada biomase u odnosu na kontrolnu grupu dolazi tek pri najvišoj primenjenoj koncentraciji Ni. Promene u biomasi korena generalno odgovaraju promenama u biomasi nadzemnih delova biljaka pri tretmanu niklom.

#### 5.7 Koncentracije fotosintetičkih pigmenata

Jedan od toksičnih efekata nikla na biljke ogleda se u snižavanju koncentracije hlorofila, što može biti uzrokovano inhibicijom biosinteze, zamenom  $Mg^{2+}$  u molekulu hlorofila, ili pojačanim stepenom degradacije (Ghasemi *et al.* 2009). U zavisnosti od stepena tolerancije biljaka na stres niklom i stope akumulacije Ni, koncentracija ovog metala koja dovodi do sniženja koncentracije hlorofila može se značajno razlikovati među biljkama iz različitih populacija i sa različitih geoloških podloga (Chen *et al.* 2009; Yusuf *et al.* 2011).

Kod *N. kovatsii* sa neultramafitskog lokaliteta na Avali, izlaganje najvišoj testiranoj koncentraciji nikla ispoljilo je letalan efekat na sve gajene individue u okviru grupe C. Pri ostalim tretmanima nije zabeležena statistički značajna razlika u koncentraciji hlorofila u odnosu na kontrolnu grupu. Iako je kod većine testiranih populacija hlorofil *a* osetljiviji na dejstvo nikla, te je redukcija u količini ukupnih hlorofila uslovljena smanjenjem njegove koncentracije, kod biljaka sa lokaliteta Kablar je u eksperimentalnim grupama B i C statistički značajno smanjena koncentracija hlorofila *b*. Iako bi smanjenje koncentracije ukupnih hlorofila kod biljaka izloženih niklu moglo biti uzrokovano deficitom Fe i/ili Mg (Seregin & Kozhevnikova 2006) deficit ovih elemenata nije uočen kod gajenih biljaka u istraživanjima čiji su rezultati predstavljeni u ovoj doktorskoj disertaciji. Jedan od mogućih uzroka smanjenja koncentracije hlorofila mogla bi biti inhibicija biosinteze, ali i povećana degradacija, prvenstveno kod listova kod kojih je uočena pojava hloroza i nekroza (Gajewska *et al.* 2006).

Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju na to da kod *N. praecox* poreklom sa neultramafitskog lokaliteta Ćićarija pri izlaganju niklu dolazi do vrlo izraženog pada koncentracija fotosintetičkih pigmenata, a pad koncentracije ukupnih hlorofila statistički je značajan u eksperimentalnim grupama B i C. Pad koncentracije hlorofila prati i izrazito smanjenje biomase biljaka iz ove populacije. Nasuprot tome, kod *N. praecox* poreklom sa ultramafitske podloge na lokalitetu Zlatibor, do statistički značajnog smanjenja koncentracije hlorofila u odnosu na kontrolnu grupu dolazi tek pri izlaganju najvišoj testiranoj koncentraciji nikla, dok je statistički značajno smanjenje koncentracije hlorofila kod biljaka sa ultramafita Maljena zabeleženo u eksperimentalnoj grupi B. Kod obe ultramafitske populacije došlo je do statistički značajnog smanjenja koncentracije hlorofila *a*, čime je uslovljen i pad koncentracije ukupnih hlorofila, dok se koncentracija hlorofila *b* ne razlikuje značajno u odnosu na kontrolnu grupu. Ovakav rezultat u skladu je i sa rezultatima studije Sellami *et al.* (2012) u kojoj su analizirani fiziološki efekti nikla iz kontaminiranog zemljišta na *Alyssum murale* Waldst. et Kit., kao i sa rezultatima Pandey & Sharma (2002) koji pokazuju da je pri tretmanu kupusa niklom došlo do intenzivnijeg smanjenja koncentracije hlorofila *a* u odnosu na hlorofil *b*. Nasuprot tome, kod biljaka iz populacije Ćićarija, pored smanjenja koncentracije hlorofila a u odnosu na kontrolnu grupu dolazi i do statistički značajnog smanjenja koncentracije hlorofila *b*.

Pored poznate fotoprotektivne uloge, karotenoidi mogu imati značajnu ulogu i u zaštiti biljaka od oksidativnog stresa indukovanog određenim potencijalno toksičnim elementima. Pokazano je da oksidativni stres u listovima može stimulisati biosintezu karotenoida (Uarrota *et al.* 2018), ali stres indukovan potencijalno toksičnim elementima kod nekih vrsta može dovesti i do redukcije njihovog sadržaja (Huang & Wang 2010). Poznati su, takođe, i primeri da se stres indukovan PTE ne odražava na promenu koncentracije karotenoida (Mishra *et al.* 2006), što je u skladu sa rezultatima dobijenim u okviru ove doktorske disertacije. Kod većine analiziranih populacija povećanje koncentracije nikla u supstratu nije rezultovalo statistički značajnom promenom koncentracije karotenoida u listovima, izuzev *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija i Zlatibor, gde je tretman najvišom primenjenom koncentracijom Ni doveo do smanjenja njihove koncentracije.

#### 5.8 Koncentracija antocijana

Značajnu ulogu u odgovoru biljaka na stres indukovan potencijalno toksičnim elementima mogu imati i antocijani. Antocijani predstavljaju klasu jedinjenja koja daju boju cvetovima i plodovima, ali imaju značajnu ulogu i u fotoprotekciji, kao i u odgovoru biljaka na oksidativni stres, uključujući i oksidativni stres indukovan toksičnim metalima (Hale *et al.* 2002; Asad *et al.* 2015). Poznato je i da ova grupa jedinjenja može imati ulogu u sekvestraciji i toleranciji različitih metala, ali i u odgovoru biljaka na herbivoriju. Povećanje koncentracije Zn u supstratu dovodi do smanjenja koncentracije antocijana u listovima *N. caerulescens* (Asad *et al.* 2015), dok je tretman gradijentom koncentracija Cd kod ove vrste pri određenim koncentracijama indukovao značajno povećanje koncentracije antocijana u odnosu na kontrolnu grupu, što je dovelo do intenzivnog ljubičastog obojenja listova. Nasuprot tome, kada su primenjene više koncentracije Cd nije došlo do statistički značajne razlike u koncentraciji antocijana u odnosu na kontrolnu grupu (Koren *et al.* 2013).

Rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da je tretman niklom kod svih ultramafitskih populacija *N. kovatsii* i *N. praecox* uzrokovao povećanje koncentracija antocijana u odnosu na kontrolnu grupu. Povećanje koncentracije antocijana u odnosu na kontrolu detektovano je i kod *N. kovatsii* poreklom sa neultramafitskog lokaliteta na Kablaru. Nasuprot tome, kod *N. kovatsii* i *N. praecox* sa neultramafitskih lokaliteta Avala i Ćićarija, respektivno, tretman rastućim koncentracijama nikla dovodi do statistički značajnog smanjenja koncentracije antocijana u odnosu na kontrolnu grupu. Uočava se da kod populacija sa višim stepenom tolerancije nikla izlaganje visokim koncentracijama ovog metala dovodi do povećanja koncentracijama Ni uzrokuje smanjenje koncentracije antocijana u odnosu na kontrolu.

#### 5.9 Lipidna peroksidacija

Pojedini potencijalno toksični metali, uključujući i Ni, kod biljaka mogu dovesti do pojave oksidativnog stresa, tj. formiranja reaktivnih formi kiseonika (ROS). Reaktivne forme kiseonika mogu dovesti do oksidativnih oštećenja bioloških molekula, uključujući i lipide, te uzrokovati lipidnu peroksidaciju (Martínez-Alcalá *et al.* 2013). Jedan od pouzdanih indikatora lipidne peroksidacije je malondialdehid (MDA), citotoksični produkt ovog procesa. Povećanje koncentracije Ni u biljnim tkivima može dovesti do povećanog intenziteta lipidne peroksidacije, što rezultuje akumulacijom MDA (Gonelli *et al.* 2001; Seregin & Kozhevnikova 2006; Martínez-Alcalá *et al.* 2013). Međutim, rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da kod svih populacija poreklom sa ultramafitske podloge koncentracija MDA nije bila statistički značajno viša u odnosu na kontrolnu grupu pri tretmanu niklom. Takav rezultat dobijen je i kod *N. kovatsii* poreklom sa neultramafitskog lokaliteta na Kablaru. Nasuprot tome, kod *N. kovatsii* poreklom sa neultramafitskog lokaliteta na Avali, kao i kod *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija uočeno je statistički značajno smanjenje koncentracije MDA u odnosu na kontrolnu grupu pri tretmanu niklom. Smanjenje koncentracije MDA pri povećanju

koncentracije nikla uočeno je i u studiji Gupta *et al.* (2017) na prosu i ovsu. Do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije takođe nije došlo ni pri izlaganju hiperakumulatorskih vrsta *N. goesingensis, N. oxyceras* (Boiss.) Al-Shehbaz i *N. rosularis* (Boiss. i Balansa) Al-Shehbaz koncentraciji od 125 μM nikla. Može se pretpostaviti da aktivnost enzima oksidativnog stresa ima značajnu ulogu u redukciji lipidne peroksidacije kod Ni-tolerantnih biljaka. Npr. kod Ni-tolerantnih populacija *Silene paradoxa* L. pri izlaganju niklu aktiviraju se isti enzimi kao i kod netolerantnih populacija, ali kod Ni-tolerantnih ne dolazi do inhibicije aktivnosti katalaza uzrokovane niklom (Gonelli *et al.* 2001).

#### 5.10 Koncentracija prolina

Brojne studije ukazuju na to da pri izlaganju biljaka različitim stresnim uslovima dolazi do akumulacije prolina (Gajewska *et al.* 2006; Szabados & Savouré 2010). Stresni uslovi pri kojima može doći do akumulacije ove aminokiseline kod biljaka uključuju sušu, visok salinitet, intenzivnu insolaciju i UV zračenje, povišene koncentracije potencijalno toksičnih elemenata, oksidativni stres, kao i dejstvo biotičkih stresora (Gajewska *et al.* 2006; Verbruggen & Hermans 2008; Szabados & Savouré 2010). Protektivna uloga prolina pripisuje se njegovoj sposobnosti da deluje kao osmoprotektant, ali i stabilizator ćelijskih membrana. Može imati i značajan efekat u ublažavanju efekata oksidativnog stresa, usled sposobnosti da učestvuje u uklanjanju reaktivnih formi kiseonika, te može predstavljati značajnu komponentu neenzimskog odgovora biljaka. Prolin takođe može imati ulogu u zaštiti određenih proteina, kao što je npr. zaštita nitratne reduktaze prilikom izloženosti biljaka potencijalno toksičnim elementima ili osmotskom stresu, kao i stabilizacija ribonukleaza i proteaza pri izlaganju biljaka arsenu (Szabados & Savouré 2010).

Intenzivna akumulacija prolina pri izlaganju gradijentu koncentracija Ni u odnosu na kontrolnu grupu biljaka zabeležena je i kod jedinki *N. kovatsii* sa nemetalifernog zemljišta na Avali. Biljke poreklom sa ovog lokaliteta pokazale su i najniži stepen tolerancije na prisustvo Ni u supstratu od svih testiranih populacija *N. kovatsii*. Kod biljaka poreklom sa Kablara, kao i kod biljaka sa ultramafitskog lokaliteta Kopaonik uočava se pad koncentracije prolina pri porastu koncentracije nikla.

Konstitutivno visok sadržaj prolina zabeležen je kod metal-tolerantnih ekotipova biljaka Armeria marítima (Mill.) Willd., Deschampsia cespitosa (L.) P. Beauv. i Silene vulgaris (Moench) Garcke u poređenju sa netolerantnim ekotipovima ovih vrsta (Sharma & Dietz 2006). Nasuprot tome, u okviru istraživanja predstavljenih u ovoj doktorskoj disertaciji, kod vrste N. praecox je najviša koncentracija prolina u kontrolnoj grupi zabeležena kod biljaka iz populacije sa nemetalifernog zemljišta na lokalitetu Ćićarija za koju je utvrđen i najniži stepen tolerancije na Ni od svih testiranih populacija ove vrste, a što se ogleda i u značajnoj redukciji biomase pri izlaganju gradijentu koncentracija ovog metala. Pri povećanju koncentracije Ni u supstratu, kod biljaka sa ovog lokaliteta dolazi do statistički značajnog povećanja koncentracije prolina u odnosu na kontrolnu grupu. Kod biljaka poreklom sa ultramafitskih lokaliteta Maljen i Zlatibor, pri izlaganju gradijentu koncentracija nikla u supstratu uočava se suprotan efekat, tj. dolazi do opadanja koncentracije prolina u odnosu na kontrolnu grupu. Dobijeni rezultati u skladu su i sa rezultatima Schat et al. (1997) na Silene vulgaris. Ovi autori su pokazali da je kod metal-tolerantnih ekotipova S. vulgaris akumulacija prolina pri izlaganju metalima znatno manje izražena u odnosu na intenzivnu akumulaciju prolina do koje dolazi pri izlaganju netolerantnih ekotipova povišenim koncentracijama metala. Različiti obrasci akumulacije prolina uočeni su i pri izlaganju populacija N. caerulescens i N. praecox sa metalifernih supstrata povišenim koncentracijama Cd u eksperimentima Zemanová et al. (2016). Iako je kod obe vrste pri izlaganju Cd došlo do porasta sadržaja prolina u odnosu na kontrolu, sadržaj prolina je i kod kontrolnih biljaka i kod biljaka tretiranih Cd bio značajno viši kod N. caerluescens iz ultramafitske populacije u Austriji u odnosu na *N. praecox* sa antropogeno kontaminiranog lokaliteta u Sloveniji.

#### 5.11 Koncentracije fenolnih jedinjenja

Fenoli su najzastupljeniji sekundarni metaboliti biljaka i prisutni su u svim biljnim organima. Fenolna jedinjenja imaju brojne biološke funkcije – od određivanja boje različitih biljnih organa, preko zaštite od negativnog dejstva UV zračenja, do zaštite od predatora, parazita ili patogena. Fenolna jedinjenja mogu imati značajan potencijal za detoksikaciju reaktivnih vrsta kiseonika (Pollastri & Tattini 2011), a mogu biti i potencijalni ligandi za jone metala sa velikim afinitetom za hidroksilne grupe (Barcelo & Poschenrieder 2002). Heliranjem od strane različitih fenolnih jedinjenja može doći i do sniženja koncentracije slobodnih jona metala. Usled navedenih karakteristika, fenolna jedinjenja mogu biti uključena u odbrambeni mehanizam na toksičnost metala u biljkama (Michalak 2006). Efekti Ni na sadržaj fenolnih jedinjenja mogu biti različiti. Zabeleženo je da izlaganje biljaka niklu dovodi do povećanja koncentracije ukupnih rastvorljivih fenola (Pandolfini *et al.* 1992; Baccouch *et al.* 1998; Kováčik *et al.* 2009; Drzewiecka *et al.* 2012) kao i određenih fenolnih jedinjenja (Loponen *et al.* 2001), ali je, takođe, zabeleženo i snižavanje koncentracije nekih fenolnih jedinjenja (Loponen *et al.* 2001; Murch *et al.* 2003).

Derivati cimetne kiseline, ferulinska i sinapinska kiselina, detektovane su u svim populacijama obe gajene vrste. Kod vrste N. kovatsii je uočeno da su generalno koncentracije sinapinske i ferulinske kiseline pri tretmanu niklom više u odnosu na kontrolnu grupu, dok je kod N. *praecox* ovaj fenomen detektovan samo kod biljaka poreklom sa lokaliteta Zlatibor. Nasuprot tome, kod N. praecox iz populacije sa Maljena u eksperimentalnim grupama B i C dolazi do smanjenja koncetracije ferulinske i sinapinske kiseline u odnosu na kontrolu. U studiji Llugany et al. (2013b) kod N. praecox prilikom izlaganja Cd nije došlo do značajne promene koncentracije sinapinske kiseline, dok je kod vrste N. caerulescens zabeleženo blago smanjenje njene koncentracije, što odgovara rezultatima dobijenim u ovoj doktorskoj disertaciji za populacije *N. praecox* sa Maljena i Ćićarije. U derivate cimetne kiseline ubraja se i hlorogena kiselina, čije prisustvo nije zabeleženo kod analiziranih vrsta, ali je analizama u okviru ove doktorske disertacije zabeleženo prisustvo neohlorogene kiseline - izomera hlorogene kiseline. Kod vrste N. kovatsii pri izlaganju Ni dolazi do značajnog sniženja koncentracije neohlorogene kiseline kod biljaka sa lokaliteta Avala i Kablar, dok kod biljaka sa lokaliteta Kopaonik do sniženja koncentracije neohlorogene kiseline dolazi tek pri najvišoj primenjenoj koncentraciji Ni. Kod N. praecox do značajnog porasta koncentracije neohlorogene kiseline pri tretmanu niklom dolazi kod biljaka poreklom sa lokaliteta Zlatibor, dok kod biljaka sa Ćićarije i Maljena ovaj efekat nije značajno izražen. Porast koncentracije neohlorogene kiseline zabeležen je u listovima Betula pubescens Ehrh. na metalifernom zemljištu u Finskoj, u blizini topionice bakra i nikla u odnosu na biljke koje su rasle na kontrolnom lokalitetu (Loponen et al. 1997).

Kod N. praecox poreklom sa Zlatibora i Maljena dolazi do značajnog povećanja koncentracije siringinske kiseline sa porastom koncentracije Ni u supstratu, a ovaj fenomen je posebno izražen kod biljaka sa Zlatibora. Istovremeno, kod *N. praecox* poreklom sa Ćićarije izlaganje niklu ne dovodi do značajnih promena u koncentraciji siringinske kiseline u listovima. Povećanje koncentracije ove fenolne kiseline zabeleženo je i pri izlaganju N. kovatsii sa lokaliteta Kablar gradijentu koncentracija nikla, dok kod N. kovatsii sa lokaliteta Kopaonik uočavamo suprotan trend, tj. sniženje koncentracije siringinske kiseline sa porastom koncentracije Ni u supstratu. Pri izlaganju kineskog kupusa (Brassica rapa subsp. pekinensis (Lour.) Hanelt) nanočesticama Ni uočen je značajan porast koncentracije siringinske kiseline u listovima (Chung et al. 2019), što je u skladu sa rezultatima dobijenim u ovoj doktorskoj disertaciji za N. kovatsiii sa lokaliteta Kablar, kao i N. praecox sa lokaliteta Maljen i Zlatibor. Nasuprot tome, u studiji Llugany et al. (2013b) pri izlaganju N. caerulescens povišenim koncentracijama Cd dolazi do blagog sniženja koncentracije siringinske kiseline, što je u ovoj doktorskoj disertaciji zabeleženo za N. kovatsii poreklom sa Kopaonika. Siringinska kiselina se smatra izuzetno moćnim antioksidansom, te je u eksperimentalnim uslovima pokazala veću efikasnost u uklanjanju reaktivnih oblika kiseonika od salicilne kiseline (Llugany et al. 2013b). Može se pretpostaviti da je porast koncentracije siringinske kiseline sa porastom koncentracije Ni kod pojedinih analiziranih populacija obe vrste deo neenzimskog odgovora biljaka na oksidativni stres indukovan visokim koncentracijama Ni.

Izuzetno visoka koncentracija 4-hidroksibenzoeve kiseline zabeležena je u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Maljen, a pri izlaganju gradijentu koncentracija Ni u supstratu dolazi do porasta njene koncentracije u eksperimentalnoj grupi A, nakon čega koncentracija opada u grupama B i C. Kod *N. praecox* poreklom sa Zlatibora dolazi do porasta koncentracije 4-hidroksibenzoeve kiseline pri izlaganju niklu, dok kod biljaka sa Ćićarije dolazi do blagog opadanja koncentracije u odnosu na kontrolu. Kod svih gajenih populacija *N. kovatsii*, izlaganje niklu dovodi do smanjenja koncentracije 4-hidroksibenzoeve kiseline u odnosu na kontrolnu grupu, izuzev kod biljaka sa Avale u eksperimentalnoj grupi B gde je koncentracija nešto viša u odnosu na kontrolu. Ova kiselina može imati posebno značajnu ulogu kao moćan antioksidans, a porast njene koncentracije je uočen i kod heljde (*Fagopyrum esculentum* Moench ) pri izlaganju rastućim koncentracijama Ni (Sytar *et al.* 2013).

Među analiziranim fenolnim jedinjenjima, kod većine populacija obe analizirane vrste u kvantitativnom smislu dominiraju 4-hidroksibenzova, siringinska i sinapinska kiselina.

#### 5.12 Histohemijska lokalizacija nikla u tkivima gajenih biljaka

Prethodnim istraživanjima je utvrđeno da se nikl kod većeg broja hiperakumulatorskih vrsta u visokim koncentracijama deponuje u vakuolama epidermalnih ćelija lica i naličja lista, a ovaj fenomen utvrđen je kod vrsta *Noccaea tymphaea* i *Bornmuellera emarginata* (Boiss.) Rešetnik (van der Ent *et al.* 2019), zatim *Alyssum murale* (Broadhurst *et al.* 2004), kao i kod različitih vrsta iz familije Euphorbiaceae na Kubi (Berazaín *et al.* 2007)

Analiza distribucije nikla u tkivima listova hiperakumulatorske vrste *N. caerulescens* takođe ukazuje na primarnu depoziciju nikla u vakuolama epidermalnih ćelija (Mattarozzi *et al.* 2015), što je u skladu sa rezultatima ove doktorske disertacije za vrste *N. kovatsii* i *N. praecox.* Najintenzivnije ružičasto obojenje uočava se u epidermalnim ćelijama listova, dok je pozitivna reakcija sa dimetilglioksimom na pojedinim snimcima uočena i u elementima provodnog sistema. Nikl se do listova transportuje putem ksilema, a u samim listovima se distribuira kroz apoplast lisnih nerava, odakle može biti apsorbovan od strane ćelija, a deo i ostati zadržan u apoplastu (Deng *et al.* 2018). Istovremeno, interesantno je pomenuti da se kod biljaka hiperakumulatora značajne količine Ni mogu naći i u floemu, što je nedavnim studijama potvrđeno i kod vrste *N. caerulescens* (Deng *et al.* 2016).

## 6. ZAKLJUČCI

• Prisustvo vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* zabeleženo je na različitim tipovima travnih staništa na ultramafitima, ali i na neultramafitskim tipovima geološke podloge. Obe vrste su zabeležene i u različitim tipovima šumskih ekosistema, a zajednička karakteristika je pojava ovih vrsta u šumama otvorenog sklopa, prosvetljenim šumskim površinama ili na obodima šuma. Za razliku od *N. kovatsii*, vrsta *N. praecox* je zabeležena i uz potoke, kao i na obalama reka po obodu visokih zeleni.

◆ Analizom bioklimatskih karakteristika staništa na kojima su uzorkovane vrste *N. kovatsii* i *N. praecox* uočene su jasne razlike u ekološkim preferencijama ove dve vrste, te se kao glavni zaključak ističu razlike u godišnjoj količini padavina i temperaturi najvlažnijeg kvartala. *N. praecox* se beleži na lokalitetima sa većom godišnjom količinom padavina, dok je temperatura najvlažnijeg kvartala znatno viša na staništima *N. kovatsii* u odnosu na *N. praecox*.

• Analizirani uzorci zemljišta dominantno su klasifikovani kao praškasta ilovača i peskovita ilovača, zatim kao ilovača, praškasto glinasta ilovača, a na po jednom lokalitetu prisutni su glinasta ilovača i ilovača i ilovašti pesak.

◆ Između uzoraka zemljišta sa ultramafitskih i neultramafitskih staništa nisu uočene statistički značajne razlike u pH vrednosti i sadržaju organske materije, ali su koncentracije P i K značajno niže u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitska staništa i u skladu su sa niskim sadržajem nutrijenata karakterističnim za zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom. Jednu od osnovnih karakteristika ultramafitskih staništa čine i visoke koncentracije Mg i niske koncentracije Ca koje su zabeležene i istraživanjima u okviru ove doktorske disertacije. Sadržaj Ca statistički je značajno niži, dok je sadržaj Mg statistički značajno viši u uzorcima sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitska staništa.

• Koncentracije Fe, Mn, Ni, Cr i Co su statistički značajno više u ultramafitskim u odnosu na neultramafitska zemljišta, što je i karakteristično za zemljišta koja se razvijaju nad ultramafitskom geološkom podlogom. Nasuprot tome, koncentracije Pb, Zn, Cd i Cu statistički su značajno više u uzorcima zemljišta sa neultramafitskih u odnosu na ultramafitska staništa.

• Kod obe analizirane vrste uočeni su zajednički obrasci tolerancije na deficit P i K. Iako biljke na ultramafitskim lokalitetima karakteriše nešto niži sadržaj P i K u odnosu na populacije iste vrste sa neultramafitskih lokaliteta, statistički značajna razlika u koncentraciji P i K u nadzemnim delovima *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitskih u odnosu na neultramafitske lokalitete nije zabeležena u ovoj doktorskoj disertaciji, što ukazuje na efikasne adaptacije ultramafitskih populacija obe vrste koje omogućavaju usvajanje P i K i u uslovima deficita.

◆ Iako su na većem broju lokaliteta zabeležene visoke koncentracije Fe i Mn u zemljištu, koncentracije ovih elemenata u podzemnim i nadzemnim organima *N. kovatsii* i *N. praecox* generalno su u opsegu "normalnih" koncentracija za biljke, što ukazuje na aktivnu kontrolu apsorpcije i transporta Fe i Mn kod obe vrste. Takođe, i pored visokih koncentracija Cr i Co u uzorcima zemljišta sa ultramafitskih staništa, koncentracije ovih elemenata u podzemnim i nadzemnim organima *N. kovatsii* i *N. praecox* znatno su niže od pseudototalnih i pristupačnih koncentracija ovih elemenata u zemljištu, što ukazuje na to da se obe analizirane vrste mogu smatrati ekskluderima Cr i Co. Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju i na to da se obe analizirane vrste mogu smatrati ekskluderima Cr i Cu.

◆ Hiperakumulacija Zn zabeležena kod *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Suvo rudište predstavlja prvi podatak o hiperakumulaciji Zn u okviru vrsta iz roda *Noccaea* u Srbiji. Ovim istraživanjem kod vrste *N. praecox* nisu zabeležene vrednosti iznad nominalnog praga hiperakumulacije, iako je visoka koncentracija Zn (> 1000 mg kg<sup>-1</sup>) zabeležena u uzorku sa lokaliteta Durmitor, Tepačko polje. Takođe su zabeležene i visoke vrednosti bioakumulacionog i transokacionog faktora za ovaj element kod obe analizirane vrste. Koncentracije Zn kod vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox*, kao i vrednosti bioakumulacionog i translokacionog faktora ukazuju na to da bi hiperakumulacija Zn mogla biti smatrana konstitutivnom osobinom *N. kovatsii* i *N. praecox*.

• U svim analiziranim uzorcima *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitske geološke podloge zabeležene su koncentracije nikla u nadzemnim delovima biljaka iznad praga hiperakumulacije, dok su koncentracije sa neultramafitskih staništa obe vrste višestruko niže. Iako su koncentracije Ni u svim uzorcima nadzemnih delova *N. kovatsii* i *N. praecox* sa ultramafitskih staništa iznad praga hiperakumulacije, zabeležen je visok stepen varijabilnosti u izmerenim koncentracijama Ni koji nije moguće objasniti isključivo razlikama u koncentraciji Ni u zemljištu, već je neophodno uzeti u obzir i složene interakcije u zemljištu, ali i potencijal biljaka iz različitih populacija za akumulaciju Ni.

♦ Koncentracije Cd u uzorcima nadzemnih delova *N. kovatsii* i *N. praecox* na većini analiziranih lokaliteta nalaze se u opsegu "normalnih" koncentracija za biljke, ali su na lokalitetu Tara, Zborište za *N. praecox* i Kopaonik, Suvo rudište za *N. kovatsii* detektovane koncentracije Cd u nadzemnim delovima biljaka koje su višestruko više od pristupačnih koncentracija Cd u zemljištu i spadaju u domen toksičnih za biljke. Uprkos tome, vrednosti translokacionog faktora ukazuju na to da je dominantna strategija tolerancije Cd kod obe analizirane vrste sekvestracija u korenu. Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju i na to da se sekvestracija u korenu može smatrati i dominantnom strategijom tolerancije na Pb kod obe analizirane vrste.

• Hiperakumulacija Ni zabeležena je u svim gajenim populacijama *N. kovatsii* i *N. praecox* i sa utramafitskih i sa neultramafitskih staništa. Tretman najvišom koncentracijom Ni do kraja eksperimenta nisu preživele samo jedinke *N. kovatsii* poreklom sa Avale.

◆ Pri izlaganju *N. kovatsii* i *N. praecox* gradijentu koncentracija nikla u ovoj doktorskoj disertaciji, utvrđen je različit stepen tolerancije analiziranih populacija obe vrste na tretman niklom. Najviši stepen tolerancije na nikl pokazuju ultramafitske populacije obe gajene vrste, kod kojih primenjene koncentracije Ni ne dovode do statistički značajnog smanjenja biomase u odnosu na kontrolnu grupu. Kod vrste *N. kovatsii*, najniži stepen tolerancije na Ni pokazuju biljke sa neultramafitskog lokaliteta Avala, dok je on znatno viši kod biljaka sa takođe neultramafitskog lokaliteta Kablar. Kod *N. praecox*, najniži stepen tolerancije pokazuju biljke poreklom sa neultramafitskog lokaliteta Ćićarija uz drastičan pad biomase u odnosu na kontrolnu grupu pri izlaganju Ni.

◆ Kod obe analizirane vrste pri izlaganju visokim koncentracijama nikla generalno dolazi do smanjenja koncentracije ukupnih hlorofila, koje je dominantno uzrokovano smanjenjem koncentracije hlorofila *a*, izuzev kod *N. kovatsii* sa lokaliteta Kablar i *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija kod kojih je smanjenje koncentracije ukupnih hlorofila uzrokovano smanjenjem koncentracije hlorofila *b*. Potencijalni uzrok smanjenja koncentracije hlorofila može biti inhibicija biosinteze, kao i intenzivnija degradacija, prvenstveno u listovima sa prisutnim hlorozama i nekrozama. Kod većine analiziranih populacija obe vrste izlaganje niklu nije dovelo do statistički značajne promene u koncentraciji karotenoida u odnosu na kontrolu, uz izuzetak *N. praecox* sa lokaliteta Ćićarija i Zlatibor, kod kojih najviša primenjena koncentracija Ni dovodi do smanjenja koncentracije karotenoida.

◆ Na osnovu dobijenih rezultata, uočavaju se i određeni opšti obrasci fizioloških odgovora populacija obe vrste sa različitim stepenom tolerancije Ni. Može se zaključiti da kod populacija *N. kovatsii* i *N. praecox* sa višim stepenom tolerancije na Ni dolazi do povećanja koncentracije antocijana sa povećanjem koncentracije Ni, intenzitet lipidne peroksidacije se ne menja statistički značajno u odnosu na kontrolnu grupu, a koncentracija prolina se smanjuje u odnosu na kontrolu. Nasuprot tome, kod populacija sa nižim stepenom tolerancije Ni pri izlaganju ovom potencijalno toksičnom metalu dolazi do smanjenja koncentracije antocijana u odnosu na kontrolu, smanjenja akumulacije MDA, kao i intenzivne akumulacije prolina. Kod svih populacija obe analizirane vrste, Ni se dominantno deponuje u epidermalnim ćelijama lica i naličja lista, bez obzira na stepen tolerancije Ni.

◆ Kod obe analizirane vrste utvrđeno je prisustvo po devet različitih fenolnih jedinjenja, od kojih je šest zajedničkih detektovano u barem po jednoj populaciji i *N. kovatsii* i *N. praecox*. Među analiziranim fenolnim jedinjenjima, kod većine populacija obe analizirane vrste najzastupljenije su 4-hidroksibenzova, siringinska i sinapinska kiselina. Jasne konstitutivne razlike u sadržaju

analiziranih fenolnih jedinjenja među populacijama sa različitim stepenom tolerancije na nikl nisu utvrđene. Kao posebno interesantna za dalje proučavanje sastava i metabolizma fenolnih jedinjenja u zavisnosti od izloženosti niklu izdvaja se populacija *N. praecox* sa Maljena kod koje je zabeleženo prisustvo 4-hidroksibenzoeve kiseline u izuzetno visokim koncentracijama.

• Dobijeni rezultati daju značajan doprinos poznavanju odgovora vrsta *N. kovatsii* i *N. praecox* na različit sadržaj potencijalno toksičnih metala u zemljištu, kao i razumevanju fizioloških odgovora populacija obe vrste sa različitim stepenom tolerancije Ni pri izlaganju gradijentu njegovih koncentracija, a mogu doprineti odabiru pogodnih populacija *N. kovatsii* i *N. praecox* za primenu u fitoekstrakciji ili fitorudarenju.

### 7. LITERATURA

- Ábrahám E, Hourton-Cabassa C, Erdei L, Szabados L (2010) Methods for determination of proline in plants. In: Sunkar R (ed) *Plant Stress Tolerance*, pp. 317–331. Humana Press.
- Adriano DC (2001) Bioavailability of trace metals. In: Adriano DC (ed) *Trace Elements in Terrestrial Environments*, pp. 61–89. Springer, New York, NY.
- Al-Shehbaz IA (2012) A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, 61(5), 931–954.
- Al-Shehbaz IA (2014) A synopsis of the genus *Noccaea* (Coluteocarpeae, Brassicaceae). *Harvard Papers in Botany*, 19(1), 25–51.
- Alexander EB (2004) Serpentine soil redness, differences among peridotite and serpentinite materials, Klamath Mountains, California. *International Geology Review*, 46(8), 754–764.
- Alexander EB (2009) Serpentine geoecology of the eastern and southeastern margins of North America. *Northeastern Naturalist*, 16(sp5), 223–252.
- Alexander EB, Coleman RG, Keeler-Wolf T, Harrison S (2007) Serpentine geoecology of Western North America: Geology, soils, and vegetation. Oxford University Press, USA.
- Ali H, Khan E (2018) What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term 'heavy metals'-proposal of a comprehensive definition. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 100(1), 6–19.
- Anđelković A, Krstić B, Martinović D, Bogdanović P (1975) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100.000. Tumač za list K 34-34 Pirot. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Anonymous (1970a) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100.000. Tumač za list K 34-30 Novi Pazar. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Anonymous (1970b) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100.000. Tumač za list K 34-18 Vrnjci. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Antonovics J, Bradshaw AD, Turner RG (1971) Heavy metal tolerance in plants. Advances in *Ecological Research*, 7, 1–85.
- Asad SA, Muhammad S, Farooq M, Afzal A, Broadley M, Young S, West H (2015) Anthocyanin production in the hyperaccumulator plant *Noccaea caerulescens* in response to herbivory and zinc stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(1), 1–9.
- Ash HJ, Gemmell RP, Bradshaw AD (1994) The introduction of native plant species on industrial waste heaps: a test of immigration and other factors affecting primary succession. *Journal of Applied Ecology*, 31(1), 74–84.
- Assunção AGL, Bookum WM, Nelissen HJ (2003) Differential metal-specific tolerance and accumulation patterns among *Thlaspi caerulescens* populations originating from different soil types. *New Phytologist*, 159, 411–419.
- Assunção AGL, Martins PDC, de Folter S, Vooijs R, Schat H, Aarts MGM (2001) Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, 24(2), 217–226.
- Babović M, Cvetković D (1976) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100000, List Trgovište. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Baccouch S, Chaoui A, El Ferjani E (1998) Nickel-induced oxidative damage and antioxidant responses in *Zea mays* shoots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36(9), 689–694.
- Baker AJ (1981) Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1–4), 643–654.
- Baker AJM, Reeves RD, Hajar ASM (1994) Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). *New Phytologist*, 127(1), 61–68.
- Bani A, Pavlova D, Echevarria G, Mullaj A, Reeves RD, Morel JL, Sulçe S (2010) Nickel hyperaccumulation by the species of *Alyssum* and *Thlaspi* (Brassicaceae) from the ultramafic soils of the Balkans. *Botanica Serbica*, 34, 3–14.

- Barcelo J, Poschenrieder C (2002) Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environmental and Experimental Botany*, 48(1), 75–92.
- Berazaín R, de la Fuente V, Rufo L, Rodríguez N, Amils R, Díez-Garretas B, Sanchez-Mata D, Asensi A (2007) Nickel localization in tissues of different hyperaccumulator species of Euphorbiaceae from ultramafic areas of Cuba. *Plant and Soil*, 293(1), 99–106.
- Boyd RS, Kruckeberg AR, Rajakaruna N (2009) Biology of ultramafic rocks and soils: research goals for the future. *Northeastern Naturalist*, 16, 422–440.
- Boyd RS, Martens SN (1998) Nickel hyperaccumulation in *Thlaspi montanum* var. *montanum* (Brassicaceae): a constitutive trait. *American Journal of Botany*, 85, 259–265.
- Bradl H (ed) (2005) Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation. Elsevier.
- Brady KU, Kruckeberg AR, Bradshaw Jr HD (2005) Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 243–266.
- Brassibase (2021) Tools and biological resources for Brassicaceae characters and trait studies online. Available at: <u>http://brassibase.cos.uni-heidelberg.de</u> (accessed 28.05.2021)
- Brković T, Malešević M, Klisić M, Urošević M, Trifunović S, Radovanović Z, Božanić M (1968) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100.000. Tumač za list K 34-5 Čačak. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Broadhurst CL, Chaney RL, Angle JS, Erbe EF, Maugel TK (2004) Nickel localization and response to increasing Ni soil levels in leaves of the Ni hyperaccumulator *Alyssum murale*. *Plant and Soil*, 265(1), 225–242.
- Brooks RR (1987) Serpentine and its vegetation: a multidisciplinary approach. Dioscorides Press, Portland.
- Burt R, Fillmore M, Wilson MA, Gross ER, Langridge RW, Lammers DA (2001) Soil properties of selected pedons on ultramafic rocks in Klamath Mountains, Oregon. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32(13–14), 2145–2175.
- Burt R, Wilson MA, Mays MD, Lee CW (2003) Major and trace elements of selected pedons in the USA. *Journal of Environmental Quality*, 32, 2109–2121.
- Chaney RL, Angle JS, Broadhurst CL, Peters CA, Tappero RV, Sparks DL (2007) Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality*, 36(5), 1429–1443.
- Chen C, Huang D, Liu J (2009) Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. *Clean–Soil, Air, Water*, 37(4-5), 304–313.
- Chen PS, Toribara TT, Warner H (1956) Microdetermination of phosphorus. *Analytical Chemistry*, 28, 1756–1758.
- Chiarucci A, Baker AJ (2007) Advances in the ecology of serpentine soils. Plant and Soil, 293, 1–2.
- Chung IM, Venkidasamy B, Thiruvengadam M (2019) Nickel oxide nanoparticles cause substantial physiological, phytochemical, and molecular-level changes in Chinese cabbage seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 92–101.
- Clapham AR, Akeroyd JR (1993) *Thlaspi* L. In: Tutin TG, Burges NA, Chater AO, Edmondson JA, Heywood VH, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA (eds) *Flora Europaea 1: Psilotaceae to Platanaceae*, 2<sup>nd</sup> edn, pp. 384–388. Cambridge University Press, Cambridge.
- Clarkson DT, Hanson JB (1980) The mineral nutrition of higher plants. Annual Review of Plant Physiology, 31, 239–298.
- Davies CE, Moss D, Hill MO (2004) *EUNIS habitat classification revised 2004*. European Environment Agency, European Topic Centre on Nature Protection and Biodiversity. Copenhagen.
- Deng THB, Tang YT, Sterckeman T, Echevarria G, Morel JL, Qiu RL (2019) Effects of the interactions between nickel and other trace metals on their accumulation in the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Environmental and Experimental Botany*, 158, 73–79.

- Deng THB, Tang YT, van der Ent A, Sterckeman T, Echevarria G, Morel J-L, Qiu R-L (2016) Nickel translocation via the phloem in the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* (Brassicaceae). *Plant and Soil*, 404, 35–45.
- Deng THB, van der Ent A, Tang YT, Sterckeman T, Echevarria G, Morel JL, Qiu RL (2018) Nickel hyperaccumulation mechanisms: a review on the current state of knowledge. *Plant and Soil*, 423(1), 1–11.
- Diklić N (1972) *Thlaspi* L. In: Josifović M (ed) *Flora SR Srbije* 3, pp. 341–355. Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd.
- Doubková P, Suda J, Sudová R (2012) The symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi contributes to plant tolerance to serpentine edaphic stress. *Soil Biology and Biochemistry*, 44(1), 56–64.
- Druskovic B, Lovka M (1995) In: Stace CA (ed) IOPB chromosome data 9. *IOPB Newsletter*, 24, 15–29.
- Drzewiecka K, Mleczek M, Gąsecka M, Magdziak Z, Goliński P (2012) Changes in *Salix viminalis* L. cv. 'Cannabina'morphology and physiology in response to nickel ions–Hydroponic investigations. *Journal of Hazardous Materials*, 217, 429–438.
- Đurović S, Jakovljević K, Buzurović U, Niketić M, Mihailović N, Tomović G (2016) Differences in trace element profiles of three subspecies of *Silene parnassica* (Caryophyllaceae) growing on ophiolitic substrate. *Australian Journal of Botany*, 64(3), 235–245.
- Echevarria G (2018) Genesis and behaviour of ultramafic soils and consequences for nickel biogeochemistry. In: van der Ent A, Echevarria G, Baker AJ, Morel JL (eds) *Agromining: Farming for Metals*, pp. 135–156. Springer, Cham.
- Echevarria G (2021) Genesis and behaviour of ultramafic soils and consequences for nickel biogeochemistry. In: van der Ent A, Baker AJ, Echevarria G, Simonnot MO, Morel JL (eds) *Agromining: farming for metals*, pp. 215–238. Springer, Cham.
- Egnér HANS, Riehm H, Domingo WR (1960). Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Böden. II. Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphorund Kaliumbestimmung. *Kungliga Lantbrukshögskolans Annaler*, 26, 199–215.
- Escarré J, Lefèbvre C, Gruber W, Leblanc M, Lepart J, Rivière Y, Delay B (2000) Zinc and cadmium hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens* from metalliferous and nonmetalliferous sites in the Mediterranean area: implications for phytoremediation. *New Phytologist*, 145(3), 429–437.
- Ewais EA (1997) Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. *Biologia Plantarum*, 39(3), 403–410.
- FAO (1974) The Euphrates pilot irrigation project. Methods of soil analysis. Gadeb soil laboratory (a laboratory manual). Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- Filipović I, Pavlović Z, Marković B, Radin V, Marković O, Gagić N, Atin B, Milićević M (1967) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100.000. Tumač za list L 34-137 Gornji Milanovac. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Franzke A, Lysak MA, Al-Shehbaz IA, Koch MA, Mummenhoff K (2011) Cabbage family affairs: the evolutionary history of Brassicaceae. *Trends in Plant Science*, 16(2), 108–116.
- Gabbrielli P, Pandolfini T, Vergnano O, Palandri MR (1990) Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies. *Plant and Soil*, 122(2), 271–277.
- Gajewska E, Skłodowska M, Słaba M, Mazur J (2006) Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. *Biologia Plantarum*, 50(4), 653–659.
- GBIF (2021) GBIF Backbone Taxonomy Checklist dataset. Available at: https://doi.org/10.15468/39omei.GBIF.org (accessed 06.04.2020.)
- Ghasemi R, Ghaderian SM, Krämer U (2009) Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum inflatum*. *New Phytologist*, 184(3), 566–580.

- Gonneau C, Genevois N, Frérot H, Sirguey C, Sterckeman T (2014) Variation of trace metal accumulation, major nutrient uptake and growth parameters and their correlations in 22 populations of *Noccaea caerulescens*. *Plant and Soil*, 384(1), 271–287.
- Gonneau C, Noret N, Gode C, Frérot H, Sirguey C, Sterckeman T, Pauwels M (2017) Demographic history of the. trace metal hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* (J. Presl and C. Presl) F.K. Mey. in Western Europe. *Molecular Ecology*, 26, 904–922.
- Gonnelli C, Galardi F, Gabbrielli R (2001) Nickel and copper tolerance and toxicity in three Tuscan populations of *Silene paradoxa*. *Physiologia Plantarum*, 113(4), 507–514.
- Gramlich A, Moradi AB. Robinson BH, Kaestner A, Schulin R (2011) Dimethylglyoxime (DMG) staining for semi-quantitative mapping of Ni in plant tissue. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 232–240.
- Guillot S, Hattori K (2013) Serpentinites: essential roles in geodynamics, arc volcanism, sustainable development, and the origin of life. *Elements*, 9(2), 95–98.
- Gupta AK, Sinha S (2006) Chemical fractionation and heavy metal accumulation in the plant of *Sesamum indicum* (L.) var. T55 grown on soil amended with tannery sludge: selection of single extractants. *Chemosphere*, 64(1), 161–173.
- Gupta KD, Corpas JF, Palma MJ (eds) (2013) Heavy metal stress in plants. Springer-Verlag, Berlin.
- Gupta N, Ram H, Kumar B (2016) Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(1), 89–109.
- Gupta V, Jatav PK, Verma R, Kothari SL, Kachhwaha S (2017) Nickel accumulation and its effect on growth, physiological and biochemical parameters in millets and oats. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(30), 23915–23925.
- Hale KL, Tufan HA, Pickering IJ, George GN, Terry N, Pilon M, Pilon-Smits EA (2002) Anthocyanins facilitate tungsten accumulation in *Brassica*. *Physiologia Plantarum*, 116(3), 351–358.
- Heath RL, Packer L (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189–198.
- Hijmans RJ, Guarino L, Mathur P (2012) DIVA-GIS version: 7.5. http://www.diva-gis.org/
- Homer FA, Morrison RS, Brooks RR, Clemens J, Reeves RD (1991) Comparative studies of nickel, cobalt, and copper uptake by some nickel hyperaccumulators of the genus *Alyssum*. *Plant and Soil*, 138(2), 195–205.
- Hou S, Zheng N, Tang L, Ji X, Li Y. (2019) Effect of soil pH and organic matter content on heavy metals availability in maize (*Zea mays* L.) rhizospheric soil of non-ferrous metals smelting area. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(10), 1-10.
- Hseu ZY, Zehetner F, Fujii K, Watanabe T, Nakao A (2018) Geochemical fractionation of chromium and nickel in serpentine soil profiles along a temperate to tropical climate gradient. *Geoderma*, 327, 97–106.
- Huang GY, Wang YS (2010) Physiological and biochemical responses in the leaves of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorrhiza*) exposed to multiple heavy metals. *Journal of Hazardous Materials*, 182(1–3), 848–854.
- IPNI (2021) International Plant Names Index. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Botanic Gardens. Published on the Internet <u>http://www.ipni.org</u> (accessed 20.05.2020)
- ISO 3166/2 (1998) Codes for the representation of names of countries and their subdivisions—part 2: country subdivision code. International Standard Organization, Geneva.
- ISO 6636/2 (1981) International standard. Fruits, vegetables and derived products—determination of zinc content part 2: atomic absorption spectrometric method. International Standard Organization, Geneva.
- ISO 10390 (1994) Soil quality Determination of pH. International Standard Organization, Geneva.
- ISO 11466 (1995) Soil quality Extraction of trace elements soluble in aqua regia. International Standard Organization, Geneva.

- Jaffré T (1992) Floristic and ecological diversity of the vegetation on ultramafic rocks in New Caledonia. In: Baker AJM, Proctor J, Reeves RD (eds) *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils*, pp 101–107. Intercept, Andover.
- Jaffré T, Brooks RR, Lee J, Reeves RD (1976). *Sebertia acuminata*: a hyperaccumulator of nickel from New Caledonia. *Science*, 193(4253), 579–580.
- Jakovljević K, Buzurović U, Andrejić G, Đurović S, Niketić M, Mihailović N, Tomović G (2015)
  Trace elements contents and accumulation in soils and plant species *Goniolimon tataricum* (L.) Boiss. (Plumbaginaceae) from the ultramafic and dolomitic substrates of the central Balkans. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 10(1), 147–160.
- Jakovljević K, Đurović S, Antušević M, Mihailović N, Buzurović U, Tomović G (2019) Heavy metal tolerance of *Pontechium maculatum* (Boraginaceae) from several ultramafic localities in Serbia. *Botanica Serbica*, 43(1), 73–83.
- Jakovljević K, Mišljenović T, Jovanović S, Grujić M, Mihailović N, Tomović G (2021b) *Plantago subulata* as indicator of potentially toxic elements in the substrate. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(16), 20668–20681.
- Jakovljević K, Ranđelović D, Mišljenović T (2021a) Phytoremediation of Mine Waste Disposal Sites: Current State of Knowledge and Examples of Good Practice. In: Joshi SJ, Deshmukh A, Sarma H (eds) *Biotechnology for Sustainable Environment*, pp. 223–250. Springer, Singapore.
- Jenny H (1980) The soil resource. Origin and behavior. Springer-Verlag, New York.
- Jovanović-Dunjić R, Diklić N, Nikolić V (1972) Fam. Brassicaceae Burn. In: Josifović M (ed) *Flora SR Srbije* 3, pp. 177-393. Srpska Akademija Nauka i Umetnosti, Beograd.
- Kabata-Pendias A (2010) Trace elements in soils and plants, 4th ed. CRC press.
- Kazakou E, Adamidis GC, Baker AJ, Reeves RD, Godino M, Dimitrakopoulos PG (2010) Species adaptation in serpentine soils in Lesbos Island (Greece): metal hyperaccumulation and tolerance. *Plant and Soil*, 332(1), 369–385.
- Kazakou E, Dimitrakopoulos PG, Baker AJM, Reeves RD, Troumbis AY (2008) Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological Reviews*, 83, 495–508.
- Khalid BY, Tinsley J (1980) Some effects of nickel toxicity on rye grass. *Plant and Soil*, 55(1), 139–144.
- Khan MA, Khan S, Khan A, Alam M (2017) Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601, 1591–1605.
- Koch MA, German D (2013) Taxonomy and systematics are key to biological information: *Arabidopsis, Eutrema (Thellungiella), Noccaea* and *Schrenkiella* (Brassicaceae) as examples. *Frontiers in Plant Science*, 4, 267.
- Koch MA, German DA, Kiefer M, Franzke A (2018) Database taxonomics as key to modern plant biology. *Trends in Plant Science*, 23(1), 4–6.
- Koren Š, Arčon I, Kump P, Nečemer M, Vogel-Mikuš K (2013) Influence of CdCl 2 and CdSO 4 supplementation on Cd distribution and ligand environment in leaves of the Cd hyperaccumulator *Noccaea* (*Thlaspi*) praecox. Plant and Soil, 370(1), 125–148.
- Košanin O, Gajić B (2008) Karakteristike nekih serpentinskih zemljišta u sastojinama crnog bora na području Divčibare-Bukovi. *Šumarstvo*, 4, 89–98.
- Kováčik J, Klejdus B, Kaduková J, Bačkor M (2009) Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2), 603–609.
- Kozhevnikova AD, Seregin IV, Aarts MG, Schat H (2020) Intra-specific variation in zinc, cadmium and nickel hypertolerance and hyperaccumulation capacities in *Noccaea caerulescens*. *Plant and Soil*, 452(1), 479–498.
- Krämer U (2010) Metal hyperaccumulation in plants. Annual Review of Plant Biology, 61, 517–534.
- Krämer U, Smith RD, Wenzel WW, Raskin I, Salt DE (1997) The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy. *Plant Physiology*, 115(4), 1641–1650.

- Kruckeberg AR (1967) Ecotypic response to ultramafic soils by some plant species of northwestern United States. *Brittonia*, 19(2), 133–151.
- Lee J, Brooks RR, Reeves RD, Boswell CR, Jaffré T (1977) Plant-soil relationships in a New Caledonian serpentine flora. *Plant and Soil*, 46(3), 675–680.
- Liang X, Zhang L, Natarajan SK, Becker DF (2013) Proline mechanisms of stress survival. Antioxidants & Redox Signaling, 19(9), 998–1011.
- Lichtenthaler HK (1987) [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382.
- Likar M, Pongrac P, Vogel-Mikuš K, Regvar M (2010) Molecular diversity and metal accumulation of different *Thlaspi praecox* populations from Slovenia. *Plant and Soil*, 330(1), 195–205.
- Lindsay WL, Schwab AP (1982) The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *Journal* of *Plant Nutrition*, 5(4–7), 821–840.
- Linnaeus C (1753) Species Plantarum. Laurentius Salvius, Stockholm.
- Llugany M, Martin SR, Barceló J, Poschenrieder C (2013a) Endogenous jasmonic and salicylic acids levels in the Cd-hyperaccumulator *Noccaea* (*Thlaspi*) praecox exposed to fungal infection and/or mechanical stress. *Plant Cell Reports*, 32, 1243–1249.
- Llugany M, Tolrà R, Martín SR, Poschenrieder C, Barceló J (2013b) Cadmium-induced changes in glutathione and phenolics of *Thlaspi* and *Noccaea* species differing in Cd accumulation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176, 851–858.
- Lopez S, Benizri E, Erskine PD, Cazes Y, Morel JL, Lee G, Permana E, Echevarria G, van der Ent A (2019) Biogeochemistry of the flora of Weda Bay, Halmahera Island (Indonesia) focusing on nickel hyperaccumulation. *Journal of Geochemical Exploration*, 202, 113–127.
- Loponen J, Lempa K, Ossipov V, Kozlov MV, Girs A, Hangasmaa K, Haukioja E, Pihlaja K (2001) Patterns in content of phenolic compounds in leaves of mountain birches along a strong pollution gradient. *Chemosphere*, 45(3), 291–301.
- Loponen J, Ossipov V, Koricheva J, Haukioja E, Pihlajaa K (1997) Low molecular mass phenolics in foliage of *Betula pubescens* Ehrh. in relation to aerial pollution. *Chemosphere*, 34(4), 687–697.
- Mallick S, Sinam G, Mishra RK, Sinha S (2010) Interactive effects of Cr and Fe treatments on plants growth, nutrition and oxidative status in *Zea mays* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 987–995.
- Manouchehri N, Bermond A (2009) EDTA in soil science: a review of its application in soil trace metal studies. *TAET*, 3, 1–15.
- Marhold K (2011) Brassicaceae. In: Euro+Med Plantbase the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. Available at: <u>http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/</u> (accessed 15.04.2020.)
- Martínez-Alcalá I, Hernández LE, Esteban E, Walker DJ, Bernal MP (2013) Responses of *Noccaea* caerulescens and Lupinus albus in trace elements-contaminated soils. *Plant Physiology and* Biochemistry, 66, 47–55.
- Martos S, Gallego B, Sáez L, López-Alvarado J, Cabot C, Poschenrieder C (2016) Characterization of zinc and cadmium hyperaccumulation in three *Noccaea* (Brassicaceae) populations from non-metalliferous sites in the eastern Pyrenees. *Frontiers in Plant Science*, 7, 128.
- Matko Stamenković U, Andrejić G, Mihailović N, Šinžar-Sekulić J (2017) Hyperaccumulation of Ni by *Alyssum murale* Waldst. & Kit. from ultramafics in Bosnia and Herzegovina. *Applied Ecology and Environmental Research*, 15(3), 359–372.
- Mattarozzi M, Visioli G, Sanangelantoni AM, Careri M (2015) ESEM-EDS: in vivo characterization of the Ni hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Micron*, 75, 18–26.
- McGrath D (1996) Application of single and sequential extraction procedures to polluted and unpolluted soils. *Science of the Total Environment*, 178(1–3), 37–44.
- Merlot S, de la Torre VSG, Hanikenne M (2021) Physiology and molecular biology of trace element hyperaccumulation. In: van der Ent A, Baker AJ, Echevarria G, Simonnot MO, Morel JL (eds) *Agromining: farming for metals*, pp. 155–181. Springer, Cham.
- Meyer FK (1973) Conspectus der "*Thlaspi*"-Arten Europas, Afrikas und Vorderasiens. *Feddes Repertorium*, 84, 449–470.
- Meyer FK (1979) Kritische Revision der "*Thlaspi*"- Arten Europas, Afrikas und Vorderasiens, I. Geschichte, Morphologie und Chorologie. *Feddes Repertorium*, 90, 129–154.
- Meyer FK (2006) Kritische Revision der "*Thlaspi*"-Arten Europas, Afrikas und Vorderasiens. Spezieller Teil. IX. *Noccaea* Moench. *Haussknechtia*, 12, 1–341.
- Michalak A (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 523–530.
- Milić S, Vasin J, Ninkov J, Zeremski T, Brunet B, Sekulić P (2011) Fertility of privately owned plowland used for field crop production in Vojvodina, Serbia. *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 48(2), 359–368.
- Mishra S, Srivastava S, Tripathi RD, Govindarajan R, Kuriakose SV, Prasad MNV (2006) Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(1), 25–37.
- Mišljenović T, Jakovljević K, Jovanović S, Mihailović N, Gajić B, Tomović G (2018) Micro-edaphic factors affect intra-specific variations in trace element profiles of *Noccaea praecox* on ultramafic soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(31), 31737–31751.
- Mišljenović T, Jovanović S, Mihailović N, Gajić B, Tomović G, Baker AJM, Echevarria G, Jakovljević K (2020) Natural variation of nickel, zinc and cadmium (hyper)accumulation in facultative serpentinophytes *Noccaea kovatsii* and *N. praecox. Plant and Soil*, 447(1–2), 475–495.
- Moench C (1802) Conradi Moench Supplementum Ad Methodum A Staminum Situ Describendi. Nova Libraria Academiae.
- Mojsilović S, Baklajić D, Đoković I (1977) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100000, List Titovo Užice. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Mojsilović S, Baklajić D, Đoković I (1978) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100000, List Sjenica. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Mojsilović S, Filipović I, Rodin V, Navala M, Baklačić D, Đoković I, Jovanović Č, Živanović D, Eremija M, Cvetković B (1975) *Osnovna geološka karta SFRJ 1:100000, List Zvornik.* Savezni geološki zavod, Beograd.
- Molitor M, Dechamps C, Gruber W, Meerts P (2005) *Thlaspi caerulescens* on nonmetalliferous soil in Luxembourg: ecological niche and genetic variation in mineral element composition. *New Phytologist*, 165(2), 503–512.
- Murch SJ, Haq K, Rupasinghe HPV, Saxena PK (2003) Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 49, 251–257.
- Nagy L, Proctor J (1997b) Plant growth and reproduction on a toxic alpine ultramafic soil: adaptation to nutrient limitation. *New Phytologist*, 137(2), 267–274.
- Nagy L, Proctor J (1997a) Soil Mg and Ni as causal factors of plant occurrence and distribution at the Meikle Kilrannoch ultramafic site in Scotland. *New Phytologist*, 135(3), 561– 566.Nkrumah PN, Echevarria G, Erskine PD, van der Ent A (2018) Contrasting nickel and zinc hyperaccumulation in subspecies of *Dichapetalum gelonioides* from Southeast Asia. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15.
- Nowack B, Obrecht JM, Schluep M, Schulin R, Hansmann W, Köppel V (2001) Elevated lead and zinc contents in remote alpine soils of the Swiss National Park. *Journal of Environmental Quality*, 30(3), 919–926.
- O'Dell RE, Claassen VP (2006) Serpentine and nonserpentine *Achillea millefolium* accessions differ in serpentine substrate tolerance and response to organic and inorganic amendments. *Plant and Soil*, 279(1), 253–269.
- O'Dell RE, Rajakaruna N (2011) Intraspecific variation, adaptation, and evolution. In: Harrison SP, Rajakaruna N (eds) *Serpentine: Evolution and Ecology in a Model System*, pp. 97–137. University of California Press, Berkeley, CA, USA.

- O'Hanley DS (1996) Serpentinites: records of tectonic and petrological history. Oxford University Press, New York.
- OECD (2006) 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.
- Olujić J, Karović J (1985) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100000, List Višegrad. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Palacios G, Gomez I, Carbonell-Barrachina A, Pedreño JN, Mataix J (1998) Effect of nickel concentration on tomato plant nutrition and dry matter yield. *Journal of Plant Nutrition*, 21(10), 2179–2191.
- Pandey N, Sharma CP (2002) Effect of heavy metals Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on growth and metabolism of cabbage. *Plant Science*, 163(4), 753–758.
- Pandolfini T, Gabbrielli R, Comparini C (1992) Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant, Cell & Environment*, 15(6), 719–725.
- Pavlova D, Karadjova I (2013) Toxic element profiles in selected medicinal plants growing on serpentines in Bulgaria. *Biological Trace Element Research*, 156, 288–297.
- Pędziwiatr A, Kierczak J, Waroszewski J, Ratié G, Quantin C, Ponzevera E (2018) Rock-type control of Ni, Cr, and Co phytoavailability in ultramafic soils. *Plant and Soil*, 423(1), 339–362.
- Piccini DF, Malavolta E (1992) Effect of nickel on two common bean cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 15(11), 2343–2350.
- Pillon Y, Petit D, Gady C, Soubrand M, Joussein E, Saladin G (2019) Ionomics suggests niche differences between sympatric heathers (Ericaceae). *Plant and Soil*, 434(1–2), 481–489.
- Pollard AJ, Reeves RD, Baker AJ (2014) Facultative hyperaccumulation of heavy metals and metalloids. *Plant Science*, 217, 8–17.
- Pollastri S, Tattini M (2011) Flavonols: old compounds for old roles. *Annals of Botany*, 108(7), 1225–1233.
- Pourret O, Hursthouse A (2019). It's time to replace the term "heavy metals" with "potentially toxic elements" when reporting environmental research. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(22), 4446.
- Proctor J (1971) The plant ecology of serpentine: III. The influence of a high magnesium/calcium ratio and high nickel and chromium levels in some British and Swedish serpentine soils. *Journal of Ecology*, 59(3), 827–842.
- Proctor J (1999) Toxins, nutrient shortages and droughts: the serpentine challenge. *Trends in Ecology* & *Evolution*, 14(9), 334–335.
- Proctor J, Woodell SR (1975) The ecology of serpentine soils. *Advances in Ecological Research*, 9, 255–366.
- Qiu RL, Tang YT, Zeng XW, Thangavel P, Tang L, Gan YY, Ying RR, Wang SZ (2012) Mechanisms of Cd hyperaccumulation and detoxification in heavy metal hyperaccumulators: how plants cope with Cd. *Progress in Botany*, 73, 127–159.
- R Core Team (2019) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <u>https://www.R-project.org/</u>
- Rakić MO, Hadživuković M, Kalenić M, Marković V, Milovanović Lj (1974) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100000, List Kruševac. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Reeves RD (1992) The hyperaccumulation of nickel by serpentine plants. In: Baker AJM, Proctor J, Reeves RD (eds) *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils*, pp. 253–277. Intercept, Andover, UK.
- Reeves RD, Baker AJM (1984) Studies on metal uptake by plants from serpentine and non-serpentine populations of *Thlaspi goesingense* Hálácsy (Cruciferae). *New Phytologist*, 98(1), 191–204.
- Reeves RD, Baker AJM (2000) Metal-accumulating plants. In: Raskin I, Ensley BD (eds) Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment, pp. 193–229. John Wiley & Sons Inc, New York.
- Reeves RD, Brooks RR (1983). European species of *Thlaspi* L. (Cruciferae) as indicators of nickel and zinc. *Journal of Geochemical Exploration*, 18, 275–283.

- Reeves RD, Schwartz C, Morel JL, Edmondson J (2001) Distribution and metal-accumulating behavior of *Thlaspi caerulescens* and associated metallophytes in France. *International Journal of Phytoremediation*, 3, 145–172.
- Regvar M, Eichert D, Kaulich B, Gianoncelli A, Pongrac P, Vogel-Mikuš K (2013) Biochemical characterization of cell types within leaves of metal-hyperaccumulating *Noccaea praecox* (Brassicaceae). *Plant and Soil*, 373, 157–171.
- Richau KH, Schat H (2009) Intraspecific variation of nickel and zinc accumulation and tolerance in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil*, 314, 253–262.
- Rosenfeld CE, Chaney RL, Martinez CE (2018) Soil geochemical factors regulate Cd accumulation by metal hyperaccumulating *Noccaea caerulescens* (J. Presl & C. Presl) FK Mey in fieldcontaminated soils. *Science of the Total Environment*, 616, 279–287.
- Rowell DL (2014) Soil science: methods & applications. Routledge, New York.
- Sachan P, Lal N (2017) An overview of nickel (Ni<sup>2+</sup>) essentiality, toxicity and tolerance strategies in plants. *Asian Journal of Biology*, 2(4), 1–15.
- Sadovski AN (2019) Study on pH in water and potassium chloride for Bulgarian soils. *Eurasian Journal of Soil Science*, 8(1), 11–16.
- Salihaj M, Bani A, Shahu E, Benizri E, Echevarria G (2018) Metal accumulation by the ultramafic flora of Kosovo. *Ecological Research*, 33(4), 687–703.
- Schachtman DP, Reid RJ, Ayling SM (1998) Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiology*, 116(2), 447–453.
- Schat H, Sharma SS, Vooijs R (1997) Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metaltolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 101(3), 477– 482.
- Sellami R, Gharbi F, Rjeeb S, Rejeb MN, Henchi B, Echevarria G, Morel JL (2012) Effects of nickel hyperaccumulation on physiological characteristics of *Alyssum murale* grown on metal contaminated waste amended soil. *International Journal of Phytoremediation*, 14(6), 609–620.
- Seregin I, Kozhevnikova AD (2006) Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: a review. *Chemosphere Russian Journal of Plant Physiology*, 53(2), 257–277.
- Seregin IV, Kozhevnikova AD, Kazyumina EM, Ivanov VB (2003) Nickel toxicity and distribution in maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(5), 711–717.
- Shahid M, Shamshad S, Rafiq M, Khalid S, Bibi I, Niazi NK, Dumat C, Rashid MI (2017) Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: a review. *Chemosphere*, 178, 513-533.
- Shahzad B, Tanveer M, Rehman A, Cheema SA, Fahad S, Rehman S, Sharma A (2018) Nickel; whether toxic or essential for plants and environment-A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 641–651.
- Sharma SS, Dietz KJ (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), 711–726.
- Shukla OP, Dubey S, Rai UN (2007) Preferential accumulation of cadmium and chromium: toxicity in *Bacopa monnieri* L. under mixed metal treatments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78(3), 252–257.
- Sirguey C, Seznec G, Mahevas T, Echevarria G, Gonneau C, Sterckeman T (2018) Soil trace metal content does not affect the distribution of the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* in the Vosges Mountains (France). *Plant and Soil*, 430(1–2), 245–262.
- Skórzyńska-Polit E, Drążkiewicz M, Krupa Z (2010). Lipid peroxidation and antioxidative response in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium and copper. Acta Physiologiae Plantarum, 32(1), 169.
- StatSoft (2004) STATISTICA (data analysis software system), version 7.0., <u>www.statsoft.com</u>.Tulsa, USA.

- Sterckeman T, Cazes Y, Gonneau C, Sirguey C (2017) Phenotyping 60 populations of *Noccaea caerulescens* provides a broader knowledge of variation in traits of interest for phytoextraction. *Plant and Soil*, 418, 523–540.
- Stevanović V, Tan K, Iatrou G (2003) Distribution of the endemic Balkan flora on serpentine I.– obligate serpentine endemics. *Plant Systematics and Evolution*, 242(1), 149–170.
- Sytar O, Cai Z, Brestic M, Kumar A, Prasad MNV, Taran N, Smetanska I (2013) Foliar applied nickel on buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) induced phenolic compounds as potential antioxidants. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 41(11), 1129–1137.
- Szabados L, Savouré A (2010) Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97.
- Šinžar-Sekulić J, Stamenković UM, Tomović G, Tumi AF, Andrejić G, Mihailović N. Lazarević MR (2019) Assessment of trace element accumulation potential of Noccaea kovatsii from ultramafics of Bosnia and Herzegovina and Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(9), 540.
- Taylor SI, Macnair MR (2006) Within and between population variation for zinc and nickel accumulation in two species of *Thlaspi* (Brassicaceae). *New Phytologist*, 169(3), 505–514.
- Thiers B (2021) Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available at: <u>http://sweetgum.nybg.org/ih</u> (continuously updated) (accessed 15.02.2021)
- Tian J, Liao H (2015) The role of intracellular and secreted purple acid phosphatases in plant phosphorus scavenging and recycling. *Annual Plant Reviews*, 48, 265–287.
- Tolrà R, Pongrac P, Poschenrieder C, Vogel-Mikuš K, Regvar M, Barcelo J (2006) Distinctive effects of cadmium on glucosinolate profiles in Cd hyperaccumulator *Thlaspi praecox* and non-hyperaccumulator *Thlaspi arvense*. *Plant and Soil*, 288, 333–341.
- Tomović GM, Buzurović U, Đurović S, Vicić D, Mihailović NL, Jakovljević K (2018) Strategies of heavy metal uptake by three *Armeria* species growing on different geological substrates in Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 507–522.
- Tomović G, Đurović S, Buzurović U, Niketić M, Milanović Đ, Mihailović N, Jakovljević K (2021) Accumulation of potentially toxic elements in *Viola L*. (Sect. *Melanium* Ging.) from the ultramafic and non-ultramafic soils of the Balkan peninsula. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232, 46.
- Tomović GM, Mihailović NL, Tumi AF, Gajić BA, Mišljenović TD, Niketić MS (2013) Trace metals in soils and several Brassicaceae plant species from serpentine sites of Serbia. Archives of Environmental Protection, 39(4), 29–49.
- Tumi AF, Mihailović NL, Gajic BA, Niketić MS, Tomović GM (2012) Comparative study of hyperaccumulation of nickel by *Alyssum murale* s.l. populations from the ultramafics of Serbia. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21, 1855–1866.
- Uarrota VG, Stefen DLV, Leolato LS, Gindri DM, Nerling D (2018) Revisiting Carotenoids and Their Role in Plant Stress Responses: From Biosynthesis to Plant Signaling Mechanisms During Stress. In: Gupta D, Palma J, Corpas F (eds) Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants, pp. 207–232. Springer, Cham.
- van der Ent A, Baker AJ, Reeves RD, Pollard AJ, Schat H (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. *Plant and Soil*, 362(1–2), 319–334.
- van der Ent A, Mak R, de Jonge MD, Harris HH (2018) Simultaneous hyperaccumulation of nickel and cobalt in the tree *Glochidion* cf. *sericeum* (Phyllanthaceae): elemental distribution and chemical speciation. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15.
- van der Ent A, Spiers KM, Brueckner D, Echevarria G, Aarts MG, Montargès-Pelletier E (2019) Spatially-resolved localization and chemical speciation of nickel and zinc in *Noccaea tymphaea* and *Bornmuellera emarginata*. *Metallomics*, 11(12), 2052–2065.
- van Reeuwijk LP (2002) *Procedures for soil analysis. Technical paper* 9. International Soil Reference and Information Centre, Wageningen.

- Verbruggen N, Hermans C (2008) Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35(4), 753–759.
- Vogel-Mikuš K, Pongrac P, Kump P, Nečemer M, Regvar M (2006) Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. *Environmental Pollution*, 139(2), 362–371.
- Vujisić T, Navala M, Hadži-Vuković M, Anđelković J, Rakić B. (1977) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100.000. Tumač za list K 34-5 Čačak. Savezni geološki zavod, Beograd.
- Walker RB, Walker HM, Ashworth PR (1955) Calcium-magnesium nutrition with special reference to serpentine soils. *Plant Physiology*, 30(3), 214.
- Wang Y, Wu WH (2017) Regulation of potassium transport and signaling in plants. Current Opinion in Plant Biology, 39, 123–128.
- Wei T, Simko V (2017) R package"corrplot": visualization of a correlation matrix (version 0.84). Available at: <u>https://github.com/taiyun/corrplot</u> (accessed 10.03.2021)
- Whittaker RH (1954) The ecology of serpentine soils. *Ecology*, 35(2), 258–288.
- Xing JP, Jiang RF, Ueno D, Ma JF, Schat H, McGrath SP, Zhao FJ (2008) Variation in root-totranslocation of cadmium and zinc among different accessions of the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi praecox*. *New Phytologist*, 178, 315–325.
- XLSTAT (2020) Statistical Software for Excel. https://www.xlstat.com
- Yusuf M, Fariduddin Q, Hayat S, Ahmad A (2011) Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(1), 1–17.
- Zemanová V, Pavlík M, Pavlíková D, Hnilička F, Vondráčková S (2016) Responses to Cd Stress in Two Noccaea Species (Noccaea praecox and Noccaea caerulescens) Originating from Two Contaminated Sites in Mežica, Slovenia and Redlschlag, Austria. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 70(3), 464–474.
- Zilioli DM, Bini C, Wahsha M, Ciotoli G (2011) The pedological heritage of the Dolomites (Northern Italy): features, distribution and evolution of the soils, with some implications for land management. *Geomorphology*, 135(3–4), 232–247.
- Zitka O, Krystofova O, Hynek D, Sobrova, P, Kaiser J, Sochor J, Zehnalek J, Babula P, Ferrol N, Kizek R, Adam V (2013) Metal transporters in plants. In: Gupta DK, Corpas FJ, Palma JM (eds) *Heavy metal stress in plants*, pp. 19–41. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Zwolak A, Sarzyńska M, Szpyrka E, Stawarczyk K (2019) Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: A review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(7), 1–9.

# 8. PRILOZI

Prilog 1. Spirmanova korelacija rangova za fizičko-hemijske karakteristike zemljišta. Podebljane vrednosti su statististički značajne (p < 0,05)

	pH_H <sub>2</sub> O	pH_KCl	OM	Ν	Ca_prist.	Mg_prist.	Fe_uk.	Fe_prist.	Mn_uk.	Mn_prist.	Zn_uk.	Zn_prist.	Cu_uk.	Cu_prist.	Ni_uk.	Ni_prist.	Cr_uk.	Cr_prist.	Pb_uk.	Pb_prist.	Cd_uk.	Cd_prist.	Co_uk.	Co_prist.	P_prist.	K_prist.
pH_H2O	1.0000	0.9544	-0.5483	-0.6020	0.4443	-0.2857	-0.1187	-0.6222	-0.2862	-0.3493	-0.1138	-0.4281	-0.1956	-0.3730	-0.0429	-0.2916	-0.3453	-0.2940	-0.0567	-0.1828	0.3082	-0.1892	-0.0399	-0.1813	-0.1123	-0.1512
pH_KCl		1.0000	-0.3962	-0.4597	0.5378	-0.2966	-0.1776	-0.5629	-0.3521	-0.3695	-0.0537	-0.3060	-0.2267	-0.3206	-0.1059	-0.3314	-0.3624	-0.2570	0.0168	-0.0584	0.2979	-0.0907	-0.1210	-0.2932	0.0340	-0.2126
ОМ			1.0000	0.9409	0.1478	0.0670	-0.4522	0.3330	-0.2867	-0.1985	0.4350	0.8148	0.2389	0.4863	-0.4739	-0.1473	-0.0591	0.2190	0.4872	0.6980	-0.0111	0.4954	-0.4709	-0.2764	0.5360	0.1916
Ν				1.0000	0.0980	0.2069	-0.3369	0.3892	-0.1296	-0.0148	0.4034	0.8005	0.2709	0.5644	-0.3502	-0.0276	0.0764	0.2735	0.4596	0.6685	0.0163	0.5227	-0.3404	-0.1438	0.5266	0.2010
Ca_prist.					1.0000	-0.6163	-0.6414	-0.6966	-0.5665	-0.6015	0.5128	0.2360	0.2478	0.0498	-0.6562	-0.7217	-0.4901	-0.1477	0.4251	0.4429	0.6328	0.5732	-0.6291	-0.6217	0.4286	0.2847
Mg_prist.						1.0000	0.6640	0.6320	0.5793	0.5138	-0.4463	-0.0567	-0.4153	-0.0214	0.7276	0.8300	0.7241	0.4311	-0.3631	-0.2921	-0.5190	-0.4547	0.7296	0.7394	-0.2232	-0.3300
Fe_uk.							1.0000	0.5148	0.6734	0.6236	-0.5458	-0.5640	-0.4458	-0.3355	0.9084	0.7650	0.7768	0.4086	-0.4532	-0.6020	-0.5727	-0.6456	0.9320	0.7946	-0.6749	-0.5020
Fe_prist.								1.0000	0.3232	0.5305	-0.2384	0.0916	-0.1995	0.1867	0.4034	0.6714	0.5635	0.5430	-0.0207	0.0384	-0.6984	-0.2195	0.4182	0.5025	-0.1148	-0.3167
Mn_uk.									1.0000	0.7837	-0.3369	-0.1724	-0.0429	0.0017	0.7182	0.6414	0.6276	0.2762	-0.4064	-0.4956	-0.2239	-0.4116	0.7675	0.7089	-0.3463	-0.1941
Mn_prist.										1.0000	-0.3473	-0.1887	-0.0793	0.1057	0.6512	0.6901	0.4660	0.1541	-0.3473	-0.3557	-0.2567	-0.2037	0.6695	0.6296	-0.2493	-0.3335
Zn_uk.											1.0000	0.5291	0.6143	0.4454	-0.7069	-0.7089	-0.2596	0.0732	0.7271	0.7448	0.5737	0.8082	-0.5901	-0.4468	0.2778	0.5305
Zn_prist.												1.0000	0.3468	0.5905	-0.5153	-0.3010	-0.1350	0.0954	0.5365	0.7714	0.2872	0.5831	-0.5034	-0.2768	0.6365	0.3936
Cu_uk.													1.0000	0.6838	-0.5005	-0.4586	-0.1941	0.0227	0.4818	0.4404	0.4316	0.5762	-0.5039	-0.2936	0.1778	0.6764
Cu_prist.														1.0000	-0.3473	-0.1407	-0.0705	0.2378	0.5200	0.6168	0.1207	0.4380	-0.3409	-0.0707	0.4555	0.4594
Ni_uk.															1.0000	0.8286	0.6507	0.1768	-0.6300	-0.7094	-0.5350	-0.6851	0.9133	0.7729	-0.5793	-0.4823
Ni_prist.																1.0000	0.6424	0.3295	-0.5039	-0.5202	-0.6294	-0.5814	0.8049	0.7808	-0.3044	-0.4808
Cr_uk.																	1.0000	0.7117	-0.1626	-0.2645	-0.4269	-0.3604	0.7330	0.7241	-0.4798	-0.2591
Cr_prist.																		1.0000	0.3231	0.2037	-0.2986	-0.1445	0.3613	0.5009	-0.1055	-0.0875
Pb_uk.																			1.0000	0.8916	0.3641	0.6052	-0.4813	-0.2660	0.3138	0.3517
Pb_prist.																				1.0000	0.3326	0.7247	-0.6315	-0.3941	0.5773	0.3980
Cd_uk.																					1.0000	0.6260	-0.4397	-0.4355	0.2892	0.3983
Cd_prist.																						1.0000	-0.6772	-0.5629	0.4796	0.4589
Co_uk.																							1.0000	0.8724	-0.5729	-0.4951
Co_prist.																								1.0000	-0.4956	-0.1680
P_prist.																									1.0000	0.2606
K_prist.																										1.0000

	K_k	K_n	Ca_k	Ca_n	Mg_k	Mg_n	Fe_k	Fe_n	Mn_k	Mn_n	Zn_k	Zn_n	Cu_k	Cu_n	Ni_k	Ni_n	Cr_k	Cr_n	Pb_k	Pb_n	Cd_k	Cd_n	Co_k	Co_n	P_k	P_n
K_k	1.0000	-0.0583	0.0898	-0.0061	0.1915	-0.1689	0.1887	0.1659	0.0935	-0.2929	0.1714	-0.0744	-0.0676	-0.0912	0.6695	0.4449	0.1416	0.3820	-0.2876	0.1989	0.3785	0.4689	0.3707	0.6690	0.1087	-0.0609
K_n		1.0000	0.0658	0.5793	0.2407	0.2385	0.3030	-0.0845	0.1345	-0.0923	-0.6375	-0.2811	0.6666	0.3279	-0.2862	-0.3561	0.3257	-0.1851	-0.2592	-0.6177	-0.1900	-0.3790	-0.4509	-0.4623	0.6130	0.6322
Ca_k			1.0000	0.0135	0.0674	-0.3531	0.0437	0.0245	0.0506	-0.0785	-0.0432	-0.3071	0.5111	0.4609	-0.2763	-0.5378	0.4923	-0.0662	0.5305	0.1632	0.1991	-0.1498	0.2529	-0.3479	0.3186	-0.1403
Ca_n				1.0000	0.3223	0.4764	-0.0535	-0.2019	-0.0160	-0.2078	-0.3124	-0.0192	0.4828	0.3722	-0.1176	-0.1990	0.0681	-0.1732	-0.2497	-0.1128	-0.4150	-0.3025	-0.4580	-0.1203	0.4776	0.4076
Mg_k					1.0000	0.5502	0.2942	0.2642	-0.0463	0.1233	-0.5111	-0.5148	0.0972	0.1548	0.1235	-0.0774	0.2031	-0.1894	0.1346	0.0277	-0.1636	-0.2286	-0.1292	0.1147	0.4901	0.3859
Mg_n						1.0000	0.1379	0.3907	-0.0668	0.0765	-0.3473	-0.0913	-0.1590	-0.1469	0.2038	0.2254	-0.3398	-0.0036	0.0519	-0.1922	-0.7012	-0.5857	-0.3907	0.1490	0.1068	0.6769
Fe_k							1.0000	0.6609	0.6715	0.4050	-0.6036	-0.7529	0.2453	0.1429	0.2885	0.2387	0.4743	0.5663	-0.1231	-0.3493	0.0932	-0.1457	0.2010	0.1217	0.4276	0.2841
Fe_n								1.0000	0.2879	0.3126	-0.4158	-0.5337	-0.1724	-0.2278	0.4938	0.4182	-0.0044	0.6337	0.3288	-0.1057	-0.2727	-0.4355	0.1660	0.3232	-0.0504	0.2958
Mn_k									1.0000	0.6332	-0.1577	-0.3744	0.2700	0.2637	-0.0060	0.1166	0.2248	0.5677	-0.1316	-0.1956	0.2156	0.0473	0.3201	0.0219	0.2902	0.1258
Mn_n										1.0000	-0.1909	-0.2541	-0.1239	-0.0427	-0.2223	0.0046	-0.0870	0.2431	0.3249	-0.1043	0.0999	-0.2789	0.3079	-0.1407	0.0825	0.1831
Zn_k											1.0000	0.7640	-0.3553	-0.1825	0.1805	0.2718	-0.2953	0.0454	-0.0002	0.5826	0.3351	0.6091	0.2439	0.3751	-0.5805	-0.5970
Zn_n												1.0000	-0.4013	-0.3769	-0.0078	0.1773	-0.4734	-0.2241	-0.0440	0.2986	0.0285	0.2967	-0.2201	0.1031	-0.5014	-0.1704
Cu_k													1.0000	0.6852	-0.4149	-0.5626	0.5687	-0.1426	-0.0490	-0.1764	0.0121	-0.1082	-0.1898	-0.4737	0.5991	0.1533
Cu_n														1.0000	-0.4737	-0.5544	0.4855	-0.0342	-0.0654	0.0028	-0.0486	-0.1480	-0.1120	-0.4292	0.3458	-0.1634
Ni_k															1.0000	0.8923	-0.0770	0.5701	-0.1923	0.3604	0.1727	0.2662	0.3594	0.9050	-0.2233	0.0069
Ni_n																1.0000	-0.2869	0.6250	-0.2597	0.3467	0.0862	0.2588	0.3614	0.8469	-0.3625	0.0468
Cr_k																	1.0000	0.0377	-0.0632	0.0152	0.4343	0.0934	0.1208	-0.1809	0.4730	-0.2035
Cr_n																		1.0000	-0.0763	0.0753	0.1139	0.0268	0.1787	0.4814	-0.1903	-0.0390
Pb_k																			1.0000	0.3604	-0.1323	-0.5048	0.2041	-0.1923	-0.2546	0.0495
Pb_n																				1.0000	0.2254	0.3596	0.4658	0.5065	-0.3038	-0.4232
Cd_k																					1.0000	0.7591	0.6887	0.1818	0.0604	-0.4794
Cd_n																						1.0000	0.1418	0.1493	-0.1104	-0.5717
Co_k																							1.0000	0.1425	-0.0073	-0.1856
Co_n																								1.0000	-0.2778	-0.1455
P_k																									1.0000	0.4708
P_n																										1.0000

Prilog 2. Spirmanova korelacija rangova za sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima N. kovatsii. Podebljane vrednosti su statististički zn

# značajne (p < 0,05)

	K_k	K_n	Ca_k	Ca_n	Mg_k	Mg_n	Fe_k	Fe_n	Mn_k	Mn_n	Zn_k	Zn_n	Cu_k	Cu_n	Ni_k	Ni_n	Cr_k	Cr_n	Pb_k	Pb_n	Cd_k	Cd_n	Co_k	Co_n	P_k	P_n
K_k	1.0000	0.0032	-0.1413	-0.1237	0.1917	0.0391	0.1528	0.2223	0.1029	-0.3171	-0.2352	-0.1597	-0.1380	-0.1350	0.5686	0.5978	0.0059	0.0523	-0.4355	-0.5749	-0.4962	-0.4505	-0.4591	0.0011	0.4848	-0.7209
K_n		1.0000	0.6328	0.1974	0.0338	0.0363	-0.4514	0.0121	-0.3649	-0.3194	-0.2132	-0.0658	0.4373	0.4312	-0.3189	-0.2320	0.5607	0.3195	-0.0317	0.1705	-0.0405	0.0843	0.3075	-0.0914	0.2224	0.0085
Ca_k			1.0000	-0.0156	-0.0996	-0.1457	-0.7437	-0.2462	-0.7730	-0.4267	0.3706	0.3547	0.0949	0.0812	-0.2993	-0.5700	0.0514	-0.0080	0.2987	0.3655	0.0994	0.0138	0.2144	-0.4327	-0.0149	0.3296
Ca_n				1.0000	-0.2204	-0.2285	-0.1688	-0.2830	0.0626	-0.1705	0.0443	-0.0215	0.5841	0.6696	-0.5870	-0.3814	0.4545	0.2165	-0.1455	0.1225	0.3140	0.2826	0.5683	0.0411	0.1313	-0.2006
Mg_k					1.0000	0.8164	0.3079	0.5243	0.0919	0.1015	-0.6735	-0.6514	0.3479	0.3062	0.1313	0.4994	0.6139	0.3926	-0.4067	-0.2251	-0.1798	-0.1454	0.0591	0.3213	0.4495	-0.3058
Mg_n						1.0000	0.2953	0.5314	0.1574	0.1959	-0.5356	-0.4119	0.2358	0.1723	0.3017	0.4156	0.5082	0.3652	-0.3233	-0.3269	-0.0075	0.0031	0.0085	0.1284	0.3175	-0.0499
Fe_k							1.0000	0.6324	0.6763	0.6907	-0.5646	-0.5269	-0.2493	-0.0975	0.3002	0.5516	-0.0135	0.3343	-0.2528	-0.4182	-0.0065	0.1734	-0.2565	0.6303	-0.0935	-0.2911
Fe_n								1.0000	0.1101	0.4788	-0.5168	-0.3338	-0.1790	-0.0065	0.3733	0.5415	0.2639	0.7045	-0.3315	-0.6626	0.0097	0.1611	-0.4279	0.3596	-0.0438	-0.2260
Mn_k									1.0000	0.5413	-0.5524	-0.4876	-0.0219	-0.0294	0.0481	0.4221	-0.0340	-0.0925	-0.0403	-0.1096	-0.1329	0.1009	-0.1067	0.5285	-0.0124	-0.2191
Mn_n										1.0000	-0.5008	-0.3964	-0.2003	-0.0111	-0.1676	0.1093	-0.1461	0.2749	0.2190	-0.0377	0.4430	0.6286	-0.0299	0.6243	-0.3225	0.3038
Zn_k											1.0000	0.8320	-0.2549	-0.3782	-0.0105	-0.4895	-0.4378	-0.4617	0.2908	0.1883	0.0553	-0.2266	-0.0280	-0.7615	-0.2948	0.3362
Zn_n												1.0000	-0.2841	-0.1401	-0.0143	-0.4524	-0.3774	-0.2946	0.2553	0.1097	0.0259	-0.1848	-0.2356	-0.7273	-0.3010	0.3354
Cu_k													1.0000	0.8945	-0.5525	-0.2198	0.8264	0.3776	-0.4722	0.3193	0.0568	-0.0186	0.6205	0.2422	0.5984	-0.2645
Cu_n														1.0000	-0.6281	-0.2412	0.7924	0.5830	-0.4559	0.2289	0.2696	0.2730	0.6718	0.4385	0.4842	-0.2695
Ni_k															1.0000	0.7416	-0.2828	-0.2196	-0.1987	-0.6555	-0.4422	-0.5011	-0.6419	-0.2507	0.0983	-0.3013
Ni_n																1.0000	0.0349	0.0785	-0.4278	-0.6477	-0.4810	-0.2905	-0.5437	0.2626	0.2338	-0.4986
Cr_k																	1.0000	0.6483	-0.5560	-0.0602	-0.1150	-0.0932	0.3284	0.2454	0.4640	-0.4169
Cr_n																		1.0000	-0.5626	-0.3225	0.1891	0.2907	0.0477	0.4862	0.1821	-0.3050
Pb_k																			1.0000	0.3755	0.2499	0.2945	0.0335	-0.3044	-0.6844	0.6903
Pb_n																				1.0000	0.2006	0.1630	0.6435	0.0710	-0.0822	0.4418
Cd_k																					1.0000	0.8409	0.5570	0.1226	-0.1708	0.5541
Cd_n																						1.0000	0.4338	0.1384	-0.3221	0.4860
Co_k																							1.0000	0.1795	0.2221	0.2078
Co_n																								1.0000	0.1657	-0.2635
P_k																									1.0000	-0.5626
P_n																										1.0000

Prilog 3. Spirmanova korelacija rangova za sadržaj analiziranih hemijskih elemenata u korenovima i nadzemnim delovima *N. praecox*. Podebljane vrednosti su statististički značajne (p < 0,05)

### Prilog 4. Biomase N. kovatsii i N. praecox

	Koren			Nadzemni deo								
Tretman	Kopaonik	Kablar	Avala	Kopaonik	Kablar	Avala						
K	0,16±0,02	0,81±0,16	0,26±0,03	4,96±0,91	$7,29\pm1,30$	3,36±0,36						
А	0,13±0,04	0,33±0,04	0,30±0,07	2,95±0,56	4,46±1,04	3,25±0,72						
В	0,15±0,03	$0,47\pm0,07$	0,28±0,10	3,32±0,69	$4,57\pm0,85$	2,17±0,57						
С	0,09±0,02	0,03±0,01		2,64±0,74	0,36±0,12	-						

4.1 Biomase korena i nadzemnog dela *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške.

4.2 Biomase korena i nadzemnog dela *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne greške.

	Koren			Nadzemni d	leo	
Tretman	Zlatibor	Maljen	Ćićarija	Zlatibor	Maljen	Ćićarija
K	0,22±0,03	0,13±0,03	$0,44\pm0,07$	3,54±0,33	4,97±0,74	7,3±1,17
А	0,16±0,03	0,55±0,10	0,11±0,01	2,87±0,28	4,19±0,55	1,79±0,21
В	0,27±0,05	0,38±0,04	$0.04\pm0,01$	4,29±0,88	4,84±0,98	0,96±0,18
С	0,16±0,03	0,14±0,04	0.02±0,004	3,35±1,33	4,52±0,98	0.32±0,07

Prilog 5. Koncentracije ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

Ukupni hlorofili (mg/g)											
Tretman	K	А	В	С							
Kopaonik	1,92±0,39	1,65±0,16	$1,67\pm0,38$	1,53±0,15							
Kablar	2,06±0,13	1,71±0,12	1,73±0,16	1,32±0,13							
Avala	2,24±0,30	1,91±0,29	2,08±0,34								
	H	lorofil <i>a</i> (mg	/g)								
Tretman	K	А	В	С							
Kopaonik	$1,41\pm0,30$	$1,17\pm0,14$	$1,22\pm0,28$	0,94±0,26							
Kablar	$1,44\pm0,09$	$1,45\pm0,08$	$1,22\pm0,11$	1,20±0,09							
Avala	1,63±0,22	1,43±0,20	$1,54\pm0,26$								
	H	lorofil <i>b</i> (mg	/g)								
Tretman	Κ	А	В	С							
Kopaonik	0,51±0,10	$0,\!48\pm\!0,\!04$	$0,\!45\pm\!0,\!10$	0,59±0,23							
Kablar	0,61±0,04	0,63±0,03	0,53±0,05	0,51±0,04							
Avala	$0,60\pm0,08$	$0,49\pm0,08$	$0,54{\pm}0,09$								
	Ka	rotenoidi (m	g/g)								
Tretman	Κ	А	В	С							
Kopaonik	0,32±0,09	$0,24\pm0,04$	$0,25\pm0,04$	0,12±0,18							
Kablar	0,23±0,02	0,23±0,02	0,20±0,01	0,20±0,01							
Avala	0,38±0,05	0,32±0,04	0,35±0,06								

Prilog 6. Koncentracije ukupnih hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija tretiranih rastućim koncentracijama nikla. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

Ukupni hlorofili (mg/g)											
Tretman	K	А	В	С							
Zlatibor	$1,99{\pm}0,20$	$1,88\pm0,16$	$1,79\pm0,19$	$1,59\pm0,24$							
Maljen	2,11±0,24	1,61±0,27	$1,51\pm0,12$	$1,68\pm0,04$							
Ćićarija	$1,69\pm0,28$	$1,25\pm0,11$	0,99±0,16	0,73±0,07							
	ŀ	Ilorofil a (m	g/g)								
Tretman	K	А	В	С							
Zlatibor	$1,44\pm0,15$	$1,35\pm0,14$	$1,27\pm0,15$	$1,10\pm0,18$							
Maljen	$1,44\pm0,19$	$1,07\pm0,19$	$0,94{\pm}0,06$	$1,09\pm0,05$							
Ćićarija	$1,21\pm0,21$	0,92±0,10	$0,74\pm0,12$	0,56±0,07							
	ł	Ilorofil <i>b</i> (m	g/g)								
Tretman	Κ	А	В	С							
Zlatibor	$0,55\pm0,06$	$0,53\pm0,04$	$0,52{\pm}0,05$	0,49±0,07							
Maljen	$0,67{\pm}0,05$	$0,55\pm0,08$	$0,57{\pm}0,09$	0,60±0,06							
Ćićarija	0,48±0,13	0,33±0,02	$0,25\pm0,04$	0,17±0,003							
	K	arotenoidi (n	ng/g)								
Tretman	Κ	А	В	С							
Zlatibor	$0,34\pm0,04$	0,33±0,03	$0,32\pm0,03$	0,25±0,04							
Maljen	0,20±0,02	0,19±0,03	0,12±0,04	0, <del>19±0,0</del> 3							
Ćićarija	0,28±0,06	0,24±0,02	0,19±0,03	0,18±0,02							

#### Prilog 7. Koncentracije antocijana u listovima N. kovatsii i N. praecox

7.1 Koncentracija antocijana (apsorbanca na 535 nm/0,1 g) u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

Tretman	K	A	В	С
Kopaonik	0,07±0,03	0,64±0,25	0,29±0,11	0,30±0,17
Kablar	0,14±0,03	$0,17\pm0,08$	$0,66\pm0,14$	
Avala	0,60±0,19	0,22±0,04	0,01±0,01	

7.2 Koncentracija antocijana (apsorbanca na 535 nm/0,1 g) u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

Tretman	K	А	В	С
Zlatibor	$0,24\pm0,06$	$0,54{\pm}0,16$	$0,50\pm0,11$	0,70±0,28
Maljen	0,30±0,10	0,54±0,13	$0,49\pm0,05$	0,70±0,12
Ćićarija	$0,87\pm0,09$	0,13±0,04	$0,37\pm0,11$	0,08±0,02

### Prilog 8. Koncentracije malondialdehida u listovima N. kovatsii i N. praecox

r mazane su sieunje vieunosti i stanuarune uevijacije.											
Tretman	K	А	В	С							
Kopaonik	47,1±20,4	60,7±10,9	60,6±25,2	48,8±12,6							
Kablar	43,8±13,2	47,8±7,81	64,7±17,5								
Avala	62,2±12,1	49,9±17,9	25,0±1,96								

8.1 Koncentracija malondialdehida u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

8.2 Koncentracija malondialdehida u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

i induzane su srednje vrednosti i standardne de vijacije.										
Tretman	K	А	В	С						
Zlatibor	$18,5\pm0,48$	23,5±5,31	20,7±4,26	23,1±3,32						
Maljen	48,2±7,17	57,6±22,7	69,1±23,8	56,8±10,4						
Ćićarija	31,0±5,36	34,5±6,28	28,1±8,56	19,3±4,37						

### Prilog 9. Koncentracija prolina u listovima N. kovatsii i N. praecox

Tretman	K	А	В	С
Kopaonik	10,8±0,91	$7,46\pm0,45$	14,1±0,93	4,91±0,63
Kablar	124±14,9	6,31±2,33	38,4±2,79	
Avala	1,49±0,24	3,17±0,36	31,2±5,54	

9.1 Koncentracija prolina u listovima *N. kovatsii* sa lokaliteta Kopaonik, Kablar i Avala. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

9.2 Koncentracija prolina u listovima *N. praecox* sa lokaliteta Zlatibor, Maljen i Ćićarija. Prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije.

	K	А	В	С
Zlatibor	$1,85\pm0,25$	1,12±0,13	$1,43\pm0,1$	0,73±0,03
Maljen	9,31±2,38	4,26±0,58	0,95±0,09	2,61±0,05
Ćićarija	18,9±0,09	32,9±9,02	38,5±5,36	23,0±1,53

#### **BIOGRAFIJA AUTORA**

Tomica Mišljenović je rođen 08.07.1986. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu školu i gimnaziju. Na Biološkom fakultetu, smer Ekologija i zaštita životne sredine, je diplomirao 2013. godine sa prosečnom ocenom 9,20. Diplomski rad pod naslovom "Sadržaj osnovnih makroelemenata i odabranih teških metala u zemljištima i biljnim tkivima vrste *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) na serpentinitima Divčibara (Maljen, Srbija)" odbranio je sa ocenom 10.

Na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu je 2013. godine upisao doktorske studije na modulu Ekologija biljaka i fitogeografija. Od 2012. do 2017. godine je bio zaposlen kao rukovodilac Odeljenja za biologiju u Istraživačkoj stanici Petnica, a od 2017. godine je zaposlen kao asistent na Katedri za ekologiju i geografiju biljaka Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Bio je član komisije za odbranu pet master radova. Koautor je univerzitetskog udžbenika "Metalofite - biologija i primena u fitoremedijaciji", 8 radova u međunarodnim naučnim časopisima i 18 saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima. Učesnik je COST akcije CA19116, bilateralnog projekta sa Republikom Francuskom, a učestvovao je i u realizaciji 3 nacionalna projekta.

U periodu od 2015. do 2017. god. bio je predsednik studentske sekcije Društva za toksikologiju i hemiju životne sredine (SETAC Europe). Učestvovao je u izradi idejnog rešenja Zone 8 Linijskog parka u Beogradu. Od 2006. godine je angažovan kao stručni vodič u Botaničkoj bašti "Jevremovac", a održao je i veliki broj naučno-popularnih predavanja. Aktivno učestvuje u realizaciji takmičenja iz biologije u organizaciji Srpskog biološkog društva. Autor je emisije "Hoću da znam" Radio Beograda 2 posvećene popularnoj nauci.

Član je Srpskog društva za fiziologiju biljaka i Srpskog biološkog društva.

### Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Томица Д. Мишљеновић број индекса Е 3009/2013

#### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Биоакумулација потенцијално токсичних метала и физиолошки одговори на садржај никла код врста *Noccaea kovatsii* и *N. praecox* (Brassicaceae) са различитих геолошких подлога

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду, \_\_\_\_\_

Потпис докторанда

Прилог 2.

# Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора <u>Томица Д. Мишљеновић</u> Број индекса <u>Е 3009/2013</u> Студијски програм <u>Екологија / Екологија биљака и фитогеографија</u> Наслов рада <u>Биоакумулација потенцијално токсичних метала и физиолошки одговори на</u> садржај никла код врста *Noccaea kovatsii и N. praecox* (Brassicaceae) са различитих геолошких подлога

Ментори проф. др Гордана Томовић, редовни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др Ксенија Јаковљевић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду,

Биолошки факултет

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, \_\_\_\_\_

Потпис докторанда

### Прилог 3.

# Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку "Светозар Марковић" да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Биоакумулација потенцијално токсичних метала и физиолошки одговори на садржај никла код врста *Noccaea kovatsii* и *N. praecox* (Brassicaceae) са различитих геолошких подлога

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3) Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, \_\_\_\_\_

Потпис докторанда

**1. Ауторство -** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

**2. Ауторство** – **некомерцијално** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

**3. Ауторство - некомерцијално – без прераде.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

**4. Ауторство - некомерцијално** – **делити под истим условима.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

**6.** Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.