

UNIVERZITET U BEOGRADU
ŠUMARSKI FAKULTET

Danijela M. Đunisijević Bojović

UTICAJ KONCENTRACIJE OLOVA I
KADMIJUMA U ZEMLJIŠTU NA RAZVOJ
DRVENASTIH BILJAKA

Doktorska disertacija

Beograd, 2013

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF FORESTRY

Danijela M. Đunisijević Bojović

THE EFFECTS OF LEAD AND CADMIUM
CONCENTRATION IN THE SOIL ON
WOODY PLANTS DEVELOPMENT

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

Mentor:

dr Matilda Đukić, redovni profesor

Univerziteta u Beogradu - Šumarskog fakulteta

Članovi komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

dr Matilda Đukić, redovni profesor

Univerziteta u Beogradu - Šumarskog fakulteta,

dr Radmila Stikić, redovni profesor

Univerziteta u Beogradu – Poljoprivrednog fakulteta,

dr Mihailo Grbić, redovni profesor

Univerziteta u Beogradu – Šumarskog fakulteta,

dr Vuk Maksimović, viši naučni saradnik

Univerziteta u Beogradu – Instituta za multidisciplinarna istraživanja,

dr Snežana Belanović, vanredni profesor

Univerziteta u Beogradu - Šumarskog fakulteta.

Uticaj koncentracije olova i kadmijuma u zemljištu na razvoj drvenastih biljaka

Rezime

Olovo i kadmijum spadaju u neesencijalne elemente koji u vrlo niskim koncentracijama mogu da deluju toksično kako na biljke tako i na živi svet uopšte. Interakcija između toksičnih teških metala i biljaka je od zanačaja za ekološku stabilnost ekosistema. Adaptivne strategije biljaka na povećane koncentracije teških metala su različite. Biljke su razvile složene mehanizme koji kontrolišu usvajanje i akumulaciju teških metala kao i detoksikaciju.

Cilj ovog rada je utvrđivanje uticaja olova i kadmijuma na rano razviće drvenastih vrsta *Acer negundo* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, *Platanus × acerifolia* (Aiton) Willd., *Betula pendula* Roth i procena adaptabilnosti ovih vrsta u ranim stadijumima razvića na povećane koncentracije olova i kadmijuma. Kod vrsta kod kojih je utvrđena najveća adaptabilnost nastavljena su dalja istraživanja čiji je cilj bio utvrđivanje akumulacije olova i kadmijuma u korenu i listovima. Istraživan je uticaj najčešćih nutritivnih poremećaja na karbonatnim zemljištima (nedostatak pristupačnog gvožđa) na akumulaciju olova i kadmijuma u biljkama, zatim uticaj na eksudaciju organskih kiselina iz korena u rizosferu i značaj organskih kiselina u mobilizaciji ovih teških metala iz kontaminiranih zemljišta. Utvrđen je i uticaj olova i kadmijuma na parametre indukcije fluorsecencije hlorofila i koncentracije fotosintetičkih pigmenata. Za potrebe ovih istraživanja pored zemljišne kulture uspešno je uspostavljena i hidroponska kultura radi detaljnije analize fizioloških mehanizama vrsta *Acer negundo* i *Ailanthus altissima*.

Kod biljaka iz zemljišne kulture najveću adaptabilnost pri kontaminaciji zemljišta olovom i kadmijumom, na osnovu analize biomase nadzemnog dela i korena, su pokazale biljke *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* poreklom sa matičnih stabala sa lokaliteta na kome su izmerene najveće koncentracije olova i kadmijuma u površinskom sloju zemljišta u odnosu na

ostale analizirane lokalitete. Na ovom lokalitetu koncentracija kadmijuma premašuje granične vrednosti dok je koncentracija olova bila višestruko veća. Kod biljaka *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula* iz zemljišne kulture kontaminacija zemljišta je izazvala značajno smanjenje biomase korena i nadzemnog dela u odnosu na kontrolne biljke. Najveće koncentracije oksalne, citratne, malatne, sukcinatne i laktatne kiseline u eksudatima korena biljaka iz zemljišne kulture su izmerene kod biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u nekontaminiranom zemljištu. Kod biljaka koje su gajene u prisustvu olova ili kadmijuma koncentracija kiselina je značajno smanjena u odnosu na kontrolu. Kod biljaka *Acer negundo* nije bilo značajnih razlika u koncentraciji organskih kiselina u eksudatima korena između biljaka gajenih u kontaminiranom zemljištu i kontrolnih biljaka.

Fiziološki odgovori indukovani izlaganjem biljaka *Ailanthus altissima* nedostatku gvožđa - višestruko povećana Fe(III) reduktazna aktivnost korena i povećana eksudacija citratne kiseline u odnosu na kontrolne biljke, ukazuju da ova vrsta verovatno ima kapacitet za efikasnu mobilizaciju gvožđa iz rizosfere. Prisustvo olova ili kadmijuma u hranljivom rastvoru u koncentraciji od 20 μM smanjuje Fe(III) reduktaznu aktivnost korena biljaka *Ailanthus altissima* indukovanu nedostatkom gvožđa, dok kod gvožđem obezbeđenih biljaka, olovo i kadmijum nisu uticali na Fe(III) reduktaznu aktivnost korena. Kod biljaka *Ailanthus altissima* olovo u koncentraciji od 20 i 50 μM je dovelo do povećanja koncentracije hlorofila *b* u odnosu na kontrolne biljke dok kod biljaka *Acer negundo* nije uočeno povećanje koncentracije hlorofila *b*. U interakciji olova sa nedostatkom gvožđa, kod biljaka *Ailanthus altissima*, došlo je do smanjenja koncentracije hlorofila *a*. Kadmijum je pri koncentraciji od 50 μM doveo do smanjenja koncentracije hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i karotenoida, kao i odnosa hlorofila *a* i *b* kod ove vrste. Kod biljaka *Acer negundo* je uočen sličan efekat.

Negativan uticaj kadmijuma na aktivnost fotosistema II kod biljaka *Ailanthus altissima*, izloženih nedostatku gvožđa, je izraženiji nego efekat olova. Kod biljaka obezbeđenih potrebnim nutrijentima negativan uticaj olova

i kadmijuma na merene parametre indukcije fluorescencije hlorofila je bio manje izražen. U hidroponskom eksperimentalnom sistemu, gde su tretmani olovom i kadmijumom primenjeni u dužem vremenskom intervalu, akumulacija olova u biljkama *Ailanthus altissima* je bila veća, u uslovima obezbeđenosti svim esencijalnim nutrijentima u odnosu na biljke izložene nedostatku gvožđa, dok u eksperimentima sa kadmijumom nije uočen ovaj efekat. Takođe, uočeno je da nedostatak gvožđa kod biljaka *Ailanthus altissima* utiče na povećanu akumulaciju cinka. Kod biljaka *Acer negundo* nije uočen ovaj efekat.

Prikazani rezultati ovih istraživanja, posebno interakcijski efekti ispitivanih metala, mogu imati značaja za unapređenje metoda fitoremedijacije. Dalja istraživanja treba usmeriti ka unapređenju eksperimentalnih sistema za istraživanje rizosfernih interakcija kao i ispitivanju njihovog značaja u fitoremedijaciji zemljišta urbanih i šumskih ekosistema.

Ključne reči: olovo, kadmijum, eksudati korena, organske kiseline, aktivni transport, fotosintetički pigmenti, fotosintetička efikasnost

Naučna oblast: Biotehnika

Uža naučna oblast: Pejzažna arhitektura i hortikultura

UDK broj: UDK 630*114 (043.3)

The effects of lead and cadmium concentration in the soil on woody plants development

Summary

Lead and cadmium are the non-essential elements which in very low concentrations may have toxic effects to the plant as well as to the wildlife in general. The interaction between toxic heavy metals and plants is significant for the ecological stability of ecosystems. Adaptive strategies of plants to elevated concentrations of heavy metals are different. Plants have evolved very complex mechanisms that control the uptake and accumulation of heavy metals and detoxification.

The aim of this study was to determine the effects of lead and cadmium on early development of woody species *Acer negundo* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Sw., *Platanus x acerifolia* Aiton/Willd., *Betula pendula* Roth and assesment of adaptibility of these species in the early stages of development under increased concentrations of lead and cadmium.

With the most adaptable species in early stages of development were conducted further studies aimed at determining the accumulation of lead and cadmium in roots and leaves. The effect of the most common nutritional disorder in carbonated soils (lack of available iron) on the accumulation of lead and cadmium in plants was investigated, as well as, the impact on the exudation of organic acids from the roots in the rhizosphere and the importance of organic acids in the mobilization of the heavy metals from contaminated soils. The influence of lead and cadmium on photosynthetic efficiency and concentration of photosynthetic pigments were also tested. For the purposes of this study, in addition to soil culture, hydroponic culture of *Acer negundo* and *Ailanthus altissima* were successfully established.

Based on indicators of shoot and root biomass production, the greatest adaptability in conditions of lead and cadmium contaminated soils, among the tested species, showed *Ailanthus altissima* and *Acer negundo* plants

originated from the mother trees grown on the localities where the highest concentrations of lead and cadmium were measured in the top soil layer, compared to other localities. At this site, the concentration of cadmium exceeds the limit values and the concentration of lead was much higher. In plants of *Platanus x acerifolia* and *Betula pendula* from the soil culture, contamination caused a significant reduction in biomass of root and shoot, compared to control plants.

The highest concentrations of oxalic, citric, malate, succinic and lactic acids in root exudates of plants grown in soil culture, were measured in control plants of *Ailanthus altissima*. In plants that were grown in the presence of lead or cadmium, concentration of acids was significantly reduced, compared to the control plants. In *Acer negundo* plants, no significant difference in the concentration of organic acids in root exudates between plants grown in contaminated soil and control.

Physiological responses induced by exposing *Ailanthus altissima* plants to lack of iron - multiplied Fe (III) reductase activity and increased root exudation of citric acid, compared to control plants, indicating that this species probably has the capacity for effective mobilization of iron from the rhizosphere.

The presence of lead or cadmium in the nutrient solution at a concentration of 20 μM reduced Fe (III) reductase activity of the roots of *Ailanthus altissima* induced by iron deficiency, but in plants provided by iron, lead and cadmium had no effect on Fe (III) reductase activity in roots. In *Ailanthus altissima* plants, lead in concentrations of 20 and 50 μM led to an increase in the concentration of chlorophyll *b* compared to control plants, while in *Acer negundo* plants was not observed increased concentrations of chlorophyll *b*. Because of the interaction of lead with iron deficiency in *Ailanthus altissima* plants, there was a decrease in the concentrations of chlorophyll *a*. Cadmium at a concentration of 50 μM caused a reduction in the concentration of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophylls and

carotenoids, as well as chlorophyll *a* and *b* ratio, in this species. In *Acer negundo* plants was observed a similar effect.

The negative effect of cadmium on the activity of photosystem II in *Ailanthus altissima* plants exposed to iron deficiency was stronger than the effect of lead.

In plants provided with the necessary nutrients, negative impact of lead and cadmium on the measured parameters of chlorophyll fluorescence induction, was less pronounced. In the experimental hydroponic system, where the lead and cadmium treatments were applied over a longer period of time, the accumulation of lead and cadmium in *Ailanthus altissima* plants was higher, in terms of provision of all essential nutrients, compared to plants exposed to iron deficiency. It was also noted that iron deficiency affects the increased accumulation of zinc. *Acer negundo* plants have not shown this effect.

The presented results of this study, particularly interaction effects of the investigated metals, may be important for the improvement of phytoremediation methods. Further research should be aimed at improving the experimental system to explore interactions in rhizosphere and testing their significance in phytoremediation of soils in urban and forest ecosystems.

Key words: lead, cadmium, root exudates, organic acids, active transport, photosynthetic pigments, photosynthetic efficiency

Scientific field: Biotechnology

Major in: Horticulture and Landscape Architecture

UDK broj: UDK 630*114 (043.3)

Sadržaj

1.Uvod	1
1.1. Adaptivne strategije viših biljaka na povećane koncentracije teških metala	3
1.2. Značaj aktivnog transporta esencijalnih elemenata za akumulaciju olova i kadmijuma	10
1.3. Fiziološki procesi koji prethode eksudaciji karboksilnih kiselina iz korena u rizosferu	13
1.4. 1.4. Opis vrsta korišćenih u istraživanju	18
1.4.1. <i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	18
1.4.2. <i>Acer negundo</i> L.	20
1.4.3. <i>Platanus × acerifolia</i> (Aiton) Willd	23
1.4.4. <i>Betula pendula</i> Roth	24
2. Cilj rada	26
3. Materijal i metod	27
3.1. Analiza zemljišta	27
3.2. Kontaminacija zemljišta i ekstrakcija Pb i Cd iz kontaminiranog zemljišta primenom karboksilnih kiselina	30
3.3. Biljni materijal	31
3.4. Uticaj olova i kadmijuma na klijanje i rano razviće klijavaca	32
3.5. Zemljišna kultura	34
3.6. Hidroponska kultura	34
3.7. Vizuelna dijagnoza simptoma nedostatka esencijalnih elemenata i simptoma toksikacije olovom i kadmijumom.	36
3.8. Određivanje električne konduktivnosti i pH vrednosti	

hranljivog rastvora	37
3.9. Određivanje Fe(III) reduktazne aktivnosti intaktnog korena	37
3.10. Procedura uzorkovanja eksudata korena	37
3.11. Određivanje koncentracije organskih kiselina u eksudatima korena	38
3.12. Određivanje koncentracije fotosintetičkih pigmenata u listovima	38
3.13. Određivanje parametara indukcije fluorescencije hlorofila	39
3.14. Određivanje koncentracije hemijskih elemenata u biljnom tkivu	40
3.15. Statistička analiza podataka	40
4. Rezultati	42
4.1. Osnovna fizička i hemijska svojstva zemljišta i koncentracije mikroelemenata u zemljištu	42
4.1.1. Osnovna fizička i hemijska svojstva zemljišta sa lokaliteta matičnih stabala	42
4.1.2. Analiza sadržaja mikroelemenata u zemljištu na lokalitetima matičnih stabala	44
4.1.3. Osnovna fizička i hemijska svojstva zemljišta korišćenog u zemljišnoj kulturi	51
4.1.4. Analiza sadržaja mikroelemenata u zemljištu korišćenom u zemljišnoj kulturi	51
4.2. Uticaj olova i kadmijuma na klijanje semena i rano razviće biljaka i biomasu biljaka iz zemljišne kulture.	54
4.2.1. Uticaj olova i kadmijuma u zemljištu na biomasu biljaka	54
4.2.1 Uticaj olova i kadmijuma na klijanje semena i rano razviće analiziranih biljaka	63
4.3. Eksudacija organskih kiselina iz korena	68
4.3.1. Eksudacija organskih kiselina iz korena (zemljišna kultura)	68
4.3.2 Uticaj oksalne i citratne kiseline na ekstrakciju mikroelemenata iz kontaminiranog i nekontaminiranog zemljišta	77
4.3.2.1. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji	

od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Cd iz kontaminiranog zemljišta	77
4.3.2.2. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Pb iz kontaminiranog zemljišta	81
4.3.2.3. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Cu i Zn i zemljišta	83
4.3.2.4. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Mn i Fe iz zemljišta	85
4.3.3. Eksudacija organskih kiselina (hidroponska kultura)	87
4.4. Uticaj Cd i Pb na Fe(III) reduktaznu aktivnost korena biljaka <i>Ailanthus altissima</i>	93
4.5. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata	95
4.5.1. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata u listovima biljaka <i>Ailanthus altissima</i>	95
4.5.2. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata u listovima biljaka <i>Acer negundo</i>	97
4.6. Uticaj Pb i Cd na parametre indukcije fluorescencije hlorofila u listovima biljaka <i>Ailanthus altissima</i>	107
4.6.1. Uticaj Pb na parametre indukcije fluorescencije hlorofila	107
4.6.2. Uticaj Cd na parametre indukcije fluorescencije hlorofila	110
4.6.3. Uticaj Pb i Cd na fotosintetičku efikasnost kod biljaka obezbeđenih gvožđem i kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa	113
4.7. Akumulacija olova i kadmijuma u biljkama <i>Ailanthus altissima</i> i <i>Acer negundo</i>	115
4.7.1. Akumulacija Pb u korenu i nadzemnom delu biljaka <i>Ailanthus altissima</i> za 24 sata pri pH vrednosti hranljivog rastvora od 5,5 i 8	115
4.7.2. Akumulacija olova pri nedostatku gvožđa kod biljaka <i>Ailanthus altissima</i> u dvonedeljnim tretmanima	123
4.7.3. Akumulacija olova u biljkama <i>Acer negundo</i> pri nedostatku gvožđa u dvonedeljnim tretmanima	125
5. Diskusija	134

5.1. Uticaj olova i kadmijuma na klijanje semena , rano razviće i biomasu biljaka iz zemljišne kulture	134
5.2. Eksudacija karboksilnih kiselina iz korena i ekstrakciona efikasnost	136
5.3. Fe(III) redukrazna aktivnost u korenu	140
5.4. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata i parametre indukcije fluorescencije hlorofila	142
5.5. Akumulacija olova i kadmijuma u biljkama	145
6. Zaključci	147
7. Literatura	150

1.Uvod

Teški metali se ubrajaju u najrasprostranjenije zagađivače zemljišta, voda i šire životne sredine. Njihova toksičnost je sve značajniji problem, u ekološkom, nutritivnom i evolucionom kontekstu (Benavides, 2005). Nakupljanje ovih metala u gornjim slojevima zemljišta predstavlja potencijalnu opasnost za zdravlje ljudi, rast i razviće biljaka tj. živi svet uopšte (Kastori et al., 2006). Uklanjanje teških metala iz kontaminiranih zemljišta je jedan od najznačajnijih izazova očuvanja životne sredine. Postoji više strategija remedijacije zemljišta kao što je upotreba sintetičkih i prirodnih helatora, upotreba mikroorganizama, prvenstveno za degradaciju organskih polutanata, kao i upotreba viših biljaka – fitoremedijacija.

Određen broj biljnih vrsta efikasno akumulira teške metale (hiperakumulatori), pa se ove vrste preporučuju za fitoekstrakciju, ali obično, imaju malu produkciju biomase (Chang et al., 2003). Brzorastuće vrste koje proizvode veliku biomasu, čak i na nutritivno siromašnim zemljištima, takođe, imaju potencijal za korišćenje u fitoremedijaciji (Pan & Bassuk, 1986). Među njima najveću primenu u fitostabilizaciji oštećenih zemljišta našle su drvenaste vrste (Mertens et al., 2007; Dožić et al., 2010).

Najvažniji izvori zagađenja olovom i kadmijumom su urbani saobraćaj, sistemi za grejanje, metalna industrija (Benavides, 2005). Povećane koncentracije olova i kadmijuma su uobičajene za urbano zagađenje s obzirom da najveće količine Cd dospevaju u zemljište, iz atmosfere, emisijom izduvnih gasova. Komunalno zemljište u zoni uticaja autoputeva i drugih magistralnih saobraćajnica kontaminirano je prvenstveno olovom i kadmijumom, ali i drugim teškim metalima (Cui, 2006; Shi, 2008). Kadmijum i olovo spadaju u veoma toksične materije, opasne za zdravlje ljudi (Sanita` di Toppi, & Gabrielli, 1999). Sadržaj kadmijuma u taložnoj prašini u toku 2000. godine je na nekoliko mernih mesta u Beogradu prešao granicu dozvoljenih vrednosti za 56,43% (Matić-Besarabić et al., 2007). Za urbano zagađenje zemljišta

karakteristične su i povećane koncentracije cinka, bakra i arsena, dok se u Beogradu najčešće uočavaju povećane koncentracije nikla, kao posledica same geološke podloge na kojoj su formirana zemljišta Beograda (Pajić, 2005; Matić-Besarabić et al., 2007).

Biljne vrste se značajno razlikuju po sposobnosti nakupljanja i distribucije teških metala. Ovi metali inhibiraju aktivnost velikog broja enzima, remete metabolizam biljke, utičući na fotosintezu, disanje, dostupnost i usvajanje esencijalnih mineralnih elemenata i druge brojne fiziološke procese (Siedlecka, 1995).

Pored značajnih razlika u sposobnosti akumulacije i distribucije teških metala, stepen tolerancije na prisustvo teških metala u zemljištu varira od vrste do vrste. Pretpostavlja se da je tolerantnost prema suvišku teških metala stečena tokom filogeneze ili predstavlja adaptaciju na stres (Kastori et al., 2006). Primena biljaka u remedijaciji kontaminiranih zemljišta i voda spada u ekološki opravdane metode i sve češće nalazi svoju primenu.

Acer negundo L. (pajavac) i *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (kiselo drvo) su često zastupljeni u urbanim zelenim prostorima Beograda gde se spontano javljaju, posebno na površinama koje se ne održavaju dovoljno intenzivno (Grbić, 2007). Ove vrste se spontano šire na degradiranim zemljištima i pored saobraćajnica. Nalaze na Evropskoj listi invazivnih organizama (EEA, 2007). Vrste *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. (javorolisni platan), *Betula pendula* Roth (breza) spadaju među najzastupljenije ukrasne drvenaste vrste u urbanim zelenim prostorima Beograda. Ove vrste su se pokazale kao otporne na stresne uslove kao što su suša, aerozagađenje, salinitet, ekstremne temperature i biotički stres (Đukić, 1999). To su razlozi zbog kojih se koriste u pejzažnoj arhitekturi i hortikulturi, posebno na mestima gde su izraženi nepovoljni činioci životne sredine, kao što su zeleni prostori pored saobraćajnica, skverova, industrijske i rubne zone gradova (Vujković et al., 2003).

1.1. Adaptivne strategije viših biljaka na povećane koncentracije teških metala

Interakcija između toksičnih teških metala i biljaka je od zanačaja za ekološku stabilnost ekosistema i smanjenje rizika od njihovog ulaska u lanac ishrane. Biljke su razvile složene mehanizme koji kontrolišu usvajanje i akumulaciju teških metala kao i detoksikaciju (Benavides, 2005).

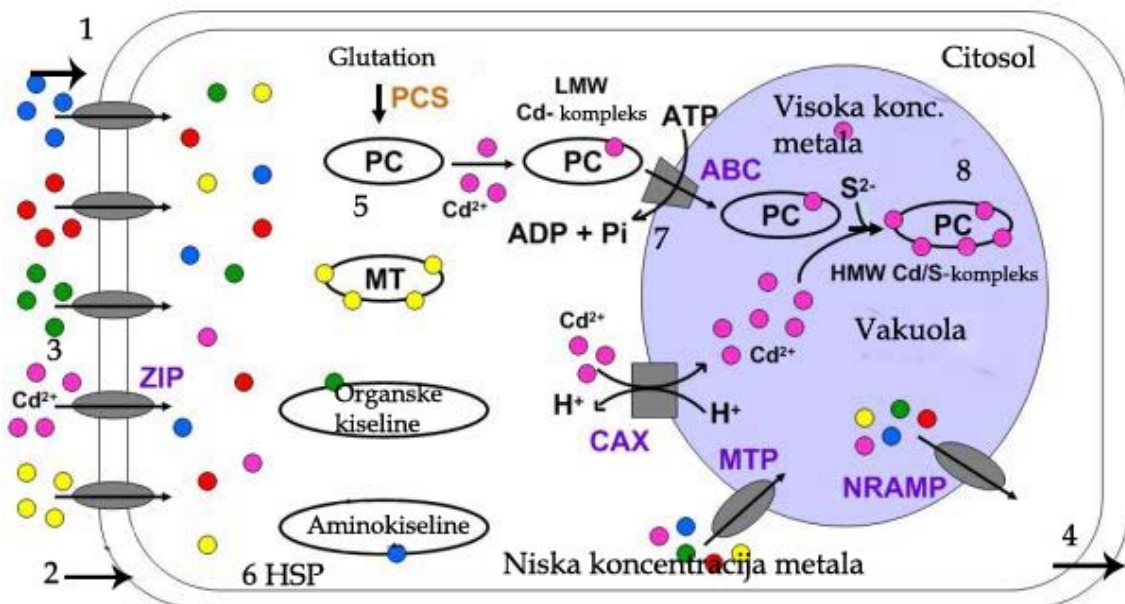
Mehanizmi koji omogućavaju biljkama tolerantnost mogu biti konstitutivni i indukovani (adaptivni). U istraživanju tolerancije biljaka prema teškim metalima od velikog je značaja razlikovanje ova dva tipa mehanizama tolerancije (Meharg, 1994). Adaptivne strategije biljaka na povećane koncentracije teških metala su različite. Hiperakumulacija teških metala je jedna od adaptivnih strategija, međutim, uočena je kod manjeg broja biljnih vrsta. Ekotipovi koji su adaptirani na povećane koncentracije Zn usvajaju manje količine od onih koji nisu adaptirani (Alloway, 1995). Suprotno pokazuju podaci dobijeni u eksperimentima na populacijama *Typha latifolia* L. (Ye et al., 1997), gde je utvrđeno da tolerantnost na povećane koncentracije Zn, Pb i Cd omogućavaju konstitutivni mehanizmi.

Do sada su jasno utvrđene dve osnovne adaptivne strategije na povećane koncentracije teških metala:

- izbegavanje usvajanja teških metala (*metal exclusion*)
- akumulacija teških metala, u kompartmentima, u kojima ne ugrožavaju metabolizam biljke (Meharg, 2005).

Izbegavanje stresa teških metala je omogućeno povećanim rastom korena u dubinu, do slojeva u kojima teški metali nisu prisutni u većim koncentracijama, zatim eksudacijom helatora, formiranjem mikoriznih asocijacija, akumulacijom jona u ćelijskom zidu i apscisijom pojedinih organa (Stikić & Jovanović, 2012). Kompartimentacija podrazumeva akumulaciju u vakuoli koja je omogućena aktivnošću membranskih transportera kao što su

MTP (*metal tolerance protein*) i NRAMP (Natural Resistance Associated Macrophage Protein) i stvaranjem helatnih kompleksa u vakuoli (Yang & Chu, 2011; Stikić & Jovanović, 2012).



Slika 1. Mehanizmi tolerancije i detoksikacije teških metala kod ćelija viših biljaka. Modifikovan prikaz prema Yang & Chu (2011).

Legenda:

1. Ektomikorizna barijera ograničava kretanje metala
2. Adsorpcija teških metala na ćelijskom zidu ili formiranje kompleksa sa eksudatima korena u apoplastu
3. Selektivna propustljivost ćelijske membrane tj. uloga aktivnog transporta
4. Aktivni transport iz citosola u apoplast
5. Kompleksacija u citosolu sa različitim ligandima
6. Regeneracija i zaštita ćelijske membrane od oštećenja izazvanih teškim metalima (povećana sinteza proteina temperaturnog šoka (HSP- *heat shock proteins*))
7. Formiranje helatnih kompleksa (organske kiseline, aminokiseline, glutation, metalotionini) i transport u vakuolu
8. Akumuliranje teških metala u vakuoli (kompartimentacija)

Visoke koncentracije esencijalnih mikroelemenata i neesencijalnih elemenata (kadmijum, srebro, arsen, olovo, živa) u citosolu dovode do niza poremećaja u metabolizmu jer dolazi do interakcije sa velikim brojem biomolekula. Zbog ovoga, za biljku je od velikog značaja kontrola koncentracije mikroelemenata u citosolu. Ovo biljke obezbeđuju na različite načine: regulacijom usvajanja jona; detoksikacijom: kompleksacijom - fitohelatini (Bayçu,1998, Cobbett, 2000), karboksilne kiseline (Sarret et al.,2002), glutation i transformacije i intracelularnom kompartmentacijom u vakuolama i citosolu ćelija koje imaju limitirane metaboličke funkcije (Slika 1). Smatra se da fitohelatini nisu odgovorni za indukovanu rezistentnost tj. predstavljaju deo konstitutivne, pre nego indukovane rezistentnosti (Ebbs et al., 2002; Schat et al., 2002). Primer za adaptivni mehanizam izbegavanja usvajanja teških metala je oslobađanje karboksilata koji će omogućiti stvaranje kompleksa sa teškim metalima, kod genotipova rezistentnih na njihovo prisustvo (Kochian et al., 2005). Korenovi, koji na promenu pH vrednosti zemljišta, reaguju oslobađanjem uglavnom citrata ili uglavnom malata odgovaraju, takođe, na neki drugi faktor koji je usko povezan sa promenom pH vrednosti (Veneklaas et al., 2003). Zemljišta u kojima se uočavaju visoke koncentracije teških metala su uglavnom degradirana, a sadržaj neophodnih mineralnih materija limitiran. Na takvim zemljištima biljke razvijaju različite adaptivne strategije među kojima je formiranje "klaster" korenova čija je uloga upravo izlučivanje veće količine organskih kiselina. Visoka koncentracija ovih jedinjenja u rizosferi omogućava biljkama da je značajno modifikuju (Lambers & Colmer, 2005).

Tolerantnost biljaka na visoke koncentracije teških metala često se objašnjava taloženjem citrata, malata ili oksalata metala, u zavisnosti od biljne vrste, zahvaljujući eksudatima korena, koji se uglavnom sastoje od ovih i drugih organskih kiselina (Meharg, 2005). Ne treba zanemariti činjenicu da neki fizičko-hemijski parametri zemljišta, kao što su pH vrednost, kapacitet izmene katjona, ukupni organski ugljenik, kao i granulacija zemljišta mogu uticati na

dostupnost kadmijuma i olova i njihovu akumulaciju u biljci (Sanita` di Toppi, & Gabbrielli, 1999).

Olovo i kadmijum spadaju u neesencijalne mikroelemente koji negativno utiču na rastenje i razviće biljaka. Ovi toksični metali smanjuju intenzitet fotosinteze kroz inhibiciju elektronskog transporta, što posledično dovodi i do smanjenja biomase. Najčešći simptomi koji se javljaju kod biljaka kontaminiranih kadmijumom su: uvijanje listova, hloroza, smanjen porast korena i izdanaka što je prouzrokovano smanjenim izduživanjem ćelija, posebno stabla, usled ireverzibilne inhibicije protonskih pumpi kadmijumom, a koje učestvuju u ovom procesu (Schat et al., 2002).

Kadmijum, takođe, utiče na vodni balans, dolazi do smanjenja ukupnog hlorofila i karotenoida, inhibira oksidativnu fosforilaciju u mitohondrijama, inhibira otvaranje stoma, značajno smanjuje razmenu H^+/K^+ jona i membransku aktivnost ATPaze. Bitno utiče na nekoliko enzima, najčešće smanjujući njihovu aktivnost (glukoza-6-fosfatne dehidrogenaze, glutamat dehidrogenaze, izocitratne dehidrogenaze, itd), tj. dolazi do pojave oksidativnog stresa (Sanita` di Toppi & Gabbrielli, 1999). Pretpostavlja se da pri visokim koncentracijama kadmijuma dolazi do supstitucije jona Zn jonima Cd u "cinkovim prstima" (*Zn fingers*) koji predstavljaju koordinatne komplekse jona cinka i aminokiselinskih ostataka cisteina i histidina. Na taj način Cd ometa transkripcione mehanizme, čime se objašnjava teratogeni i mutageni efekat kadmijuma (Sanita` di Toppi & Gabbrielli, 1999).

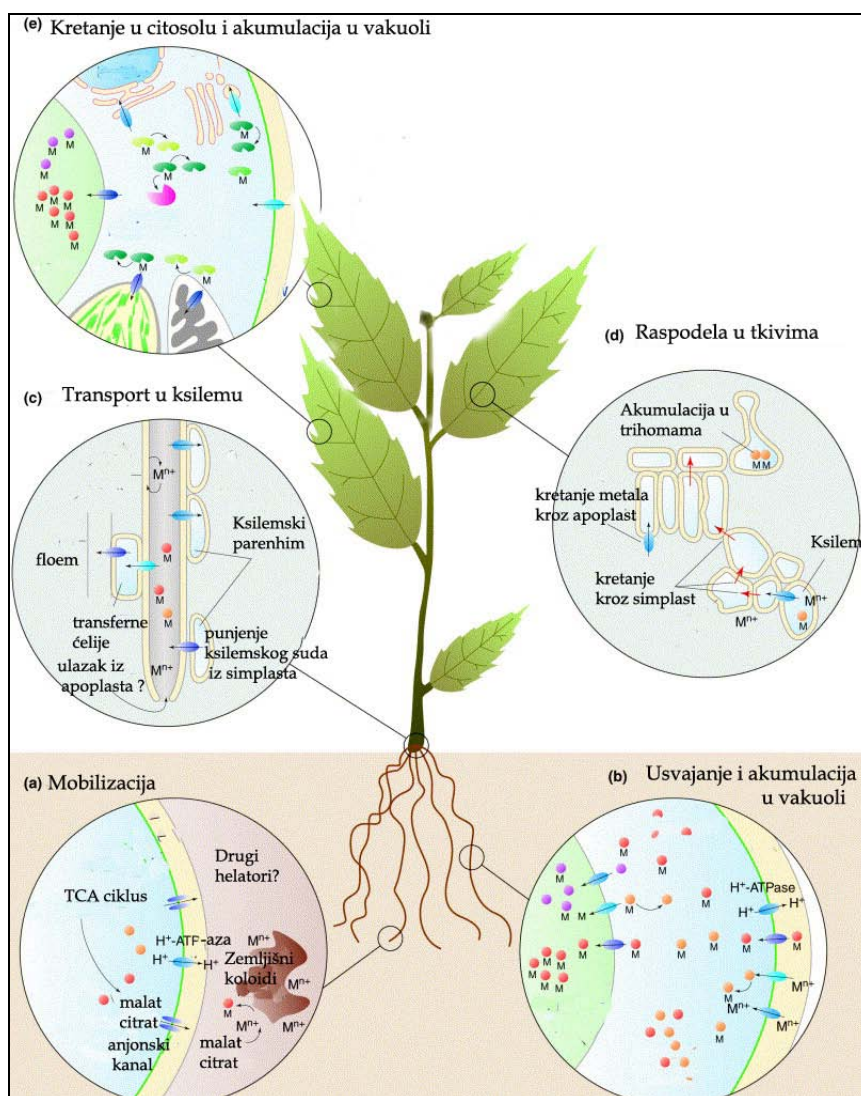
Dosadašnja istraživanja nisu pokazala korelaciju između akumulacije fitohelatina i tolerancije na Cd (Schat et al. 2002), dok se karboksilne kiseline smatraju potencijalnim ligandima u transportu kadmijuma kroz ksilem i sekvestriranju u vakuoli, a citratna kiselina, glavnim Cd^{2+} ligandom pri niskim koncentracijama kadmijuma (Wagner, 1993; Clemens, 2001). Takođe, utvrđeno je da stres, izazvan kadmijumom, kod *Lactuca sativa* L. i *Lupinus albus* L. dovodi do povećanja nivoa asparagina u eksudatima korena, što se objašnjava disfunkcijom membrana pri koncentraciji Cd iznad $1 \mu M$, pre nego specifičnim

mehanizmom povećanja nivoa aminokiseline koja bi imala ulogu helatora jona Cd (Costa et al., 1997). Mehanizmi koji sprečavaju ulazak Cd u citosol tj. mehanizmi izbegavanja usvajanja kadmijuma "*Cd exclusion*" nisu dovoljno istraženi (Sanita` di Toppi, & Gabbrielli, 1999).

Kod biljaka koje su izložene visokim dozama olova dolazi do pojave simptoma toksikacije kao što su zakrčljao rast, hloroza, tamnija boja korenovog sistema i brza inhibicija rasta korenova. Olovo inhibira fotosintezu, dolazi do poremećaja u mineralnoj ishrani i vodnom balansu, utiče na hormonski status, oštećuje strukturu i permeabilnost membrana, izaziva oksidativni stres kod biljaka, inhibira aktivnost enzima koji sadrže sulfhidrilne grupe (-SH), itd. (Sharma & Dubey, 2005). Fluorescencija hlorofila je dobar indikator efikasnosti fotosintetskog aparata *in situ* (Bjorkman & Demmig, 1987) i takođe, mera odgovora biljke na različite stresne činioce među kojima je i uticaj olova i kadmijuma (Bohlar - Nordenkampf, 1989, Chreiber et al., 1995, Capelo et al., 2012). Parametar $T_{1/2}$ (poluvreme potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije) pokazuje mogućnost plastohinon kompleksa da prihvata elektrone sa fotosistema II (PSII) (Judy et al., 1990, Krause & Weis, 1991, Sgardelis et al., 1994). Pored ovog parametra, koriste se i drugi pokazatelji induktivne fluorescencije hlorofila kao što su F_0 - minimalna fluorescencija; F_m - maksimalna fluorescencija; $F_v = F_m - F_0$ - varijabilna fluorescencija; i F_v/F_m - fotosintetička efikasnost za procenu aktivnosti fotosistema II pri povećanim koncentracijama teških metala (Sgardelis et al., 1994).

Olovo i kadmijum, takođe, inhibiraju klijanje semena i razviće klijavaca. Dolazi do smanjenja procenta klijanja, odnosa dužine koren/nadzemni deo kao i suve mase korena i nadzemnog dela (Farooq et al., 2009). Olovo se vezuje za karboksilne grupe mukoznih uronskih kiselina koje se često nalaze na površini korena. Ovo onemogućava ulazak Pb u koren i smatra se vrlo značajnom barijerom koja omogućava izbegavanje usvajanja olova. Međutim, biodegradacijom ovog mukoznog sloja dolazi i do oslobađanja olova (Sharma and Dubey, 2005). Generalno, kapacitet biljke da izbegne usvajanje olova zavisi

od više faktora, prvenstveno od efikasnosti imobilizacije Pb u rizosferi, kapaciteta vezivanja jona olova za -COOH grupe uronskih kiselina, od precipitacije u vidu oksalata itd. Mehanizmi detoksikacije podrazumevaju sekvestriranje u vakuoli, vezivanje olova za fitohelatine, glutation, organske kiseline i aminokiseline (Slika 1). Dalja istraživanja tolerancije biljaka zahtevaju određivanje parametara vezanih za izbegavanje usvajanja olova i detoksikaciju, što bi doprinelo selekciji tolerantnih genotipova (Sanita` di Toppi, & Gabrielli, 1999).



Slika 2. Molekularni mehanizmi uključeni u proces usvajanja, translokacije i akumulacije metala (M) u biljkama, prema Clemens et al. (2002).

Mehanizmi usvajanja i distribucije teških metala u biljkama su vrlo kompleksni (Slika 2). Na mobilizaciju jona metala utiče eksudacija helatora iz korena kao i acidifikacija rizosfere (Slika 2a). Usvajanje jona i metal-helator kompleksa je regulisano različitim sistemima aktivnog transporta. U ćeliji dolazi do heliranja metalnih jona kao i do akumulacije viška u vakuoli (Slika 2b). Teški metali se iz korena transportuju u ksilem. Verovatno se transport do ksilema vrši preko simplasta korena, dok je transport kroz apoplast značajniji pri samom vrhu korena. U ksilemu se metali nalaze kao hidratizirani joni ili kao metal-helator kompleksi (Slika 2c). Kada metali dospeju u apoplast lista dolazi do preraspodele u različitim tipovima ćelija, gde se metali kreću od ćelije do ćelije preko plazmodezmi (Slika 2d), dok se veće koncentracije uglavnom akumuliraju u trihomima. Intracelularna distribucija esencijalnih metala je regulisana preko transportera koji se nalaze na membranama (Slika 2e).

Olovo spada u grupu teških metala koji se uglavnom akumuliraju u korenu (Meyers Donald et al., 2008), dok je akumulacija u nadzemnom delu veoma mala, za razliku od kadmijuma koji se lakše translocira (Siedlecka, 1995). Nemetabolički mehanizmi usvajanja kadmijuma su adsorpcija na površini korena, kojoj prethodi primarna akumulacija Cd na ćelijskim zidovima, što obezbeđuje kretanje niz gradijent koncentracije i kretanje difuzijom kroz ćelijske membrane, čime je omogućen ulazak kadmijuma u simplast tj. translokacija iz korena u stablo (Cutler & Rains, 1974). Plazma membranu ćelija korteksa korena Cd prolazi kroz dvovalentne katjonske kanale, prema kojima ima visok afinitet. Kada Cd, ili bilo koji drugi metal, uđe u simplast korteksa, kreće se izbegavajući Kasparijeve trake, a onda u periciklu izlazi iz simplasta u apoplast i tako stiže do ćelija parenhima ksilema, ponovo prelazi membranu tj. ulazi u simplast i iz njih puni ksilemski sud (Slika 2c). Poznati mehanizmi usvajanja drugih teških metala, među kojima je i olovo, su u velikoj meri slični prethodno navedenim (Siedlecka, 1995).

1.2. Značaj aktivnog transporta esencijalnih elemenata za akumulaciju olova i kadmijuma

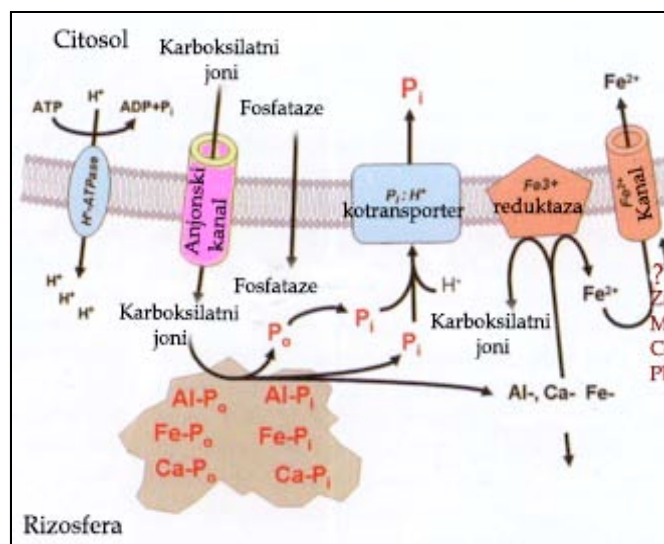
Odnos između toksičnih teških metala i esencijalnih elemenata je, takođe, od značaja za razumevanje uticaja teških metala na metabolizam biljaka. Utvrđeno je da akumulacija Cd, Cr, Pb, Ni, Mn i Zn izaziva nedostatak gvožđa kod biljaka. Sastav eksudata korena utiče na dostupnost kadmijuma (Mench & Martin, 1991). Takođe, usvajanje Cd može biti inhibirano usvajanjem mangana i povećanjem dostupnosti gvožđa. Oštećenja na korenu i inhibicija rasta korena prouzrokovana kadmijumom i drugim teškim metalima mogu prouzrokovati smanjeno usvajanje Fe, Ca, Mn (Godbold & Kettner, 1991). U interakciji toksičnih teških metala i esencijalnih elemenata, značajno mesto zauzima mikoriza (Kahle, 1993).

Povećanje koncentracije esencijalnih mineralnih elemenata može dovesti do smanjenog usvajanja nekih teških metala. Tako na primer, sa povećanjem dostupnosti K biljke slabije akumuliraju Cd i Pb (Triverdi & Erdei, 1992). Kompeticija pri usvajanju je posebno izražena između elemenata sa sličnim hemijskim osobinama, kao što su Zn, Pb, Cd (Siedlecka, 1995).

Teški metali, a posebno Cd i Pb mogu da poremete rad i notež u mineralnoj ishrani biljaka. Kompeticija za usvajanje preko transportera dovodi do smanjenog usvajanja i translokacije nutrijenata, utiče na ćelijske membrane korenskih dilačica, prvenstveno menjajući funkciju ATP-aza i drugih transportera. Biljke svojim adaptivnim mehanizmima prevazilaze neke nutritivne probleme koji se javljaju na različitim tipovima zemljišta a koji podrazumevaju modifikaciju rizosfere i transportnih mehanizama u korenu. Ovi adaptivni mehanizmi mogu da utiču i na pristupačnost i usvajanje teških metala. Tako npr., na kiselim zemljištima gde može da se javi povećana koncentracija tj. toksičnost jona H, Al i Mn i smanjen sadržaj P, B i Mo, opstaju biljke koje su adaptirane na ovakve uslove. Takve biljke su tolerantne na

povećane koncentracije Al zahvaljujući eksudaciji karboksilatnih jona ili nekih drugih potencijalnih helatora, ili povećanju rizosferne pH vrednosti. Kada se nađu na ovakvim zemljištima dolazi do pokretanja adaptivnih mehanizama za efikasnije usvajanje P (mobilizacija fosfora) iz Fe- i Al- fosfata, uspostavljanje mikorize itd. (Nešković et al., 2003)

Fosfor je vrlo značajan element za rast biljaka a njegov nedostatak je često limitirajući faktor za produkciju biomase u mnogim ekosistemima. Fosfor ulazi u sastav ATP koji se formira u toku fotofosforilacije, i u procesu disanja, pri glikolizi i u toku oksidativne fosforilacije (Đukić, 2006). Učestvuje u transferu energije, aktivaciji proteina tj. enzima i regulisanju metaboličkih procesa. Nedostatak fosfora je limitirajući faktor za aktivni transport u korenu jer učestvuje u transferu energije koja omogućava funkcionisanje jonskih pumpi. Smatra se da povećana koncentracija karboksilata u rizosferi povećava mobilizaciju fosfora iz nepristupačnih oblika ali i pristupačnost teških metala i Ca (Neumann & Römheld, 2006).



Slika 3. Mobilizacija gvožđa i fosfora u rizosferi i transport kroz membranu prema Lambers et al. (2008).

Nedostatak gvožđa je veoma rasprostranjen nutritivni poremećaj na karbonatnim tj. alkalnim zemljištima jer je pri visokim pH vrednostima gvožđe nepristupačno biljkama. Za usvajanje gvožđa većina biljaka zahteva pH vrednost zemljišta između 5 i 6,5. Pored slabe dostupnosti gvožđa (Fe) karbonatna zemljišta karakteriše i slaba pristupačnost fosfora (P) koja je obično praćena niskim koncentracijama Cu, Zn i Mn. Biljke koje su adaptirane na ove uslove usvajaju efikasnije P i Fe iz zemljišta (Ström et al., 2005). Povećana mobilizacija fosfora i gvožđa u rizosferi kao i regulacija njihovog usvajanja je od izuzetnog ekološkog značaja jer obezbeđuje veću produkciju biomase adaptiranih biljaka na karbonatnim zemljištima. Usvajanje gvožđa kod dikotila zavisi od aktivacije koordinisanih mehanizama koji omogućavaju povećanu acidifikaciju zemljišta i redukciju FeIII helata, enzimima koji se nalaze na membrani (Schmidt, 1999). Aktivnost ovih mehanizama se povećava u uslovima nedostatka gvožđa. Aktivacija H⁺-ATPaze praćena povećanjem Fe(III) reduktazne aktivnosti omogućava redukciju FeIII helata do Fe²⁺ jona koji se transportuju preko specifičnog FeII transportera (Romheld & Nikolic, 2007). Fe(III) reduktaza je integrisani membranski protein (kodiran FRO2 genima) koji pripada flavoproteinima. Ovi proteini vrše prenos elektrona od donora NAD(P)H u citosolu do ekstracelularnog akceptora elektrona, dakle do različitih FeIII helata u apoplastu korena odnosno u rizosferi. Dakle, indukovana aktivnost Fe(III) reduktaze je povezana sa tolerancijom na nedostatak Fe kod više jednogodišnjih poljoprivrednih kultura i nekoliko drvenastih vrsta (Jelali et al., 2010).

Eksudacija karboksilata ima značajnu ulogu u mobilizaciji nutrijenata ali i detoksikaciji, s obzirom da karboksilati sa teškim metalima mogu graditi stabilne komplekse. Povećana eksudacija karboksilata kao fiziološki odgovor na nedostatak gvožđa je uočena kod nekoliko jednogodišnjih useva (Neumann & Romheld, 2006), međutim, o drvenastim vrstama nema mnogo dostupnih podataka. Razumevanje fiziološkog odgovora biljaka na nedostatak Fe i njegovog uticaja na usvajanje teških metala može biti od značaja za poboljšanje

strategija i metoda fitoremedijacije zemljišta kontaminiranih teškim metalima (Siedlecka & Krupa, 1999). Postoji više eksperimentalnih istraživanja koja povezuju nedostatak gvožđa sa povećanim usvajanjem i translokacijom kadmijuma (Rodecap et al., 1994; Cohen et. al., 1998; Siedlecka & Krupa, 1999).

Uticaoj nutritivnog statusa gvožđa na usvajanje olova je još uvek nedovoljno istražen. Smanjenje koncentracije gvožđa u nadzemnom delu biljke izazvano kontaminacijom olovom, preko hranljivog rastvora, je uočeno kod krastavca (Fodor et al., 1998) dok je kod šećerne repe uočena povećana Fe(III) reduktazna aktivnost u korenu biljaka tretiranih olovom (Larbi et al., 2002). Takođe, utvrđeno je da Pb^{2+} može biti transportovan preko dvovalentnih katjonskih kanala (Kim et al., 2002). Transportni mehanizmi koji su regulisani nutritivnim statusom gvožđa, IRT1 (*iron-regulated transporter 1*) i transporteri dvovalentnih jona NRAMP (*natural resistance - associated macrophage proteins*) mogu biti, takođe, uključeni u transport tj. translokaciju Pb i Cd. Interakcija nutritivnog statusa gvožđa i teških metala uglavnom je proučavana na poljoprivrednim kulturama.

1.3. Fiziološki procesi koji prethode eksudaciji karboksilatnih jona iz korena u rizosferu

Pored najvažnije fiziološke uloge, usvajanje vode i mineralnih materija, koren u rizosferu oslobađa veliki broj organskih (aminokiseline, organske kiseline, šećeri, fenoli itd.) i neorganskih jedinjenja. Kod jednogodišnjih biljaka 30 do 60 % fotosintetički fiksiranog ugljenika se translocira u koren, odakle se značajne količine ugljenika (oko 70%) oslobađaju u rizosferu u vidu različitih organskih jedinjenja. Korenov sistem drvenastih biljaka generalno sadrži veće rezerve ugljenika u odnosu na nadzemni deo, dok mehanizmi koji regulišu akumulaciju u korenu nisu dovoljno istraženi (Loescher et al., 1990). Rizodepozicija je uslovljena različitim faktorima kao što su sezonski ciklusi,

intenzitet svetlosti, temperatura, nutritivni status biljaka, mehanička impedansa korenovog sistema, sorpcione osobine zemljišta i mikrobiološka aktivnost u rizosferi (Balsberg, 1989; Neumann & Romheld, 2006).

Neke od hemijskih osobina zemljišta su pod uticajem ovih jedinjenja ili produkata njihove mikrobiološke razgradnje. Ova jedinjenja utiču na dostupnost nutrijenata, rastvorljivost teških metala u rizosferi i predstavljaju značajan adaptivni mehanizam koji omogućava biljkama da se prilagode različitim zemljištima i efikasnije usvajaju nutrijente.

Različite organske komponente eksudata korena su pod uticajem adsorptivnih procesa u zemljištu, u zavisnosti od njihovog naelektrisanja i osobina zemljišta koje utiču na kapacitet za razmenu katjona. Tako, šećeri iz eksudata korena ne stupaju u reakcije sa jonima metala ni u zemljišnom rastvoru ni na površini zemljišnih koloidnih čestica. Adsorpcija naelektrisanih čestica tj. jona kao što su karboksilatni joni u velikoj meri zavisi od tipa zemljišta i pH vrednosti zemljišnog rastvora. Povećana koncentracija karboksilatnih jona u rizosferi dovodi do njihove interakcije sa metalima koji se nalaze na površini zemljišnih koloida. Ovi mehanizmi (kompleksacija i razmena katjona) omogućavaju mobilizaciju Fe i P iz rizosfere kao i uklanjanje jona teških metala iz zemljišnog rastvora. Najefikasniji helatori ovih mineralnih elemenata su citratna, oksalna i malatna kiselina (Neumann & Romheld, 2006). Ova jedinjenja se vrlo često intenzivno adsorbuju na površini zemljišnih koloida. Nasuprot ovome, sorpcija proteinskih aminokiselina i njihova uloga u mobilizaciji mineralnih materija je mala s obzirom da su reakcije ovih jedinjenja sa metalima veoma spore. Izuzetak predstavljaju fitosiderofore – neproteinske trikarboksilne aminokiseline koje veoma brzo stupaju u reakciju sa npr. nerastvornim Fe^{III} hidroksidom, mobilizuju Fe tj. dolazi do formiranja fitosiderofornog (PS) kompleksa. Ova strategija mobilizacije gvožđa i cinka je zastupljena kod trava (Strategija II). Mehanizmi koji omogućavaju eksudaciju organskih jedinjenja iz korena su pasivni (difuzija) i aktivni transport (jonski kanali). Pasivni transport kroz membranu omogućava eksudaciju organskih

jedinjenja male molekulske mase (šećeri, aminokiseline, fenoli, organske kiseline). Ovo kretanje se odvija niz gradijent koncentracije, međutim, uzimajući u obzir slabu permeabilnost bioloških membrana za jone, koncentracija anjona koji se na ovaj način izbacuju u rizosferu, ne može biti velika. Zbog visoke koncentracije K^+ jona u citosolu, spontano dolazi do difuzije ovih jona kroz membranu a to dovodi do stvaranja elektrohemijskog potencijala na dvema stranama membrane tj. do nakupljanja anjona u citosolu. Posledica ovoga je povećano usvajanje katjona ali i difuzija anjona niz gradijent koncentracije. Prema Nobel et al. (1991), eksudacija aminokiselina i malata putem difuzije iz korena je oko $120 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ sveže mase korena. Eksudacija karboksilatnih jona u većim koncentracijama se javlja kao fiziološki odgovor na stres izazvan nedostatkom nekog nutrijenta ili toksičnim efektom teških metala (Al, Cd, Pb), a odvija se aktivnim transportom tj. preko jonskih kanala. Eksperimentalno je potvrđeno da antagonisiti anjonskih kanala inhibiraju transport karboksilatnih jona čime je potvrđena uloga jonskih kanala u njihovoj eksudaciji (Neumann & Römheld, 2006).

Nedostatak nekih nutrijenta a, P i Fe na alkalnim i karbonatnim zemljištima može u znatnoj mjeri uticati na sastav eksudata korena, što kod određenog broja biljaka povećava kapacitet za mobilizaciju fosfora iz nepristupačnih oblika kao što je $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ u alkalnim zemljištima ili Fe/Al-P kompleksa u kiselim zemljištima. Povećana eksudacija karboksilata (citrata, malata, oksalata) se smatra fiziološkim odgovorom na nedostatak P, tipičnim za dikotiledone biljke. Nedostatak P je limitirajući faktor za rast mnogih biljaka, a mobilizacija P egzogenom primenom karboksilata je potvrđena na različitim zemljištima sa niskim sadržajem pristupačnog P.

Citrat i oksalat su se pokazali kao najefikasniji karboksilati u mobilizaciji P i Fe u velikom broju eksperimenata, što se objašnjava visokim vrednostima konstanti stabilnosti kompleksa ovih karboksilata sa Fe, Al i Ca. Efikasna desorpcija P zahteva milimolarne koncentracije karboksilata u zemljišnom rastvoru (Neumann & Römheld, 2006).

Povećana eksudacija karboksilata je uočena kod nekoliko vrsta biljaka pri nedostatku gvožđa, pri povećanim koncentracijama Cd i Al u rizosferi kao i u kasnim fazama nedostatka P. Preduslov za eksudaciju karboksilatnih jona je njihova akumulacija u korenu, što zavisi od preraspodele karboksilata u biljci, kao i od stepena akumulacije ugljenih hidrata u korenu. Eksperimenti na *Lupinus albus* L. potvrđuju povećanu sintezu karboksilata u korenu u uslovima nedostatka P. Takođe, u ovim uslovima dolazi do povećanja koncentracije i aktivnosti glikolitičkih enzima kao što su saharoza sintetaza, fosfoglukomutaza, fruktokinaza, fosfofruktokinaza i fosfoenolpiruvat karboksilaza (PEP karboksilaza). Ovi enzimi učestvuju u katabolizmu ugljenih hidrata u uslovima nedostatka P. Uočeno je da u početnim fazama nedostatka P dolazi do veće akumulacije ugljenih hidrata u korenu nego u nadzemnom delu. Takođe, dolazi do indukovane aktivnosti fosfoenolpiruvat karboksilaze usled nedostatka P. Ovaj enzim katalizuje karboksilaciju fosfoenolpiruvata (PEP) u oksaloacetat koji može preći u malat u prisustvu malatdehidrogenaze (MDH). Krajnji rezultat je povećana koncentracija karboksilatnih jona u citosolu i izbacivanje (lučenje, eksudacija) protona u rizosferu (Neumann & Römheld, 2006).

Prvi preduslov za eksudaciju karboksilata je povećana aktivnost protonskih pumpi (aktivacija ATP-aze (adenozintrifosfataze)) tj. aktivacija biofizičkog pH-stat sistema. Smanjena respiracija (ali i drugi metabolički procesi kao što je povećana aktivnost PEPC) usled nedostatka fosfora dovodi do nakupljanja protona u citoplazmi što povećava kiselost. Povećana kiselost povećava aktivnost H⁺-ATP aze (optimalna aktivnost enzima na 6,6 pH) koja luči protone H⁺ u apoplast, a onda i u rizosferu (Nešković et al., 2003). Aktivacija protonskih pumpi obezbeđuje energiju za transport kroz jonske kanale (voltažno zavisne kanale) tj. otvaranje anjonskih kanala (transport anjona niz elektrohemijski gradijent) pri čemu dolazi do izlaska karboksilatnih jona iz citoplazme (Nešković et al., 2003). Sa otvaranjem anjonskih kanala dolazi do depolarizacije membrane. Da bi opet došlo do polarizacije potrebna je aktivnost protonskih pumpi i povećana koncentracija K⁺ jona u apoplastu. Za

asimilaciju fosfata je značajan ovaj elektrohemijski gradijent jer omogućava i vraćanje protona u citoplazmu, pri čemu se obavlja transport i drugih jona u citoplazmu (transport fosfata preko kotransportera).

Kod biljaka postoji nekoliko stadijuma nedostatka fosfora. Prvo dolazi do preraspodele asimilata tj. do akumulacije ugljenih hidrata u korenu. Povećana je aktivnosti korena, pa se u apoplastu korena održava nizak gradijent koncentracije što se postiže smanjenjem osmotskog potencijala (aktivnošću invertaze); dolazi do poremećaja u TCA ciklusu, što dovodi do akumulacija citrata, sukcinata, fumarata, malata, a zatim i do povećane sinteze oksalne kiseline (prekursori - askorbinska kiselina, glioksilat (glioksilatni ciklus)). Zatim dolazi do povećanja kiselosti citoplazme, a posledično i do aktivacije pH-stat sistema (protonske ATP-aze) i do povećane aktivnosti enzima fosfoenolpiruvat karboksilaze (PEPC). Povećano lučenje protona u apoplast stvara preduslov za otvaranje anjonskih kanala koji sad imaju povećan afinitet prema nekim karboksilatima koji prelaze u apoplast. Povećana eksudacija karboksilatnih jona (oksalat, malat, citrat) je karakteristična za kasne stadijume nedostatka P. Ovoj eksudaciji prethodi akumulacija organskih kiselina u korenu. U rizosferi, gde je time povećana kiselost i prisustvo karboksilata, dolazi do desorpcije fosfata iz zemljišnog adsorptivnog kompleksa. Dakle, razvija se kompeticija između fosfatnih jona i karboksilata za sorpciju u zemljištu. Desorpcija P podrazumena i oslobađanje katjona (Ca^{2+} , Fe^{2+} i drugih metala) u rizosferi, koji sada mogu stvarati komplekse sa karboksilatima koji se u njoj nalaze. Usvajanje metala, opet zahteva oslobađanje jona metala iz karboksilatnog kompleksa. Dakle, uloga tih karboksilata može biti značajna za: mobilizaciju P; za mobilizaciju mikroelemenata ali i Ca iz rizosfere; za prevenciju toksikacije i detoksikaciju teškim metalima koji sa karboksilatima mogu stvarati stabilne komplekse.

Kod viših biljaka razlikuju se dve osnovne adaptivne strategije za mobilizaciju gvožđa u rizosferi i usvajanje korenom. Kod biljaka Strategije I (dikotile i

monokotile osim trava) odgovor korena na nedostatak gvožđa obuhvata četiri adaptivne reakcije (Marshner & Römheld, 1994; Ivanov, 2012):

- povećanje aktivnosti ili aktivacija Fe(III) reduktaze na membrani;
- povećanje neto otpuštenih protona;
- odavanje redukujućih ili helatirajućih supstanci (uglavnom fenola ili organskih kiselina);
- formiranje bočnih korenova, korenskih dlačica i rizodermalnih transfernih ćelija.

Strategija II je karakteristična za trave i podrazumeva eksudaciju fitosiderofora, koje heliraju Fe^{3+} jone u rizosferi i usvajanje Fe(III) fitosiderofora preko specifičnih transportera na ćelijskoj membrani (Marshner & Römheld, 1994).

1.4. Opis vrsta korišćenih u istraživanju

1.4.1. *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle

Familija: *Simaroubaceae*

Sinonimi:

Ailanthus glandulosa Desf.

Ailanthus peregrina (Buc'hoz) F. A.

Barkley

Domaći nazivi:

Kiselo drvo, pajasen, lažni orah, kineski ruj, lepljivi ruj, sirćetovo drvo.

Životna forma:

Listopadno dvodomo drvo.

Prirodni areal ove vrste obuhvata Kinu, Tajvan i Molučka ostrva, dok je u sekundarnom arealu zastupljena u celoj severnoj i istočnoj Evropi, severnoj Americi, Australiji i Novom Zelandu. Kiselo drvo je u Evropu introdukovano



Slika 4. Listovi *Ailanthus altissima* (biljke iz eksperimenata).

1751. Prvi primerci su odgajani u botaničkoj bašti u Londonu (DAISIE, *Ailanthus altissima* Fact Sheet). Sa uticajem kineske umetnosti u Evropi, postaje popularno kao drvo izuzetnih estetskih osobina. Kasnije je sađena kao ukrasna vrsta, a zatim i u cilju poboljšanja kvaliteta zemljišta i podizanja plantažnih šuma.

Dostiže visinu 20 - 30 m. Krošnja je okruglasta i retka, a deblo snažno i debelo. Grančice debele i krte, malo dlakave, bez terminalnog pupoljka. Listovi naizmenični, neparno perasti, sastavljeni od 11 do 25 (nekada do 41) ovalnolancetastih ili jajastolancetastih listića, koji su u osnovi okrugli malo urezani ili kosi (Slika 4). U mladosti pokriveni gustim kratkim dlačicama, kasnije goli. Po obodu celi, ali trepljasti, sa dve do četiri žlezde na zupcima u donjem delu listića, koje kad se zgnječe, kao i cvetovi, šire specifičan neprijatan miris. Cveti u maju. Cvetovi formiraju velike, 10 - 30 cm duge terminalne metličaste cvasti. Plod je pljosnata, izdužena krilata orašica, rombičnog oblika, svetlocrvenkaste ili smeđe boje. Sazreva krajem leta. Seme se nalazi u sredini ploda. Vrh gornjeg dela krila je spiralno uvijen. Na dobro osvetljenim staništima kiselo drvo veoma brzo raste - u prve četiri godine, godišnji visinski prirast se kreće između 1 i 2 m. Za 25 godina može dostići visinu od 15 metara. Životni vek stabala je oko 50 godina. Pojavljuje se na nasipima, ruderalnim/degradiranim, urbanim prostorima (pored trotoara, pločnika, na parking prostorima), odlagalištima otpada, gradilištima, degradiranim površinama (Kuhns & Rupp, 2000; Landenberger, 2009). Van gradskog predela, kiselo drvo se može videti pored saobraćajnica, na škarpama, ivici šume, progalama i sl. Na površinama gde su izvedeni zemljani radovi, kao i na novozasejanim poljima klijavci kiselog drveta se mogu javiti u velikom broju (DAISIE, *Ailanthus altissima* Fact Sheet). Najbolje uspeva na vlažnom i glinovitom zemljištu, ali se brzo adaptira na veoma različite zemljišne uslove i veliki opseg pH vrednosti supstrata. Vrsta je tolerantna na sušu ali ne podnosi plavljenje. Takođe, ne podnosi duboku senku. Uspeva i na plitkim kamenitim terenima, siromašnim i suvim zemljištima. Brzo se adaptira na različite

klimatske uslove. Otporna je na mraz, jake vetrove, dugotrajne suše (Trifilo et al., 2004), niske temperature i zagađenje vazduha i zemljišta (Cui et al., 2006). Lako se adaptira na alkalnim zemljištima i zemljištima niske nutritivne vrednosti (Kuhns & Rupp, 2000; Zheng et al., 2004.).

Ailanthus altissima je diecka vrta (stabla imaju ili funkcionalno muške ili funkcionalno ženske cvetove). Jedno stablo kiselog drveta može dati 325 000 semena godišnje. Seme se rasejava vetrom. Klijavci se veoma brzo razvijaju. Širi se i korenskim izdancima, a vrlo uspešno se regeneriše iz segmenata korena. Formira klonske populacije korenskim izbojcima i na taj način eliminiše druge vrste (Nestorović & Jovanović, 2003; Call & Nilsen, 2005) .

Kiselo drvo produkuje ailanton, koji ima alelopatski efekat tj. inhibira rastenje drugih biljaka (Lawrence et al., 1991). Ovaj sekundarni metabolit je najzastupljeniji u kori i korenu ali je, takođe, prisutan u listovima, stablu i semenu. Ekstrakt kore kiselog drveta značajno inhibira klijanje semena *Amaranthus retroflexus*, *Lepidium sativum*, *Abutilon theophrastii* i dr., dok su ogledi u kojima su ekstraktom tretirani klijavci kiselog drveta potvrdili da autoalelopatija ne postoji (Heisey, 1990).

1.4.2. *Acer negundo* L.

Familija: *Aceraceae*

Sinonimi:

Negundo aceroides (L.) Moench

Negundo negundo (L.) Karst.

Negundo fraxinifolia de Vos.

Domaći nazivi:

Pajavac, negundovac.

Životna forma:

Listopadno dvodomo drvo.



Slika 5. Listovi *Acer negundo* (biljke iz eksperimenata).

Poreklom je iz rečnih dolina Severne Amerike. U okviru svog prirodnog areala dostiže visinu do 25 m. Ima izrazito deblo i široku granatu krošnju. Izbojci dugi, šiboliki, zelenkasti i sjajni. List je složen iz tri do pet (retko devet) listića koji su jajasti ili eliptično lancetasti, celog oboda i nepravilno nazubljeni, sa lica dlakavi (Slika 5). Neparni listić je nekad ražnjevit. Cvetovi su bez krunice. Ženski cvetovi su grupisani u dugim visećim žuto-zelenim grozdovima, a muški u pramenovima sa crvenkastim prašnicima. Plodovi, šizokarpne orašice su u početku zelene, kasnije maslinasto sive, pod oštrim uglom u odnosu jedna na drugu, krilca su savijena prema unutra. Seme ovalno, izduženo, zeleno. Cveta rano u martu. Lako se razmnožava semenom. Ima veoma varijabilna morfološka svojstva. Raste na različitim zemljištima, čak i na dosta vlažnim i zaslanjenim terenima. Najbolju vitalnost pokazuje na umereno vlažnim, peskovitim, ali dobro dreniranim aluvijalnim zemljištima. Negundovac je heliofilna vrsta. Koristi se za drvorede ali brzo dolazi do suhovrhosti, već oko 25. odnosno 30. godine života. Dobro podnosi niske temperature i sušu. Iako spada među vrste koje dobro podnose uslove gradskog klimata, oštećuju je otrovni gasovi, ali se brzo oporavlja. Može da se koristi u vetrozaštitnim pojasevima. Pojavljuje se na vlažnim, aluvijalnim zemljištima rečnih obala, u poplavnim zonama oko reka i potoka. Vrlo brzo naseljava staništa ugrožena antropopresijom kao što su železničke pruge, putevi, na obodima deponija, obaloutvrde, jarkovi, škarpe, izgrađeni prostori. Pajavac najčešće naseljava one prostore u kojima postoji ili je nekada postojala ljudska aktivnost. Na vlažnim staništima pajavac ugrožava zeljastu floru. U okviru svog prirodnog areala vrsta je osetljiva na patogene. Podnosi veoma različite stanišne uslove (Mędrzycki, 2011).

Pajavac je otporan prema plavljenju, a li ne kao topole i vrbe. U svom prirodnom arealu javlja se oko rečnih tokova ali u gornjoj poplavnoj terasi. Staništa na kojima pajavac ima invazivne karakteristike su vrlo slična staništima u okviru prirodnog areala. Kolonizuje zajednice oko manjih rečnih tokova i ivice šume. Ako plavljenje izostaje, dolazi do sukcesije, pa ovu vrstu zamenjuju

druge (Friedman & Auble, 1999). Često kolonizuje antropogena staništa kao što su zapušteni parkovi, naselja, napuštene oranice, saobraćajni koridori (železničke pruge, putevi), odlagališta otpada, pa čak i krovovi zgrada. Ženska stabla bolje uspeavaju na vlažnijim i nuditivno bogatijim zemljištima.

Smatra se da je negundovac diecka i protandrična vrsta (Mędrzycki, 2011). Cveti u rano proleće, pre listanja. Polen se raznosi vetrom, ali postoje podaci i o pčelama kao polinatorima. Plodovi se rasejavaju u kasnu jesen ili tokom zime posle hladnog perioda, kada je seme spremno za klijanje. Biljke, na otvorenim staništima i hranivima umereno obezbeđenim zemljištima, mogu plodonositi i u petoj godini, dok u senci i posle 15. godine. Osvetljenost utiče na obilnost uroda – individue koje rastu na otvorenim prostorima proizvode pet puta veću količinu semena od onih koje imaju lošiji svetlosni režim. Maksimalnu obilnost uroda po stablu je teško proceniti. Kreće se između 100 000 i 500 000 orašica. Maksimalni životni vek je oko 100 godina (Mędrzycki, 2007). Precizno merenje starosti je otežano zbog odsustva centralnih godova. U poplavnim šumama je karakteristično permanentno formiranje novih izbojaka. Kod ove vrste, na plavnim staništima, spontano dolazi do poleganja stabala. Na kontaktu sa zemljom formira se koren, a zatim brzorastući sekundarni izbojak. Ovaj obrazac vegetativnog razmnožavanja se može ponavljati mnogo puta, a rezultat je izuzetno kompleksan organizam koji dominira u donjem spratu drveća i sprečava regeneraciju topola i vrba. Ovaj mehanizam širenja može da limitira jedino smanjena frekvencija i trajanje plavljenja. Polen pjavca je alergen. Ova vrsta i veliki broj njenih kultivara naročito onih sa panaširanim listovima, se često koriste u pejzažnoj arhitekturi. S obzirom na visok intenzitet fotosinteze (Foster, 1992), može doprineti kvalitetu vazduha u gradskim sredinama. Brzo formira guste šibljacke, što je u gradski sredinama često nepoželjno. *Acer negundo* potiskuje domaću vegetaciju i na taj način narušava florističku raznovrsnost predela u koji je unet.

1.4.3. *Platanus × acerifolia* (Aiton) Willd.

Familija: *Platanaceae*

Sinonimi: *Platanus orientalis* var. *acerifolia* Aiton,
Platanus × hispanica (Mill.) Münchh.

Platanus × hybrida Brot.

Poreklo: Smatra se da je nastao kao hibrid,
ukrštanjem između *Platanus occidentalis*
i *Platanus orientalis*.

Domaći nazivi:

Hibridni platan, javorolisni platan.

Životna forma:

Listopadno jednodomo drvo.



Slika 6. Mlada biljka *Platanus × acerifolia* iz zemljišne kulture.

Listovi su široki, režnjeviti slični javoru, lisna ploča 10 - 20 cm duga 12 - 25 cm široka, sa peteljkom oko 3 - 10 cm. Mladi listovi u proleće su obloženi sitnim čvrstim dlakama koje kasnije skoro nestaju. Cvetovi su grupisani u jednoj (do tri a najčešće dve) gustoj, okrugloj cvasti na visećoj dršci, sa muškim i ženskim cvetovima na odvojenim drškama. Plod je ahenija veličine 2 - 3 mm, sazreva za oko 6 meseci, gusto grupisan u loptice sa 2 - 3 cm u prečniku. Ahenije su snabdevene brojnim oštrim dlakama koje pomažu rasejavanje vetrom, sadrže silicijumdioksid koji je uzročnik silikoze disajnih organa u slučaju udisanja veće količine ovih dlačica. Prvi put je zabeležen u Španiji u 17. veku, gde su se stabla *P. orientalis* i *P. occidentalis* nalazila u neposrednoj blizini. Karakteristike lista i cveta predstavljaju kombinaciju između dva roditelja. List je dublje usečen u odnosu na *P. occidentalis*, ali manje nego kod *P. orientalis*, dok su plodovi grupisani u loptaste skupine, obično po dve na peteljci (jedna kod *P. occidentalis*, 3-6 kod *P. orientalis*). Hibrid ima klijavo seme, a sejanci (slika 6) se mogu naći u blizini zrelih stabala. Pri kontrolisanoj recipročnoj polinaciji između

P. occidentalis and *P. orientalis* dobija se obilan urod klijavog semena iz kojih se razvijaju klijavci sa osobinama hibrida. Javorolisni platan je veoma tolerantan na aero zagađenje i nepovoljne uslove zemljišta i iz tog razloga je popularna drvoredna vrsta u urbanim sredinama. Intenzivno se gaji u većini zemalja u umerenim geografskim širinama kao ukrasno parkovsko drvo. Ima veći stepen tolerancije na niske temperature od istočnog platana i manje je osetljiv na bolesti antraknoze nego zapadni platan. Često se orezuje i formira u različite topijarne forme. *Platanus × acerifolia* je u botaničkoj literaturi prvi zvanično opisao škotski botaničar Vilijam Aiton (William Aiton) u svom radu iz 1789. Drugo ime koje se najčešće koristi za ovaj takson je *Platanus × hispanica*. Platan uspešno podnosi visoke letnje temperature i suv vazduh, što je posebno izraženo u gradskim uslovima gde je javorolisni platan najčešće zastupljen u drvoredima. Otporan je i na niske temperature, naročito starija stabla, može da raste i na zaslanjenim terenima, a poseduje i tolerantnost na aerozagadjenje i prašinu. Prilično je otporan na vetar. Zbog ovih osobina kao i izuzetne dekorativnosti, brzog rasta i dugovečnosti ovaj platan se veoma mnogo proširio na celoj severnoj hemisferi kao jedna je od najzastupljenijih vrsta u parkovima i drvoredima (Đukić,1992). Ima značaja i u šumarstvu jer je pogodan za osnivanje plantaža sa kratkom ophodnjom (Fowells, 1965)

1.4.4. *Betula pendula* Roth

Familija: *Betulaceae*

Sinonimi:

B. montana V.N.Vassil,

B. talassica Poljakov,

B. verrucosa Ehrh.,

B. fontqueri Rothm.

Domaći nazivi: breza



Slika 7. Sejanac *Betula pendula* iz zemljišne kulture.

Životna forma:

Listopadno jednodomo drvo.

Breza je široko rasprostranjena u Evropi. Areal se prostire na jugozapadu, do Azije u planinama severne Turske i Kavkaza. Stablo je tanko sa nepravilnom, ovalnom, retkom krošnjom i tankim, savitljivim, crvenosmeđim granama. Obim stabla je 40 - 60 cm, a visina do 30 m. Kora bela (prisustvo betulina), ljušti se u horizontalnim trakama. Listovi trouglasto - jajasti ili rombični, 4 - 7 cm dugi, pri osnovi široko klinasti, na vrhu zašiljeni, po obodu dvostruko oštro nazubljeni. Lisna drška 2 - 3 cm duga. Breza je monecka vrsta. Cvetovi se razvijaju u proleće zajedno sa listovima. Muške rese duge su do 10 cm, a vise obično po dve na vrhu grančice. Ženske rese su manje, duge oko 2 cm, pojedinačne, uspravne a pojavljuju se u proleće. Kod sazrevanja, plodna resa se raspada. Plod jednosemena krilata orašica. U 1 kilogramu ima oko 1,5 miliona semena čija klijavost iznosi 20 %. Fiziološki zrelo seme u junu i julu ima veću klijavost (Djukić, 1983). Breza je pionirska vrsta, koja zajedno s trepetljikom i vrbom ivom, prva zauzima površine u kojima se prirodno širi šuma. Takođe, se javlja i na požarištima (Vukićević, 1974). Spada u heliofilne vrste. Široke je ekološke valence, podnosi temperaturne ekstreme kao i nepovoljne uslove zemljišta. Lošije podnosi ekstremno kisela zemljišta i zemljišta sa puno karbonata. U prvoj godini raste vrlo sporo (Slika 7), a posle se rast naglo ubrzava. Životni vek jedne individue je oko 100 godina. Plodonosi skoro svake godine. Ima razgranat korenski sistem, koji se dobro prilagođava uslovima staništa. Osetljiva je na sušu i visoke temperature u prvim godinama, dok je vrlo otporna na mraz. Dobro podnosi dim, štetne gasove i industrijsku prašinu pa je pogodna za sadnju u industrijskim i urbanim područjima. Smatra se da ima veoma dekorativne osobine pa se često koristi za zelene prostore u grupacijama ili kao soliter.

2. Cilj rada

Osnovni ciljevi istraživanja doktorske disertacije:

- Analiza uticaja olova i kadmijuma na rane stadijume razvića biljaka *Ailanthus altissima*, *Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula* kao i procena adaptabilnosti ovih biljaka na povećane koncentracije olova i kadmijuma.
- Utvrđivanje uticaja kadmijuma i olova na biomasu sejanaca *Ailanthus altissima*, *Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula* u zemljišnoj kulturi.
- Utvrđivanje efekta nedostatka Fe, najčešćeg nutritivnog poremećaja karbonatnih zemljišta na akumulaciju Pb i Cd u korenu i listovima.
- Utvrđivanje značaja prisustva organskih kiselina u eksudatima korena za mobilizaciju i usvajanje Pb i Cd.
- Utvrđivanje uticaja organskih kiselina na ekstrakciju Pb i Cd, kao i drugih teških metala (Fe, Cu, Zn i Mn) iz kontaminiranog zemljišta.
- Analiza fotosinteze preko parametara indukovane fluorescencije hlorofila i koncentracija fotosintetičkih pigmenata kod biljaka izloženih toksikaciji olovom i kadmijumom u odnosu na kontrolne biljke.

3. Materijal i metode rada

3.1. Analiza zemljišta

Na lokalitetima matičnih stabala, na kojima je sakupljeno seme (Slika 4), uzorkovano je i zemljište do fiksne dubine od 20 cm. Na svakom lokalitetu kompozitni uzorak je formiran od 5 pojedinačnih, koji su sa cele površine uzeti šahmatski, ašovom. Za analizu zemljišta iz Arboretuma Šumarskog fakulteta koje je korišćeno u zemljišnoj kulturi, uzorak je uzet posle iskopavanja i homogenizacije veće količine zemlje, potrebne za uspostavljanje zemljišne kulture. Uzet je površinski sloj, do 20 cm dubine.

Laboratorijska proučavanja zemljišta su vršena prema metodama JDPZ-a (1966, 1997). Referentne metode za analize pojedinih zemljišnih parametara prema metodama JDPZ-a su: pH (u vodi i CaCl_2) - potenciometrijski staklenom elektrodom; hidrolitička kiselost - kolorimetrijski titracijom sa 0,1M NaOH; adsorptivni kompleks - po metodi Kappen-a; ukupni azot - po metodi Kjeldahl-a, ukupni ugljenik - po metodi Tjurin-a; određivanje lakopristupačnog fosfora i kalijuma - plamenfotometrijski, prema Egner-Riehm metodi i analize mehaničkog sastava zemljišta - pirofosfatnom B metodom. Ove analize su urađene u Pedološkoj laboratoriji Šumarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Uzorci zemljišta su sušeni na vazduhu, na temperaturi od 30°C , a potom je odvojena sitna zemlja (< 2 mm). Za analize sadržaja teških metala (Zn, Mn, Cu, Pb, Cd i Fe) zemljište je usitnjeno u aha tnom a vanu. Pripreme uzoraka za "pseudo"- ukupan sadržaj Zn, Mn, Cu, Pb, Cd i Fe vršena je u carskoj vodi (HNO_3 : HCl, u odnosu 1 : 3), uz refluks dva časa (prema standardnim procedurama Internacionalne organizacije za standardizaciju, 1995) u tri ponavljanja. Za određivanje pristupačnih oblika mikroelemenata zemljište sa lokaliteta matičnih stabala je ekstrahovano sa 0,1 M HCl. Za zemljište iz

Arboretuma urađena je analiza sekvencijalne ekstrakcije na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, prema proceduri Petrović et al., 2009, što je prikazano u Tabeli 1.

Procedura	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4	Faza 5
Petrović et al., 2009	1M CH ₃ COONH ₄ Izmenljivi	0,1M NH ₂ OH.HCl Vezani za karbonate i lako vezani	0,2M (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ i 0,2M H ₂ C ₂ O ₄ Srednje vezani	30% H ₂ O ₂ i 3,2M CH ₃ COONH ₄ Organsko- sulfidna faza	6M HCl Rezidualna

Tabela 1. Reagensi u proceduri sekvencijalne ekstrakcije prema Petrović et al. (2009).

Sadržaj ukupnih mikroelemenata u zemljištu je određen u Laboratoriji za monitoring kvaliteta zemljišta na Šumarskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS), na aparatu " Thermo Msrtes", USA. Koncentracije su očitavane na sledećim talasnim dužinama: Zn - 213,9 nm ; Pb - 217,0 nm; Cd - 228,8 nm; Fe - 248,3 nm, Cu 324,8 nm i Mn 279,5 nm.

Izmerene koncentracije su upoređene sa graničnim minimalnim vrednostima kao i sa remedijacionim vrednostima prema Uredbi o programu sistemskog praćenja kvaliteta zemljišta, indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa iz 2010. (Tabela 2). Granične minimalne vrednosti su one vrednosti na kojima su potpuno dostignute funkcionalne osobine zemljišta, odnosno one označavaju nivo na kome je dostignut održiv kvalitet zemljišta dok remedijacione vrednosti

ukazuju da su osnovne funkcije zemljišta ugrožene ili ozbiljno narušene i zahtevaju remedijacione, sanacione i ostale mere (Službeni glasnik, 2010).

Za metale je korišćena sledeća korekciona formula, u zavisnosti od tipa zemljišta, na osnovu koje se vrši konverzija:

$$(SW, IW)_b = (SW, IW)_{sb} \cdot \frac{A + (B \cdot \% \text{ gline}) + (C \cdot \% \text{ organske materije})}{A + (B \cdot 25) + (C \cdot 10)}$$

gde je:

$(SW, IW)_b$ - korigovana granična ili remedijaciona vrednost za određeno zemljište,

$(SW, IW)_{sb}$ - granična ili remedijaciona vrednost iz tabele,

% gline - izmeren procenat gline u određenom zemljištu (veličine čestica < 2 μm),

% org. mat. - izmeren procenat organske materije u određenom zemljištu,

A, B, C - konstante zavisne od vrste metala (Tabela 3).

Granične i remedijacione vrednosti koncentracija teških metala i vrednosti koje mogu ukazati na značajnu kontaminaciju zemljišta		
Metal	Zemljište (mg/kg apsolutno suve materije)	
	Granična vrednost	Remedijaciona vrednost
Kadmijum (Cd)	0,8	12
Bakar (Cu)	36	190
Olovo (Pb)	85	530
Cink (Zn)	140	720

Tabela 2. Izvod iz tabele Granične i remedijacione vrednosti koncentracija opasnih i štetnih materija i vrednosti koje mogu ukazati na značajnu kontaminaciju zemljišta (Uredba o programu sistemskog praćenja kvaliteta zemljišta, indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa, 2010).

Metal	A	B	C
Kadmijum	0,4	0,007	0,021
Bakar	15	0,6	0,6
Olovo	50	1	1
Cink	50	3	1,5

Tabela 3. Konstante zavisne od vrste metala koje se koriste u korekcionim formulama u zavisnosti od tipa zemljišta (Uredba o programu sistemskog praćenja kvaliteta zemljišta, indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa, 2010).

3.2. Kontaminacija zemljišta i ekstrakcija Pb i Cd iz kontaminiranog zemljišta primenom karboksilnih kiselina

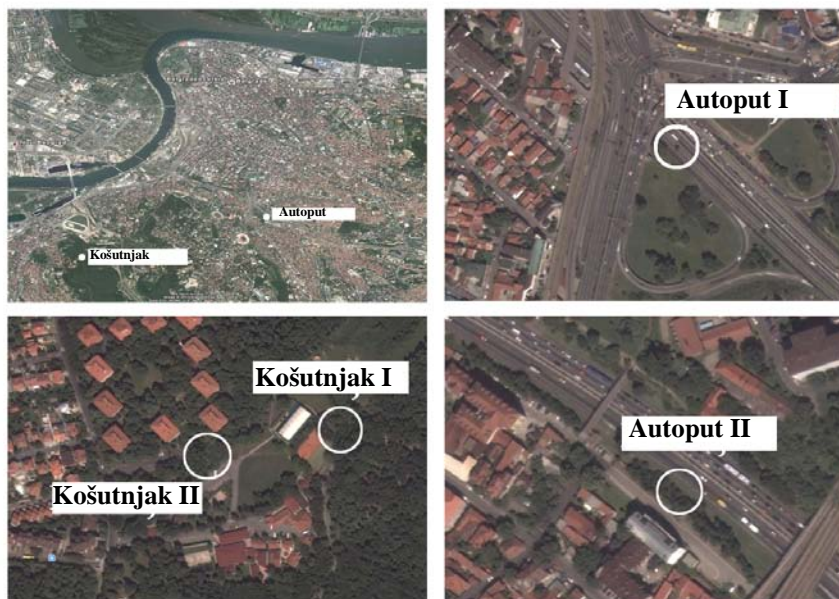
Vazdušno suvo zemljište iz Arboretuma Šumarskog fakulteta, je prosejano kroz sito (prečnik otvora 2 mm), a zatim sipano u 5 plastičnih kontejnera zapremine 1 L i to 500 g vazdušno suvog zemljišta po kontejneru. Kontejneri su postavljeni u pojedinačne kadice i kontinuirano zalivani svakog trećeg dana vodenim rastvorom $Pb(NO_3)_2$ odnosno $Cd(NO_3)_2$ tako da je retencioni vodni kapacitet zemljišta u kontejnerima održavan na 70% od maksimalne vrednosti. Rastvori zapremine 1 L kojima je zemljište zalivano su sadržali 10 odnosno 25 mg $Pb(NO_3)_2$ i $Cd(NO_3)_2$, tj. primenjeno je 20 i 50 mg/kg $Pb(NO_3)_2$ odnosno $Cd(NO_3)_2$. Peti, kontrolni kontejner je zalivan destilovanom vodom. Kontaminacija je trajala mesec dana. Kada je celokupna zapremina rastvora za kontaminaciju primenjena, zemljište je izvađeno iz kontejnera i sušeno do vazdušno suvog stanja, homogenizovano, posle čega je usitnjeno u ahatnom avanu i kao takvo korišćeno za hemijsku analizu. Pre ekstrakcije organskim kiselinama utvrđen je sadržaj Pb i Cd u kontrolnim (nekontaminiranim) i kontaminiranim uzorcima zemljišta metodom AAS.

Takođe, u ovim uzorcima kontaminiranog zemljišta određen je sadržaj mikroelemenata ekstrahovanih citratnom i oksalnom kiselinom. Uzorci zemljišta ekstrahovani su 0,01 M, 0,05 M i 0,1 M rastvorom citratne i oksalne kiseline u trajanju od pola sata, dva sata i osam sati. Iz rastvora mereni su Cu, Zn, Mn, Fe, Pb i Cd sa ICAP 630 ICP emisionim spektrometrom (Thermo Electron Corporation, Cambridge, UK) na Institutu za zemljište u Beogradu.

3.3. Biljni materijal

Uzorci semena *Ailanthus altissima*, *Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula* sakupljana su na području Beograda u prvoj polovini oktobra 2008. na 4 lokaliteta, i to dva u zoni intenzivnog urbanog saobraćaja (autoput) i dva u park šumi Košutnjak (Slika 8), sa pojedinačnih srednjedobnih stabala dobre vitalnosti. Za potrebe prvih oglada sakupljena su semena na lokalitetu *Autoput I* sa matičnog stabla *Ailanthus altissima* i *Acer negundo*, a na lokalitetu *Autoput II* sa matičnog stabla *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula*. Na lokalitetu *Košutnjak I* sakupljena su semena *Ailanthus altissima*, a na lokalitetu *Košutnjak II* *Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula*. U kasnijim fazama istraživanja sakupljana su semena u oktobru 2009, 2010 i 2011. sa lokaliteta *Autoput I*. Svake godine je sakupljano seme sa istih individua. Pre uzimanja uzoraka za analizu, semenski materijal je egalizovan tj. izmešan na način kojim se obezbeđuje homogenost cele količine, prema Stilinoviću (1987), a masa partije semena i masa radnog uzorka je pre svake analize merena prema standardima (ISTA, 1985).

Semena su posle sakupljanja sušena do vazdušno suvog stanja i nakon toga čuvana u polietilenskim vrećama do upotrebe, na sobnoj temperaturi. Vremenski period čuvanja semena pre upotrebe bio je kraći od 6 meseci.



Slika 8. Lokaliteti matičnih stabala.

3.4. Uticaj olova i kadmijuma na klijanje i rano razviće klijavaca

U cilju utvrđivanja uticaja olova i kadmijuma na klijanje semena i rano razviće klijavaca, semena izabranih vrsta izložena su uticaju olova i kadmijuma primenom vodenog rastvora soli $Pb(NO_3)_2$ i $Cd(NO_3)_2$, u koncentraciji od 25, 50 i 100 μM . Pre tretmana plodovi kiselog drvetva i pajavca su obeskriljeni, a zatim im je mehanički oštećen perikarp koji često predstavlja barijeru kako za klijanje tako za rano razviće klijavaca. Ovaj postupak nije primenljiv za plodove javorolisnog platana i breze. Od svake vrste izdvojeno je 1200 semena koja su podeljena u 8 grupa. Svaka grupa je sačinjena od 3 ponavljanja od po 50 semena. Semena su tretirana rastvorima olovo- i kadmijum nitrata 72 sata uz stalnu aeraciju. Kontrolne grupe semena su u istom vremenskom intervalu inkubirane u destilovanoj vodi uz stalnu aeraciju.

Nakon isteka predviđenog vremena semena su stavljena u Petri posude na vlažan filter papir. Klijanje je praćeno svakodnevno 14 dana. Semena su naklijavana u mraku, pri temperaturi od 22°C. Posle klijanja (posle izbijanja

radikule kroz mikropilu) mladi klijavci su premeštani u komoru za gajenje gde su bili izloženi fotoperiodu od 16 sati svetlosti ($50 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) i 8 sati mraka u komori za gajenje biljaka (Semenska laboratorija Šumarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu). Nakon 14. dana mereni su morfološki paramerti.

Za analizu uticaja olova i kadmijuma na klijanje korišćeni su sledeći pokazatelji:

Procenat klijanja (Pk) je procenat iskljalih semena, u određenim uslovima i u određenom vremenskom trajanju, u odnosu na ukupan broj semena u ponavljanju.

$$Pk = A/V \times 100 (\%)$$

A - broj prokljalih semena

V - broj semena u ponavljanju

Indeks klijanja (Ik) se dobija kao zbir količnika ukupnog broja prokljalih semena i rednog broja dana u kome je seme klijalo u jednom ponavljanju (Pržulj, 2000; Ranał & De Santana, 2006). Jedinice u kojima se ovaj pokazatelj izražava je broj semena po danu.

$$Ik = \Sigma(Kt/Td)$$

Kt - broj prokljalih semena u danu

Td- redni broj dana

Vigor indeks (VI) je dobijen prema Mandić et al. (2011) i predstavlja proizvod prosečne dužine klijavaca i procenta klijanja u jednom ponavljanju.

$$VI = (\text{dužina hipokotila} + \text{dužina korena}) \times Pk$$

Odnos korena i hipokotila je bezdimenzionalna veličina i dobija se kao količnik dužine korena i nadzemnog dela svih klijavaca u jednom ponavljanju (Kaymakanova, 2009).

3.5. Zemljišna kultura

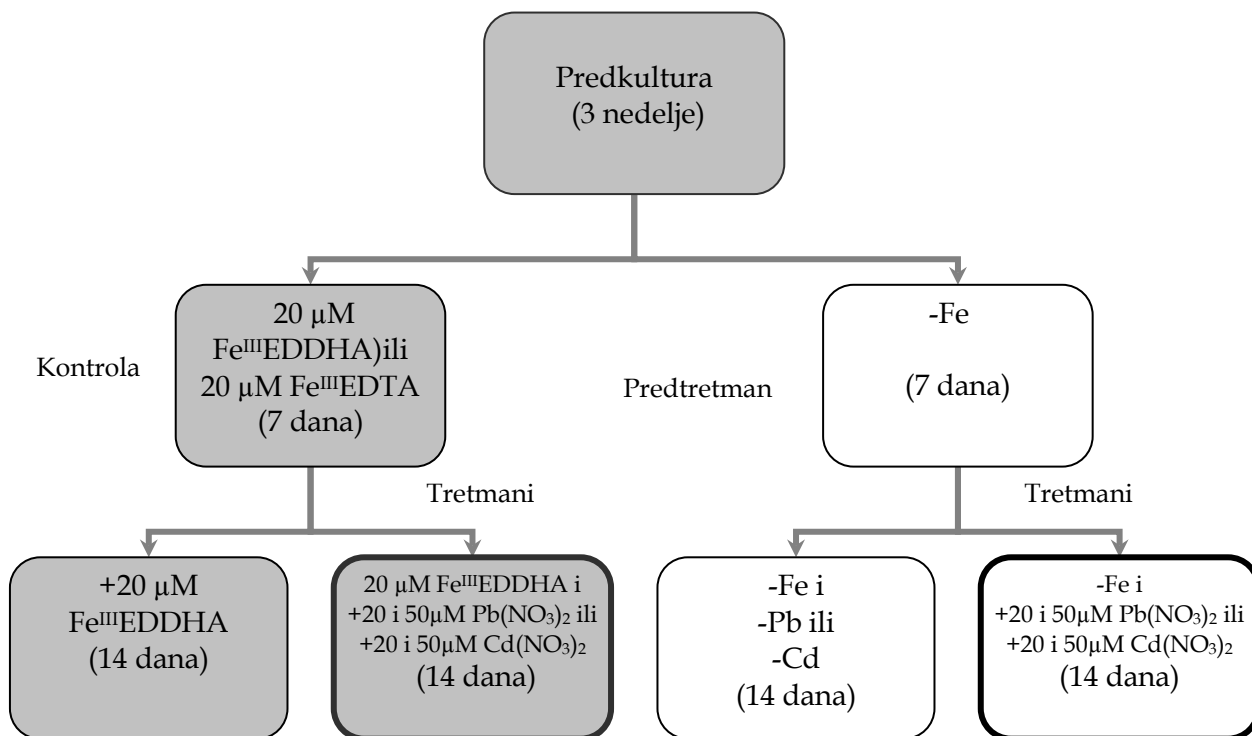
Biljke su gajene u pojedinačnim plastičnim kontejnerima zapremine 200 mL. Kao supstrat za gajenje korišćeno je zemljište (površinski sloj do dubine od 20 cm) iz Arboretuma Šumarskog fakulteta. Pre kontaminacije zemljište je prosejano kroz sito prečnika 2 mm. Zemlja je kontaminirana olovom, odnosno kadmijumom dodavanjem $Pb(NO_3)_2$ tj. $Cd(NO_3)_2$ u koncentracijama od 20 i 50 mg/kg vazdušno suve zemlje. Odgovarajuća masa soli za kontaminaciju 5 kg zemljišta je prvo rastvorena u 50 mL destilovane vode, a onda ujednačeno raspoređena u odgovarajuću količinu zemljišta, mešanjem, pre punjenja posuda za gajenje. U plastične posude zapremine 200 mL sađena je jedna biljka u fazi prvog lista. U prvom skrining ogledu biljke su gajene u stakleniku Šumarskog fakulteta, tri meseca. U ostalim ogledima biljke su gajene u laboratorijskim uslovima, u komori za gajenje pri fotoperiodu od 16/8 h i temperaturi od 27/20°C, pri čemu je gustina fotonskog fluksa neposredno iznad biljaka iznosila $200 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, u periodu osvetljenosti, a relativna vlaga u komori je iznosila približno 70%. U toku gajenja retencioni vodni kapacitet zemljišta u kontejnerima je održavan na 70% od maksimalne vrednosti.

3.6. Hidroponska kultura

U ovom poglavlju opisani su uslovi hidroponskog gajenja biljaka u predkulturi, predtretmanima i tretmanima. Biljke su gajene u kontrolisanim uslovima pri fotoperiodu od 16/8 h i temperaturi od 27/20 °C, pri čemu je gustina fotonskog fluksa neposredno iznad biljaka iznosila $200 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ u

periodu osvetljenosti. Relativna vlaga u komori za gajenje je iznosila oko 70 %. Za gajenje je korišćen modifikovan Hoglandov rastvor sledećeg sastava: (u mmol L^{-1}) 0,35 K_2SO_4 , 0,05 KCl , 1,0 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,25 MgSO_4 , 0,05 KH_2PO_4 , i (u $\mu\text{mol L}^{-1}$) 5 H_3BO_3 , 0,25 MnSO_4 , 0,25 ZnSO_4 , 0,1 CuSO_4 , 0,005 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$. U hranljivom rastvoru gvožđe je obezbeđeno u vidu FeIII EDDHA ili u vidu FeIII EDTA u koncentraciji od 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Hranljivi rastvor je kontinuirano aerisan (pumpama za aeraciju) i svakog 5. dana zamenjivan novim. Vrednost pH hranljivog rastvora je podešavana na 6,5 prilikom svake promene rastvora korišćenjem 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 odnosno 0,1 mol L^{-1} KOH . Pri gajenju su korišćene tamne plastične posude sa poklopcima, zapremine 3 L. Biljke su u predkulturi gajene tri nedelje, u potpunom hranljivom rastvoru (prisutni svi esencijalni elementi u optimalnim koncentracijama), a zatim su u predtretmanima izlagane nedostatku pojedinih esencijalnih elemenata tj. nedostatku fosfora i gvožđa u trajanju od nedelju dana (izostavljanjem KH_2PO_4 kada su izlagane nedostatku fosfora odnosno FeIII EDDHA ili FeIII EDTA kada su izlagane nedostatku gvožđa), dok su kontrolne biljke kontinuirano gajene u potpunom hranljivom rastvoru. Nakon predtretmana biljke su tretirane olovom ili kadmijumom dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ili $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u hranljivi rastvor u koncentraciji od 20 ili 20 i 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ u zavisnosti od cilja eksperimenta. Biljke su gajene 2 nedelje u odgovarajućim tretmanima dok su kontrolne grupe biljaka gajene kontinuirano u potpunom rastvoru, odnosno u rastvoru bez gvožđa, takođe, 2 nedelje (Slika 9). Sva k tretmana se sa soja o od 3 do 6 ponavlja pri čemu se sva lo ponavljanje sastojalo od 3 do 5 biljaka. Eksperimenti su ponavljeni 2 odnosno 3 puta. Parametri na osnovu kojih je određena akumulacija olova i kadmijuma, kao i parametri na osnovu kojih je procenjena tolerantnost na prisustvo teških metala u hranljivom rastvoru su određivani poslednjeg dana tretmana. Izuzetak predstavlja Fe(III) reduktazna aktivnost koja je određena po završetku predtretmana kao i nakon tretmana. Procedura uzorkovanja, priprema za analizu i metode određivanja pojedinih parametara je prikazana u sledećim

poglavljima. Za hidroponsko gajenje biljaka korišćene su komore Instituta za Multidisciplinarna istraživanja i Šumarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.



Slika 9. Shematski prikaz eksperimenata (tretmani i predtretmani) u hidrokulturi.

3.7. Vizuelna dijagnoza simptoma nedostatka esencijalnih elemenata i simptoma toksikacije olovom i kadmijumom.

Stepen vizuelne hloroze određen je prema Sudahono & Rouse (1994). Korišćena su četiri stepena hloroze: 1 - boja listova ne odstupa od normalne (listovi bez hloroze), 2 - slaba hloroza (mestimično zastupljene žuto-zelene površine), 3 - umerena do izražena hloroza (mestimično zastupljene žuto-zelene do žute površine), 4 - veoma izražena hloroza (mestimično zastupljene žuto-bele površine). Stepenu prisustva nekroze kao i ostali uočeni vizuelni simptomi toksikacije su opisani i ilustrovani fotografijama iz eksperimenata.

3.8. Određivanje električne konduktivnosti i pH vrednosti hranljivog rastvora u hidrokulturi

Kontrola električna konduktivnosti EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$) i pH vrednost hranljivog rastvora je vršena pre inkubacije korenova intaktnih biljaka kao i periodično, tokom hidroponskog gajenja. Korišćeni su aparati Milwaukee CD611 i Milwaukee pH600. Kalibracija aparata je vršena komercijalnim standardnim rastvorima namenjenim za ovu svrhu.

3.9. Određivanje Fe(III) reduktazne aktivnosti intaktnog korena

Fe(III) reduktazna aktivnost korena određena je prema Nikolić et al. (2000). Posle ispiranja korena u $0,5 \text{ mmolL}^{-1} \text{ CaSO}_4$ u trajanju od 15 min korenovi intaktnih biljaka su inkubirani u rastvoru $0,3 \text{ mmolL}^{-1}$ batofenantrolin disulfonata (BPDS) i $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ Fe-etilendiaminotetraacetata (FeEDTA) u mraku pri temperaturi od $25 \text{ }^\circ\text{C}$, sa kontinuiranom aeracijom inkubacionog rastvora u trajanju od 30 min. Kiselost, odnosno pH vrednost inkubacionog rastvora je podešavana na 6,0 korišćenjem $0,1 \text{ molL}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ i $0,1 \text{ molL}^{-1} \text{ KOH}$. Priprema kontrolnih uzoraka tj. blankova je urađena po istoj proceduri i u istim uslovima ali bez inkubacije korenova.

Apsorbanca $\text{Fe}(\text{BPDS})_3$ kompleksa je merena na 535 nm korišćenjem spektrofotometara (GBC Specific Equipment Pty Ltd. i Thermo Tipe evaluation 300 UV-Vis). Pri svakom izračunavanju korišćen je koeficijent ekstinkcije od $22,14 \text{ mmolL}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

3.10. Procedura uzorkovanja eksudata korena

Intaktni korenovi su ispirani u $0,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ CaSO}_4$ u trajanju od 15 min, a zatim su inkubirani u 35 mL dejonizovane vode 2 h, uz konstantnu aeraciju. Iz svakog inkubacionog rastvora uzet je alikvot (1 mL) i filtriran kroz filter 0,22

mm, zamrznut i liofiliziran. Za analizu organskih kiselina primenom tečne hromatografije visokih performansi (HPLC) korišćeni su liofilizirani uzorci rastvoreni u 100 μL dejonizovane vode.

3.11. Određivanje koncentracije organskih kiselina u eksudatima korena

Razdvajanje organskih kiselina urađeno na Waters sistemu za tečnu hromatografiju visokih performansi (HPLC) koji se sastoji od 1525 binarnih pumpi, termostata i 717+ autosamplera povezanog sa Waters 2996 PDA detektorom podešenom na 210 nm. Korišćena je Aminex HPX-87H, Bio-Rad A 300 \times 7,8 mm kolona, sa odgovarajućom pretkolonom, sa 5 mmolL^{-1} H_2SO_4 kao mobilnom fazom. Primenjeno je izokratsko eluiranje sa protokom od 0,6 mLmin^{-1} na 40 $^\circ\text{C}$. Svaka komponenta je analizirana kvantitativno, a kalibracija je vršena metodom eksternog standarda pri čemu su korišćene čiste referentne supstance (oksalna, citratna, malatna, tartarinska, šikiminska, formična, laktična, fumarna i sukcinatna kiselina) za koncentraciju, retenciono vreme i karakterizaciju UV spektra. Za analizu spektara kao i potvrdu pikova korišćen je Empower 2 Software (Waters). Ova analiza je urađena na Institutu za multidisciplinarna istraživanja Univerziteta u Beogradu.

3.12. Određivanje koncentracije fotosintetičkih pigmenata u listovima

Za određivanje koncentracije fotosintetičkih pigmenata korišćeni su mladi, potpuno razvijeni listovi. Uzorci svežih listova su korišćeni za ekstrakciju u acetonu (1 g ili manje, kad je masa uzorka bila limitirana). Prilikom homogenizacije biljnog materijala dodavana je mala količina kvarcnog peska radi ubrzavanja homogenizacije i mala količina MgCO_3 radi sprečavanja acidifikacije (Marković et al., 2012). Posle homogenizacije i filtracije ekstrakt fotosintetičkih pigmenata je kvantitativno prenošen u merne sudove zapremine 25 mL i dopunjavan acetonom do oznake. Kod nekoliko uzoraka

bilo je potrebno dodatno razblažiti rastvore da bi omogućili očitavanje na spektrofotometru s obzirom da je koncentracija pigmenata bila vrlo visoka. Apsorbanca pripremljenih rastvora je očitavana korišćenjem spektrofotometra (Thermo, Tipe evaluation 300 UV-Vis) na talasnim dužinama od 662, 644 i 440 nm. Koncentracije fotosintetičkih pigmenata tj. hlorofila *a*, hlorofila *b*, koncentracije ukupnih hlorofila i karotenoida u acetonskom ekstraktu su izračunate prema Wettstein (1957) korišćenjem sledećih formula:

$$c \text{ hlorofil } a = 9,784 \cdot A_{662} - 0,990 \cdot A_{644};$$

$$c \text{ hlorofil } b = 21,426 \cdot A_{644} - 4,650 \cdot A_{662};$$

$$c \text{ hlorofil } a+b = 5,134 \cdot A_{662} + 20,436 \cdot A_{644};$$

$$c \text{ karotenoidi} = 4,695 \cdot A_{440} - 0,268 \cdot (\text{hlorofil } a+b).$$

Koncentracije fotosintetičkih pigmenata su izražene u mg · g⁻¹ sveže mase listova na osnovu sledeće formule:

$$C = \frac{cVr}{m}$$

gde je:

C = konc. pigmenta u mg/g sveže mase lista

c = konc. pigmenta u mg/dm³

V = zapremina filtrata (tj. zapremina mernih sudova) = 25 mL

r = razblaženje filtrata

m = masa uzorka svežih listova u mg

3.13. Određivanje parametara indukcije fluorescencije hlorofila

Metoda fluorescencije hlorofila je korišćena za procenu aktivnosti fotosistema II. Za merenje parametara (F₀ - minimalna fluorescencija; F_m - maksimalna fluorescencija; F_v = F_m - F₀ - varijabilna fluorescencija; t_{1/2} - 1/2

vremena potrebnog za postizanje maksimalne fluorescencije (od F_0 do F_m) i F_v/F_m - fotosintetička efikasnost) korišćen je Plant Stress Meter (BioMonitor S.C.I. AB, Sweden), koji sadrži sopstveni softver za izračunavanje i memorisanje parametara indukcije fluorescencije. Merenja su izvršena prema Krause & Weis (1991). Adaptacija listova na uslove mraka pre merenja je trajala 30 min što je dovoljno da omogući pripremu svih reakcionih centara fotosistema II, a otpočinjala je najmanje dva sata posle početka fotoperioda. Merenja su vršena posle ekscitacije hlorofila svetlošću gustine fotonskog fluksa između 200 i 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ u trajanju od 2 do 5 s. Parametri su mereni na zrelim listovima srednje starosti i na mladim, potpuno razvijenim listovima (treći list odozgo), na najširem delu lisne ploče.

3.14. Određivanje koncentracije hemijskih elemenata u biljnom tkivu

Pre sušenja intaktni korenovi su ispirani u $0,5 \text{ mmolL}^{-1} \text{ Na}_2\text{EDTA}$ 1 h da bi se uklonili metali iz apoplasta korena. Zatim su biljke podeljene na koren i nadzemni deo koji su stavljeni u obeležene papirne kese i sušeni na temperaturi od $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 72 h tj. do konstantne mase. Posle određivanja suve mase nadzemnog dela i korena, samleveni uzorci mase 0,2 g ili manji, su izlagani mikrotalasnoj digestiji u prisustvu 3 mL HNO_3 i 2 mL H_2O_2 na aparatu Microwave Accelerated Reaction System, Model MARS 5, CEM Corporation. Koncentracije mineralnih elemenata (Zn, Mn, Cu, Pb, Cd i Fe) su određene optičkom emisionom spektroskopijom sa induktivno spregnutom plazmom (OES-ICP) na aparatima Spectro Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH i ICAP 6300 ICP emisionim spektrometrom, Thermo Electron Corporation.

3.15. Statistička analiza podataka

Za analizu podataka korišćen je statistički softver STATGRAPHICS Centurion XVI.I. Primenjena je analiza varijanse ANOVA. Pre primene *post hoc*

testova primenjeni su testovi za testiranje normalnosti distribucije. Pre statističke analize, gde je to bilo potrebno, primenjena je log transformacija. Za procenu statističke značajnosti razlika između dva ili više skupova podataka, odnosno tretmana i predtretmana korišćeni su ANOVA Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test i LSD test ($P < 0,05$). Za utvrđivanje korelacije između dve varijable korišćen je Pearsonov koeficijent korelacije.

4. Rezultati

4.1. Osnovna fizička i hemijska svojstva zemljišta i koncentracije mikroelemenata u zemljištu

Ovde su opisane osnovne fizičke i hemijske karakteristike zemljišta na lokalitetima matičnih stabala, kao i zemljišta korišćenog u zemljišnoj kulturi. Analizirana je koncentracija pseudoukupnih mikroelemenata kao i procentualno učešće koncentracije pristupačnih u odnosu na koncentraciju pseudoukupnih mikroelemenata na lokalitetima matičnih stabala. U zemljištu koje je korišćeno u eksperimentima analizirano je procentualno učešće pojedinih mikroelemenata u pojedinačnim frakcijama zemljišta.

Cilj ovih analiza je utvrđivanje osnovnih karakteristika zemljišta na kojima je uzorkovan polazni biljni materijal i zemljišta korišćenog za gajenje biljaka u zemljišnoj kulturi kao i utvrđivanje stepena akumulacije kadmijuma, olova i drugih mikroelemenata u površinskim slojevima zemljišta i upoređivanje izmerenih koncentracija sa graničnim koncentracijama iz Uredbe o programu sistemskog praćenja kvaliteta zemljišta, indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa (Službeni glasnik, 2010).

4.1.1. Osnovna fizička i hemijska svojstva zemljišta sa lokaliteta matičnih stabala

U ovom poglavlju je prikazana analiza fizičkih i hemijskih svojstava zemljišta na lokalitetima matičnih stabala vrsta koje su korišćene u eksperimentima. Osnovna fizička svojstva zemljišta su prikazana u Tabeli 4, a osnovni hemijski pokazatelji u Tabeli 5.

Zemljište na lokalitetu *Autoput I* prema procentualnom odnosu granulometrijskih frakcija nalazi se u klasi peskovito-glinovite ilovače do

ilovače (Tabela 4). Reakcija je umereno alkalna. Zemljište je u površinskom sloju do 5 cm dosta humusno (4,07%), a sa dubinom sadržaj humusa opada do slabo humusnog (2,88 %). Sadržaj kalcijum karbonata sa dubinom se povećava od slabo karbonatnog do karbonatnog. Prema sadržaju ukupnog azota zemljište pripada klasi dobro obezbeđenih lakopristupačnim kalijumom i dobro do siromašno obezbeđenih fosforom. Odnos ugljenika prema azotu je povoljan (Tabela 5).

Zemljište na lokalitetu *Autoput II* prema procentualnom odnosu granulometrijskih frakcija nalazi se u klasi peskovite ilovače (Tabela 2). Reakcija je umereno do jako alkalna. Zemljište je u površinskom sloju do 5 cm jako humusno (8,41 %), a sa dubinom sadržaj humusa opada, tako da je dosta humusno na dubini 5 - 10 cm (4,03 %) i slabo humusno (2,34 %) u sloju 10 - 20 cm. Sadržaj kalcijum karbonata sa dubinom se povećava od slabo karbonatnog do veoma karbonatnog u sloju 10 - 20 cm. Prema sadržaju ukupnog azota zemljište pripada klasama bogato do dobro obezbeđenih zemljišta (0,37 - 0,12 %). Prema sadržaju lakopristupačnog kalijuma zemljište je dobro snabdeveno, dok prema sadržaju lakopristupačnog fosfora pripada dobro do siromašno obezbeđenim zemljišta (Tabela 5).

Zemljište na lokalitetu *Košutnjak I* prema procentualnom odnosu granulometrijskih frakcija nalazi se u klasi ilovače. Reakcija je umereno alkalna. Sadržaj humusa opada sa dubinom pa je u površinskom sloju dosta, a u sloju od 20 cm slabo humusno. Prema sadržaju kalcijum karbonata zemljište je slabo karbonatno. Prema sadržaju ukupnog azota u sloju do 5 cm pripada klasi bogato snabdevenih zemljišta (0,25 %) dok u slojevima ispod nije detektovan sadržaj N. Zemljište je slabo snabdeveno lakopristupačnim kalijumom, dok je dobro do srednje snabdeveno lakopristupačnim fosforom (Tabela 5).

Zemljište na lokalitetu *Košutnjak II* prema procentualnom odnosu granulometrijskih frakcija nalazi se u klasi ilovače (Tabela 4). Reakcija je umereno alkalna. Zemljište je u površinskom sloju do 10 cm dosta humusno (4,94 - 3,56 %), a sa dubinom sadržaj humusa opada, do slabo humusnog (2,90

%) u sloju 10 - 20 cm. Zemljište je prema sadržaju kalcijum karbonata slabo karbonatno. Prema sadržaju ukupnog azota pripada klasama bogato do dobro obezbeđenih zemljišta (0,28 - 0,16 %). Sadržaj lakopristupačnog kalijuma ukazuje da je zemljište siromašno snabdeveno, a prema sadržaju lakopristupačnog fosfora, zemljište je dobro do srednje snabdeveno (Tabela 5).

4.1.2. Analiza sadržaja mikroelemenata u zemljištu na lokalitetima matičnih stabala

Koncentracije pseudoukupnih mikroelemenata u zemljištu na lokalitetima matičnih stabala su prikazane u Tabeli 6, a koncentracije ukupnih (ekstrahovanih sa 0,1 M HCl) u Tabeli 7.

Koncentracije pseudoukupnog Pb od 446,227 i 252,312 mg/kg na lokalitetima *Autoput I i II* u sloju zemljišta 0 - 5 cm je oko 10 puta veća u odnosu na koncentracije izmerene na lokalitetima *Košutnjak I i II* - 45,4127 odnosno 18,3191 mg/kg Pb (Tabela 6).

Na lokalitetima *Autoput I i II* koncentracije pseudoukupnog kadmijuma od 0,9722 odnosno 0,7191 mg/kg u gornjim slojevima zemljišta su, takođe, nekoliko puta veće u odnosu na koncentracije na lokalitetima *Košutnjak I i II* - 0,2074 odnosno 0,0821 mg/kg (Tabela 6). Na lokalitetima *Autoput I i II* uočava se smanjenje pseudoukupnog olova sa povećanjem dubine, npr. na lokalitetu *Autoput I* koncentracija Pb u sloju 5 - 10 cm je četiri puta manja u odnosu na koncentraciju u sloju 0 - 5, dok je u sloju 10 - 20 cm koncentracija Pb 14 puta manja u odnosu na površinski sloj od 0 do 5 cm. Takođe, koncentracija pseudoukupnog Cd opada sa povećanjem dubine sličnom dinamikom (Tabela 6). Na lokalitetima *Košutnjak I i II* uočava se neznatno smanjenje koncentracije Pb i Cd sa povećanjem dubine. Na lokalitetima *Autoput I i II* uočavaju se nekoliko puta veće koncentracije Zn i Cu u odnosu na lokalitete *Košutnjak I i II*. Koncentracija ovih elemenata na lokalitetima *Autoput I i II* se smanjuju sa povećanjem dubine, dok je na lokalitetima *Košutnjak I i II* na istom nivou pri

svim dubinama uzorkovanja (Tabela 6). Nisu uočene razlike u koncentracijama Fe i Mn između lokaliteta i dubina uzorkovanja.

Izmerene vrednosti pseudoukupnih mikroelemenata ukazuju da na lokalitetima *Autoput I* i *II* postoji kontaminacija teškim metalima koji verovatno dospevaju u gornje slojeve zemljišta preko taložne prašine i izduvnih gasova motornih vozila.

Koncentracija ukupnog ekstrahovanog olova sa 0,1 M HCl (Tabela 7) je niska i pokazuje da se neznatan deo pseudoukupnog olova nalazi u pristupačnom obliku. Na lokalitetima *Autoput I* i *II* najveće procentualno učešće pristupačnog Pb u odnosu na pseudoukupni sadržaj je uočeno na dubini uzorkovanja od 5 - 10 cm (33,51 % na lokalitetu *Autoput I* i 13,5 % na lokalitetu *Autoput II*, dok se na ostalim dubinama kreće između 8,1 i 3,4 %. Izuzetak predstavlja lokalitet *Autoput II*, gde je na dubini od 0 - 5 cm ova vrednost iznosi 0,22 %. Procentualno učešće pristupačnog Zn je najveće u površinskim slojevima na lokalitetu *Autoput I* (20,45 %) zatim sledi *Košutnjak I* sa 18,11 %. Pri dubini od 5 - 10 cm uočava se najveće procentualno učešće pristupačnog Zn u odnosu na pseudoukupni sadržaj na lokalitetima *Autoput I* (16,57 %) i *Autoput II* (17,65 %). Procentualno učešće pristupačnog Cu u odnosu na pseudoukupni je najveće na lokalitetu *Autoput I* (20,5 % na dubini od 0 - 5 cm i 15,34 % na dubini od 5 - 10 cm), dok su najmanje vrednosti izmerene na lokalitetu *Autoput II* (0,15 na dubini od 0 - 5 cm i 0,47 na dubini od 5 - 10 cm). Udeo pristupačnog gvožđa u odnosu na sadržaj pseudoukupnog je vrlo nizak i kreće se od 0,004 do 0,18 %, dok izuzetak predstavlja lokalitet *Autoput II* gde u površinskom sloju ovaj pokazatelj iznosi 1,22 %. Procentualno učešće pristupačnog Mn u odnosu na pseudoukupni se kreće između 30,9 i 16,4 % u gornjim slojevima. Najmanje učešće pristupačnog Mn je zabeleženo na lokalitetu *Autoput II* pri dubini od 10-20 cm (5,16 %).

Upoređivanjem koncentracija pseudoukupnih mikroelemenata u zemljištima na lokalitetima matičnih stabala sa minimalnim graničnim vrednostima (Uredba o programu sistemskog praćenja kvaliteta zemljišta,

indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa, 2010), utvrđeno je da na lokalitetu *Autoput I* koncentracija Cd u površinskom sloju zemljišta premašuje minimalnu graničnu vrednost od 0,8 mg/kg dok je u ostalim merenjima koncentracija Cd manja od granične (Tabela 6). Na lokalitetima *Autoput I i II* koncentracije Cd su najveće u površinskom sloju zemljišta 0 - 5 cm, dok u dubljim slojevima koncentracija opada, što ukazuje na antropogeno zagađenje. Na lokalitetima *Košutnjak I i II* nije uočena ovakva preraspodela kadmijuma tj. njegova koncentracija je uglavnom na istom nivou na svim dubinama (Tabela 6). Koncentracija Pb u sloju 0 - 5 i 5 - 10 cm premašuje graničnu vrednost od 85 mg/kg na lokalitetu *Autoput I i II* dok je na lokalitetu *Autoput I* koncentracija Pb u površinskom sloju od 446,227 mg/kg vrlo blizu remedijacione vrednosti koja iznosi 530 mg/kg. Na lokalitetima *Košutnjak I i II* koncentracije olova su ispod granične vrednosti (Tabela 6). Koncentracija Cu na lokalitetu *Autoput I i II*, takođe, premašuje graničnu vrednost od 36 mg/kg i to pri dubini 0 - 5 i 5 - 10 cm, dok su na lokalitetima *Košutnjak I i II* vrednosti ispod graničnih na svim dubinama. Koncentracije Zn veće od granične vrednosti (koja iznosi 140 mg/kg) uočavamo na lokalitetu *Autoput I* pri dubini 0 - 5 cm dok na lokalitetu *Autoput II* koncentracija cinka premašuje graničnu vrednost i pri dubini 5 - 10 cm. Na lokalitetima *Košutnjak I i II* izmerene koncentracije Zn su ispod granične vrednosti (Tabela 6).

Tabela 4. Osnovna fizička svojstva zemljišta (higroskopna vlaga i granulometrijski sastav) na lokalitetima matičnih stabala za postavljanje eksperimenata. U tabeli su prikazane prosečne vrednosti merenih parametara za 3 dubine uzorkovanja, za svaki lokalitet.

Lokalitet i dubina uzorkovanja (cm)	Higroskopna vlaga %	Granulometrijski sastav %							
		mm						Ukupni	
		2,0-0,2	0,2-0,06	0,06-0,02	0,02-0,006	0,006-0,002	<0,002	Pesak	Glina i prah
<i>Autoput I 0-5</i>	1,80	11,0	28,5	16,40	15,10	8,00	21,00	55,90	44,10
<i>Autoput I 5-10</i>	2,17	4,60	21,5	21,80	19,10	7,30	25,70	47,90	52,10
<i>Autoput I 10-20</i>	2,65	4,00	15,1	21,00	19,50	7,80	32,60	40,10	59,90
<i>Autoput II 0-5</i>	2,60	8,50	28,0	17,90	22,50	9,10	14,00	54,40	45,60
<i>Autoput II 5-10</i>	2,38	4,60	15,0	22,00	24,00	9,20	25,20	41,60	58,40
<i>Autoput II 10-20</i>	1,50	20,7	25,1	15,80	12,60	6,40	19,40	61,60	38,40
<i>Košutnjak I 0-5</i>	4,23	2,20	13,6	27,20	24,80	10,70	21,50	43,00	57,00
<i>Košutnjak I 5-10</i>	3,77	2,20	12,4	25,50	24,70	9,50	25,70	40,10	59,90
<i>Košutnjak I 10-20</i>	4,15	1,20	12,1	23,20	23,40	10,60	29,50	36,50	63,50
<i>Košutnjak II 0-5</i>	4,20	3,60	14,6	24,50	23,00	10,10	24,20	42,70	57,30
<i>Košutnjak II 5-10</i>	3,87	1,70	13,6	14,10	23,30	8,50	28,60	39,60	60,40
<i>Košutnjak II 10-20</i>	3,80	1,50	11,8	25,60	23,30	9,10	28,70	38,90	61,10

Tabela 5. Osnovna hemijska svojstva zemljišta (pH vrednost u H₂O i CaCl₂, sadržaj CaCO₃, procentualno učešće humusa, ugljenika, azota, odnos ugljenika i azota i sadržaj lakopristupačnog fosfora i kalijuma) na lokalitetima na kojima je prikupljen polazni biljni materijal za postavljanje eksperimenata. U tabeli su prikazane prosečne vrednosti merenih parametara za 3 dubine uzorkovanja za svaki lokalitet.

Lokalitet i dubina uzorkovanja (cm)	pH		CaCO ₃ %	Humus %	C%	N%	C/N	Lako pristupačni mg/100 g zemljišta	
	H ₂ O	CaCl ₂						P ₂ O ₅	K ₂ O
<i>Autoput I 0-5</i>	8,24	7,55	8,45	4,07	2,36	0,20	11,8	26,80	50,00
<i>Autoput I 5-10</i>	8,28	7,66	4,20	3,03	1,76	0,16	11,0	8,00	22,50
<i>Autoput I 10-20</i>	8,35	7,72	5,86	2,88	1,67	0,15	11,1	6,10	17,90
<i>Autoput II 0-5</i>	8,26	7,35	5,86	8,41	4,88	0,37	13,2	23,00	76,00
<i>Autoput II 5-10</i>	8,60	7,60	2,70	4,03	2,34	0,20	11,7	10,00	53,00
<i>Autoput II 10-20</i>	8,60	7,73	14,74	2,34	1,35	0,12	11,2	9,40	27,60
<i>Košutnjak I 0-5</i>	8,04	7,47	1,65	4,94	2,86	0,28	10,2	7,00	25,50
<i>Košutnjak I 5-10</i>	8,17	7,58	2,90	3,56	2,06	0,20	10,3	5,30	17,90
<i>Košutnjak I 10-20</i>	8,18	7,52	1,50	2,90	1,68	0,16	10,5	2,00	15,00
<i>Košutnjak II 0-5</i>	8,00	7,45	3,50	4,66	2,70	0,25	10,8	3,80	93,00
<i>Košutnjak II 5-10</i>	8,28	7,70	2,34	1,62	0,94	-	-	0,70	14,70
<i>Košutnjak II 10-20</i>	8,40	7,74	4,17	1,50	0,87	-	-	1,60	13,10

Tabela 6. Koncentracija (mg/kg) pseudoukupnog Zn, Cu, Pb, Cd, Fe i Mn u zemljištu uzorkovanom 2010. godine na lokalitetima matičnih stabala. U tabeli su prikazane srednje vrednosti (SV) i standardne greške (SE).

Lokalitet i dubina uzorkovanja (cm)	Koncentracije pseudoukupnih teških metala											
	mg/kg											
	Zn		Cu		Pb		Cd		Fe		Mn	
	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se
<i>Autoput I 0-5</i>	465,736	0,611473	83,9956	0,184794	446,227	0,844744	0,9722	0,0160	33195,3	102,936	522,861	6,74853
<i>Autoput I 5-10</i>	135,867	0,345622	39,2984	0,183236	120,586	0,967823	0,317	0,0139	39830,0	139,542	627,688	7,2469
<i>Autoput I 10-20</i>	94,2475	1,77724	25,4109	0,0923409	30,5704	0,811247	0,0933	0,0019	38555,8	45,1424	633,411	8,31204
<i>Autoput II 0-5</i>	290,466	0,26804	49,756	0,200785	252,312	1,05913	0,7191	0,0096	27253,2	372,135	531,401	7,17653
<i>Autoput II 5-10</i>	216,506	0,255991	1580,57	11,2087	263,148	0,287117	0,6174	0,0387	28121,5	396,921	629,417	8,40046
<i>Autoput II 10-20</i>	107,539	0,434772	31,1448	0,145025	87,6505	1,47182	0,2443	0,0198	28573,3	203,957	457,633	5,51497
<i>Košutnjak I 0-5</i>	93,505	0,22286	22,0991	0,0298383	45,4127	0,905514	0,2074	0,0192	32991,8	330,517	643,362	11,7883
<i>Košutnjak I 5-10</i>	86,221	0,370689	21,8992	0,0415793	29,7405	0,771642	0,1434	0,0173	31401,9	92,9754	632,731	9,5802
<i>Košutnjak I 10-20</i>	90,3571	1,11709	20,2443	0,0383783	24,2197	0,645443	0,0821	0,0062	33189,7	300,809	654,609	11,7745
<i>Košutnjak II 0-5</i>	86,2736	0,35921	20,3322	0,0931517	18,3191	0,811731	0,0267	0,0234	33771,0	290,381	602,658	12,0911
<i>Košutnjak II 5-10</i>	82,1649	0,627254	20,3664	0,0854523	16,2876	0,565078	0,0133	0,0077	31170,4	139,175	587,864	10,5653
<i>Košutnjak II 10-20</i>	74,8928	0,174253	19,3531	0,0503648	16,2745	0,940212	0,0111	0,0111	35461,0	105,427	555,73	15,0224

Tab 7. Koncentracija (mg/kg) Zn, Cu, Pb, Cd, Fe i Mn ekstrahovanih sa 0,1 M HCl (pristupačni) iz zemljišta sa lokaliteta matičnih stabala. U tabeli su prikazane srednje vrednosti (SV) i standardne greške (SE) (<g.d. - ispod granice detekcije).

Lokalitet i dubina uzorkovanja (cm)	Koncentracije pristupačnih teskih metala											
	mg/kg											
	Zn		Cu		Pb		Cd		Fe		Mn	
	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se	Sv	Se
<i>Autoput I 0-5</i>	95,2417	0,494927	1,79167	0,0606667	16,6247	0,304057	0,641667	0,00735603	1,85733	0,00405518	148,311	1,26581
<i>Autoput I 5-10</i>	22,511	0,543655	8,05867	0,137919	40,406	0,629013	0,303333	0,00328295	40,083	0,0443058	136,914	0,225057
<i>Autoput I 10-20</i>	5,37433	0,123194	3,89833	0,0548614	4,12167	0,128209	0,203	0,0130512	71,2497	0,0906759	90,8013	0,402105
<i>Autoput II 0-5</i>	32,4433	0,659775	0,0773333	0,00783865	0,553	0,080637	0,351333	0,0231685	0,00333333	0,00333333	87,2623	0,97806
<i>Autoput II 5-10</i>	38,205	0,200645	7,51567	1,23118	35,5087	1,96279	0,537	0,0051316	12,356	0,0333217	143,773	0,282047
<i>Autoput II 10-20</i>	5,28933	0,208183	<g.d.	<g.d.	<g.d.	<g.d.	0,0596667	0,00698411	<g.d.	<g.d.	23,605	0,0610765
<i>Kosutnjak I 0-5</i>	16,937	0,0935111	1,441	0,12929	2,47233	0,0590094	0,288	0,00288675	10,8243	0,0264092	198,94	0,373851
<i>Kosutnjak I 5-10</i>	9,01633	0,0211056	1,17833	0,150721	1,76333	0,0730533	0,21	0,00173205	7,44567	0,022281	177,299	0,397787
<i>Kosutnjak I 10-20</i>	6,85967	0,127291	1,98167	0,0833513	1,96033	0,0218276	0,172667	0,00775314	22,7783	0,0188355	164,086	0,201859
<i>Kosutnjak II 0-5</i>	8,32567	0,234133	0,590333	0,0769791	0,641333	0,0368435	0,0983333	0,0106667	4,01033	0,0239049	173,394	0,118307
<i>Kosutnjak II 5-10</i>	3,67033	0,0858241	1,62967	0,141049	0,553667	0,0655752	0,0786667	0,0048074	14,326	0,0230072	105,991	0,111553
<i>Kosutnjak II 10-20</i>	1,094	0,0892693	0,117333	0,0110504	<g.d.	<g.d.	0,074	0,00360555	1,56933	0,0184782	51,788	1,6719

4.1.3. Osnovna fizička i hemijska svojstva zemljišta korišćenog u zemljišnoj kulturi

Analiza osnovnih fizičkih i hemijskih pokazatelja za zemljište iz Arboretuma Šumarskog fakulteta, korišćenog u zemljišnoj kulturi je prikazana u ovom poglavlju. Analizirana fizička i hemijska svojstva su data u Tabeli 8.

Zemljište pripada tipu eutrični kambisol (Đukić *et al.*, 2004), neutralne je reakcije, a prema sadržaju kalcijum karbonata zemljište je slabo karbonatno. Prema sadržaju ukupnog azota zemljište pripada klasi vrlo bogato obezbeđenih zemljišta (0,4%). Snabdevenost zemljišta lakopristupačnim kalijumom je visoka, dok je snabdevenost lakopristupačnim fosforom vrlo niska (Tabela 8).

Dubina (cm)	pH H ₂ O	pH CaCl ₂	Y _{1ccm} 0,1 M NaOH	Adsorptivni kompleks mg equiv / 100 g			V %	Humus %	C %	N %	C/N	Lako pristupačni mg/100g	
				(T - S)	T	S						P ₂ O ₅	K ₂ O
0 - 20	6,9	6,10	23,0	5,53	18,2	23,73	76,7	5,26	3,05	0,4	7,6	9,2	29,6

Tabela 8. Hemijska svojstva zemljišta korišćenog za gajenje biljaka u zemljišnoj kulturi.

4.1.4. Analiza sadržaja mikroelemenata u zemljištu korišćenom u zemljišnoj kulturi

U ovom poglavlju je analiziran je sadržaj pseudoukupnih metala Zn, Cd, Cu, Fe, Pb i Mn u zemljištu (Tabela 9). Ove vrednosti su upoređene sa graničnim koncentracijama i analiziran je njihov odnos. Takođe, predstavljeni su rezultati sekvencijalne analize prema Petrović *et al.*, 2009 (Tabela 10) i

analizirano je procentualno učešće metala u pojedinačnim frakcijama (Tabela 11).

Tabela 9. Koncentracija pseudoukupnih metala (Zn, Cd, Cu, Fe, Pb i Mn) u zemljištu iz Arboretuma Šumarskog fakulteta korišćenog za zemljišnu kulturu.

Dubina (cm)	Zn	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg
0-20	64,02	0,62	20,7	2,9	636	26,32

Koncentracije pseudoukupnih metala u zemljištu korišćenom za zemljišnu kulturu su upoređene sa graničnim vrednostima koje su prikazane u Tabeli 2. Utvrđeno je da koncentracije analiziranih elemenata ne premašuje granične vrednosti utvrđene u Uredbi (Službeni glasnik, 2010).

Tabela 10. Sekvencijalna analiza Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn za zemljište korišćeno u zemljišnoj kulturi prema Petrović et al., 2009.

Faza	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
	µg/kg	µg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
I	59,2356	962,0971	0,58603	26,9474	-	0,53742
II	237,5776	486,0216	376,4356	549,7616	8,2414	11,0119
III	101,5589	2439,8	1131,5739	15,1965	6,0089	1,2665
IV	222,4947	-	1765,8947	105,0840	4,0763	2,0159
V	1077,7830	8721,4	11645,4952	124,0274	15,1739	33,3091

Sekvencijalna analiza prikazana u Tabeli 10 pokazuje preraspodelu Cd, Cu, Fe, Mn, Pb i Zn u 5 frakcija tj. faza Pri ekstrakciji su korišćeni reagensi u odgovarajućim koncentracijama što je prikazano u Tabeli 1, a primenjena je procedura prema Petrović et al. (2009). Koncentracije metala prikazane u 5 faza čine sledeće frakcije:

I faza. Vodno-rastvorljivi i razmenljivo adsorbovani metali (izmenljivi);

II faza. Specifično adsorbovani i metali vezani za karbonate;

III faza. Metali okludovani na oksidima mangana i gvožđa;

VI faza. Organsko-sulfidna frakcija;

V faza. Metali strukturno vezani u silikatima (rezidijum).

Najveći procenat svih analiziranih metala se nalazi u rezidijumu (faza 5)(Tabela 11). Izuzetak predstavlja Mn koji se u najvećem procentu (66,96%) javlja u fazi II. Od ukupnog sadržaja Cd u izmenljivom obliku se nalazi svega 3,49%, što je ujedno i najmanja procentualna zastupljenost Cd u frakciji (Tabela 11), dok je u ovoj frakciji Pb nije izmereno (Tabela 10, 11). U fazi II koja predstavlja vrlo reducibilnu frakciju, procentualno učešće Cd je 13,99%, a Pb 24,60%.

Tabela 11. Procentualno učešće metala u pojedinačnim frakcijama (fazama) u odnosu na ukupni sadržaj ekstrahovanih metala, zbirno (sve faze).

Faza	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
	%	%	%	%	%	%
I	3,49	7,63	0	3,28	0	1,12
II	13,99	3,85	2,52	66,96	24,60	22,87
III	5,98	19,35	7,58	1,85	17,94	2,63
IV	13,10	0	11,84	12,80	12,17	4,19
V	63,45	69,17	78,05	15,11	45,30	69,19

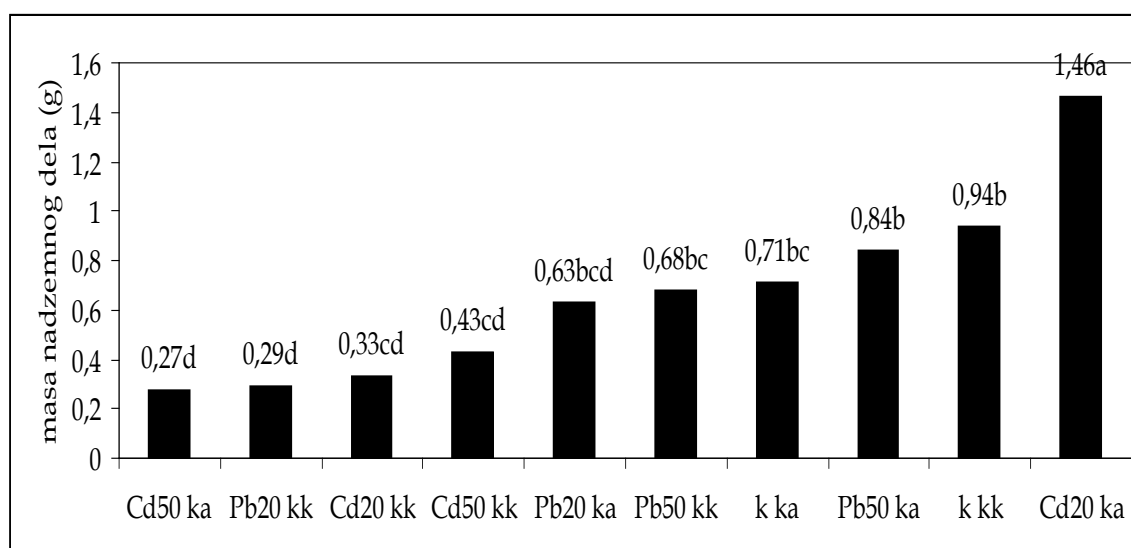
4.2. Uticaj olova i kadmijuma na pokazatelje ranog razvića i biomasu biljaka iz zemljišne kulture

4.2.1. Uticaj olova i kadmijuma u zemljištu na biomasu biljaka

U ovom poglavlju prikazani su rezultati analize biomase sadnica gajenih u zemljišnoj kulturi. Analizirana je suva masa korena i nadzemnog dela biljaka *Ailanthus altissima*, *Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula* poreklom sa matičnih stabala, na lokalitetima *Autoput I* (*Ailanthus altissima*, *Acer negundo*) i *Autoput II* (*Platanus x acerifolia* i *Betula pendula*) i *Košutnjak I* (*Ailanthus altissima*) i *Košutnjak II* (*Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* i *Betula pendula*). U Grafikonima (1, 3, 5 i 7) je prikazana masa nadzemnog dela za svaku vrstu posebno, dok je u Grafikonima 2, 4 i 8 prikazana biomasa korena, takođe, pojedinačno za svaku vrstu. U slučajevima gde je procenat preživljavanja sadnica bio veoma nizak, rezultati nisu prikazivani grafički.

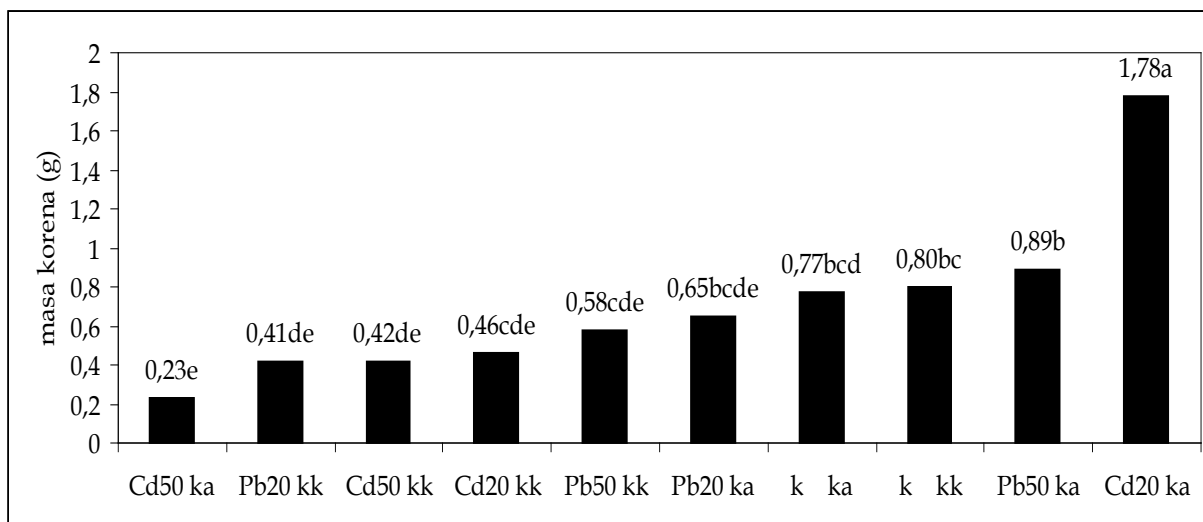
Za analizu biomase nadzemnog dela i korena biljaka koje su gajene u kontaminiranom zemljištu korišćena je analiza varijanse i analiza višestrukih opsega, na osnovu LSD testa ($P < 0,05$). Biomasa nadzemnog dela biljaka kiselog drveta (*Ailanthus altissima*) dobijenih iz semena poreklom sa matičnih stabala na lokalitetima *Košutnjak I* (*kk*) i *Autoput I* (*ka*) je prikazana u Grafikonu 1. Analiza pokazuje da nema statistički značajnih razlika u biomasi nadzemnog dela između tretmana i kontrolnih biljaka poreklom sa matičnog stabla (*ka*) osim kod tretmana *Cd50* gde je zemljište kontaminirano dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 50 mg/kg (Grafikon 1). U ovom tretmanu masa je značajno manja u odnosu na biljke gajene u nekontaminiranom zemljištu. Takođe, uočava se značajno veća masa nadzemnog dela u *Cd20* tretmanu u odnosu na kontrolu, međutim, interpretaciju ovog rezultata ne bi trebalo dovoditi u vezu samo sa samim tretmanom, jer je u ovoj grupi biljaka došlo do proliferacije korena iz konterjnera u supstrat u parapetima, tako da ne možemo eliminisati ovaj faktor koji je mogao uticati na biomasu biljaka.

Statistički značajno smanjenje biomase kod biljaka tretiranih olovom i kadmijumom dodavanjem $Pb(NO_3)_2$, odnosno $Cd(NO_3)_2$ u koncentraciji od 20 i 50 mg/kg u odnosu na biljke gajene u nekontaminiranom zemljištu se uočava kod biljaka poreklom sa matičnog stabla označenog sa *kk* (Grafikon 1). Izuzetak predstavlja tretman *Pb50* koji se nalazi u istoj homogenoj grupi sa kontrolnim biljkama. Kada je u pitanju biomasa korena kod biljaka dobijenih od matičnog stabla sa lokaliteta *Košutnjak I* uočava se značajno smanjenje biomase u odnosu na kontrolu dok se kod biljaka poreklom sa lokaliteta *Autoput I*, jedino kod tretmana *Cd50* uočava signifikantno smanjenje biomase u odnosu na kontrolu. Ovde se opet izdvaja tretman *Cd20* za matično stablo *ka* u homogenoj grupi *a*, sa značajno većom masom korena u odnosu na ostale tretmane (Grafikon 2).

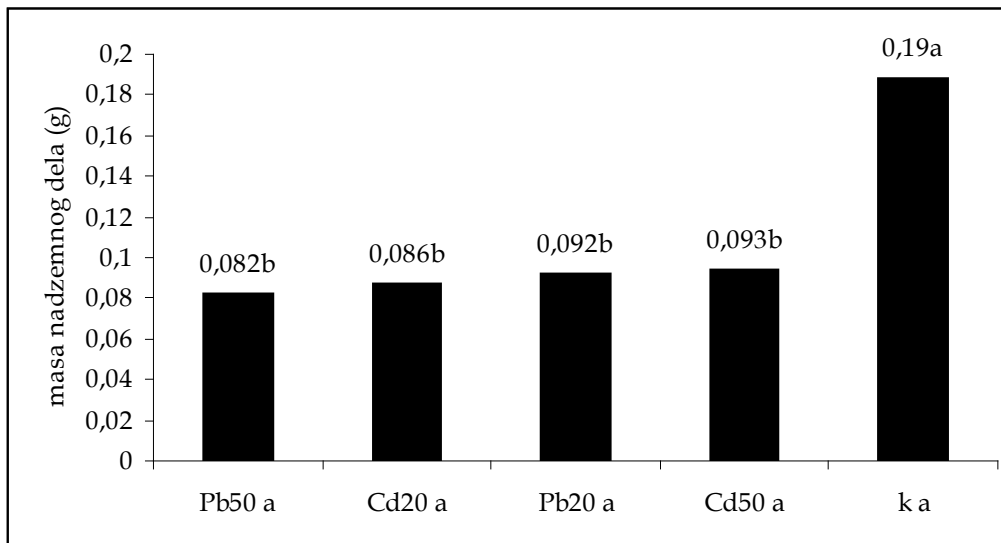


Grafikon 1. Uticaj olova i kadmijuma u kontaminiranom zemljištu na biomasu nadzemnog dela biljaka *Ailanthus altissima*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$). Legenda: *Cd20*, *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $Cd(NO_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $Pb(NO_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *ka* - označava biljke dobijene

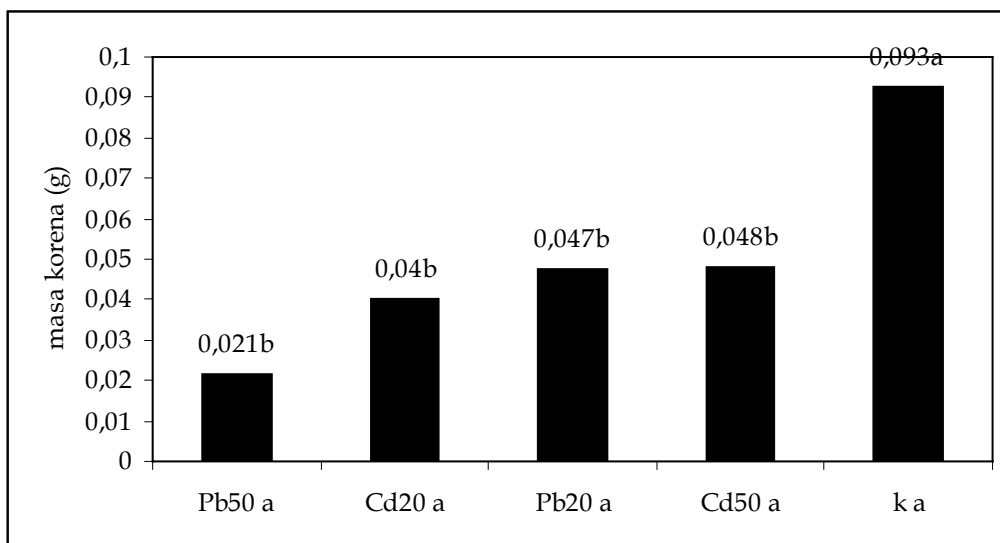
iz semena poreklom sa matičnog stabla *Ailanthus altissima* (kiselodrvno) na lokalitetu *Autoput I*; *kk* - označava biljke dobijene sa matičnog stabla na lokalitetu *Košutnjak I*; *k* - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.



Grafikon 2. Uticaj olova i kadmijuma u kontaminiranom zemljištu na biomasu korena biljaka *Ailanthus altissima*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).
 Legenda: *Cd20*, *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *ka* - označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Ailanthus altissima* (kiselodrvno) na lokalitetu *Autoput I*; *kk* - označava biljke dobijene sa matičnog stabla na lokalitetu *Košutnjak I*; *k* - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.



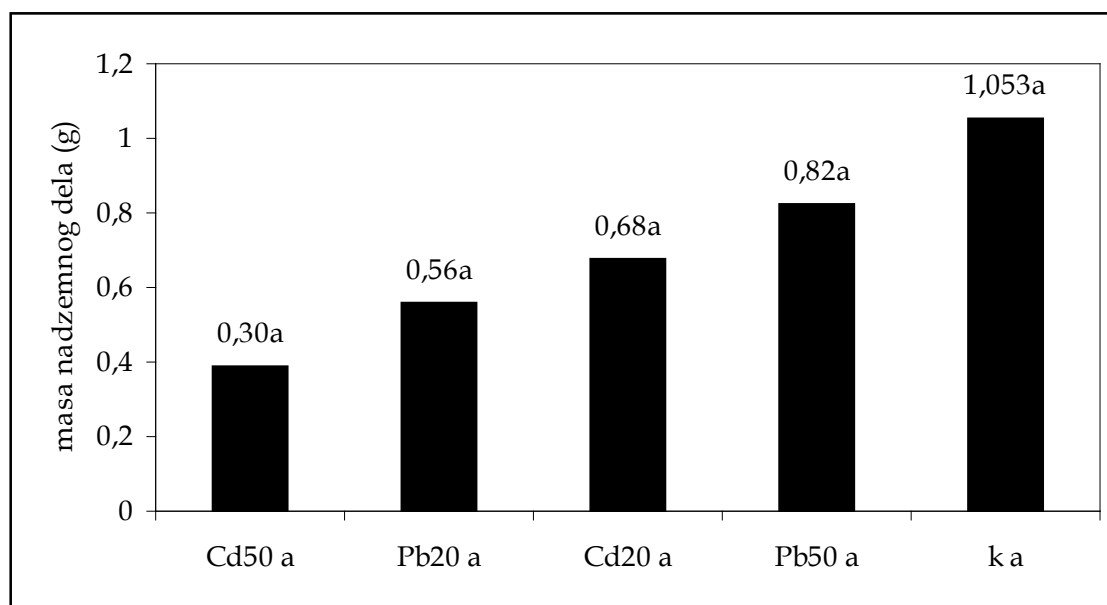
Grafikon 3. Uticaj olova i kadmijuma u kontaminiranom zemljištu na biomasu nadzemnog dela biljaka *Betula pendula*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$). Legenda: *Cd20*, *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *a* - označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Betula pendula* (breza) na lokalitetu *Autoput II*; *k* - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.



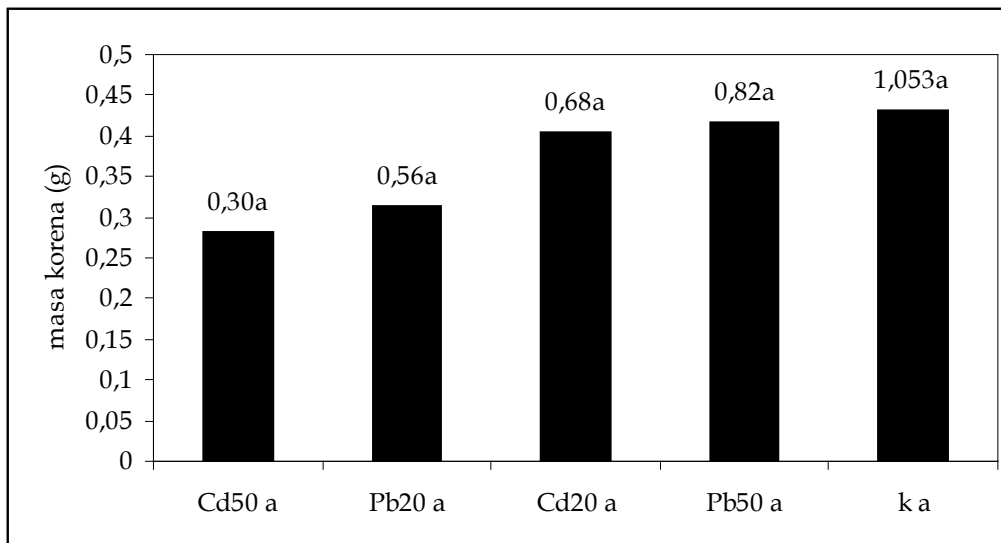
Grafikon 4. Uticaj olova i kadmijuma u kontaminiranom zemljištu na biomasu korena biljaka *Betula pendula*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$). Legenda: *Cd20*, *Cd50* – biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* – biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *a* – označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Betula pendula* (breza) na lokalitetu *Autoput II*; *k* – označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.

U ogledu sa biljkama *Betula pendula* uočeno je značajno smanjenje biomase korena i nadzemnog dela biljaka u tretmanima u odnosu na kontrolu grupu biljaka koja je gajena u nekontaminiranom zemljištu. Svi tretmani pripadaju homogenoj grupi b, dok se kontrolna grupa biljaka izdvaja u homogenoj grupi a (Grafikoni 4 i 3). Rezultati prikazani u ovim grafikonima se odnose na biljke poreklom sa matičnog stabla na lokalitetu *Autoput I*. Biljke sa lokaliteta *Košutnjak I* pokazale jako nisku stopu preživljavanja u tretmanima, tako da ovde nisu prikazane.

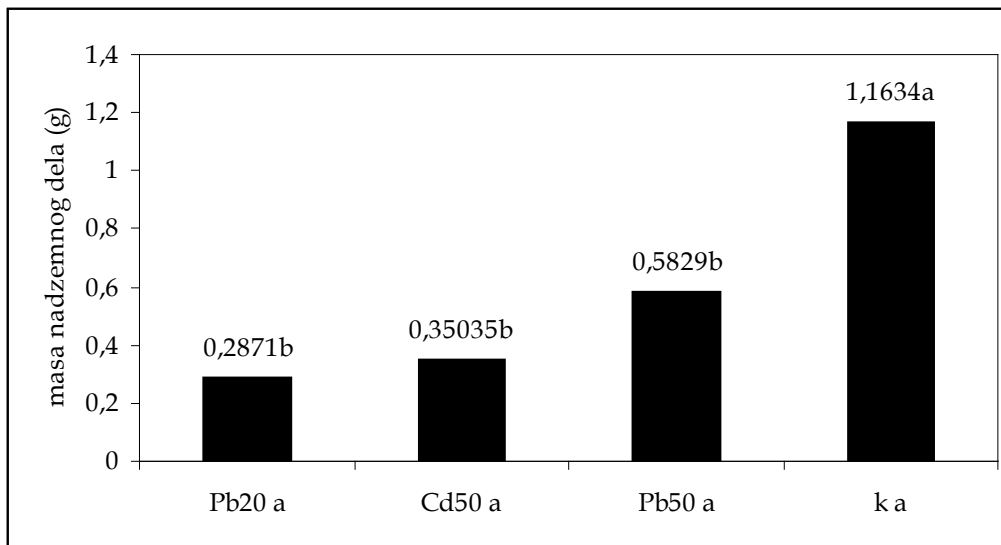
Za biljke *Acer negundo* poreklom od matičnih stabala sa lokaliteta Autoput I uočava se smanjenje srednjih vrednosti mase nadzemnog dela i korena (Grafikon 5 i 6), međutim, nisu uočene statistički značajne razlike s obzirom da su vrednosti standardnih greški u tretmanima bile vrlo visoke.



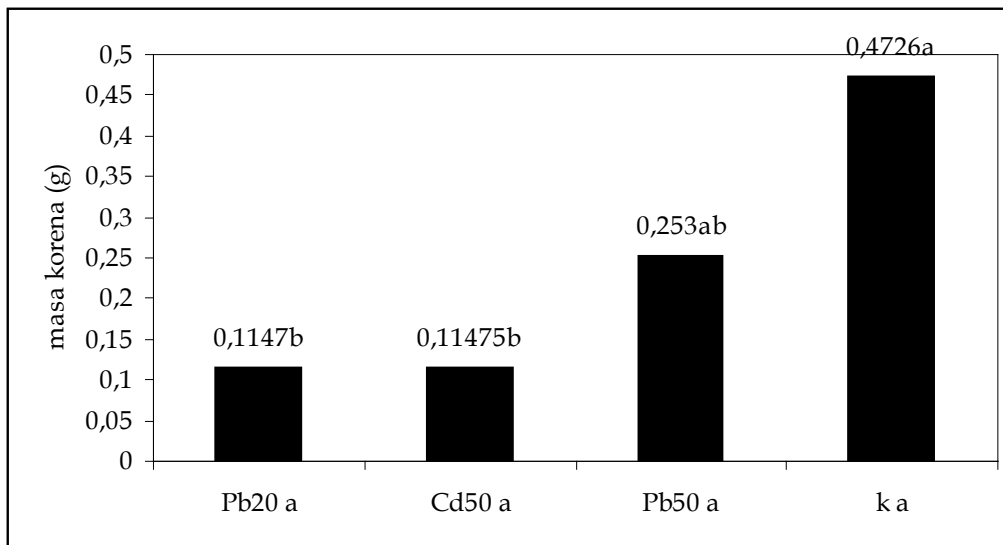
Grafikon 5. Uticaj olova i kadmijuma u zemljištu kontaminiranom dodavanjem $Pb(NO_3)_2$, odnosno $Cd(NO_3)_2$ u koncentraciji od 20 i 50mg/kg na biomasu nadzemnog dela za biljke *Acer negundo*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).
 Legenda: *Cd20*, *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $Cd(NO_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $Pb(NO_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *a* - označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Acer negundo* (negundo) na lokalitetu Autoput I; *k* - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.



Grafikon 6. Uticaj olova i kadmijuma u zemljištu kontaminiranom dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, odnosno $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 i 50mg/kg na biomasu korena za biljke *Acer negundo*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$). Legenda: *Cd20*, *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *a* - označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Acer negundo* (pajavac) na lokalitetu *Autoput I*; *k* - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.



Grafikon 7. Uticaj olova i kadmijuma u zemljištu kontaminiranom dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, odnosno $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 i 50mg/kg na biomasu nadzemnog dela za biljke *Platanus x acerifolia*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$). Legenda: *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; a - označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Platanus x acerifoila* (platan) na lokalitetu *Autoput II*; k - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.



Grafikon 8. Uticaj olova i kadmijuma u zemljištu kontaminiranom dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, odnosno $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 i 50mg/kg na biomasu korena za biljke *Platanus x acerifolia*. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$). Legenda: *Cd50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *Pb20*, *Pb50* - biljke gajene u kontaminiranom zemljištu dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg, odnosno 50 mg/kg; *a* - označava biljke dobijene iz semena poreklom sa matičnog stabla *Platanus x acerifoila* (platan) na lokalitetu *Autoput II*; *k* - označava kontrolne biljke, gajene u nekontaminiranom zemljištu.

4.2.2 Uticaj olova i kadmijuma na klijanje semena i rano razviće analiziranih biljaka

U ovom poglavlju prikazani su analizirni pokazatelji klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks i odnos korena i hipokotila) u tretmanima olovom i kadmijumom u koncentraciji od 25, 50 i 100 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ odnosno μM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$. U Tabelama 12, 13 i 14 prikazan je uticaj olova na navedene pokazatelje, za svaku vrstu posebno, dok je u tabelama 15, 16 i 17 prikazan uticaj kadmijuma. U ovom eksperimentu korišćena su semena sa matičnih stabala na lokalitetima Autoput I i II.

U eksperimentima u kojima je ispitivan uticaj Pb na klijanje rano razviće biljaka uočeno je da koncentracije od 25, 50 i 100 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ne utiču značajno na procenat klijanja (Tabele 12, 13 i 14). Odnos dužina korena i hipokotila se smanjuje u prisustvu olova u sve tri koncentracije kod ispitivanih taksona. Izuzetak predstavljaju uzorci vrste *Platanus x acerifolia* kod koje u prisustvu olova dolazi do povećanja odnosa korena i radikule i vigor indeksa (Tabela 14). Kod ostalih vrsta smanjenje vrednosti parametra – vigor indeks je uočeno jedino pri najvećoj koncentraciji (od 100 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$).

U eksperimentima u kojima je ispitivan uticaj Cd na klijanje i rano razviće biljaka uočeno je da koncentracije od 25, 50 i 100 μM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ značajno smanjuje procenat klijanja u tretmanima u odnosu na kontrolu. Uočeno je i smanjenje vigor indeksa kod svih ispitivanih uzoraka (Tabele 14, 15 i 16).

Tabela 12. Parametri klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks i odnos dužina korena i hipokotila) za uzorke semena i biljke *Acer negundo* izloženih uticaju olova.

Vrsta	Tretman Pb(NO ₃) ₂ μM	Procenat klijanja %	Indeks klijanja	Vigor indeks	Odnos dužina korena i hipokotila
<i>Acer negundo</i>	0 (kon.)	50,67a±8,82	6,45b±0,98	339,06a±11,98	1,71a ±0,09
	25	63,33a±0,67	13,00a±0,17	351,29a±10,60	1,55b ±0,15
	50	55,33a±2,9	14,43a±0,42	336,86a±18,63	1,65ab ±0,16
	100	62,67a±7,57	13,46a±0,87	304,50b±16,7	1,60b ±0,24

Tabela 13. Parametri klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks i odnos dužina korena i hipokotila) za za uzorke semena i biljke *Ailanthus altissima* izloženih uticaju olova.

Vrsta	Tretman Pb(NO ₃) ₂ μM	Procenat klijanja %	Indeks klijanja	Vigor indeks	Odnos dužina korena i hipokotila
<i>Ailanthus altissima</i>	0 (kon)	94,0a±3,05	8,64b ±0,	461,53b ±29,72	0,88b ±0,06
	25	96,67a±0,6	8,48b ±0,2	551,0a ±3,8	1,14ab ±0,03
	50	91,33a±2,4	7,09c ±0,12	358,93c ±3,73	1,03b ±0,03
	100	94,67a±2,4	10,02a±0,56	419,53bc ±22,28	1,25a ±0,02

Tabela 14. Parametri klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks, odnos dužina radikule i hipokotila) za uzorke semena i biljke *Platanus x acerifolia* izloženih uticaju olova.

Vrsta	Tretman Pb(NO ₃) ₂ μM	Procenat klijanja %	Indeks klijanja	Vigor indeks	Odnos dužina korena i hipokotila
<i>Platanus x acerifolia</i>	0 (kon)	52,0a ±2,31	9,56a ±0,74	669,5a ±103,78	0,319b ±0,044
	25	44,0b ±4,0	9,17a ±0,51	1014,75a±148,53	0,449a ±0,034
	50	50,0a ±1,15	10,43a±0,59	987,5a ±318,59	0,5407a±0,0392
	100	48,0ab±3,46	11,28a±1,21	765a ±41,21	0,454 a ±0,0381

Tabela 15. Parametri klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks, odnos dužina radikule i hipokotila) za uzorke semena i biljke *Acer negundo* izloženih uticaju kadmijuma.

Vrsta	Tretman Cd(NO ₃) ₂ μM	Procenat klijanja %	Indeks klijanja	Vigor indeks	Odnos dužina korena i hipokotila
<i>Acer negundo</i>	0 (kon.)	52,00a	4,77b ±1,44	212,51a ±11,74	0,79c ±0,12
	25	54,67a	6,082a ±0,23	191,65a ±27,2	0,45c ±0,0
	50	34,66b	4,578b ±1,41	68,45b ±7,08	1,4b ±0,03
	100	15,33c	1,36c ±0,27	1,39c ±0,804	1,98a ±1,51

Tabela 16. Parametri klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks, odnos dužina radikule i hipokotila) za uzorke semena i biljke *Ailanthus altissima* izloženih uticaju kadmijuma.

Vrsta	Tretman Cd(NO ₃) ₂ μM	Procenat klijanja %	Indeks klijanja	Vigor indeks	Odnos dužina korena i hipokotila
<i>Ailanthus altissima</i>	0 (kon)	99,33a±0,67	8,48a±0,34	523,8 a ±32,08	1,42a ±0,11
	25	82,67b±6,96	6,4 b ±0,8	507,59ab±25,53	1,42a ±0,12
	50	92,67b±1,76	8,15a±0,22	611 a ±119,57	1,03b ±0,06
	100	88,67±4,37b	6,9±0,48ab	440,98 b ±27,52	1,15ab ±0,12

Tabela 17. Parametri klijanja (procenat klijanja i indeks klijanja) i ranog razvića (vigor indeks, odnos dužina korena i hipokotila) za za uzorke semena i biljke *Platanus x acerifolia* izloženih uticaju kadmijuma.

Vrsta	Tretman Cd(NO ₃) ₂ μM	Procenat klijanja %	Indeks klijanja	Vigor indeks	Odnos dužina korena i hipokotila
<i>Platanus x acerifolia</i>	0 (kon)	52,0 a ±2,31	9,56 a ±0,74	669,5 a ±103,78	0,319 a ±0,044
	25	62,0 a ±4,163	3,031 b ±0,23	822,533a±31,1277	0,3183 a±0,0524
	50	44,67b±2,404	2,076b±0,106	556,886a±24,2196	0,334 a ±0,0513
	100	47,33 b ±1,33	2,369b±0,059	590,047a±25,6616	0,2905 a±0,0426

Semena *Betula pendula* su u pokazala vrlo nizak procenat klijanja (izmedju 20 i 12%) u tretiranim i kontrolnim uzorcima sto nije bilo dovoljno određivanje ostalih parametara ranog razvića i za statističku analizu.

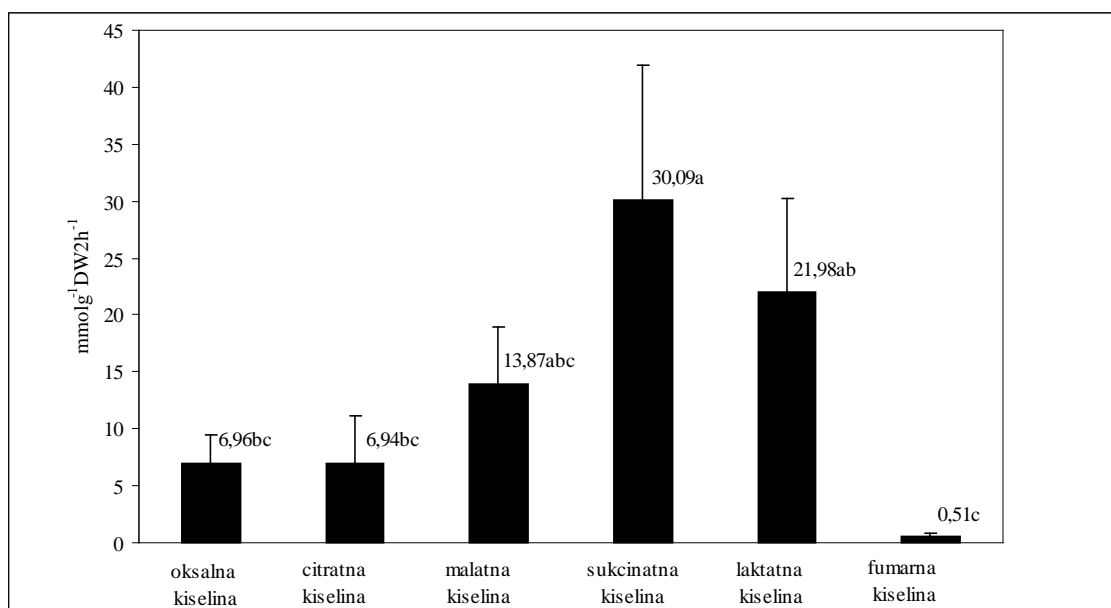
4.3. Eksudacija organskih kiselina iz korena

4.3.1. Eksudacija organskih kiselina iz korena (zemljišna kultura)

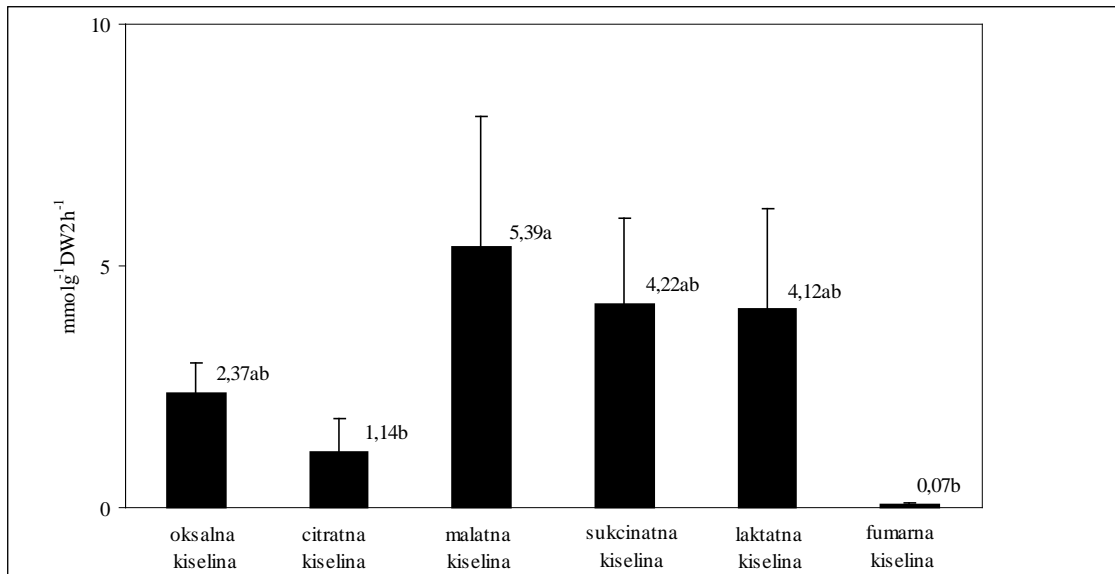
Za analizu eksudata korena korišćene su biljke *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* dobijene iz semena matičnih stabala na lokalitetu *Autoput I*, gajene u zemljištu kontaminiranom $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ili $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg. Takođe, analizirani su eksudati koren biljaka gajenih u nekontaminiranom zemljištu.

Koncentracije organskih kiselina u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* iz zemljišne kulture su prikazane u Grafikonima 9, 10 i 11. Kod biljaka koje su gajene u nekontaminiranom zemljištu izmerena je najveća koncentracija sukcinatne kiseline 30,09 zatim laktatne 21,98 $\text{mmol g}^{-1}2\text{h}^{-1}$, dok je koncentracija malatne, oksalne i citratne na nešto nižem nivou (Grafikon 9). U najnižoj koncentraciji u eksudatima korena je bila zastupljena fumarna kiselina (0,51 $\text{mmol g}^{-1}\text{DWh}^{-1}$). Pri kontaminaciji zemljišta $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg uočava se smanjenje koncentracija organskih kiselina u odnosu na biljke iz nekontaminiranog zemljišta (Grafikon 9 i 10). Pri kontaminaciji zemljišta olovom izmerena je najveća koncentracija malatne kiseline 5,39 $\text{mmol g}^{-1}2\text{h}^{-1}$. a zatim slede sukcinatna i laktatna u koncentraciji od 4,22 i 4,12 $\text{mmol g}^{-1}2\text{h}^{-1}$. Dok su oksalna i citratna u nekontaminiranom zemljištu bile zastupljene u istim koncentracijama (Grafikon 9), pri kontaminaciji olovom uočava se povećanje koncentracije oksalne u odnosu na citratnu kiselinu dok je koncentracija fumarne i ovde na najnižem nivou (Grafikon 10). Kod biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u zemljištu kontaminiranom $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg izmerene su najniže koncentracije organskih kiselina (Grafikon 11) gde su koncentracije malatne, sukcinatne i laktatne na istom nivou (1,93; 1,99 i 2,27 $\text{mmol g}^{-1}2\text{h}^{-1}$) dok je koncentracija citratne i fumarne u ovom tretmanu najniža (0,08 i 0,02 $\text{mmol g}^{-1}2\text{h}^{-1}$). Ukupna koncentracija organskih kiselina u eksudatima

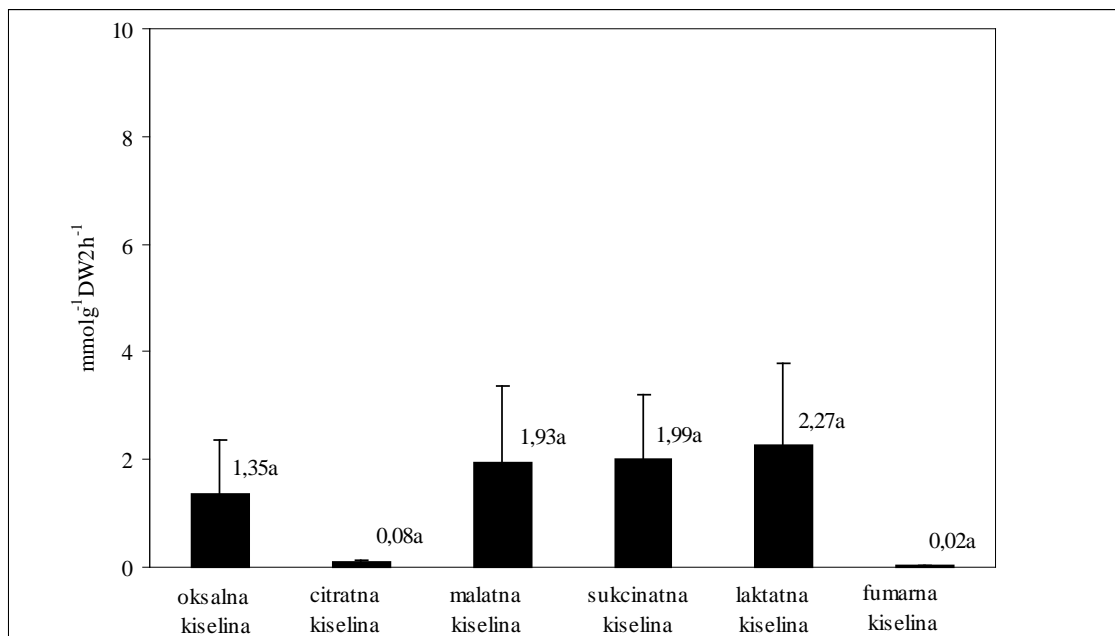
korenova iz nekontaminiranog zemljišta je 10 puta veća u odnosu na koncentracije u eksudatima korena biljaka iz zemljišta kontaminiranog Cd, dok je kod tretmana olovom koncentracija 4 puta niža u odnosu na kontrolu (Grafikon 16).



Grafikon 9. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina u mmol g⁻¹ 2h⁻¹ u eksudatima korena kontrolnih biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u zemljišnoj kulturi bez kontaminacije Cd i Pb. Različita slova pored srednjih vrednosti koncentracija pojedinačnih kiselina ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na ostale organske kiseline, (P < 0,05).

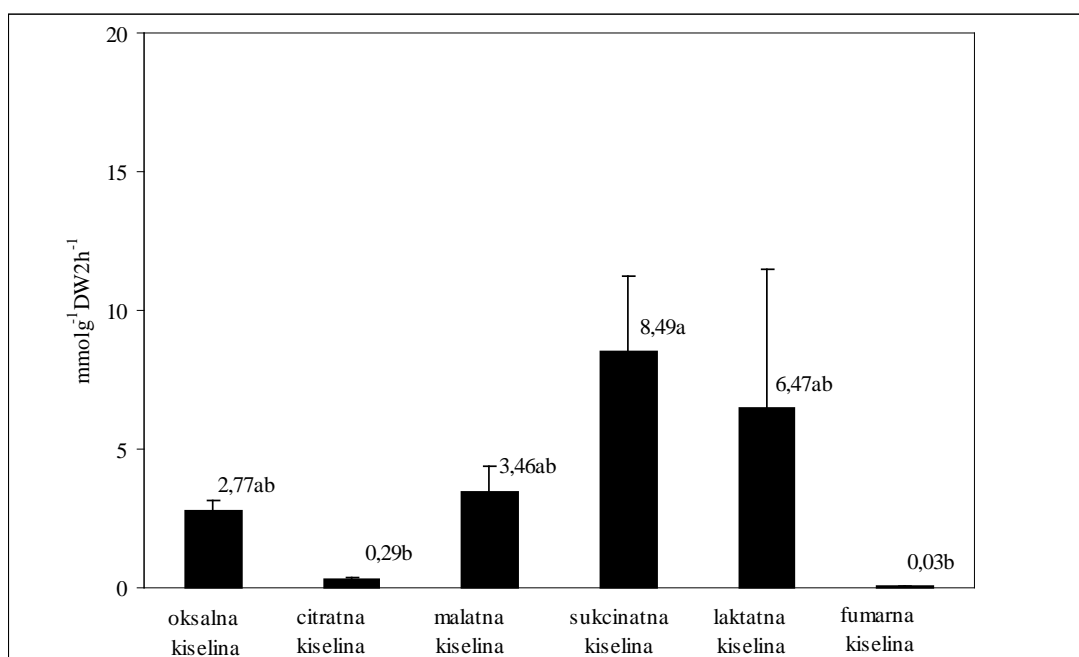


Grafikon 10. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina u mmol⁻¹2h⁻¹ u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u zemljištu kontaminiranom dodavanjem Pb(NO₃)₂ u koncentraciji od 20 mg/kg. Različita slova pored srednjih vrednosti koncentracija pojedinačnih kiselina ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na ostale organske kiseline, (P< 0,05).

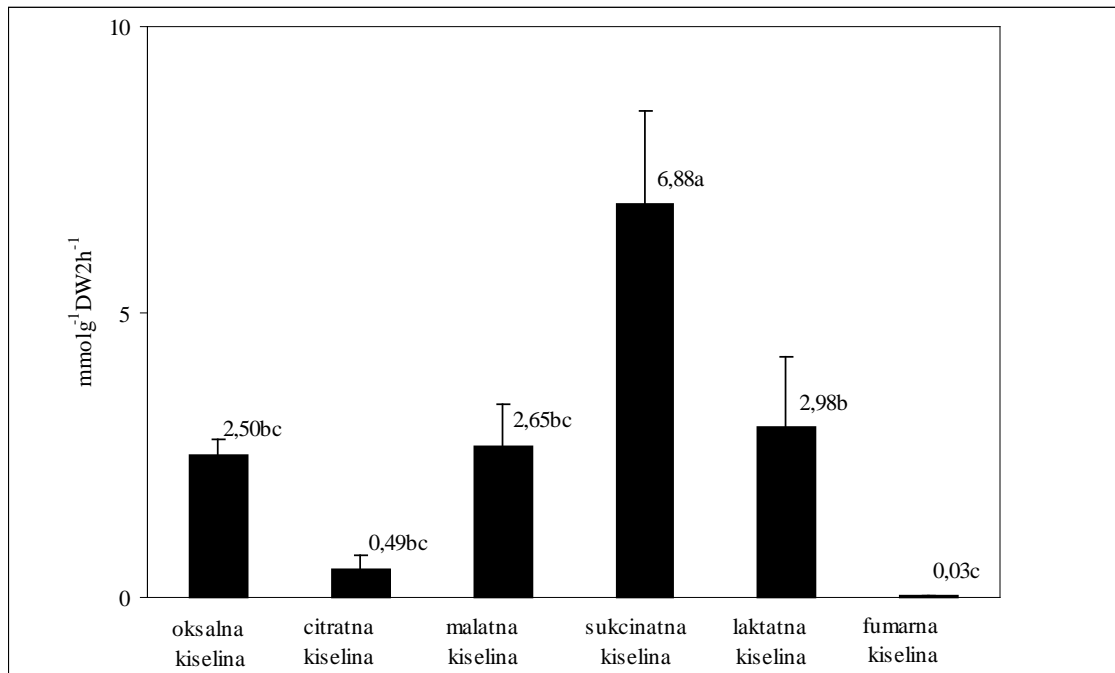


Grafikon 11. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina u mmol⁻¹2h⁻¹ u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u

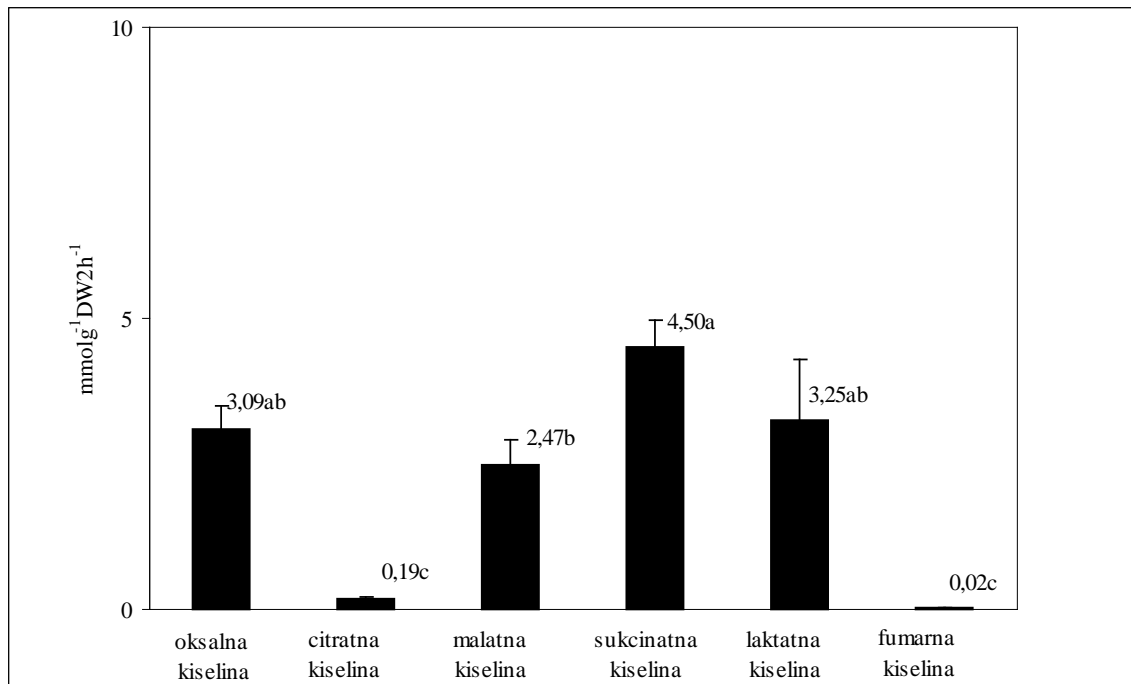
zemljištu kontaminiranom dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg. Različita slova pored srednjih vrednosti koncentracija pojedinačnih kiselina ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na ostale organske kiseline, ($P < 0,05$).



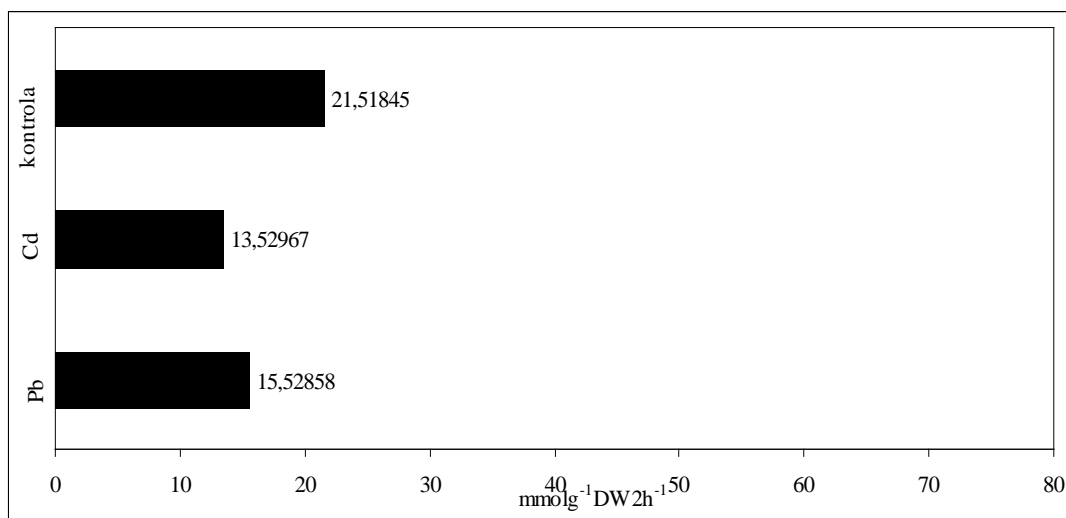
Grafikon 12. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (oksalne, citratne, malatne, sukcinatne, laktatne i fumarne) u $\text{mmol g}^{-1} \text{DW } 2\text{h}^{-1}$ u eksudatima korena kontrolnih biljaka *Acer negundo* gajenih u zemljišnoj kulturi bez kontaminacije Cd i Pb. Različita slova pored srednjih vrednosti koncentracija pojedinačnih kiselina ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na ostale organske kiseline, ($P < 0,05$).



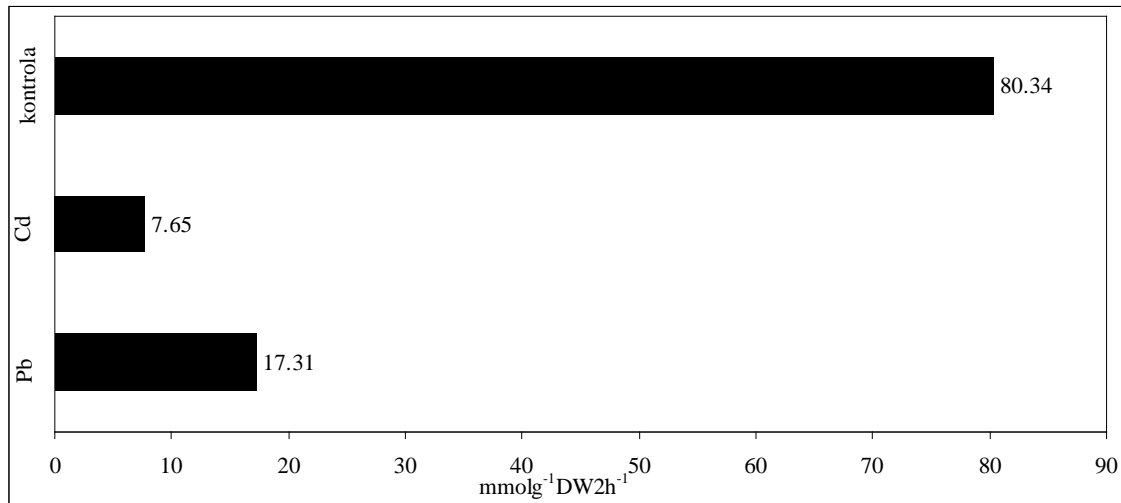
Grafikon 13. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (oksalne, citratne, malatne, sukcinatne, laktatne i fumarne) u mmol g⁻¹ 2h⁻¹ u eksudatima korena biljaka *Acer negundo* gajenih u zemljištu kontaminiranom dodavanjem Pb(NO₃)₂ u koncentraciji od 20 mg/kg. Različita slova pored srednjih vrednosti koncentracija pojedinačnih kiselina ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na ostale organske kiseline, (P < 0,05).



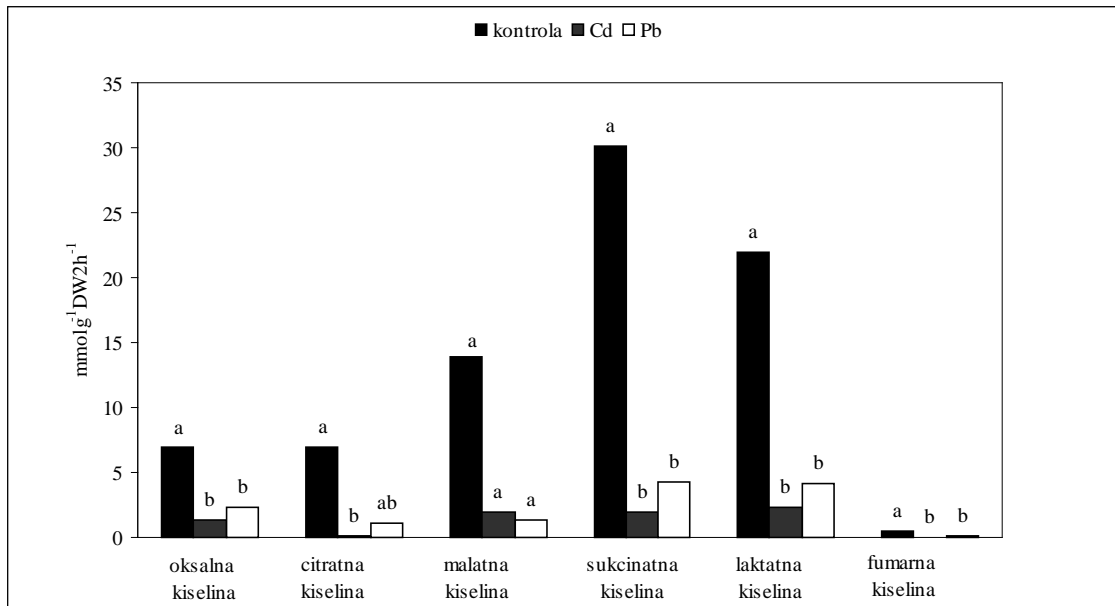
Grafikon 14. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (oksalne, citratne, malatne, sukcinatne, laktatne i fumarne) u mmol g⁻¹ DW 2h⁻¹ u eksudatima korena biljaka *Acer negundo* gajenih u zemljištu kontaminiranom dodavanjem Cd(NO₃)₂ u koncentraciji od 20 mg/kg. Različita slova pored srednjih vrednosti koncentracija pojedinačnih kiselina ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na ostale organske kiseline, (P < 0,05).



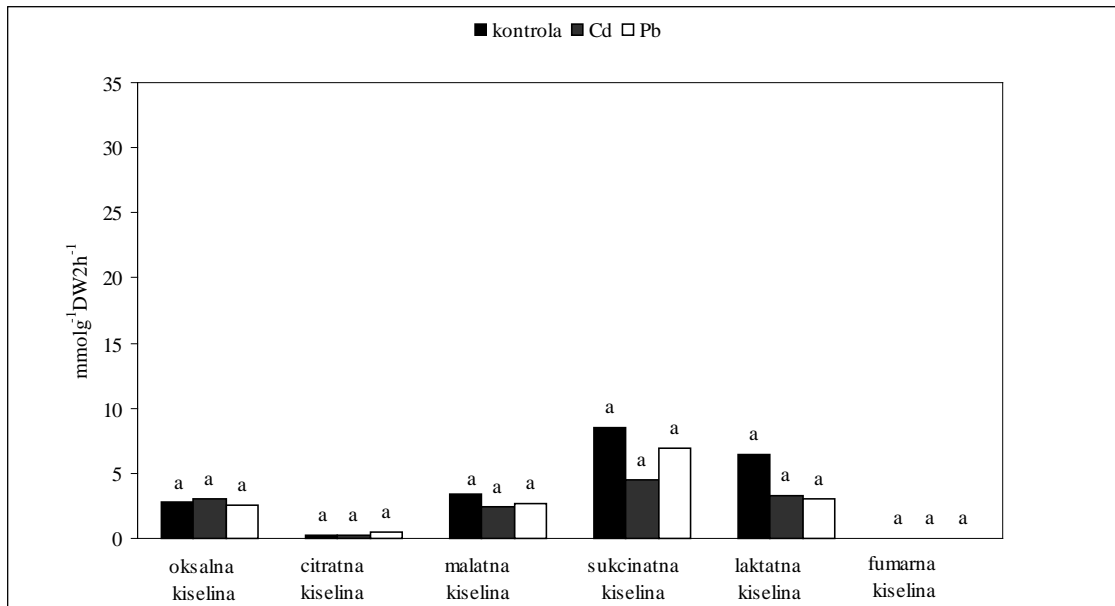
Grafikon 15. Ukupna koncentracija organskih kiselina izražena u $\text{mmol g}^{-1} \text{DW} 2\text{h}^{-1}$ u eksudatima korena biljaka *Acer negundo* gajenih u zemljištu bez kontaminacije (kontrola), olovom kontaminiranom zemljištu (Pb) dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg i kadmijumom kontaminiranom zemljištu (Pb) dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg.



Grafikon 16. Ukupna koncentracija organskih kiselina izražena u $\text{mmol g}^{-1} \text{DW} 2\text{h}^{-1}$ u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u zemljištu bez kontaminacije (kontrola), olovom kontaminiranom zemljištu (Pb) dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg i kadmijumom kontaminiranom zemljištu (Pb) dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg.



Grafikon 17. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (oksalne, citratne, malatne, sukcinatne, laktatne i fumarne) u mmol g⁻¹ DW 2h⁻¹ u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u zemljištu bez kontaminacije (kontrola), olovom kontaminiranom zemljištu (Pb) dodavanjem Pb(NO₃)₂ u koncentraciji od 20 mg/kg i kadmijumom kontaminiranom zemljištu (Cd) dodavanjem Cd(NO₃)₂ u koncentraciji od 20 mg/kg. Različita abecedna slova iznad srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajnu razliku u odnosu na koncentraciju iste organske kiseline u drugim tretmanima, odnosno u kontroli (P < 0,05).



Grafikon 18. Srednje vrednosti koncentracija organskih kiselina (oksalne, citratne, malatne, sukcinatne, laktatne i fumarne) u $\text{mmol g}^{-1} \text{DW } 2\text{h}^{-1}$ u eksudatima korena biljaka *Acer negundo* gajenih u zemljištu bez kontaminacije (kontrola), olovom kontaminiranom zemljištu (Pb) dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg i kadmijumom kontaminiranom zemljištu (Cd) dodavanjem $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 mg/kg. Ista abecedna slova iznad srednjih vrednosti ukazuju da nema statistički značajne razlike u odnosu na koncentraciju iste organsku kiselinu u drugom tretmanu, odnosno u kontroli ($P < 0,05$).

Koncentracije svih analiziranih organskih kiselina u eksudatima korena iz zemljišta kontaminiranih olovom i kadmijumom upoređene su sa kontrolnim biljkama u Grafikonima 17 i 18. Za utvrđivanje statistički značajnih razlika korišćen je LSD test. Analiza je pokazala da su koncentracije organskih kiselina u eksudatima korena *Ailanthus altissima* iz nekontaminiranog zemljišta značajno veće u odnosu na koncentracije izmerene u eksudatima biljaka gajenih pri kontaminaciji olovom ili kadmijumom. Za sve analizirane kiseline koncentracije iz nekontaminiranog zemljišta se izdvajaju u homogenoj grupi *a*. Izuzetak

predstavlja malatna kiselina za koju je ova analiza pokazala da nema statistički značajnih razlika između tretmana i kontole (Grafikon 17).

4.3.2 Uticaj oksalne i citratne kiseline na ekstrakciju mikroelemenata iz kontaminiranog i nekontaminiranog zemljišta

U cilju boljeg razumevanja uticaja organskih kiselina na pristupačnost mikroelemenata u zemljištu, analiziran je uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju mikroelemenata u kontaminiranom i nekontaminiranom zemljištu u trajanju od 0,5, 2 i 8 h. Analiziran je uticaj citratne i oksalne kiseline s obzirom da ove kiseline predstavljaju najefikasnije helatore među detektovanim organskim kiselinama u eksudatima korena.

4.3.2.1. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Cd iz kontaminiranog zemljišta

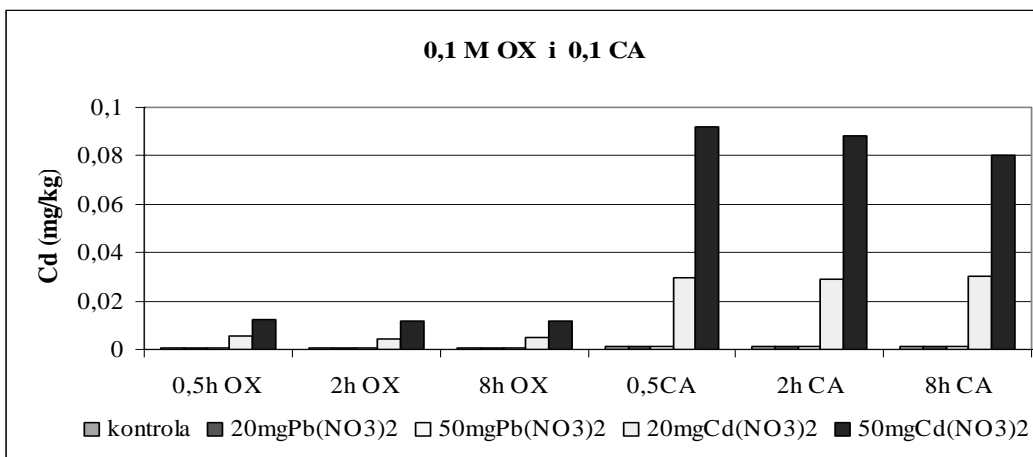
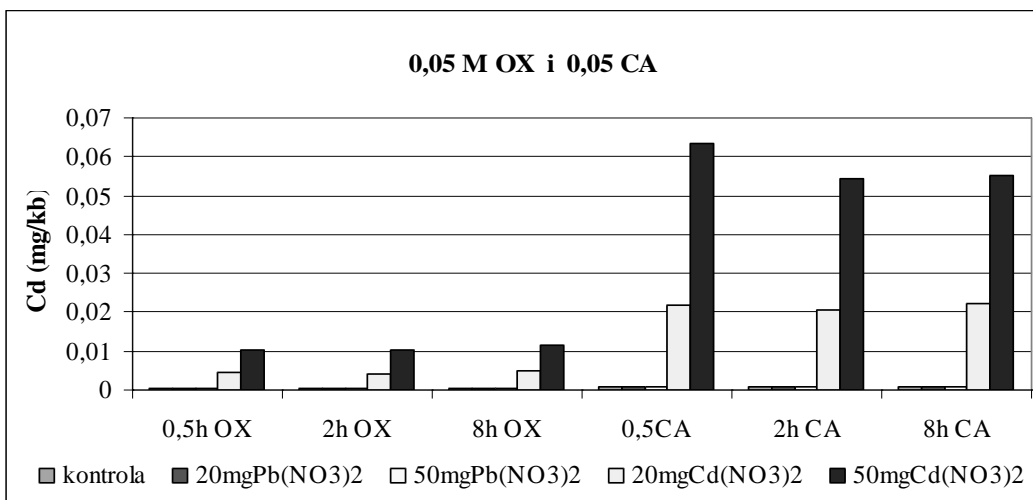
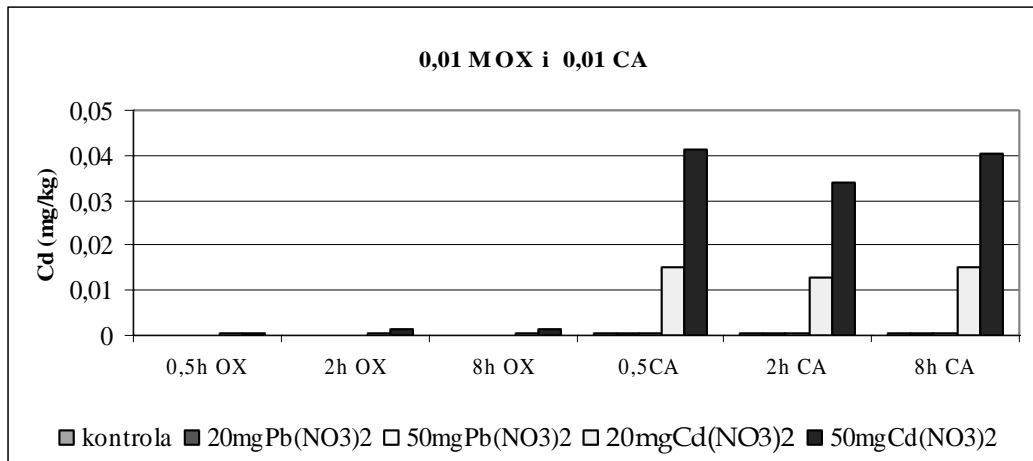
Uticaj oksalne i citratne kiseline na ekstrakciju Cd je prikazan u Grafikonu 19. Pri koncentraciji od 0,01 M oksalne kiseline izmerene su vrlo niske koncentracije kadmijuma, bez obzira na vreme ekstrakcije, dok se citratna kiselina pokazala kao efikasna u koncentraciji od 0,01 M. Pri ovoj koncentraciji citratne kiseline uočava se povećanje koncentracije ekstrahovanog kadmijuma sa povećanjem koncentracije Cd u zemljištu (Grafikon 19).

Pri koncentraciji od 0,05 M oksalna kiselina pokazuje veću efikasnost u odnosu na koncentraciju od 0,01 M, međutim, u poređenju sa citratnom kiselinom u istoj koncentraciji, sadržaj ekstrahovanog kadmijuma je i dalje na niskom nivou (Grafikon 19). Na primer, pri koncentraciji od 0,05 M i pri vremenu ekstrakcije od 0,5 h citratna kiselina pokazuje 6 puta veći sadržaj ekstrahovanog kadmijuma u odnosu na oksalnu.

Pri koncentraciji od 0,1 M citratna kiselina je pokazala najveću efikasnost, s tim što se pri ovoj koncentraciji sa povećanjem ekstrakcionog vremena uočava blagi pad koncentracije ekstrahovanog Cd (Grafikon 19). Koncentracija ekstrahovanog kadmijuma oksalnom kiselinom u koncentraciji od 0,1 M je na istom nivou kao i pri koncentraciji od 0,05 M.

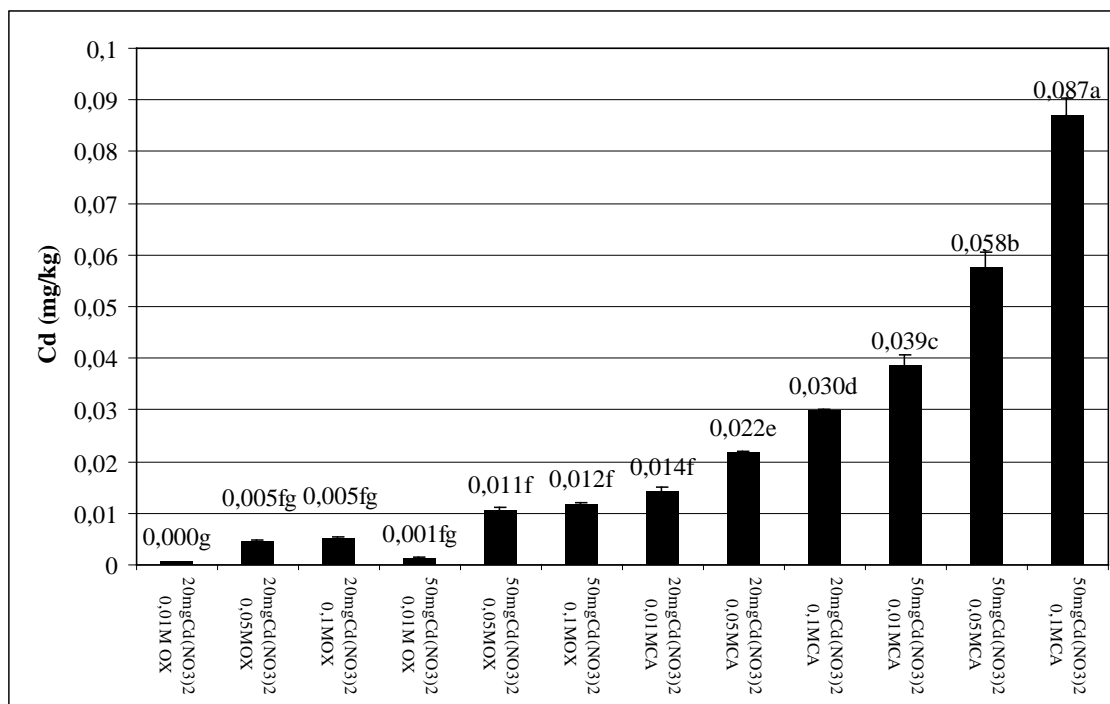
Za procenu statističke značajnosti razlika između koncentracija Cd ekstrahovanog citratnom i oksalnom kiselinom u koncentraciji od 0,1, 0,05 i 0,01 M korišćena je analiza varijanse ($P < 0,05$), a za post hoc analizu LSD test (Grafikon 20). Utvrđeno je da sadržaj ekstrahovanog kadmijuma raste sa povećanjem koncentracije citratne kiseline dok za oksalnu kiselinu nisu uočene značajne razlike pri povećanju koncentracije.

Pri koncentraciji od 0,1 M citratne kiseline iz zemljišta kontaminiranog sa 50 mg/kg $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ekstrahovana je najveća koncentracija kadmijuma (0,087 mg/kg), koja se izdvaja u homogenoj grupi *a*. Smanjenjem koncentracije citratne kiseline na 0,05 M značajno opada koncentracija ekstrahovanog kadmijuma 0,058 mg/kg, koja se izdvaja u homogenoj grupi *b* (Grafikon 20). Pri istoj kontaminaciji kadmijumom najmanja efikasnost je dobijena pri koncentraciji od 0,01 M citratne kiseline, gde je ekstrahovano 0,039 mg/kg Cd. Ova koncentracija se izdvaja u homogenoj grupi *c*. Zatim slede koncentracije ekstrahovanog kadmijuma citratnom kiselinom, pri kontaminaciji od 20 mg/kg $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ gde se opet uočava značajno smanjenje sa opadanjem koncentracije kiseline pri ekstrakciji (Grafikon 20). Ova analiza pokazuje da je ekstrakciona efikasnost oksalne kiseline u koncentraciji od 0,1 M, pri kontaminaciji zemljišta od 20 mg/kg $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ na istom nivou kao citratne kiseline u koncentraciji od 0,01M (koncentracije Cd za ova dva ekstrakciona reagensa pri gore navedenim koncentracijama, se nalaze u istoj homogenoj grupi *f* - Grafikon 20).



Grafikon 19. Koncentracija Cd (mg/kg) ekstrahovanog u prisustvu karboksilnih kiselina - oksalne (OX) i citratne (CA) u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M u trajanju od 0,5, 2 i 8 h iz zemljišta kontaminiranog olovom u koncentraciji od 20

Pb(NO₃)₂ i 50 mg/kg Pb(NO₃)₂ i kadmijumom u koncentraciji od 20 Cd(NO₃)₂ i 50 mg/kg Cd(NO₃)₂.

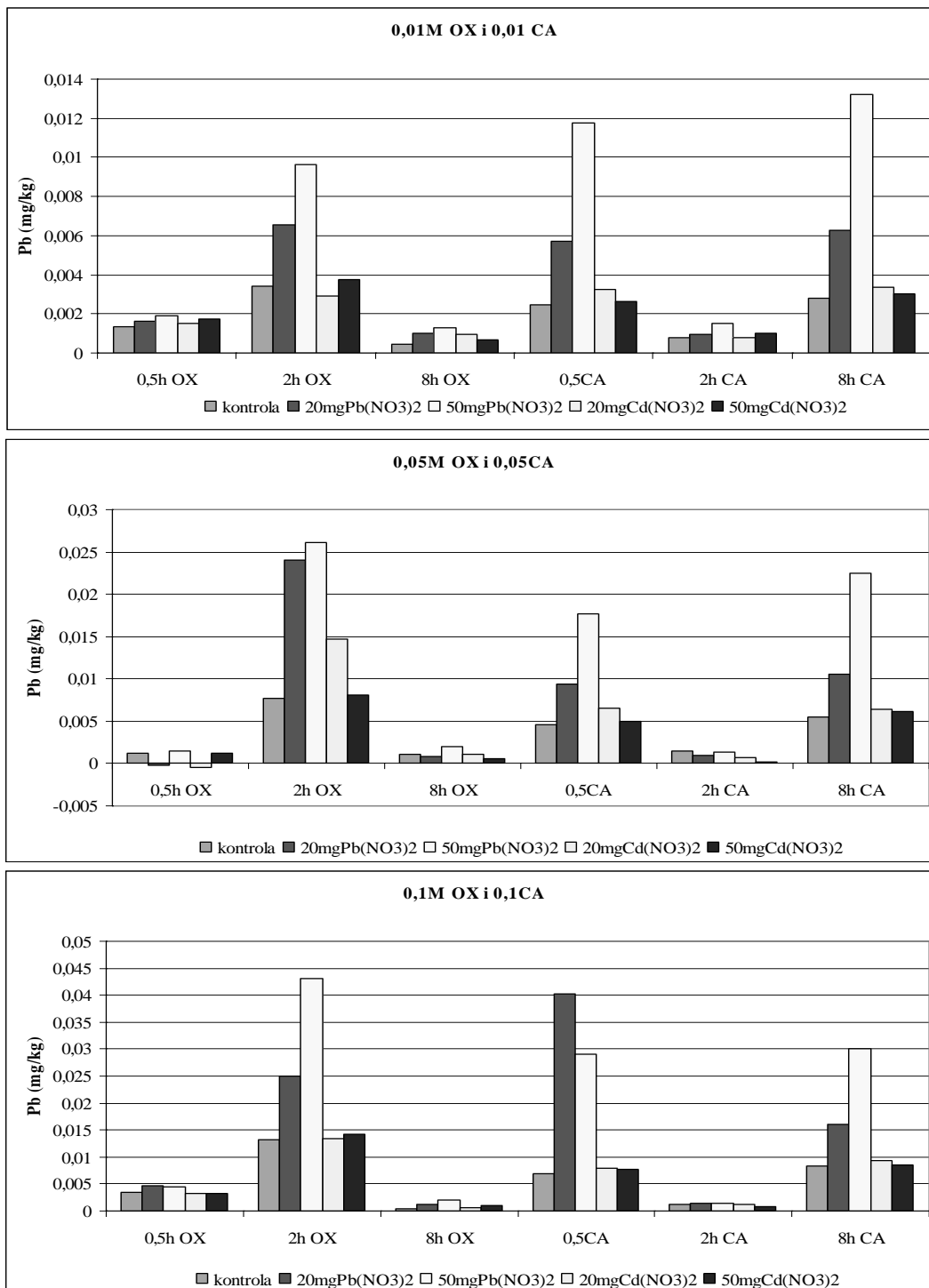


Grafikon 20. Ekstrakcija Cd primenom oksalne (OX) i citratne kiseline (CA) u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M, iz zemljišta kontaminiranog Cd(NO₃)₂ u koncentraciji od 20 i 50 mg/kg. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike u koncentraciji ekstrahovanog Cd između tretmana ($P < 0,05$).

4.3.2.2. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Pb iz kontaminiranog zemljišta

Za ekstrakciju olova, oksalna kiselina pri koncentraciji od 0,01 M je pokazala najveću efikasnost pri ekstrakcionom vremenu od 2 h, dok je koncentracija Pb pri ekstrakcionom vremenu od 0,5 i 8 h bila na vrlo niskom nivou (ispod 0,002 mg/kg) (Grafikon 21). Za razliku od oksalne kiseline, citratna pri ovoj koncentraciji pokazuje najveću efikasnost pri ekstrakcionom vremenu od 0,5 i 8 h dok je pri ekstrakciji u trajanju od 2h koncentracija Pb ispod 0,002 mg/kg (Grafikon 21). Pri koncentraciji od 0,05 M oksalne i citratne kiseline opet se uočava povećana efikasnost pri ekstrakcionim vremenima od 2 h za oksalnu i 0,5 i 8 za citratnu. Najveća koncentracija ekstrahovanog kadmijuma pri ovoj koncentraciji je dobijena oksalnom kiselinom u trajanju od 2 h (0,025 mg/kg), iz zemljišta kontaminiranog sa 50 mg/kg $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

Efekat ekstrakcionog vremena je isti za oksalnu i citratnu kiselinu i pri koncentraciji od 0,1 M. Treba dodati da je pri ovoj koncentraciji, sadržaj ekstrahovanog olova najveći za oksalnu kiselinu u trajanju od 2 h, iz zemljišta kontaminiranog sa 50 mg/kg $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ i iznosi 0,043 mg/kg (Grafikon 21). Sa povećanjem koncentracije oksalne kiseline pri ekstrakcionom vremenu od 2 h uočava se povećanje koncentracije ekstrahovanog Pb. Na primer, pri kontaminaciji od 50 mg/kg $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ količina ekstrahovanog Pb za 0,01 M oksalnu kiselinu je iznosila 0,0098; za 0,05 M - 0,026 , a za 0,1 M - 0,043 mg/kg olova. Zanimljivo je da sadržaj ekstrahovanog olova primenom oksalne kiseline u svim primenjenim koncentracijama, a pri ekstrakcionom vremenu od 0,5 i 8 h nije prešao 0,005 mg/kg. Isto se uočava i za citratnu kiselinu pri svim koncentracijama za ekstrakciono vreme od 2 h.



Grafikon 21. Koncentracija ekstrahovanog Pb (mg/kg) u prisustvu karboksilnih kiselina (oksalne (OX) i citratne (CA) u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M) u trajanju od 0,5, 2 i 8 h iz zemljišta kontaminiranog olovom u koncentraciji od 20

mg/kg $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ i 50 mg/kg $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ i kadmijumom u koncentraciji od 20 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ i 50 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$.

4.3.2.3. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Cu i Zn iz zemljišta

Citratna kiselina u koncentraciji od 0,01 M je pokazala veću efikasnost od oksalne za ekstrakciju bakra. Pri ovoj koncentraciji ekstrakciono vreme nije imalo veći uticaj na koncentraciju ekstrahovanog Cu (Grafikon 22, a).

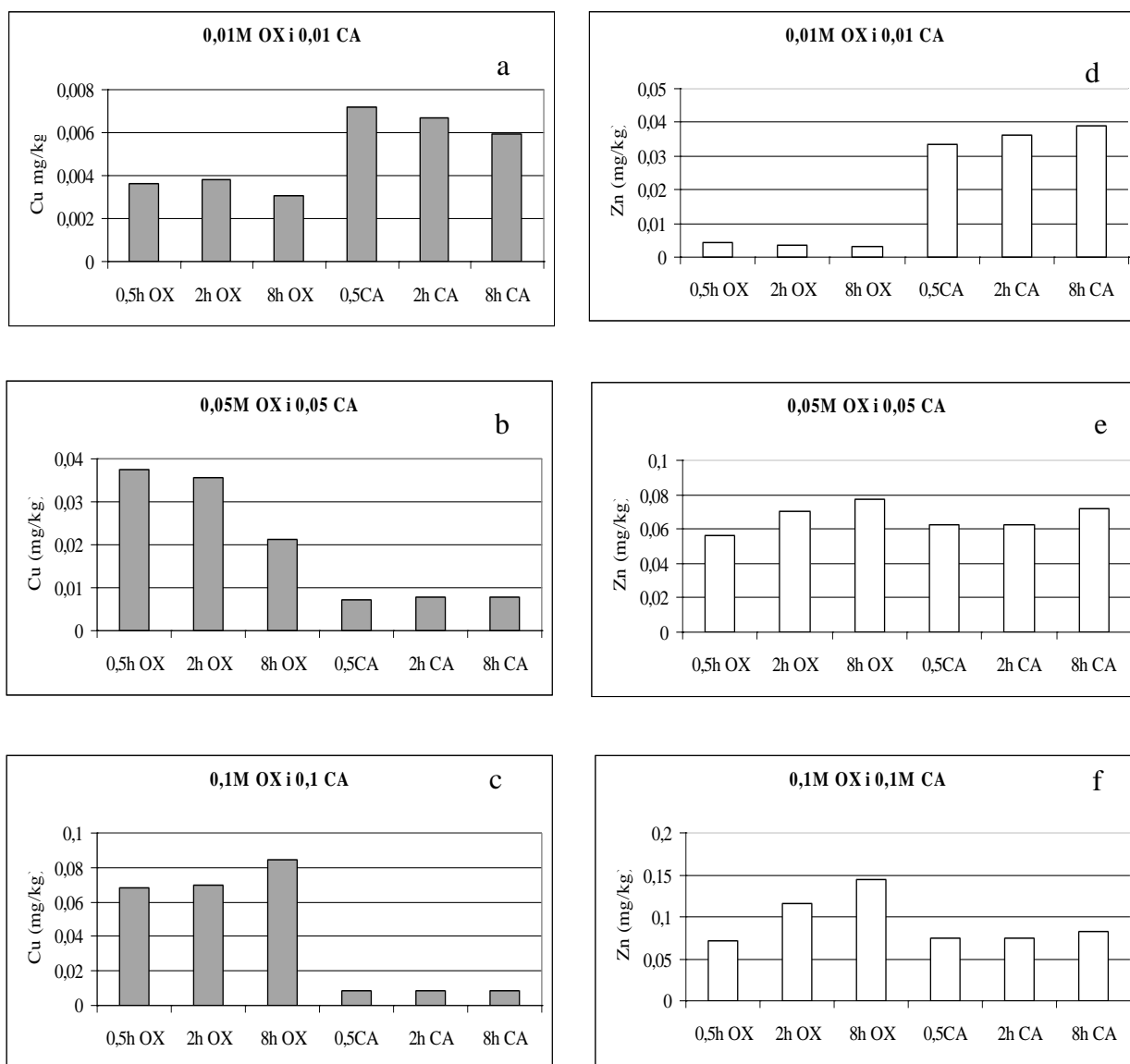
Pri koncentraciji od 0,05 citratne kiseline uočava se drastičan pad koncentracije ekstrahovanog Cu u odnosu na istu kiselinu u koncentraciji od 0,01M. Za razliku od citratne, oksalna kiselina pri većanoj koncentraciji (0,05 M) pokazuje istu ekstrakcionu efikasnost za bakar (Grafikon 22 a, b, c).

Oksalan kiselina, pri koncentraciji od 0,1 M je pokazala dvostruko uvećanje koncentracije ekstrahovanog Cu u odnosu na 0,05 M, dok se kod citratne pri najvećoj primenjenoj koncentraciji ne uočavaju promene vrednosti ekstrahovanog Cu (Grafikon 22 c) u odnosu na 0,05 M. Pri koncentraciji od 0,05 i 0,1 koncentracija ekstrahovanog bakra je ispod 0,01 mg/kg.

Primenom oksalne kiseline u koncentraciji od 0,01 M su ekstrahovane veoma male količine Zn, dok je primenom citratne kiseline u ovoj koncentraciji ekstrahovano 6 puta više Zn. Pri ekstrakciji Zn organskim kiselinama u koncentraciji od 0,01 M ekstrakciono vreme nije značajnije uticalo na koncentracije ekstrahovanog Zn.

Sa povećanjem koncentracije oksalne kiseline na 0,05 M uočava se povećanje koncentracije ekstrahovanog Zn (12 do 16 puta u zavisnosti od ekstrakcionog vremena). Takođe, pri ovoj koncentraciji uočava se i blago povećanje koncentracije ekstrahovanog Zn sa produženjem ekstrakcionog vremena. Pri koncentraciji od 0,05M citratne kiseline uočava se blago povećanje ekstrahovanog Zn u odnosu na 0,01 M.

Pri koncentraciji od 0,1 M oksalne kiseline uočava se povećanje koncentracije ekstrahovanog Zn. Sadržaj cinka pri ekstrakcionom vremenu od 8 h, je 2 puta veći u odnosu na količinu ekstrahovanog Zn primenom 0,05 M oksalne kiseline pri istom ekstrakcionom vremenu (Grafikon 22 f). Povećanje koncentracije citratne kiseline na 0,1 M nije izazvalo drastično povećanje ekstrahovanog Zn. Takođe, pri ovoj koncentraciji ekstrakciono vreme nije imalo veći uticaj (Grafikon 22 f).



Grafikon 22. Koncentracija u mg/kg Cu (levo) i Zn (desno) ekstrahovanog iz zemljišta u prisustvu karboksilnih kiselina (oksalne i citratne u koncentraciji od

0,01, 0,05 i 0,1 M) u trajanju od 0,5, 2 i 8 h. Legenda: OX – oksalna kiselina, CA – citratna kiselina.

4.3.2.4.. Uticaj oksalne i citratne kiseline u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M na ekstrakciju Mn i Fe iz zemljišta

Citratna kiselina u koncentraciji od 0,01 M je pokazala veću efikasnost od oksalne za ekstrakciju mangana. Pri ovoj koncentraciji citratne kiseline uočava se povećanje koncentracije Mn sa povećanjem ekstrakcionog vremena (Grafikon 23 d). Pri ovoj koncentraciji oksalne kiseline izmerene su vrlo niske vrednosti Mn bez obzira na vreme ekstrakcije.

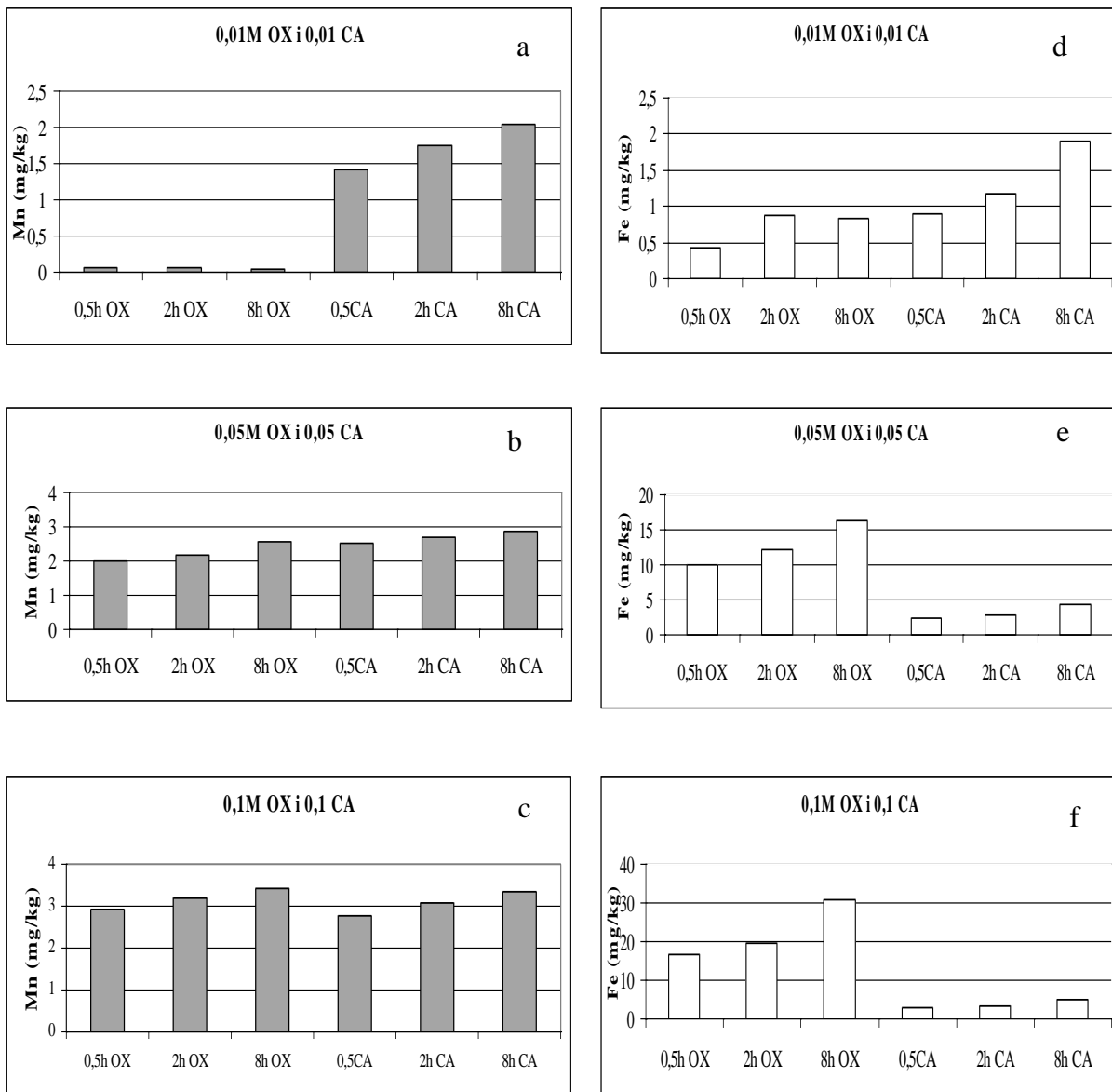
Pri koncentraciji od 0,05 M oksalne kiseline uočava se drastično povećanje koncentracije ekstrahovanog Mn u odnosu na istu kiselinu u koncentraciji od 0,01 M. Za razliku od oksalne, citratna kiselina pri većanoj koncentraciji (0,05 M) pokazuje povećanje ekstrakcione efikasnosti za Mn (Grafikon 23 e).

Oksalna i citratna kiselina, pri koncentraciji od 0,1 M pokazuju neznatno uvećanje koncentracije ekstrahovanog Mn u odnosu na koncentraciju od 0,05 M.

Citratna kiselina pri koncentraciji od 0,01 M je pokazala najmanju efikasnost za ekstrakciju Fe. Pri ovoj koncentraciji, sa povećanjem ekstrakcionog vremena raste i koncentracija gvožđa, gde pri ekstrakcionom vremenu od 8 h koncentracija Fe iznosi 1,85 mg/kg (Grafikon 23 a). Međutim, sa povećanjem koncentracije citratne kiseline na 0,05 i 0,1 M dolazi do povećanja ekstrahovanog Fe, pri čemu ove vrednosti ne prelaze 5 mg/kg.

Pri ekstrakciji oksalnom kiselinom, najmanje koncentracije Fe su ekstrahovane pri koncentraciji od 0,01 M (vrednosti se nalaze između 0,5 i 1 mg/kg). Sa povećanjem koncentracije oksalne kiseline (0,05 i 0,1 M) dolazi do drastičnog povećanja koncentracije ekstrahovanog Fe. Pri ovim koncentracijama uočava se i povećanje koncentracije Fe sa produženjem ekstrakcionog vremena (Grafikon 23 d, e, f). Najveća koncentracija ekstrahovanog Fe je dobijena

primenom oksalne kiseline u koncentraciji 0,1 M, pri ekstrakcionom vremenu od 8 h i iznosi 50 mg/kg (Grafikon 23 f).



Grafikon 23. Koncentracija u mg/kg Mn (a, b, c) i Fe (d, e, f) ekstrahovanog iz zemljišta u prisustvu karboksilnih kiselina (oksalne i citratne u koncentraciji od 0,01, 0,05 i 0,1 M) u trajanju od 0,5, 2 i 8 h. Legenda: OX - oksalna kiselina, CA - citratna kiselina.

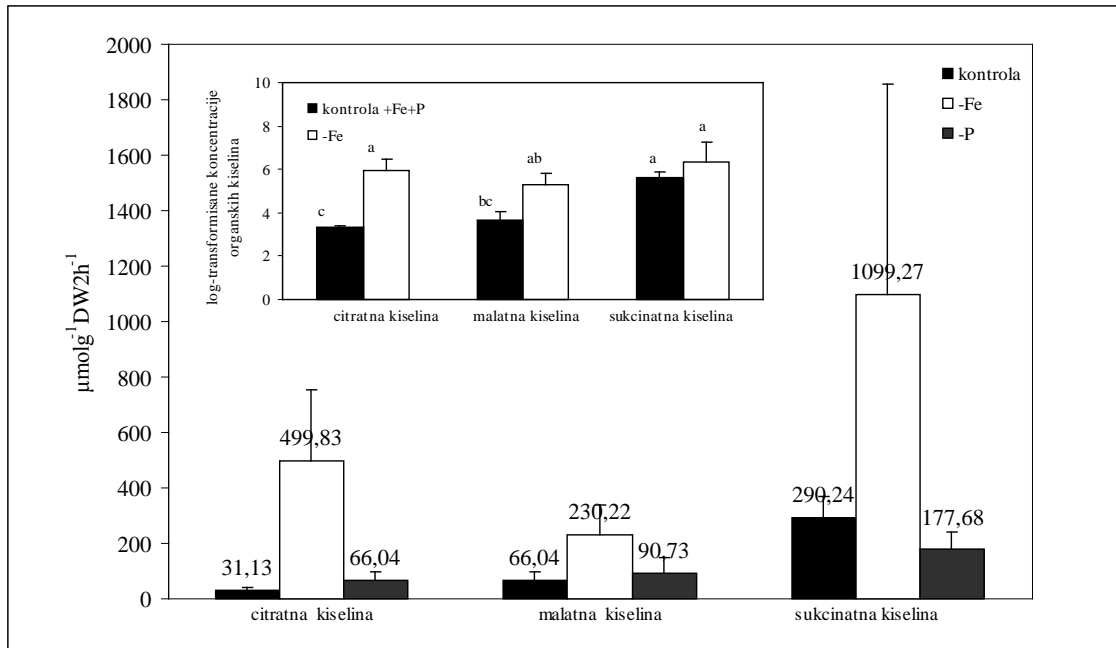
4.3.3. Eksudacija organskih kiselina (hidroponska kultura)

U ovom poglavlju prikazani su rezultati HPLC analize organskih kiselina u eksudatima korena hidroponski gajenih biljaka *Ailanthus altissima*.

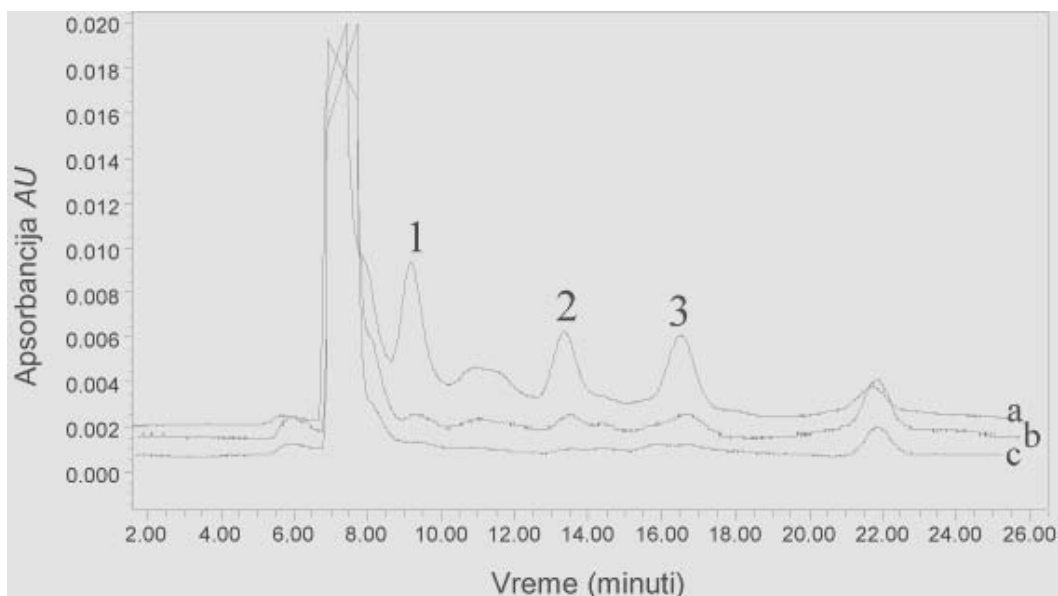
Na osnovu analize organskih kiselina u eksudatima korena biljaka iz zemljišne kulture, najveće koncentracije organskih kiselina su izmerene kod biljaka *Ailanthus altissima*, te je za detaljniju analizu u hidroponskoj kulturi izabrana ova vrsta. Primena hidroponske kulture je omogućila da utvrdimo da li dolazi do promene u koncentraciji organskih kiselina u eksudatima korena kada su biljke izložene nedostatku Fe ili P (u trajanju od 7 dana). Pre ovih tretmana biljke su gajene u predkulturi, u hranljivom rastvoru obezbeđenom svim esencijalnim elementima 21 dan. Rezultati ove analize su prikazani u Grafikonima 24 i 25. Takođe, koncentracije organskih kiselina su merene i posle izlaganja korenova uticaju Pb ili Cd u koncentraciji od 20 μM (u trajanju od 7 dana). Za ovaj eksperiment korišćene su, takođe, hidroponski gajenje biljke. Pre tretmana olovom i kadmijumom ove biljke su u predkulturi gajene 7 dana, a zatim u predtretmanima (bez fosfora i bez gvožđa), takođe, 7 dana. Rezultati ovih analiza su prikazani u Grafikonima 26 i 27.

Pri nedostatku gvožđa uočava se povećanje koncentracije citratne, malatne i sukcinatne kiseline, što je dokumentovano hromatogramom (Grafikon 25). Kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa (-Fe) uočava se značajno povećanje koncentracije citratne kiseline ($499,83 \mu\text{molg}^{-1}\text{2h}^{-1}$) u odnosu na koncentraciju kod kontrolnih biljaka ($31,13 \mu\text{molg}^{-1}\text{2h}^{-1}$). Koncentracija citratne kiseline u eksudatu korena je kod -Fe biljaka bila veća približno 16 puta. Usled nedostatka gvožđa došlo je i do povećanja koncentracije malatne i sukcinatne kiseline u odnosu na kontrolu za oko 3 puta (Grafikon 24).

Kod biljaka izloženih nedostatku fosfora uočava se blago povećanje koncentracije citratne i malatne kiseline ($66,04$ i $90,73 \mu\text{molg}^{-1}\text{2h}^{-1}$) u odnosu na kontrolne biljke ($31,2$ i $66,4 \mu\text{molg}^{-1}\text{2h}^{-1}$) (Grafikon 24).

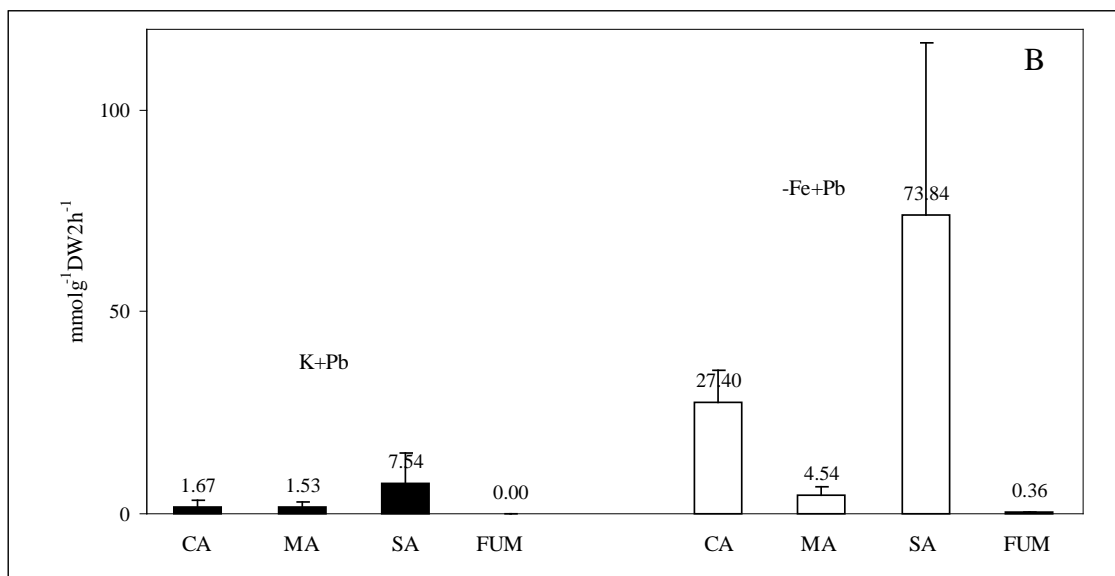
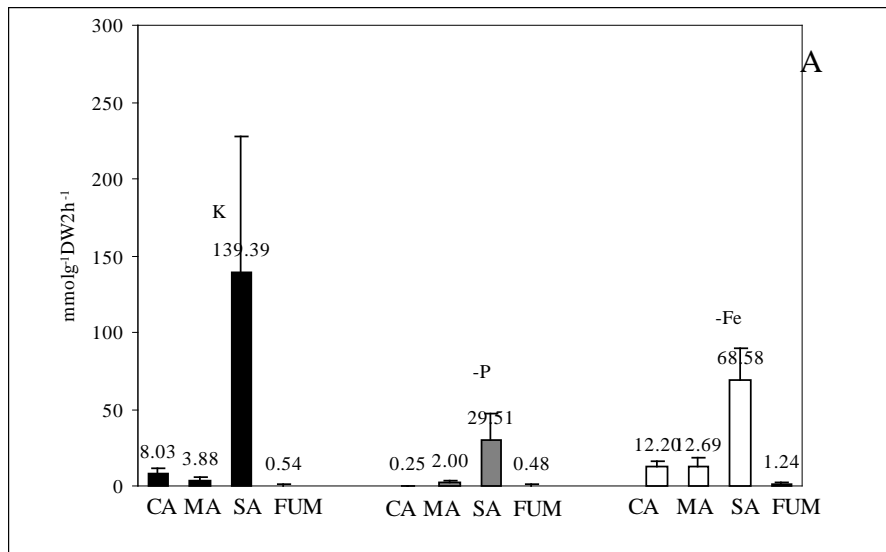


Grafikon 24. Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (citratna, malatna i sukcinatna) u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* gajnih u hidroponskoj kulturi, u sledećim tretmanima: (-Fe) – biljke gajene u hranljivom rastvoru bez gvožđa; (-P) – biljke gajene u hranljivom rastvoru bez fosfora; (kontrola (+Fe+P)) – biljke gajene u potpunom hranljivom rastvoru. U grafikonu su prikazane i srednje vrednosti i standardne greške log transformisanih koncentracija citratne, malatne i sukcinatne kiseline u eksudatima korena biljaka izloženih nedostatku Fe i kontrolnih biljaka *Ailanthus altissima* (gore levo). Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajnu razliku između log transformisanih koncentracija kiselina u tretmanu (-Fe) i kontroli, ($P < 0,05$).



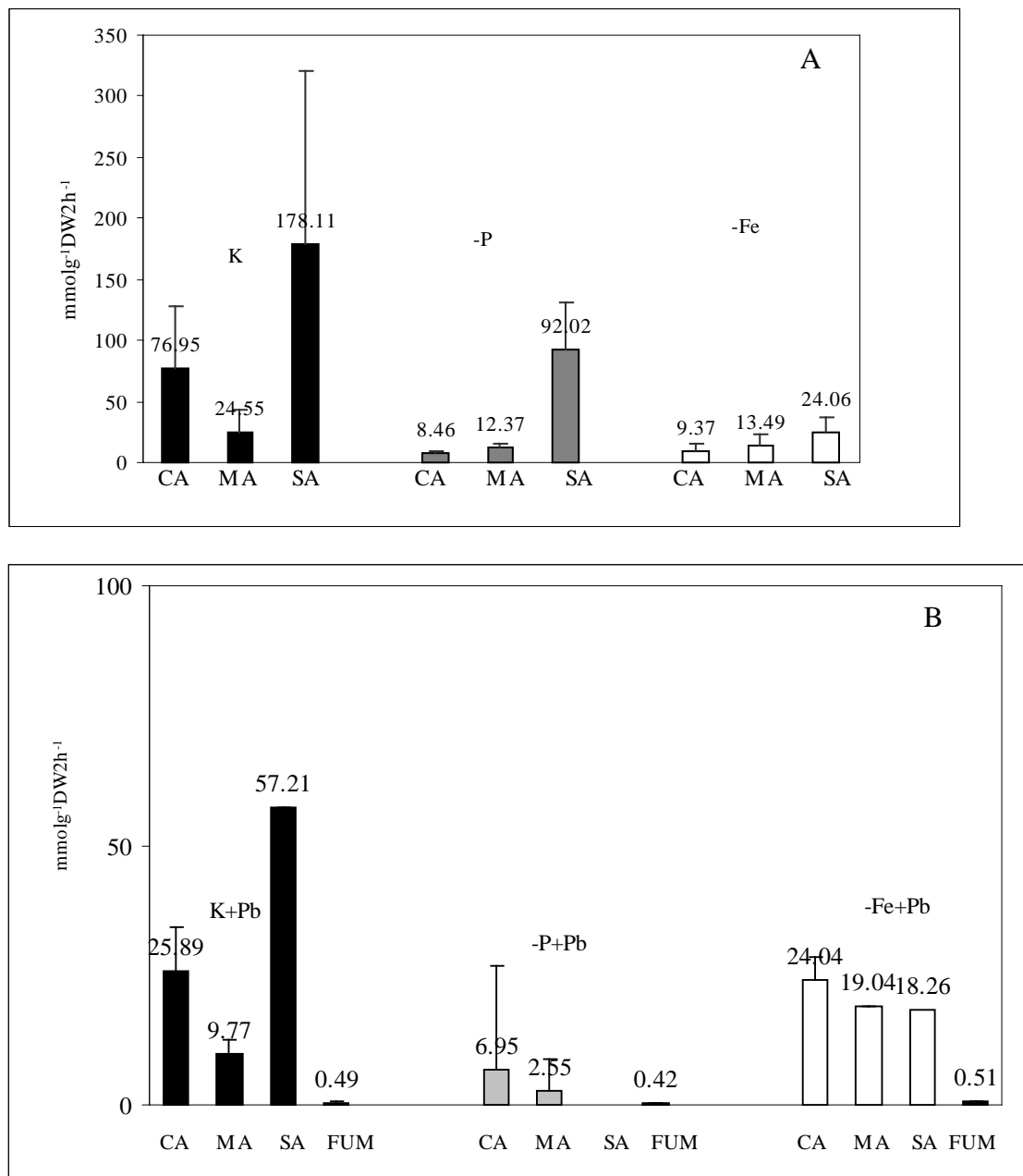
Grafikon 25. Hromatogram sa oznakama pikova organskih kiselina, gde je 1- citratna, 2- malatna, 3 - sukcinatna kiselina. Slovom *a* je označen uzorak eksudata korena biljaka *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa (-Fe), sa *b* kontrolnih biljaka (K), a sa *c* biljaka koje su bile izložene nedostatku fosfora (-P) u predtretman.

U sledećem setu eksperimenata biljke *Ailanthus altissima* su izlagane nedostatku gvožđa i fosfora u fazi trećeg lista, a potom olovu u koncentraciji od 20 μM . Posle izlaganja nedostatku fosfora, u ovoj fazi razvića, uočava se pad koncentracije citratne i sukcinatne kiseline dok kod malatne i fumarne pad koncentracije nije iznenađujuće u većoj meri (Grafikon 26 A). Prisustvo olova u hranljivom rastvoru biljaka obezbeđenih svim esencijalnim elementima (kontrola (K)) izazvalo je smanjenje koncentracije svih detektovanih organskih kiselina, dok je kod -Fe biljaka došlo do neznatnog povećanja koncentracije citratne, sukcinatne i fumarne, dok je koncentracija malatne smanjena usled prisustva 20 M Pb u hranljivom rastvoru u trajanju od 72 h (Grafikon 26 B).



Grafikon 26. (A): Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* gajenih u hidroponskoj kulturi u sledećim predtretmanima u trajanju od 7 dana (biljke su izložene predtretmanima u fazi potpuno razvijenog trećeg lista) (-Fe) – biljke gajene u hranljivom rastvoru bez gvožđa; (-P) – biljke gajene u hranljivom rastvoru bez fosfora; (kontrola (+Fe+P)) – biljke gajene u potpunom hranljivom rastvoru. (B): Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (citatna, malatna, sukcinatna i fumarna) u eksudatima korena biljaka *Ailanthus altissima* izloženih Pb u trajanju od 72 sata, dodavanjem $Pb(NO_3)_2$ u hranljivi rastvor u

koncentraciji od 20 $\mu\text{mol/L}$ neposredno posle predtretmana, gde je sa CA označena citratna kiselina, MA - malatna kiselina, SA - sukcinatna kiselina, FUM - fumarna kiselina.



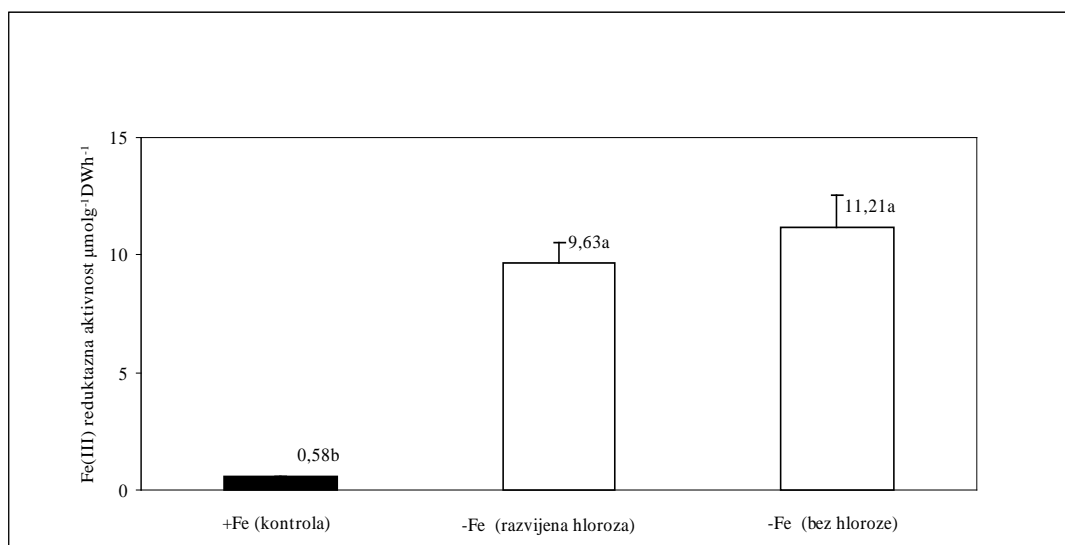
Grafikon 27. (A): Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (citratna, malatna sukcinatna i fumarna) u eksudatima korena biljaka *Acer negundo* gajenih u hidroponskoj kulturi u sledećim predtretmanima u trajanju od 7 dana (biljke su izložene predtretmanima u fazi potpuno razvijenog trećeg lista) (-Fe) - biljke gajene u hranljivom rastvoru bez gvožđa; (-P) - biljke

gajene u hranljivom rastvoru bez fosfora; (kontrola (+Fe+P)) – biljke gajene u potpunom hranljivom rastvoru. (B): Srednje vrednosti i standardne greške koncentracija organskih kiselina (citratna, malatna, sukcinatna i fumarna) u eksudatima korena biljaka *Acer negundo* izloženih Pb u trajanju od 72 sata, dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u hranljivi rastvor u koncentraciji od $20 \mu\text{mol/L}$ neposredno posle predtretmana, gde je sa CA označena citratna kiselina, MA – malatna kiselina, SA – sukcinatna kiselina, FUM – fumarna kiselina.

Kod biljaka *Acer negundo*, takođe, se uočava smanjenje koncentracije analiziranih organskih kiselina u eksudatima korena biljaka koje su pre tretmana bile optimalno obezbeđene esencijalnim elementima kao i kod onih koje su izložene nedostatku fosfora (Grafikon 27). Izuzetak predstavljaju biljke koje su pre tretmana olovom izložene nedostatku Fe. Kod ovih biljaka se uočava blago povećanje koncentracije citratne (sa $9,37$ na $24,04 \mu\text{molg}^{-12\text{h}^{-1}}$) i malatne kiseline (sa $13,49$ na $19,04 \mu\text{molg}^{-12\text{h}^{-1}}$) (Grafikon 27).

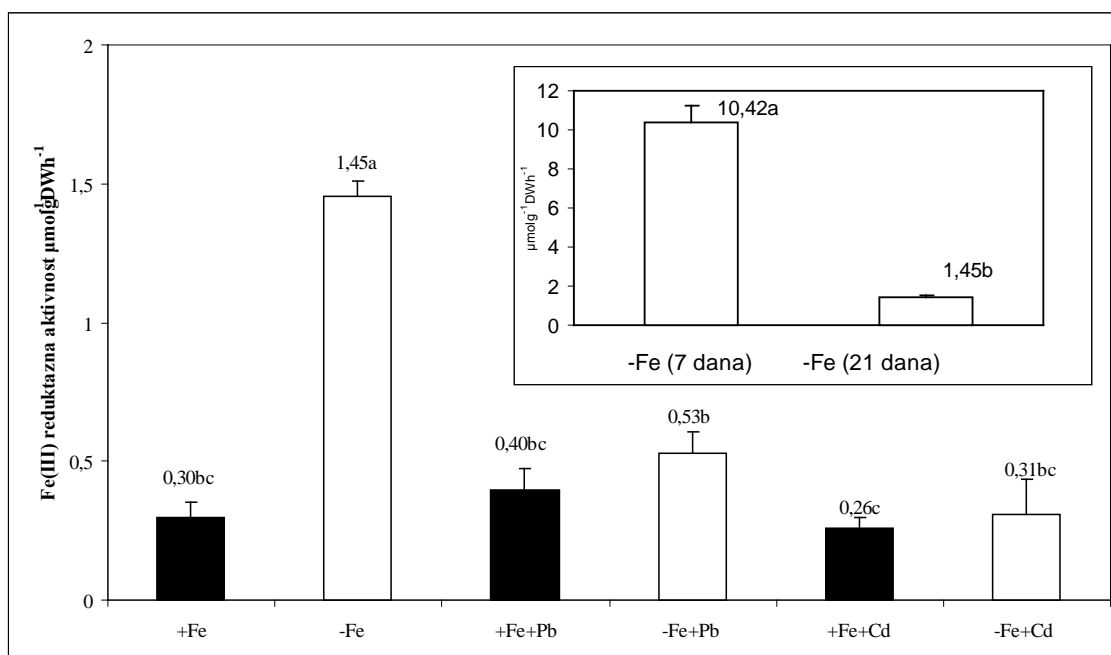
4.4. Uticaj Cd i Pb na Fe(III) reduktaznu aktivnost korena biljaka *Ailanthus altissima*

U ovom poglavlju prikazani su rezultati analize aktivnosti Fe(III) reduktaze u korenu hidroponski gajenih biljaka *Ailanthus altissima*. Pre određivanja reduktazne aktivnosti biljke su u predtretmanu gajene u hranljivim rastvorima bez gvožđa, 7 dana. Nakon ovog tretmana izmerena je reduktazna aktivnost korena kontrolnih biljaka kao i - Fe biljaka koje su za potrebe ove analize podeljene u dve grupe, prema prisustvu odnosno odsustvu hloroze na mladim listovima. Izloženost biljaka nedostatku Fe je izazvala značajno povećanje Fe(III) reduktazne aktivnosti ($P < 0,05$). Kod biljaka kod kojih je uočena hloroza reduktazna aktivnost je povećana 16,6 puta, dok je kod -Fe biljaka, kod kojih se nije razvila hloroza u navedenom periodu, ovaj pokazatelj bio 19 puta veći u odnosu na kontrolu (Grafikon 28). Izloženost nedostatku gvožđa tokom 3 nedelje je dovelo do značajnog pada indukovane reduktazne aktivnosti ($1,45 \mu\text{molg}^{-1}\text{h}^{-1}$) u odnosu na izmerene vrednosti 7. dana izlaganja nedostatku ovog elementa ($10,42 \mu\text{molg}^{-1}\text{h}^{-1}$) ($P < 0,05$). (Grafikon 29 (gore)).



Grafikon 28. Sednje vrednosti i standardne greške za Fe(III) reduktaznu aktivnost korena ($\mu\text{molg}^{-1}\text{h}^{-1}$) biljaka *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku Fe

u trajanju od 7 dana (-Fe) i kontrolnih biljaka (+Fe) gajenih u hidroponskoj kulturi. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajnu razliku između Fe(III) reduktazne aktivnosti korena u tretmanu (-Fe) i kontroli (+Fe), ($P < 0,05$).



Grafikon 29. Uticaj olova ($20\mu\text{M Pb}$) i kadmijuma ($20\mu\text{M Cd}$) na Fe(III) reduktaznu aktivnosti korena biljaka *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku Fe (7 dana u predtretmanu i 14 dana u tretmanu, ukupno 21 dan) i biljaka gajenih u potpunom rastvoru. Gore levo: Fe(III) reduktaznu aktivnosti korena biljaka *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku Fe u trajanju od 7 dana (-Fe (7 dana)) i u trajanju od 21 dan (-Fe (21 dan)). Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajnu razliku između Fe(III) reduktazne aktivnosti korena u tretmanima ($P < 0,05$).

Dvonedeljno izlaganje korenova uticaju olova i kadmijuma nije značajno uticalo na reduktaznu aktivnost +Fe biljaka, dok je kod -Fe biljaka uočeno značajno smanjenje Fe(III) reduktazne aktivnosti u korenu (Grafikon 29).

4.5. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata

U ovom poglavlju analizirane su koncentracije fotosintetičkih pigmenata hidroponski gajenih biljaka *Ailanthus altissima* i *Acer negundo*. Analizirane biljke su u predtretmanima izlagane nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana (-Fe) ili su gajene u potpunim rastvorima pri koncentraciji Fe od 20 μM (+Fe), a zatim su tretirane olovom, odnosno kadmijumom, dodavanjem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, odnosno $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u koncentraciji od 20 i 50 μM . Posle ovih tretmana koji su trajali 14 dana, uzorkovani su listovi kontrolnih i tretiranih biljaka u kojima je određena koncentracija fotosintetičkih pigmenata i to hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida. Određen je i odnos hlorofila *a* i *b*. Za analizu dobijenih podataka primenjena je analiza varijanse i analiza višestrukih opsega primenom LSD testa ($P < 0,05$).

4.5.1. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata u listovima biljaka *Ailanthus altissima*

Kod biljaka *Ailanthus altissima* koje su optimalno obezbeđene gvožđem, tretman olovom u koncentraciji od 20 i 50 μM nije uticao na koncentraciju hlorofila *a*, dok je pri istom tretmanu kod ovih biljaka došlo do značajnog povećanja koncentracije hlorofila *b* u svežoj masi lista u odnosu na kontrolne +Fe biljke (Tabela 18). Kod biljaka koje su bile izložene nedostatku gvožđa u predtretmanu prisustvo olova u hranljivom rastvoru je dovelo do smanjenja koncentracije hlorofila *a* pri koncentraciji olova od 20 μM , dok smanjenje koncentracije hlorofila *b* i ukupnih karotenoida nije bilo statistički značajno (Tabela 18) u odnosu na - Fe biljke. Kod kontrolne grupe biljaka (+Fe) odnos hlorofila *a* i *b* iznosi 3,009 dok je ova vrednost nešto veća kod kontrolnih -Fe biljaka i iznosi 3,429. U tretmanima olovom kod +Fe biljaka ovaj pokazatelj se smanjuje. Pri koncentraciji olova od 20 μM odnos hlorofila *a* i *b* iznosi 2,189 a

pri koncentraciji od 50 μM uočava se još veće smanjenje ove vrednosti (1,881) (Tabela 18).

Za razliku od tretmana olovom gde kod biljaka optimalno obezbeđenim nutrijentima olovo nije izazvalo smanjenje koncentracije hlorofila *a*, u tretmanima sa kadmijumom u koncentraciji od 20 i 50 μM uočava se smanjenje koncentracije hlorofila *a* u odnosu na kontrolu, pri čemu se uočava i značajno smanjenje koncentracije hlorofila *a* u tretmanu 50 μM Cd u odnosu na 20 μM Cd (Tabela 19). Kadmijum, u hranljivom rastvoru, je doveo do smanjenja koncentracije hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida.

Kod -Fe biljaka uočava se značajno smanjenje odnosa hlorofila *a* i *b* u tretmanima sa kadmijumom u odnosu na kontrolne biljke (Tabela 19). U tretmanima 20 μM Cd i 50 μM Cd kod -Fe biljaka uočava se značajno smanjenje koncentracije hlorofila *a*. U tretmanu 50 μM Cd uočava se značajno smanjenje hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida u odnosu na kontrolu, dok u tretmanu 20 μM Cd analizirani pokazatelji se u uglavnom nalaze u istoj homogenoj grupi sa kontrolnim -Fe biljkama (Tabela 19).

Hloroza mlađih listova je uočena na biljakama u toku samog eksperimenta. Za određivanje stepena hloroze korišćena je skala od 1 do 4, prema Sudahono & Rouse (1994). U eksperimentima gde su biljke izlagane kontaminaciji kadmijumom najizraženiji stepen hloroze (stepen 4) je uočen u tretmanu -Fe+50 Cd (Tabela 23).

Kod biljaka tretiranih olovom najizraženija hloroza je uočena u tretmanima (-Fe+50 Pb i -Fe+20 Pb) gde pripada stepenu 3 (Slika 13). Usled kontaminacije hranljivog rastvora olovom nije došlo do pojave hloroze kod biljaka koje su bile optimalno obezbeđene gvožđem (Tabela 22).

4.5.2. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata u listovima biljaka *Acer negundo*

Kod biljaka *Acer negundo* prisustvo kadmijuma u hranljivom rastvoru u koncentracijama od 20 i 50 μM , takođe, je izazvalo smanjenje koncentracije hlorofila *a*, kako kod biljaka optimalno obezbeđenih nutrijentima (u tabeli označeni sa +Fe), tako i kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u predtretmanu (-Fe) (Tabela 20), kod kojih je uočena veoma izražena hloroza (Tabela 10). Kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa nije došlo do značajnog smanjenja koncentracije hlorofila *b*, dok se kod +Fe biljaka uočava smanjenje koncentracije hlorofila *b* u tretmanima Cd 20 i 50 μM (0,173 i 0,186 mg/g).

Ni kod ove vrste olovo ne utiče dramatično na smanjenje koncentracije hlorofila *a* i *b* kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u predtretmanu. Zanimljivo je da kod ove vrste ne uočavamo povećanje koncentracije hlorofila *b* kod biljaka optimalno obezbeđenih svim esencijalnim elementi (u tabelama označene kao +Fe) , za razliku od *Ailanthus altissima* gde je kod +Fe biljaka došlo do povećanja koncentracije ovog pigmenta pri kontaminaciji potpunog hranljivog rastvora olovom (Tabela 18).



Slika 10. Hloroza i nekroza (levo) na mladim listovima - Fe biljaka *Acer negundo* u Cd tretmanima.



Slika 11. Simptomi toksikacije olovom (gore) i kadmijumom (sredina) na listovima *Acer negundo*. Korenovi (dole) kontrolnih biljaka *Ailanthus altissima* – levo; iz tretmana olovom – sredina; iz tretmana kadmijumom - desno).



Slika 12. Nekroza na listovima biljaka *Ailanthus altissima* u tretmanima olovom (gore) i oštećenja na listu u tretmanima kadmijumom (dole).

Tabela 18. Koncentracije fotosintetičkih pigmenata (hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida) u mg/g sveže mase listova (SveM) i odnos hlorofila *a* i *b* kod hidroponski gajenih biljaka *Ailanthus altissima* koje su u predtretmanu obezbeđene gvožđem u koncentraciji od 20 µM (+Fe) odnosno izložene nedostatku gvožđa (-Fe) a zatim gajene u tretmanima sa olovom u koncentraciji od 20 i 50 µM Pb, 14 dana.

Tretman Pb(NO ₃) ₂	Hlorofil <i>a</i> mg/g SveM	Hlorofil <i>b</i> mg/g SveM	Ukupni hlorofil <i>a+b</i> mg/g SveM	Odnos hlorofila <i>a/b</i>	Ukupni karotenoidi mg/g SveM
Predtretman - Fe					
- Fe + Pb 50 µM	0,455 bc ±0,1031	0,127 c ±0,0319	0,582 c ±0,1350	3,621 a ±0,1000	0,160 ab ±0,0419
- Fe + Pb 20 µM	0,304 c ±0,0018	0,135 c ±0,0077	0,439 c ±0,0059	2,63 ab ±0,142	0,120 b ±0,0010
- Fe -Pb µM	0,542 b ±0,0036	0,158 bc ±0,0038	0,700 bc ±0,0074	3,429 ab ±0,0585	0,163 ab ±0,0019
Predtretman + Fe					
+ Fe+ Pb 50 µM	0,792 a ±0,0120	0,421 a ±0,0097	1,213 a ±0,0218	1,881 b ±0,0145	0,253 a ±0,0482
+ Fe+ Pb 20 µM	0,813 a ±0,0038	0,446 a ±0,1810	1,260 a ±0,1774	2,189 ab ±0,8980	0,195 ab ±0,0030
+ Fe- Pb (kontrola)	0,757 a ±0,0380	0,267 b ±0,0700	1,024 ab ±0,1087	3,009 ab ±0,6489	0,210 ab ±0,0107

Tabela 19. Koncentracije fotosintetičkih pigmenata (hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida) u mg/g sveže mase listova (SveM) i odnos hlorofila *a* i *b* kod hidroponski gajenih biljaka *Ailanthus altissima* koje su u predtretmanu obezbeđene gvožđem u koncentraciji od 20 µM (+Fe) odnosno izložene nedostatku gvožđa (-Fe) a zatim gajene u tretmanima sa kadmijumom u koncentraciji od 20 i 50 µM Cd, 14 dana.

Tretman Cd(NO ₃) ₂	Hlorofil <i>a</i> mg/g SveM	Hlorofil <i>b</i> mg/g SveM	Ukupni hlorofil <i>a+b</i> mg/g SveM	Odnos hlorofila <i>a/b</i>	Ukupni karotenoidi mg/g SveM
Predtretman - Fe					
- Fe + Cd 50 µM	0,206667 e ±0,0067	0,11c ±0,021	0,31 f ±0,00577	1,94 b ±0,064291	0,107 d ±0,0089
- Fe + Cd 20 µM	0,446667 c ±0,054	0,247b ±0,039	0,693 d ±0,092	1,82 b ±0,105357	0,153 c ±0,0091
- Fe -Cd µM	0,36 d ±0,03	0,143c ±0,018	0,507 e ±0,0202	2,54 a ±0,314	0,147 c ±0,0019
Predtretman + Fe					
+ Fe+ Cd 50 µM	0,52 c ±0,0208	0,3b ±0,03	0,82 c ±0,011547	1,75 b ±0,220681	0,193 b ±0,0087
+ Fe+ Cd 20 µM	0,636667 b ±0,0067	0,313b ±0,0088	0,94 b ±0,0067	2,04 ab ±0,055076	0,213 b ±0,0088
+ Fe- Cd (kontrola)	0,8 a ±0,046	0,43a ±0,026	1,23 a ±0,023094	1,89 b ±0,105	0,243 a ±0,012

Tabela 20. Koncentracije fotosintetičkih pigmenata (hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida) u mg/g sveže mase listova (SveM) i odnos hlorofila *a* i *b* kod hidroponski gajenih biljaka *Acer negundo* koje su u predtretmanu obezbeđene gvožđem u koncentraciji od 20 µM (+Fe) odnosno nedostatku gvožđa (-Fe) a zatim gajene u tretmanima sa kadmijumom u koncentraciji od 20 i 50 µM Cd, 14 dana.

Tretman Cd(NO ₃) ₂	Hlorofil <i>a</i> mg/g SveM	Hlorofil <i>b</i> mg/g SveM	Ukupni hlorofil <i>a+b</i> mg/g SveM	Odnos hlorofila <i>a/b</i>	Ukupni karotenoidi mg/g SveM
Predtretman - Fe					
- Fe + Cd 50 µM	0,393 ed ±0,012	0,186 c ±0,0133	0,58 c ±0,025	2,163 a ±0,115	0,163 de ±0,003
- Fe + Cd 20 µM	0,356 e ±0,013	0,173 c ±0,0218	0,53 c ±0,0208	2,12 a ±0,33	0,137 e ±0,002
- Fe -Cd µM	0,526 d ±0,043	0,223 c ±0,0067	0,747 b ±0,0491	2,37 a ±0,139	0,18 cd ±0,025
Predtretman + Fe					
+ Fe+ Cd 50 µM	0,857 c ±0,066	0,5367 b ±0,0463	1,397 a ±0,108	1,596 b ±0,069	0,213 c ±0,007
+ Fe+ Cd 20 µM	1,083 b ±0,008	0,473 b ±0,0067	1,56 a ±0,026	2,293 a ±0,056	0,363 b ±0,009
+ Fe- Cd (kontrola)	1,255 a ±0,005	0,945 a ±0,025	1,2 ab ±0,02	2,27 a ±0,007	0,505 a ±0,025

Tabela 21. Koncentracije fotosintetičkih pigmenata (hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i ukupnih karotenoida) u mg/g sveže mase listova (SveM) i odnos hlorofila *a* i *b* kod hidroponski gajenih biljaka *Acer negundo* koje su u predtretmanu obezbeđene gvoždem u koncentraciji od 20 µM (+Fe) odnosno nedostatku gvožđa (-Fe) a zatim gajene u tretmanima sa olovom u koncentraciji od 20 i 50 µM Pb, 14 dana.

Tretman Pb(NO ₃) ₂	Hlorofil <i>a</i> mg/g SveM	Hlorofil <i>b</i> mg/g SveM	Ukupni hlorofil <i>a+b</i> mg/g SveM	Odnos hlorofila <i>a/b</i>	Ukupni karotenoidi mg/g SveM
Predtretman - Fe					
- Fe + Pb 50 µM	0,2425 c ±0,0236	0,14c ±0004	0,3825 c ±0,0235	1,7425b ±0,1626	0,1075b ±0,017
- Fe + Pb 20 µM	0,4033 bc ±0,0348	0,1967 bc ±0,009	0,5967bc ±0,0409	2,05ab ±0,1442	0,1867ab ±0,012
- Fe -Pb µM	0,373 bc ±0,0521	0,183bc ±0,009	0,5567bc ±0,0521	2,0567ab ±0,2434	0,17666ab ±0,032
Predtretman + Fe					
+ Fe+ Pb 50 µM	0,695 ab ±0,175	0,295ab ±0,075	0,99ab ±0,25	2,38a ±0,02	0,205ab ±0,065
+ Fe+ Pb 20 µM	0,8 a ±0,26	0,36a ±0,11	1,165a ±0,365	2,2ab ±0,04	0,26a ±0,1
+ Fe- Pb (kontrola)	0,8525 a ±0,1204	0,4025a ±0,058	1,2575a ±0,177	2,14ab ±0,0234	0,275a ±0,044

Tabela 22. Suva masa (SM) nadzemnog dela i korena, odnos masa korena i nadzemnog dela i stepen hloroze na mlađim listovima za biljke *Ailanthus altissima* u tretmanima olovom. 1 - boja listova ne odstupa od normalne (listovi bez hloroze), 2 - slaba hloroza (mestimično zastupljene žuto-zelenie površine), 3 - umerena do izražena hloroza (mestimično zastupljene žuto-zelene do žute površine), 4 - veoma izražena hloroza (mestimično zastupljene žuto-bele površine).

Tretmani Fe^{III}EDTA Pb(NO₃)₂	Nadzemni deo SM (g)	Koren SM (g)	Odnos korena i nadzemnog dela	Stepen hloroze
- Fe+50 μM Pb	0,48 b ±0,071	0,29 ab ± 0,049	0,60 ±0,023	3
- Fe+20 μM Pb	0,68 b ±0,155	0,34 ab ± 0,057	0,50 ±0,624	3
- Fe-Pb	0,52 b ±0,122	0,23 b ± 0,055	0,44 ±0,072	2
+Fe+50μM Pb	0,88 ab ±0,136	0,44 ab ± 0,055	0,51 ±0,032	1
+Fe+ 20μM Pb	0,86 ab ±0,026	0,39 ab ± 0,100	0,45 ±0,112	1
+Fe-Pb	1,04 a ±0,262	0,53 a ± 0,154	0,52 ±0,037	1



Slika 13. Listovi -Fe biljaka *Ailanthus altissima* tretirani olovom i levo listovi kontrolnih biljaka. Uočljiva je pojava hloroze u većem stepenu kod biljaka tretiranih olovom.



Slika 14. Hidroponski gajene biljke tretirane kadmijumom (Cd) u koncentraciji od 20 i 50 μM i kontrolne biljke (levo) *Ailanthus altissima* iz +Fe (dole) i -Fe (gore) predtretmana.

Tabela 23. Suva masa (SM) nadzemnog dela i korena, odnos masa korena i nadzemnog dela i stepen hloroze na mlađim listovima za biljke *Ailanthus altissima* u tretmanima kadmijumom. Stepem hloroze je izražen prema skali koja je opisana za Tabelu 22.

Tretmani Fe^{III}EDTA Pb(NO₃)₂	Nadzemni deo SM (g)	Koren SM (g)	Odnos korena i nadzemnog dela	Stepen hloroze
- Fe+50 μM Cd	0,4 c ±0,064	0,087 a ±0,009	0,2208 ±0,014	4
- Fe+20 μM Cd	0,4933 c ±0,034	0,077 a ±0,009	0,1566 ±0,019	3
- Fe-Cd	1,3 a ±0,036	0,34 a ±0,0416	0,2603 ±0,025	2
+Fe+50μM Cd	0,527 bc ±0,088	0,34 a ±0,28	0,7089 ±0,603	2
+Fe+Cd 20μM	0,743 b ±0,024	0,113 a ±0,009	0,1534 ±0,0163	2
+Fe-Cd	1,523 a ±0,152	0,243 a ±0,0145	0,1616 ±0,011	1



Slika 15. Potpuno formirani listovi srednje starosti biljaka *Ailanthus altissima* iz tretmana olovom u koncentraciji od 20 μ M. Listovi biljaka koje su pre i tokom tretmana obezbeđene gvožđem, +Fe (levo) i biljaka koje su u predtretmanu i tretmanu izložene nedostatku gvožđa ,-Fe (desno).

4.6. Uticaj Pb i Cd na parametre indukcije fluorescencije hlorofila u listovima biljaka *Ailanthus altissima*

Parametri indukcije fluorescencije hlorofila hidroponski gajenih biljaka *Ailanthus altissima* u tretmanima sa olovom (Tabela 24 i 25) i kadmijumom (Tabela 26 i 27) su prikazani u ovom poglavlju. Cilj analize ovih parametara je utvrđivanje uticaja primenjenih koncentracija olova i kadmijuma na aktivnost fotosistema II.

4.6.1. Uticaj Pb na parametre indukcije fluorescencije hlorofila

Kod -Fe biljaka, tretman Pb u koncentraciji od 20 μM je značajno uticao na smanjenje parametara Fm i F0, gde se ovi parametri izdvajaju u posebnoj homogenoj grupi *b*, dok je kontrolna grupa biljaka izdvaja u homogenoj grupi *a* (Tabela 24). Ostali parametri indukcije fluorescencije hlorofila se nalaze u istoj homogenoj grupi sa kontrolom (Tabela 24). Tretman olovom u koncentraciji od 50 μM je značajno uticao na smanjenje parametara Fv/Fm, Fm, Fv i F0, dok je u ovom tretmanu došlo do značajnog povećanja vremena potrebnog za postizanje maksimalne fluorescencije (Tabela 24).

U tretmanima gde su biljke bile obezbeđene svim esencijalnim elementima (+Fe) nije bilo značajnog uticaja na ove parametre dok se pri koncentraciji od 50 μM jedino uočava značajno smanjenje fotosintetičke efikasnosti (Fv/Fm), (Tabela 24).

Kada su parametri mereni na mladim listovima, kontaminacija olovom je imala nešto izraženiji efekat na merene parametre kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa. Naime, ovde je pokazan značajan uticaj Pb u obe primenjene koncentracije na smanjenje parametara Fo, Fm, Fv i Fv/Fm (Tabela 25). Iz ovoga proizilazi da je negativan uticaj Pb na aktivnost fotosistema II kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u većoj meri izražen u mlađim listovima.

Tabela 24. Uticaj Pb u koncentraciji od 20 μM i 50 μM na fotosinteti efikasnost listova srednje starosti biljaka *Ailanthus altissima* izloženih u predtretmanu nedostatku gvožđa (-Fe) i optimalno obezbeđenih gvožđem (+Fe). U tabeli su prikazane srednje vrednosti (SV) i standardne greške (SE) parametara: Fo - minimalna fluorescencija; Fm - maksimalna fluorescencija; Fv = Fm - Fo - varijabilna fluorescencija; $t_{1/2}$ - polovina vremena potrebnog za postizanje maksimalne fluorescencije i Fv/Fm - fotosintetička efikasnost. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike parametara između tretmana i kontrole u okviru jednog predtretmana ($P < 0,05$).

Tretman	Fv/Fm		T1/2		Fm		Fv		F0	
	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE
Predtretman (-Fe)										
-Fe-Pb(con.)	0,78a	0,030	312,9b	67,64	0,81a	0,08	0,63a	0,07	0,178a	0,016
-Fe+20 μM Pb	0,75ab	0,012	476,9ab	95,9	0,54b	0,11	0,44a	0,09	0,107b	0,0163
-Fe+50 μM Pb	0,70b	0,013	581,6a	43,1	0,25c	0,02	0,17b	0,012	0,073b	0,0063
Predtretman (+Fe)										
+Fe-Pb(con.)	0,83a	0,001	280,4a	26,78	0,715a	0,0197	0,594a	0,0171	0,121a	0,0028
+Fe+20 μM Pb	0,82ab	0,005	261,8a	9,325	0,702a	0,0194	0,523a	0,0426	0,127a	0,0056
+Fe+50 μM Pb	0,78b	0,022	379,3a	84,804	0,583a	0,0792	0,472a	0,0665	0,112a	0,0133

Tabela 25. Uticaj Pb u koncentraciji od 20 μ M i 50 μ M na fotosinteti efikasnost mladih, potpuno razvijenih listova *Ailanthus altissima* (treći list odozgo, meren na najširem delu lisne ploče) izloženih u predtretmanu nedostatku gvožđa (-Fe) i optimalno obezbeđenih gvožđem (+Fe). U tabeli su prikazane srednje vrednosti (SV) i standardne greške (SE) parametara Fo - minimalna fluorescencija; Fm - maksimalna fluorescencija; Fv = Fm - Fo - varijabilna fluorescencija; $t_{1/2}$ - polovina vremena potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije i Fv/Fm - fotosintetička efikasnost. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike izmerenih parametara tretmana i kontrole u okviru jednog predtretmana ($P < 0,05$).

Tretman	Fv/Fm		T1/2		Fm		Fv		F0	
	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE
Predtretman -Fe										
-Fe - Pb(con.)	0,8a	0,008	710,0a	351,6	0,772a	0,1706	0,62a	0,1475	0,154a	0,0247
-Fe+20 μ M Pb	0,68b	0,0425	591,8ab	710,0	0,258b	0,1159	0,196b	0,1012	0,064b	0,0143
-Fe+50 μ M Pb	0,72b	0,0165	351,6b	591,8	0,248b	0,022	0,178b	0,0154	0,068b	0,0073
Predtretman +Fe										
+Fe-Pb(con.)	0,83a	0,003	249,0a	13,28	0,718a	0,0327	0,492a	0,0836	0,12a	0,0045
+Fe+20 μ M Pb	0,82a	0,009	257,6a	10,30	0,72a	0,0217	0,59a	0,0569	0,126a	0,0093
+Fe+50 μ M Pb	0,81a	0,005	249,3a	27,67	0,727a	0,0745	0,598a	0,028	0,143a	0,0186

4.6.2. Uticaj Cd na parametre indukcije fluorescencije hlorofila

Kod -Fe biljaka, Cd pri koncentraciji od 50 μM je značajno uticalo na smanjenje parametara $t_{1/2}$, gde se ovaj parametar izdvaja u posebno homogenoj grupi *b*, dok je kontrolna grupa biljaka izdvojena u homogenoj grupi *a* (Tabela 26). Ostali parametri indukcije fluorescencije hlorofila se nalaze u istoj homogenoj grupi sa kontrolom (Tabela 26). Kadmijum u koncentraciji od 50 μM , kod biljaka koje nisu bile izložene nedostatku gvožđa, je značajno uticao na povećanje parametara F_m i F_0 (Tabela 26).

Kada su parametri mereni na mladim listovima, kontaminacija kadmijumom je imala vrlo izražen efekat na merene parametre kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa. Naime, ovde je pokazan značajan uticaj Cd u obe primenjene koncentracije na smanjenje fotosintetičke efikasnosti (F_v/F_m) (Tabela 27), gde se netretirane (kontrolne) biljke izdvajaju u homogenoj grupi *a*, dok se tretmani izdvajaju u homogenim grupama *b* i *c* (Tabela 27). Najmanje vrednosti ovog parametra su izmerene u tretmanu -Fe+50 μM Cd (Tabela 27). Kod biljaka koje su obezbeđene gvožđem uočeno je povećanje vrednosti parametra F_m u tretmanima sa kadmijumom i smanjenje parametra F_0 pri koncentraciji kadmijuma od 50 μM .

Tabela 26. Uticaj Cd u koncentraciji od 20 μ M i 50 μ M na fotosinteti efikasnost biljaka *Ailanthus altissima* izloženih u predtretmanu nedostatku gvožđa (-Fe) i optimalno obezbeđenih gvoždem (+Fe). U tabeli su prikazane srednje vrednosti (SV) i standardne greške (SE) parametara Fo - minimalna fluorescencija; Fm - maksimalna fluorescencija; Fv = Fm - Fo - varijabilna fluorescencija; t_{1/2} - polovina vremena potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije i Fv/Fm - fotosintetička efikasnost. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike parametara između tretmana i kontrole u okviru jednog predtretmana (P< 0,05).

Tretman	Fv/Fm		T1/2		Fm		Fv		F0	
	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE
Predtretman -Fe										
-Fe-Cd(con.)	0,748a	0,0265	139,9a	8,27	1,15a	0,032	0,861a	0,0385	0,294a	0,0332
-Fe+20 μ M Cd	0,6998a	0,0370	103,7ab	22,63	1,2a	0,07	0,828a	0,0482	0,372a	0,0559
-Fe+50 μ M Cd	0,642a	0,0498	89,2b	6,0045	1,185a	0,102	0,852a	0,1611	0,431a	0,0864
Predtretman +Fe										
+Fe-Cd(con.)	0,784a	0,0192	204,9a	18,8547	0,776b	0,0595	0,609a	0,0556	0,16b	0,0121
+Fe+20 μ M Cd	0,767a	0,0316	192,0a	16,385	0,882b	0,0345	0,676a	0,0402	0,207ab	0,0291
+Fe+50 μ M Cd	0,731a	0,0365	174,0a	15,3616	1,082a	0,0869	0,726a	0,0776	0,316a	0,0587

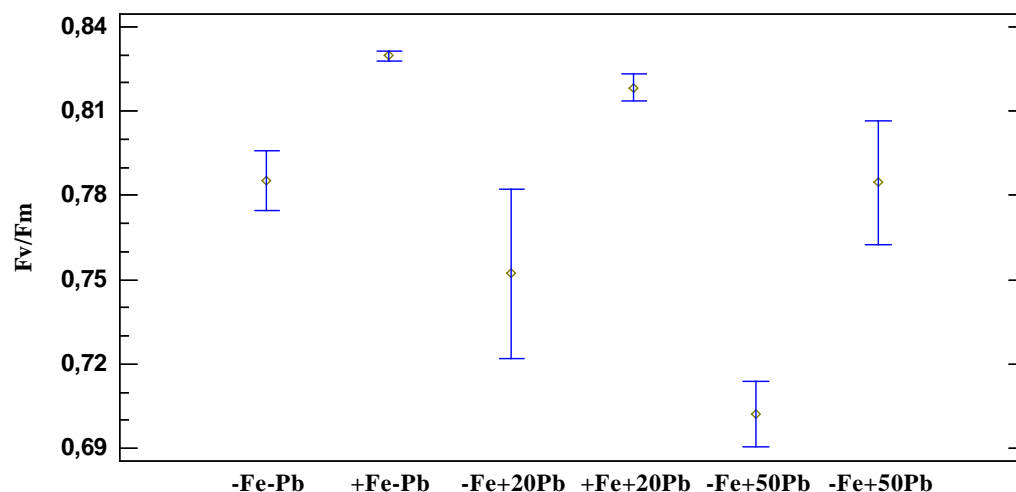
Tabela 27. Uticaj Cd u koncentraciji od 20 μ M i 50 μ M na fotosinteti efikasnost mladih, potpuno razvijenih listova *Ailanthus altissima* (treći list odozgo, na najširem delu lisne ploče) izloženih u predtretmanu nedostatku gvožđa (-Fe) i optimalno obezbeđenih gvožđem (+Fe). U tabeli su prikazane srednje vrednosti (SV) i standardne greške (SE) parametara Fo - minimalna fluorescencija; Fm - maksimalna fluorescencija; Fv = Fm - Fo - varijabilna fluorescencija; $t_{1/2}$ - $\frac{1}{2}$ vremena potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije i Fv/Fm - fotosintetička efikasnost. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike izmerenih parametara između tretmana i kontrole u okviru jednog predtretmana. (P< 0,05).

Tretman	Fv/Fm		T1/2		Fm		Fv		F0	
	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE	SV	SE
Predtretman -Fe										
-Fe-Cd(con.)	0,67a	0,012	144,4a	11,21	1,17a	0,0455	0,78a	0,0389	0,39a	0,0158
-Fe+20 μ M Cd	0,59b	0,0300	83,0b	0	1,34a	0,0604	0,808a	0,072	0,532a	0,026
-Fe+50 μ M Cd	0,494c	0,0147	45,4b	24,04	1,17a	0,1905	0,56a	0,1752	0,606a	0,1322
Predtretman +Fe										
+Fe-Cd(con.)	0,7294a	0,01035	216,0a	34,24	0,664c	0,0766	0,604a	0,0403	0,18b	0,0207
+Fe+20 μ M Cd	0,6994a	0,04685	210,6a	27,995	0,866b	0,0323	0,716a	0,1380	0,264b	0,0462
+Fe+50 μ M Cd	0,6394a	0,04159	201,4a	22,404	1,274a	0,0667	0,484a	0,0573	0,46a	0,0642

4.6.3. Uticaj Pb i Cd na fotosintetičku efikasnost kod biljaka obezbeđenih gvoždem i kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa

Ovde su upoređene vrednosti parametra fotosintetička efikasnost F_v/F_m za biljke obezbeđene gvoždem i biljke izložene nedostatku gvožđa u tretmanima sa olovom (Grafikon 30). Uočava se značajna razlika između tretmana -Fe+20 μ M Pb i + Fe+20 μ M Pb, kao i -Fe+50 μ M Pb i + Fe+50 μ M Pb, što ukazuje da prisustvo gvožđa značajno modifikuje uticaj olova na fotosintetičku efikasnost.

Srednje vrednosti i standardne greške za parametar F_v/F_m



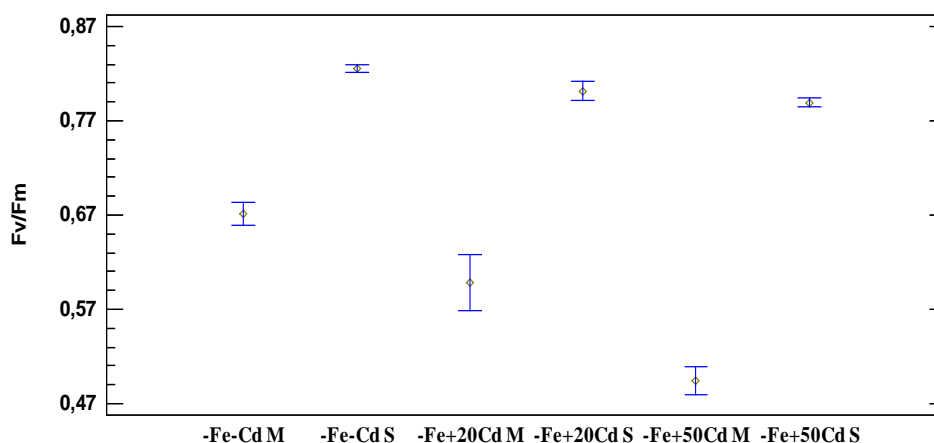
Parovi	Sig.	Razlika	Limit
-Fe+20Pb - -Fe+50Pb	*	0,0501	0,0473711
-Fe+20Pb - + Fe+20Pb	*	-0,0661	0,0473711
-Fe+20Pb - + Fe-Pb	*	-0,0776	0,0473711
-Fe+50Pb - -Fe-Pb	*	-0,0832	0,0473711
-Fe+50Pb - + Fe+20Pb	*	-0,1162	0,0473711
-Fe+50Pb - + Fe+50Pb	*	-0,0825	0,0473711
-Fe+50Pb - + Fe-Pb	*	-0,1277	0,0473711

Grafikon 30. Srednje vrednosti i standardne greške za parametar F_v/F_m - fotosintetička efikasnost izmerenom na biljkama *Ailanthus altissima* izloženim nedostatku gvožđa (-Fe) i obezbeđenih gvoždem (+Fe) i uticaju Pb u

koncentraciji od 20 μM i 50 μM u tretmanu (gore). Oznaka * u tabeli dole kazuje na statistički značajnu razliku između parova ($P < 0,05$) (dole).

Za tretmane sa kadmijumom upoređena je fotosintetička efikasnost između starijih i mlađih listova biljaka koje su u predtretmanu izložene nedostatku gvožđa (Grafikon 31). Kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa fotosintetička efikasnost je manja u mlađim u odnosu na listove srednje starosti (tretman -Fe- CdM u odnosu na -Fe-CdS. Takođe, uočavaju se značajno manje vrednosti ovog parametra u tretmanima sa kadmijumom kod mlađih u odnosu na listove srednje starosti (Grafikon 31).

Srednje vrednosti i standardne greske za parametar Fv/Fm



Parovi	Sig.	Razlika	+/- Limit
- Fe- CdM - - Fe-CdS	*	-0,155	0,0447196
- Fe- CdM - - Fe+20CdM	*	0,0726	0,0447196
- Fe- CdM - - Fe+20CdS	*	-0,1306	0,0447196
- Fe- CdM - - Fe+50CdM	*	0,1768	0,0447196
- Fe- CdM - - Fe+50CdS	*	-0,1186	0,0447196
- Fe- CdS - - Fe+20CdM	*	0,2276	0,0447196
- Fe- CdS - - Fe+50CdM	*	0,3318	0,0447196
- Fe+20CdM - - Fe+20CdS	*	-0,2032	0,0447196
- Fe+20CdM - - Fe+50CdM	*	0,1042	0,0447196
- Fe+20CdM - - Fe+50 CdS	*	-0,1912	0,0447196
- Fe+20CdS - - Fe+50 CdM	*	0,3074	0,0447196
- Fe+50CdM - - Fe+50 CdS	*	-0,2954	0,0447196

Grafikon 31 . Srednje vrednosti i standardne greške za parametar Fv/Fm - fotosintetička efikasnost izmerenom na zreim (S) i mladim (M) listovima

biljaka izloženih nedostatku gvožđa (-Fe) i uticaju Cd u koncentraciji od 20 μM i 50 μM u tretmanu (gore). Oznaka * u tabeli dole kazuje na statistički značajnu razliku između parova ($P < 0,05$).

4.7. Akumulacija olova i kadmijuma u biljkama

4.7.1. Akumulacija Pb u korenu i nadzemnom delu biljaka *Ailanthus altissima* u toku 24 sata pri pH vrednosti hranljivog rastvora od 5,5 i 8

Efekat pH vrednosti hranljivog rastvora (5,5 i 8) na akumulaciju Pb i drugih mikroelemenata (Zn, Mn, Fe i Cu) prikazane u Tabeli 22. Olovo je primenjeno u koncentraciji od 10 μM . Rezultati pokazuju da pH vrednost nije značajno uticala na akumulaciju olova kod biljaka obezbeđenih gvožđem (+Fe), dok je akumulacija Pb kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa (-Fe), pri pH vrednosti od 5,5 bila značajno veća (Tabela 28). Pri ovoj pH vrednosti kod -Fe biljaka uočava se značajno veća akumulacija Zn. Takođe, -Fe biljke u ovom tretmanu akumuliraju više Mn. Akumulacija Cu je značajno veća kod -Fe biljaka, međutim, nije zavisna od pH vrednosti *uptake* rastvora.

U ovim tretmanima je analizirana i akumulacija P, Mg, Ca i K u nadzemnom delu biljaka. Dobijeni rezultati ukazuju da nema zavisnosti od pH vrednosti pri usvajanju ovih elemenata. Nedostatak gvožđa u predtretmanu je uticao na akumulaciju Mn i Ca (Tabela 29). Kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u predtretmanu, uočena je povećana akumulacija Mg i Ca u nadzemnom delu, u odnosu na biljke koje u predtretmanu nisu bile izložene nedostatku gvožđa (Tabela 29). U ovom eksperimentu, akumulacija Pb u korenu biljaka obezbeđenih gvožđem je pokazala zavisnost od pH vrednosti. Pri pH 8 uočena je i značajno manja akumulacija olova u odnosu na vrednost pri pH 5,5 (Tabela 31). Uočava se povećanje akumulacije Pb i kod biljaka izloženih deficitu gvožđa ali ne na statistički značajnom nivou. Kod biljaka obezbeđenih gvožđem sadržaj cinka ne zavisi od pH vrednosti dok se kod

biljaka izloženih deficitu gvožđa uočava zavisnost od pH vrednosti. Pri pH 5,5 akumulacija Zn je višestruko veća u odnosu na koncentracije pri pH 8 (Tabela 31). Pri pH vrednosti od 5,5 izmerene su veće koncentracije Fe u korenu u odnosu na koncentracije Fe u tretmanu pri pH 8 (Tabela 31). U ovom eksperimentu, akumulacija Cu u korenu nije pokazala zavisnost od pH vrednosti, međutim, uočava se veća akumulacija kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u predtretmanu (Tabela 31). Analizirana je akumulacija P, Mg, K i Ca u korenu (Tabela 30). U korenu se uočava povećana akumulacija Mg i Ca kod biljaka izloženih deficitu gvožđa u predtretmanu. Nije uočena razlika u akumulaciji P i K između predtretmana.

U eksperimentima gde su biljke u dvadesetčetvoročasovnom tretmanu izložene olovu u koncentraciji od 5, 10 i 20 μM određen je koeficijent akumulacije Pb (masena koncentracija Pb u celoj biljci/masena koncentracija Pb u rasvoru) (Grafikon 26). Pri koncentraciji od 5 i 20 μM koeficijent akumulacije je veći kod biljaka izloženih deficitu gvožđa, dok pri koncentraciji od 10 μM Pb, na ovaj parametar nije uticao predtretman.

U grafikonima 24 i 25 je prikazana akumulacija u korenu, odnosno u nadzemnom delu biljke gde se, takođe, uočava zavisnost akumulacije Pb od predtretmana pri koncentracijama od 5 i 20 μM Pb.

Tabela 28. Uticaj pH vresnosti 5,5 i 8 na akumulaciju Pb i esencijalnih mikroelemenata Zn, Mn, Fe i Cu u nadzemnom delu (nd) biljaka *Ailanthus altissima* izloženih dvadesetčetvoročasovnom tretmanu olovom u koncentraciji od 10 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe), odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretman	Pb	Zn	Mn	Fe	Cu
($\mu\text{g g}^{-1}$)					
+FePb10ndpH5	3,85497 b \pm 0,221955	37,9075 b \pm 3,68932	57,2585 b \pm 16,4745	100,019 a \pm 14,6392	9,95223 b \pm 0,818524
+FePb10ndpH8	3,37587 b \pm 1,42452	34,1099 b \pm 1,9693	54,9464 b \pm 6,88875	166,431 a \pm 4,9241	16,0316 b \pm 2,94904
-FePb10ndpH5	17,8955 a \pm 2,15832	62,5149 a \pm 5,05475	94,0955 a \pm 10,533	90,303 a \pm 12,3171	194,641 a \pm 18,7704
-FePb10ndpH8	9,84501 b \pm 0,14634	37,4657 b \pm 0,955994	78,0804 b \pm 6,30978a	78,77 a \pm 13,3338	166,884 a \pm 14,4414

Tabela 29. Uticaj pH vrednosti od 5,5 i 8 na akumulaciju Pb i esencijalnih makroelemenata P, Mg, K i Ca u nadzemnom delu biljaka *Ailanthus altissima* izloženih dvadesetčetvoročasovnom tretmanu olovom u koncentraciji od 10 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe), odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

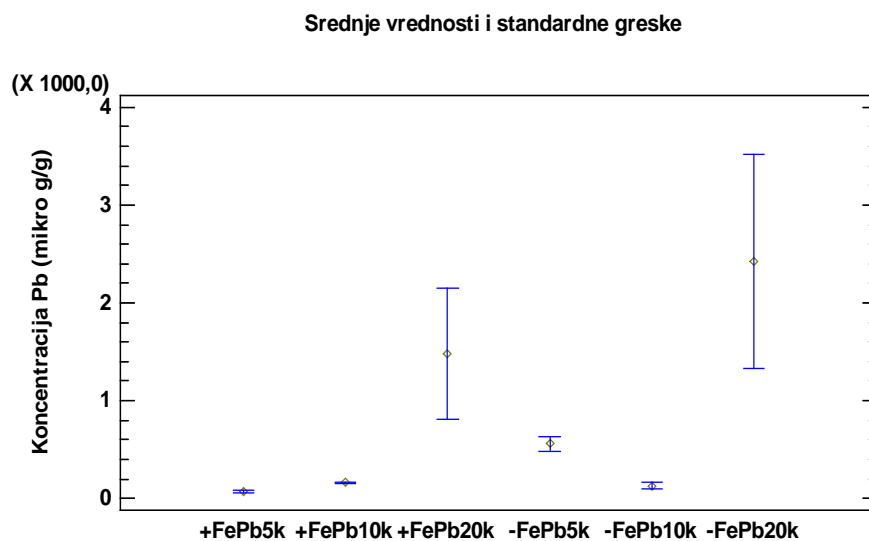
Tretman	P	Mg	K	Ca
$(\mu\text{g g}^{-1})$				
+FePb10nd pH5	4370,05 a $\pm 320,141$	2354,31 b $\pm 350,484$	23190,8 a $\pm 962,345$	11076,4 b $\pm 600,264$
+FePb10nd pH8	4245,23 a $\pm 246,832$	2175,04 b $\pm 195,265$	23571,8 a $\pm 1316,92$	9516,72 b $\pm 630,464$
-FePb10nd pH5	4435,2 a $\pm 74,7134$	3603,79 a $\pm 144,913$	23167,6 a $\pm 883,381$	16964,9 a $\pm 1202,48$
-FePb10nd pH8	3896,18 a $\pm 95,9313$	4177,42 a $\pm 172,522$	24164,8 a $\pm 634,317$	16456,6 a $\pm 337,979$

Tabela 30. Uticaj pH vresnosti 5,5 i 8 na akumulaciju Pb i esencijalnih makroelemenata P, Mg, K i Ca u korenu biljaka *Ailanthus altissima* izloženih dvadesetčetvoročasovnom tretmanu olovom u koncentraciji od 10 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe), odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretman	P	Mg	K	Ca
$(\mu\text{g g}^{-1})$				
+FePb10k pH5	6522,22 a $\pm 173,083$	3009,47 b $\pm 384,11$	31792,6 a $\pm 1791,83$	2394,99 c $\pm 235,409$
+FePb10k pH8	5784,83 a $\pm 233,028$	2164,36 b $\pm 319,766$	33274,7 a $\pm 1873,93$	2362,8 bc $\pm 98,9114$
-FePb10k pH5	6402,33 a $\pm 962,218$	4306,91 a $\pm 285,399$	29898,8 a $\pm 314,442$	4754,62 a $\pm 379,237$
-FePb10k pH8	5061,54 a $\pm 431,513$	4322,37 a $\pm 366,802$	33970,9 a $\pm 2919,21$	3885,19 ab $\pm 631,614$

Tabela 31. Uticaj pH vresnosti 5,5 i 8 na akumulaciju Pb i esencijalnih mikroelemenata Zn, Mn, Fe i Cu u korenu biljaka *Ailanthus altissima* izloženih dvadesetčetvoročasovnom tretmanu olovom u koncentraciji od 10 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe), odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretman	Pb	Zn	Mn	Fe	Cu
+FePb10kpH5	159,195 a \pm 13,0867	191,212 ab \pm 15,1318	121,216 a \pm 17,592	436,002 b \pm 30,276	108,369 b \pm 44,9877
+FePb10kpH8	47,4768 b \pm 10,975	134,301 ab \pm 35,0579	102,828 ab \pm 35,5446	479,516 b \pm 82,4347	36,7313 b \pm 9,63779
-FePb10kpH5	127,598 ab \pm 35,2917	362,257 a \pm 124,478	59,8753 b \pm 9,3265	740,466 a \pm 106,74	835,658 a \pm 202,164
-FePb10kpH8	63,6544 b \pm 15,6191	89,3818 \pm 8,53197b	85,007 \pm 17,1361ab	490,373 \pm 31,1609b	533,4 a \pm 50,4524

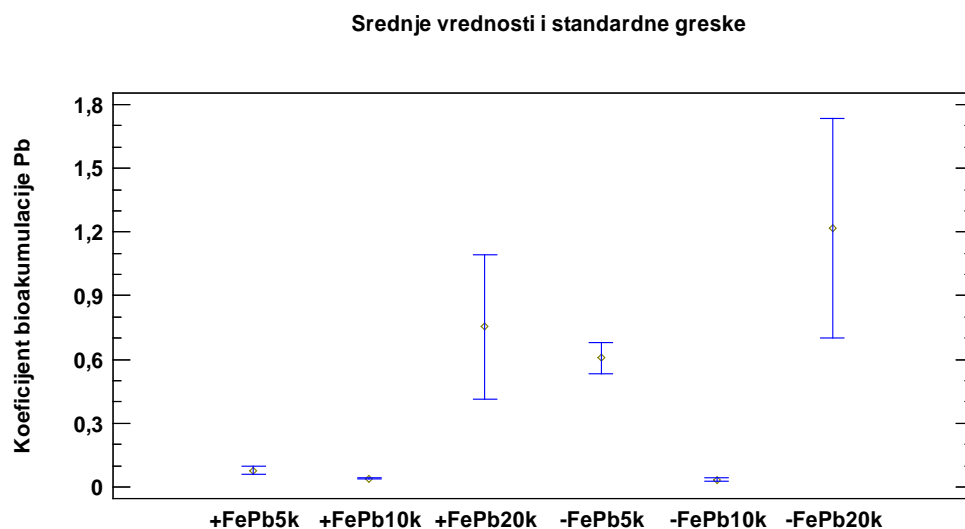


Grafikon 32. Akumulacija Pb u korenu biljaka *Ailanthus altissima* nakon dvadesetčetvoročasovne inkubacije u rastvorima koncentracije 5, 10 i 20 μmolL^{-1} Pb. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe), odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Na grafikonu su prikazane srednje vrednosti koncentracija Pb u korenu, izražene u $\mu\text{g g}^{-1}$ i standardne greške.



Grafikon 25. Akumulacija Pb u nadzemnom delu biljaka *Ailanthus altissima* nakon dvadesetčetvoročasovne inkubacije u rastvorima koncentracije 5, 10 i 20 μmolL^{-1} Pb. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe),

odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Na grafikonu su prikazane srednje vrednosti koncentracija Pb u nadzemnom delu izražene u $\mu\text{g g}^{-1}$ i standardne greške.



Grafikon 26. Koeficijent akumulacije Pb (masena koncentracija Pb u celjoj biljci/masena koncentracija Pb u rasvoru) u biljakama *Ailanthus altissima* nakon dvadesetčetvoročasovne inkubacije u rastvorima koncentracije 5, 10 i 20 μmolL^{-1} Pb. Pre tretmana biljke su bile izložene nedostatku gvožđa (-Fe) u periodu od 5 dana, odnosno optimalno obezbeđene gvožđem (+ Fe). Na grafikonu su prikazane srednje vrednosti koeficijenta akumulacije Pb u biljci i standardne greške.

4.7.2. Akumulacija olova i kadmijuma u biljkama *Ailanthus altissima* pri nedostatku gvožđa u dvonedeljnim tretmanima

U ovom potpoglavlju prikazane su koncentracije akumuliranog olova u korenu i listovima biljaka koje su u predtretmanima i tokom tretmana olovom izlagane nedostatku gvožđa (-Fe+20 μ M Pb i -Fe+50 μ M Pb), kao i biljaka koje su bile obezbeđene esencijalnim nutrijentima kako u predtretmanu, tako i u toku tretmana olovom (+Fe+20 μ M Pb i +Fe+50 μ M Pb). Ove analize su imale za cilj utvrđivanje efekta nedostatka gvožđa na akumulaciju olova u korenu i nadzemnom delu u dužem vremenskom intervalu. U prvim eksperimentima primenjeno je olovo u koncentracija od 20 μ M, a tretman je trajao 2 nedelje. Posle tretmana, određen je sadržaj Fe i Pb (Tabela 32), kao i Zn, Mn, Cu (Tabela 33). U narednim eksperimentima, primenjena je koncentracija od 50 μ M i analizirani su isti elementi (Tabela 34 i 35). Za utvrđivanje značajnosti razlika između tretmana korišćen je Kruskal-Wallis test ANOVA ($P < 0,05$).

Analiza pokazuje da je koncentracija olova u korenu značajno veća kod +Fe+20 μ M Pb biljaka u odnosu na -Fe+20 μ M Pb (Tabela 32). Takođe, količina akumuliranog olova u listovima je bila oko 2 puta veća u odnosu na (-Fe+20 μ M Pb). Ova analiza je pokazala da je tretman olovom uticao na smanjenje koncentracije gvožđa u listovima, dok u korenu nije uočen ovaj efekat (Tabela 32). U biljkama tretiranim olovom koncentracija Pb u korenu je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom gvožđa ($r^2 = 0,8806$; $y = 3,2672x + 235$; $P < 0,05$). Slično je uočeno u listovima ($r^2 = 0,7537$).

Akumulacija Zn u korenu -Fe+20 μ M biljaka je manja u odnosu na -Fe-Pb biljke. Takođe, analiza rezultata dobijenih iz ovog ogleada pokazuju da -Fe biljke akumuliraju više Zn u odnosu na kontrolne +Fe biljke. Akumulacija mangana u listovima biljaka -Fe+20 μ M Pb je značajno smanjena u odnosu na kontrolne biljke (-Fe-Pb) (Tabela 33). Interakcija deficita gvožđa i prisustva

olova u hranljivom rastvoru (-Fe+20 μ M Pb) je dovela do smanjenja akumulacije bakra u listovima i korenu u odnosu na -Fe -Pb biljke (Tabela 33).

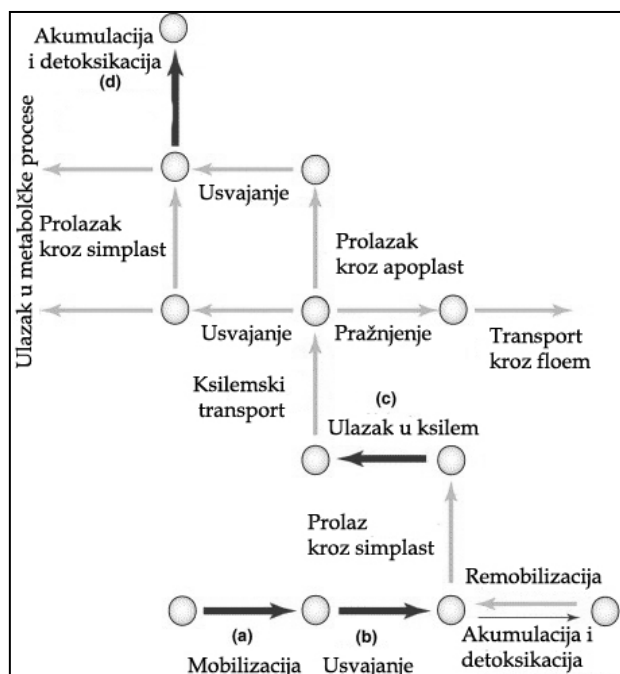
Pri koncentraciji od 50 μ M Pb, akumulacija olova u listovima -Fe+ 50 μ M Pb biljaka (58,1226 μ g/g) je bila manja u odnosu na +Fe+50 μ M Pb biljke (155,941 μ g/g), dok je akumulacija u korenu na istom nivou (Tabela 34). Ovim eksperimentima je potvrđeno da -Fe biljke akumuliraju više Zn u korenu u odnosu na +Fe biljke, kao i da interakcija deficita gvožđa i usvajanja olova dovodi do smanjenja akumulacije Zn u korenu (Tabela 35).

U tabeli 38 su prikazane koncentracije Fe i Cd u korenu i listovima biljaka *Ailanthus altissima* koje su u predtretmanima i tokom tretmana kadmijumom izlagane nedostatku gvožđa (-Fe+20 μ M Cd i +Fe+50 μ M Cd), kao i biljaka koje su bile obezbeđene esencijalnim nutrijentima kako u predtretmanu, tako i u toku tretmana kadmijumom (+Fe+20 μ M Cd i +Fe+50 μ M Cd) (Tabele 38 i 39). Veća akumulacija Cd u listovima, u odnosu na ostale tretmane, se uočava kod tretmana +Fe+50 μ M Cd. Između tretmana nisu uočene razlike u akumulaciji kadmijuma u korenu (Tabela 38). U tretmanu Fe+50 μ M Cd uočava se veća akumulacija cinka u odnosu na ostale tretmane (Tabela 39).

4.7.3. Akumulacija olova u biljkama *Acer negundo* pri nedostatku gvožđa u dvonedeljnim tretmanima

Ovde su prikazane koncentracije akumuliranog olova u u korenu i listovima biljaka *Acer negundo* koje su u predtretmanima i tokom tretmana olovom izlagane nedostatku gvožđa (-Fe+20 μ M Pb i (-Fe+50 μ M Pb), kao i biljaka koje su bile obezbeđene esencijalnim nutrijentima kako u predtretmanu , tako i u toku tretmana olovom (+Fe+20 μ M Pb i +Fe+50 μ M Pb) (Tabele 36 i 37). Kod ove vrste ne uočava se jasno uticaj nedostatka gvožđa na akumulaciju olova. Akumulacija olova u listovima se nije jasno razlikovala između tretmana (Tabela 36).

Najveća akumulacija mangana je uočena u tretmanu +Fe+20 μ M Pb, i izdvojena je u homogenoj grupi *a*. Svi ostali tretmani se nalaze u homogenoj grupi *b*, zajedno sa kontrolom (Tabela 36). Za ostale analizirane elemente, Zn, Mn i Cu nisu uočene razlike u akumulaciji između tretmana (Tabela 37).



Slika 16. Shematski prikaz kretanja metala u biljci. Modifikovano prema (Clemens, 2002).

Tabela 32. Akumulacija Pb i Fe (srednje vrednosti i standardne greške) u biljkama *Ailanthus altissima* koje su u predtretmanu izložene nedostatku Fe u trajanju od 7 dana. Tretman olovom u koncentraciji od 20 μM je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

	Fe ($\mu\text{g/g}$)		Pb ($\mu\text{g/g}$)	
	listovi	koren	listovi	koren
Predtretmani				
+Fe	92,58ab \pm 6,847	244,33a \pm 8,32	nd	nd
-Fe	44,79c \pm 12,67	84,93c \pm 16,67	nd	nd
Tretmani				
+Fe-Pb	101,188a \pm 1,0625	157,75b \pm 34,2305	1,325c \pm 0,19	0,0
-Fe-Pb	42,125c \pm 3,375	73,75c \pm 19,8755	0,8125c \pm 0,43	1,285c \pm 0,25
+Fe+20 μM Pb	64,0625bc \pm 19,3125	188,875ab \pm 11,125	56,8542a \pm 17,3	893,5a \pm 59,43
-Fe +20 μM Pb	13,0185d \pm 4,50184	62,5625c \pm 1,3125	21,5556b \pm 8,1	523,145b \pm 83,28

Tabela 33. Koncentracije Zn, Cu i Mn (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) u biljkama *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman olovom u koncentraciji od 20 μ M je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Oznake tretmana i predtretmana	Zn (μ g/g)		Mn (μ g/g)		Cu (μ g/g)	
	listovi	koren	listovi	koren	listovi	koren
Predtretmani						
+Fe	111,542b \pm 17,87	473,333cd \pm 72,06	20,5417ab \pm 2,5107	3,8125c \pm 4,1178	5,9167b \pm 0,928	24,875c \pm 4,8755
-Fe	192,417a \pm 11,24	1135,33b \pm 212,645	28,5625a \pm 3,3125	22,8701b \pm 4,1178	16,937a \pm 3,0625	110,634ab \pm 32,8949
Tretmani						
+Fe-Pb	97,4583b \pm 13,5	341,083d \pm 82,1	13,333bc \pm 4,156	28,5417b \pm 3,3621	6,0625b \pm 1,252	21,9375c \pm 3,1877
-Fe-Pb	236,87a \pm 30,63	1588,25a \pm 30,85	24,0833ab \pm 1,5433	31,1667ab \pm 3,3621	14,8958a \pm 0,583	128,104a \pm 18,6193
+Fe +20 μ M Pb	93,125b \pm 22,54	318,5d \pm 113,024	22,667ab \pm 8,0203	33,75ab \pm 3,3621	2,39583c \pm 0,8819	32,7708c \pm 8,371
-Fe +20 μ M Pb	191,181a \pm 5,6	810,792bc \pm 140,181	3,64352c \pm 0,438	39,625a \pm 3,3621	9,111b \pm 0,5897	75,6875b \pm 2,3418

Tabela 34. Koncentracije Fe i Pb (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) u biljkama *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman olovom u koncentraciji od 50 μM je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretmani	Fe ($\mu\text{g/g}$)		Pb ($\mu\text{g/g}$)	
	listovi	koren	listovi	koren
SV \pm SE				
+Fe- Pb	195,646a \pm 43,1771	101,575b \pm 14,2207	0,629167e \pm 0,134306	1,77004e \pm 0,817226
-Fe- Pb	150,214a \pm 36,7864	47,075c \pm 7,11577	5,0748d \pm 1,17323	6,175c \pm 0,792248
+Fe+50 μM Pb	157,692a \pm 17,9816	93,0167b \pm 21,8597	155,941a \pm 19,8401	2273,37ab \pm 374,3
-Fe+ 50 μM Pb	54,3211b \pm 5,73924	348,464a \pm 52,8797	58,1226b \pm 25,7308	2390,58a \pm 1250,42

Tabela 35. Koncentracije Zn, Mn i Cu (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) u biljkama *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman olovom u koncentraciji od 50 μ M je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretmani	Zn (μ g/g)		Mn (μ g/g)		Cu (μ g/g)	
	listovi	koren	listovi	koren	listovi	koren
SV \pm SE						
+Fe/-Pb	20,0625b \pm 2,75485	33,7626 \pm 2,35695	44,2083b \pm 7,77292	21,6244a \pm 4,13368	5,4125a \pm 0,763763	6,23428b \pm 0,436357
-Fe/-Pb	69,3417a \pm 18,4149	137,563a \pm 15,4202	79,8476a \pm 21,9217	12,2083b \pm 1,85884	9,4625a \pm 2,53668	40,6833a \pm 6,92708
+Fe/+Pb50	20,2252b \pm 1,744	61,254c \pm 6,51072	31,8192bc \pm 5,85952	15,5131b \pm 1,58851	5,09464a \pm 0,639556	9,14742b \pm 1,12076
-Fe/+Pb50	46,819a \pm 8,29569	89,925b \pm 6,8929	55,4845b \pm 4,08966	9,64583c \pm 0,90053	8,12455a \pm 0,333564	44,025a \pm 6,55513

Tabela 36. Koncentracije Fe i Pb (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) u biljkama *Acer negundo* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman olovom u koncentraciji od 20 i 50 μM je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretmani	Fe ($\mu\text{g/g}$)				Pb ($\mu\text{g/g}$)			
	listovi		koren		listovi		koren	
+Fe-Pb	124,863ab	$\pm 4,42806$	209,954ab	$\pm 35,5004$	1,0198b	$\pm 0,693775$	9,01869c	$\pm 7,09494$
-Fe-Pb	87,2175b	$\pm 11,9577$	69,4998bc	$\pm 16,9498$	2,5475b	$\pm 1,88611$	0,196721c	$\pm 0,0362331$
+Fe+20 μM Pb	240,254a	$\pm 120,888$	339,775a	$\pm 160,4$	57,3686a	$\pm 48,4221$	83,5906bc	$\pm 74,5281$
-Fe+20 μM Pb	66,7625b	$\pm 3,34725$	72,4125bc	$\pm 9,27711$	9,75867ab	$\pm 1,45856$	144,233b	$\pm 29,8403$
+Fe+50 μM Pb	105,306ab	$\pm 34,4256$	307,446a	$\pm 41,3622$	6,93214ab	$\pm 3,54971$	262,048a	$\pm 31,4495$
-Fe+50 μM Pb	77,1222b	$\pm 8,21421$	42,2643c	$\pm 11,082$	12,9677ab	$\pm 5,39116$	180,783ab	$\pm 32,7372$

Tabela 37. Koncentracije Zn, Mn i Cu (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) u biljkama *Acer negundo* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman olovom u koncentraciji od 20 i 50 μM je trajao 14 dana.. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretmani	Zn ($\mu\text{g/g}$)		Mn ($\mu\text{g/g}$)		Cu ($\mu\text{g/g}$)	
	listovi	koren	listovi	koren	listovi	koren
SV \pm SE						
+Fe-Pb	19,9109a \pm 7,9327	38,0388a \pm 6,039	36,6429a \pm 3,75162	18,3936b \pm 4,08364	1,98955b \pm 0,760455	3,65506a \pm 1,73131
-Fe-Pb	16,5175a \pm 2,6424	37,3579a \pm 7,321	27,9975a \pm 2,18378	6,16504b \pm 1,07903	3,1625b \pm 0,364156	9,53409a \pm 1,48808
+Fe+20 μMPb	62,4552a \pm 43,88	87,6694a \pm 58,232	39,9187a \pm 9,13624	36,4515a \pm 12,5902	6,4378a \pm 2,77859	5,66771a \pm 2,93854
-Fe+20 $\mu\text{M Pb}$	23,8742a \pm 5,1409	74,9125a \pm 21,932	37,7923a \pm 0,730346	7,73333b \pm 1,92427	4,5215ab \pm 0,481369	10,0083a \pm 2,31879
+Fe+50 $\mu\text{M Pb}$	13,2976a \pm 3,7234	43,6355a \pm 8,20355	25,2798a \pm 7,5371	11,0417b \pm 2,30787	2,94107b \pm 0,348219	6,89028a \pm 1,02574
-Fe+50 $\mu\text{M Pb}$	21,1057a \pm 0,6092	51,6082a \pm 11,5119	40,2908a \pm 3,32968	5,54108b \pm 1,28584	5,71433ab \pm 0,689158	10,6623a \pm 3,5207

Tabela 38. Koncentracije Fe i Cd (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) kod biljaka *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman kodmijumom u koncentraciji od 20 i 50 μM je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretmani	Fe ($\mu\text{g/g}$)		Cd ($\mu\text{g/g}$)	
	listovi	koren	listovi	koren
+Fe-Cd	195,646a \pm 43,1771	101,575b \pm 14,2207	0,020833c \pm 0,0150231	0,270991b \pm 0,0522
-Fe- Cd	51,4831b \pm 4,27282	46,9272c \pm 1,8064	0,108772c \pm 0,089453	0,642903b \pm 0,0591
+Fe+20 μM Cd	249,269a \pm 37,537	342,436a \pm 78,1805	217,577b \pm 71,7943	1566,13a \pm 384,081
-Fe+20 μM Cd	50,3227b \pm 3,0251	100,943b \pm 21,317	167,619b \pm 20,119	1605,01a \pm 674,514
+Fe+50 μM Cd	548,46a \pm 265,24	494,579a \pm 100,149	569,792a \pm 213,755	1109,18a \pm 417,139
-Fe+50 μM Cd	44,4794b \pm 5,01063	87,6b \pm 0,266	154,073b \pm 9,52038	1846,5a \pm 162,5

Tabela 39. Koncentracije Zn, Mn i Cu (srednje vrednosti SV i standardne greške SE) u biljkama *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa u trajanju od 7 dana i optimalno obezbeđenih nutrijentima. Tretman kadmijumom u koncentraciji od 20 μM je trajao 14 dana. Različita slova abecede pored srednjih vrednosti ukazuju na statistički značajne razlike između tretmana ($P < 0,05$).

Tretmani	Zn ($\mu\text{g/g}$)		Mn ($\mu\text{g/g}$)		Cu ($\mu\text{g/g}$)	
	listovi	koren	listovi	koren	listovi	koren
SV \pm SE						
+Fe-Cd	20,0625ab \pm 2,75485	33,7626c \pm 2,35695	44,2083ab \pm 7,77292	21,6244a \pm 4,13368	5,4125 b 0,763763	6,23428c 0,4363
-Fe- Cd	24,8414ab \pm 2,08416	38,255c \pm 6,91489	21,036b \pm 2,90495	8,28144b \pm 0,511	6,03355b 0,124017	9,01934b 1,4172
+Fe+20 μM Cd	11,3417b \pm 0,82929	65,7665b \pm 29,6905	16,7064c \pm 2,00629	9,4739b \pm 2,55172	3,1553c 0,0661058	23,7642b 6,727
-Fe+20 μM Cd	23,7409ab \pm 3,32428	60,2091b \pm 20,4986	21,5124b \pm 1,27329	16,3372a \pm 6,30598	6,39648b 0,777433	32,4514a 11,284
+Fe+50 μM Cd	50,6875a \pm 21,599	34,8562c \pm 14,6207	86,1708a \pm 75,0345	20,2667a \pm 12,8505	12,2917b 5,92384	17,925b 6,2326
-Fe+50 μM Cd	36,6553b \pm 2,48531	118,4a \pm 2,0	43,8434ab \pm 1,99963	10,5b \pm 1,0	6,78561b 0,394988	47,65a 1,5622

5. Diskusija

5.1. Uticaj olova i kadmijuma na klijanje semena, rano razviće i biomasu biljaka iz zemljišne kulture

Olovo u primenjenim koncentracijama (25, 50, 100 μM) nije uticalo značajno na procenat klijanja analiziranog semena *Ailanthus altissima*, *Acer negundo* i *Platanus x acerifolia* (Tabele 12,13 i 14). Za uzorke semena *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* uočava se povećanje indeksa klijanja i smanjenje vigor indeksa sa povećanjem koncentracije olova, dok za uzorke semena *Platanus x acerifolia* nije uočen uticaj olova na ove pokazatelje (Tabele 12, 13 i 14).

Kadmijum u koncentraciji od 100 μM je izazvao smanjenje procenta klijanja kod svih analiziranih uzoraka semena (Tabele 15, 16 i 17). U uzorcima semena *Acer negundo* i *Platanus x acerifolia* kadmijum je, u ovoj koncentraciji, doveo do smanjenja indeksa klijanja, dok je u uzorcima semena *Acer negundo* i *Ailanthus altissima* uočeno smanjenje i vigor indeksa (Tabele 15, 16 i 17).

Analiza parametara klijanja i ranog razvića klijanaca ukazuje na izraženiji toksični efekat kadmijuma. Slični rezultati su dobijeni u istraživanjima Siddiqui et al. (2012) na semenima vrste *Brassica rapa* var. *turnip* gde je, takođe, uočena veća toksičnost kadmijuma u odnosu na olovo. Aydinalp & Marinova (2009), takođe, nalaze da kadmijum ima izražen toksičan efekat pri koncentraciji od 10 ppm dok prema Wierzbicka & Obidzinska (1998) toksičnost olova zavisi od permeabilnosti semenjače za jone olova. Na osnovu pokazatelja klijanja i ranog razvića iz naših eksperimenata, najveću tolerantnost u tretmanima sa Pb i Cd su pokazali uzorci semena i klijavci *Ailanthus altissima* (Tabela 13 i 16).

Pre uspostavljanja zemljišne kulture analizirano je zemljište na lokalitetima matičnih stabala (Tabele 4,5,6 i 7). Na osnovu fizičko-hemijskim svojstava i sadržaja mikroelemenata proučavanih zemljišta može se konstatovati da su sva pretrpela određeni antropogeni uticaj koji je posebno uzražen u uzorcima sa lokaliteta *Autoput I i II* u kojima su uočene povećane

koncentracije olova i kadmijuma, ali i drugih mikroelemenata (Tabela 6). Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Sgardelis et al. (1994) i Shi et al. (2008) koji navode da je vegetacija u zoni saobraćajnica uglavnom izložena povećanim koncentracijama Pb ali i Zn, Mn, Cu i Cd kao i drugih teških metala. Povećane koncentracije teških metala mogu uticati na rano razviće biljaka i spontanu regeneraciju na ovakvim staništima. Ipak, složeni procesi u zemljištu modifikuju njihovu dostupnost. Da bi utvrdili uticaj koncentracije Pb i Cd na biomasu analiziranih biljaka u zemljišnoj kulturi bilo je potrebno obezbediti zemljište koje nije kontaminirano ovim metalima, zbog adekvatne kontrole. U tu svrhu analizirano je zemljište iz Arboretuma Šumarskog fakulteta metodom frakcione ekstrakcije. Ovaj metod ekstrakcije teških metala iz zemljišta pruža detaljnije informacije o njihovom poreklu, oblicima pojavljivanja, mobilnosti i biološkoj i fizičko-hemijskoj pristupačnosti (Tessier et al., 1979; Petrović et al., 2009). Ovi autori su postavili sistematizovan model frakcione ekstrakcije, polazeći od pretpostavke da u zemljištu postoje 5 frakcija metala. Rezultati frakcione analize zemljišta (Tabela 11) pokazuju da se u nekontaminiranom zemljištu Cd i Pb u najvećem procentu nalaze u rezidijumu, dok u izmenjive i specifično adsorbovane (frakcija II) odlazi 8,24 mg/kg olova i 237,58 µg/kg kadmijuma. U vodno-rastvorljive i razmenljivo adsorbovane (frakcija I) odlazi svega 59,23 µg/kg Cd, dok Pb nije zastupljen u ovoj frakciji. Ove koncentracije u navedenim frakcijama ne bi trebalo da imaju negativan uticaj na metabolizam biljaka te je ovo zemljište korišćeno u zemljišnoj kulturi za gajenje kontrolnih biljaka, dok je za potrebe utvrđivanja uticaja olova i kadmijuma na biomasu biljaka kontaminirano dodavanjem Cd(NO₃)₂ odnosno Pb(NO₃)₂.

Visoka produkcija biomase je jedan od najvažnijih preduslova za efikasnu primenu biljaka u remedijaciji zemljišta *in situ* (Capuana, 2011). U zemljišnoj kulturi analizirana je suva masa nadzemnog dela i korena koja je pokazala da su biljke *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* (Graf 1, 2, 5 i 6) imale neznatno smanjenje biomase u tretmanima olovom i kadmijumom dok je kontaminacija

ovim teškim metalima izazvala značajno smanjenje biomase nadzemnog dela i korena u odnosu na kontrolnu grupu biljaka *Betula pendula* i *Platanus x acerifolia* (Graf 3, 4, 7 i 8). Kod biljaka *Ailanthus altissima* pri kontaminaciji zemljišta od 20 mg/kg Cd(NO₃)₂ došlo je čak do značajnog povećanja biomase (Graf 1, 2). Kovács (1992) smatra da se *Ailanthus altissima* može smatrati bioakumulativnim indikatorom, a pored ove vrste autor navodi i *Tilia tomentosa* Moench, *Sambucus nigra* L., *Quercus robur* L. Kultivisani izdanci *A. altissima* tretirani teškim metalima pokazali su tolerantnost koja je slična onoj kod vrsta koje se već koriste u fitoremedijaciji (Gatti, 2008). Prema novijim istraživanjima uticaja teških metala na rast nekoliko drvenastih vrsta, koje se javljaju u urbanoj sredini, vrsta *Acer negundo* je ocenjena kao najtolerantnija (Zeynep & Mustafa Atmaca, 2011). Navedeni podaci su u skladu sa rezultatima naših oglada iz zemljišne kulture koji pokazuju da biljke *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* imaju najveću tolerantnost pri kontaminaciji zemljišta kadmijumom i olovom.

5.2. Eksudacija karboksilnih kiselina iz korena i ekstrakciona efikasnost

Najveće koncentracije karboksilnih kiselina u eksudatima korena biljaka iz zemljišne kulture su izmerene kod biljaka *Ailanthus altissima*, gajenih u nekontaminiranom zemljištu (Grafikoni 9 i 15). Pri kontaminaciji zemljišta olovom (17,31 mmolg⁻¹2h⁻¹) kao i kadmijumom (7,65 mmolg⁻¹2h⁻¹) koncentracija kiselina u eksudatima korena je značajno smanjena u odnosu na kontrolne biljke (80,34 mmolg⁻¹2h⁻¹). Kod biljaka *Acer negundo* nije bilo značajnih razlika u koncentraciji organskih kiselina u eksudatima korena između biljaka gajenih u kontaminiranom zemljištu i kontrolnih biljaka (Grafikon 16). Ukupna koncentracija karboksilnih kiselina u eksudatima korena kontrolnih biljaka *Acer negundo* je bila 4 puta manja u odnosu biljke *Ailanthus altissima*. Teorijska razmatranja (Jones, 1998) pokazuju da se u citosolu karboksilne kiseline nalaze u mM koncentraciji što je oko 1000 puta manje u odnosu na uobičajene vrednosti izmerene u zemljišnim rastvorima. Milimolarne koncentracije karboksilnih kiselina u eksudatima korena biljaka iz zemljišne kulture navode

na pretpostvku da se izmerene koncentracije ne mogu pripisati samo eksudaciji već, verovatno i delimičnom oštećenju korena pri ispiranju korena od ostataka zemljišta. Naime, ova oštećenja mogu da dovedu do ispiranja kiselina koje su akumulirane u korenu (Neumann & Römheld, 2006). Može se pretpostaviti da je akumulacija u korenu biljaka *Ailanthus altissima* indukovana niskom koncentracijom gvožđa u frakciji zemljišta - vodnorastvorljivi i razmenljivo adsorbovani metali (Tabela 10, 11) ili vrlo niskom koncentracijom pristupačnog fosfora (Tabela 8). Takođe, kapacitet biljke da akumulira i izlučuje karboksilate u rizosferu zavisi i od preraspodele karboksilata i ugljenih hidrata u korenu i nadzemnom delu (Neumann & Römheld, 2006). Utvrđeno je da preraspodela ugljenih hidrata u različitim organima zavisi od biljne vrste. Dok biljke *Vitis berlandieri* i *Lupinus albus* akumuliraju organske kiseline uglavnom u korenu (Brancadoro et al., 1995; Neumann & Römheld, 1999), kod pšenice i paradajza akumulacija ovih jedinjenja je dominantna u nadzemnom delu (Neumann & Römheld, 1999). Izmerene koncentracije kod biljaka *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* iz nekontaminiranog zemljišta iz našeg ogleđa ukazuju da *Ailanthus altissima* ima veći kapacitet za akumulaciju karboksilnih kiselina u korenu. Povećana pristupačnost Mn, Zn i Cu kao i Cd u rizosferi, takođe, je posledica njene acidifikacije i kompleksacije ovih metala, najčešće sa citratima, koji dolaze u rizosferu eksudacijom iz korena. Ovaj mehanizam je potvrđen i u eksperimentima u kojima je primenjena ekstrakcija ovih metala iz zemljišta dodavanjem kiselina u odgovarajućim koncentracijama koje se najčešće nalaze u eksudatima korena vrsta *Lupinus albus*, *Hakea undulata*, *Spinacea oleracea* (Dinkelaker, 1997). Mobilizacija nekih mikroelemenata (Zn, Mn, Cu, Co) i toksičnih teških metala (Cd, Pb, Al) kompleksacijom sa organskim jedinjenjima (pre svega karboksilatima) u eksudatima korena je dokumentovana u više istraživanja drugih autora (Clemens et al., 2002, Kochian et al., 2005, Ström et al., 2005). U našim eksperimentima, citratna kiselina je pokazala visoku efikasnost za ekstrakciju kadmijuma iz kontaminiranog zemljišta (Grafikoni 19 i 20), dok je oksalna kiselina imala nisku efikasnost (Grafikon 19). Na

ekstrakcionu efikasnost oksalne i citratne kiseline za olovo, u velikoj meri je uticalo ekstrakciono vreme i primenjena koncentracija (Grafikon 21). Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima autora Chena et al. (2003) i Wasay et al. (2010) koji su pokazali da citratna kiselina efikasno uklanja Cd iz kontaminiranog zemljišta dok oksalna pokazuje nisku efikasnost, posebno za Pb. Wasay et al. (2010) ukazuju da je citratna kiselina jednako efikasna za ukljanjanje teških metala kao i EDTA s tim što ne narušava strukturu zemljišta i u manjoj meri utiče na smanjenje sadržaja makronutrijenata. Mobilnost Cd u karbonatnom zemljištu kao i akumulacija i translokacija ovog veoma toksičnog teškog metala u biljci je od velikog ekološkog i toksikološkog značaja. Smatra se da je mobilizacija Cd pod uticajem acidifikacije ali i kompleksacije sa karboksilatima ili fitosideroforama. Uloga karboksilata u usvajanju i akumulaciji Cd u biljnom tkivu je veoma kontroverzna. Naime, neka istraživanja pokazuju da genotipovi, akumulatori kadmijuma, izlučuju veće količine karboksilata u rizosferu među kojima se izdvaja citratna kiselina koja može da poveća toksični efekat Cd stimulišući transport (Wasay, 2010) dok prema Gerke (1995) kompleksacija sa karboksilatima može da smanji dostupnost Cd, sa objašnjenjem da se kadmijum transportuje kroz biološku membranu samo u vidu Cd^{2+} jona.

U hidroponskoj kulturi, gde je detaljnije ispitivana eksudacija organskih kiselina iz korena, za biljke *Ailanthus altissima*, utvrđeno je višestruko povećanje koncentracije citratne kiseline kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u odnosu na kontrolne biljke (Grafikon 24). Povećana koncentracija kiselina u eksudatu korena, posebno citratne i malatne kiseline je utvrđena kod nekoliko pljoprivrednih kultura (Jones, 1998; Neumann and Römheld, 2006) kod kojih je koncentracija citratne obično bila veća od koncentracije malatne kiseline (Abadia et al., 2002). Takođe je utvrđeno da kalcikole imaju kapacitet za eksudaciju organskih kiselina u rizosferu, za razliku od kalcifugnih biljaka (Ström 1997; Ström et al., 2005). Dobijeni rezultati na biljkama *Ailanthus altissima* su uskladu sa prethodnim navodom s obzirom da ova vrsta veoma lako

kolonizuje zemljišta nastala na krečnjaku (Zheng et al., 2004). U rizosferi korena -Fe biljaka povećana koncentracija karboksilata omogućava formiranje kompleksa sa katjonima. S obzirom da katjonske konstante stabilnosti ($\log K$) za detektovane kiseline prate niz citrat>malat>sukcinat (Francis & Dodge, 1993; Timberlake, 1964; Martell and Smith 1974–1989), citrati, posledično, imaju najveći afinitet prema trivalentnim katjonima metala kao što je Fe^{3+} , odnosno to su metali koje citrati mobilišu odnosno imobilišu (Jones & Kochian, 1996; Pohlman & McColl, 1986; Pierre & Gautier-Luneau, 2000). Ovo ne podrazumeva efikasnu kompleksaciju u različitim zemljišnim rastvorima i pH vrednostima (Mench & Martin, 1991). Da bi utvrdili zavisnost između eksudacije karboksilata i usvajanja nutrijenata potrebna su i teorijska razmatranja (Cline et al. 1982). Teško je predvideti značaj detektovanih karboksilnih kiselina tj. njihovih koncentracija u kompleksaciji i precipitaciji Pb zbog prisustva različitih katjona u rastvoru. Eksperimentalni uslovi koji su ovde primenjeni (sastav hranljivog rastvora i koncentracija citratne kiseline u eksudatu korena) ukazuju da se veći deo olova nalazi u vidu $[\text{Pb}(\text{citrate})_2]^{4-}$. Koncentracije u biljnom tkivu su proporcionalne $[\text{Pb}^{2+}]$ pre nego ukupnoj koncentraciji Pb u rastvoru što pokazuje da labilni kompleksi nisu doprineli usvajanju. Takođe, pri niskim pH vrednostima olovo može biti istaloženo u vidu $\text{Pb}_2[\text{Pb}(\text{citrate})_2]^-$ (Bobtelsky & Graus, 1953). Značaj formiranja nestabilnih kompleksa u rizosferi za usvajanje metala je teško proceniti s obzirom da zavisi od fiziološkog statusa biljke i pH vrednosti apoplasta a koja se može naglo smanjiti u uslovima stresa.

Nedostatak fosfora nije indukovao povećanu eksudaciju organskih kiselina (Grafikon 24). Prisustvo olova u hranljivom rastvoru je dovelo do smanjenja koncentracije citratne, malatne, sukcinatne i fumarne kiseline u eksudatima korena biljaka optimalno obezbeđenih nutrijentima, dok je kod biljaka, prethodno izloženih nedostatku gvožđa, sadržaj organskih kiselina u eksudatima korena ostao na približno istom nivou (Grafikon 26). Ovi rezultati

ukazuju da je prethodna akumulacija karboksilata u korenu neophodna za povećanu eksudaciju.

5.3. Fe(III) reduktazna aktivnost u korenu

Prikazani rezultati ukazuju da je indukovana Fe(III) reduktazna aktivnost u intaktnim korenovima *A. altissima* povećana 18 puta u odnosu na biljke koje su bile optimalno obezbeđene gvožđem. Poznato je da je tipičan fiziološki odgovor na nedostatak gvožđa biljaka koje pripadaju tzv. Strategiji I, povećanje aktivnosti Fe(III) reduktaze koja omogućava efikasnije usvajanje gvožđa tj. tolerantnost biljaka na nedostatak gvožđa, što je dokazano na nekoliko poljoprivrednih kultura (Jelali et al., 2010). Kada su u pitanju drvenaste vrste ima veoma malo podataka i oni ne ukazuju jasno na ulogu Fe(III) reduktazne aktivnosti u toleranciji na nedostatak gvožđa. Npr. korenovi *Vitis* genotipova otpornih na Fe hlorozu pokazuju veliki kapacitet za redukciju Fe(III) helata u poređenju sa *V. riparia* koja je osetljiva na nedostatak gvožđa (Brancadoro et al., 1995; Nikolic et al., 2000). Takođe, kod vrste *Carica papaya* L. nedostatak gvožđa u trajanju od 17 dana je doveo do povećanja Fe(III) reduktazne aktivnosti u korenu (Marler et al., 2002), međutim, kod hidroponski gajenih biljaka *Quercus suber* L. nedostatak gvožđa nije imao značajan efekat na Fe(III) reduktaznu aktivnost intaktnog korenskog sistema (Gogorcena et al., 2001). Rezultati koji su ovde prikazani ukazuju da *Ailanthus altissima* pokazuje fiziološki odgovor tipičan za biljke Strategije I koje su efikasne u mobilizaciji gvožđa u rizosferi. Povećanje redukcije Fe³⁺ kod biljaka Strategije I podrazumeva i povećanje broja FRO2 transportera na membrani rizodermalnih ćelija, ali i povećanje NAD(P)H redukcionih ekvivalenata koji obezbeđuju energiju potrebnu za aktivnost enzima i koji su verovatno od veće važnosti za efikasnu mobilizaciju gvožđa iz rizosfere (Jelali et al., 2010). Indukcija Fe(III) reduktazne aktivnosti u korenu biljaka kiselog drveta u ovom eksperimentu je praćena smanjenjem biomase korena i nadzemnog dela. Takođe, došlo je do pojave karakteristične hloroze

koja se javlja na mlađim listovima usled nedostatka gvožđa. Nakon tretmana olovom i kadmijumom Fe(III) reduktazna aktivnost je ponovo određena i kod kontrolnih biljaka i ova merenja su pokazala da dugotrajna izloženost nedostatku gvožđa dovodi do smanjenja reduktazne aktivnosti što se i pretpostavljalo s obzirom da je za aktivnost enzima potrebna energetska podrška koju obezbeđuju ATP i NAD(P)H] dobijeni iz metaboličkih procesa kao što su glikoliza, pentozno fosfatni ciklus, TCA ciklus i drugi procesi povezani sa metabolizmom organskih kiselina u biljci. Indukcija ovih metaboličkih puteva podrazumeva mobilizaciju ugljenih hidrata koji se nakupljaju u organima za magacioniranje odnosno u korenu. Kod *Ailantus altissima* najveća količina ugljenih hidrata se akumulira u glavnom korenu (Dubroca & Bory 1981). Pojava hloroze u uslovima nedostatka Fe vodi ka smanjenju fotosintetičke efikasnosti, što kasnije utiče i na rastenje (Abadia et al., 1999). Smanjenje biomase nadzemnog dela i korena u predtretmanu je verovatno povezano sa ovim metaboličkim promenama u uslovima nedostatka gvožđa. Tretman olovom u koncentraciji 0.1 mg L^{-1} je značajno umanjio indukovanu aktivnost Fe(III) reduktaze u korenovima -Fe biljaka koje je pratila pojava nekroze na korenu u svim Pb tretmanima, dok rezultati Alcantara et al. (1994) pokazuju da je olovo imalo vrlo slab efekat na indukovanu Fe(III) reduktaznu aktivnost u korenu *Cucumis sativus* L. Nakupljanje Pb^{2+} na ćelijskim zidovima utiče na enzimsku aktivnost (Chang et al., 2003). Olovo kao i drugi teški metali kao što su Cd i Hg mogu da utiču na sulfhidrilne grupe i N atome u enzimima narušavajući njihovu tercijarnu strukturu i enzimsku aktivnost (Pallavi & Shanker, 2005; Lambers et al., 2008). Ovo može biti jedan od razloga smanjenja Fe(III) reduktazne aktivnosti u - Fe biljkama kiselog drveta tretiranih olovom u prikazanim eksperimentima. Povećane koncentracije olova mogu, takođe, izazvati nekontrolisane redukcionne reakcije što posledično dovodi do nakupljanja slobodnih radikala koji mogu dovesti do narušavanja strukture membrana lipidnom peroksidacijom (Lambers et al., 2008). Ovo, takođe, može biti jedan od verovatnih uzroka smanjenja Fe(III) reduktazne aktivnosti u korenu

- Fe biljaka tretiranih olovom (-Fe/+Pb). Tretman olovom je isto tako smanjio odnos koren : nadzemni deo kod - Fe biljaka (Tabela 17). Slični rezultati su dobijeni u ogledima sa šećernom repom (Larbi et al., 2002).

5.4. Uticaj olova i kadmijuma na koncentracije fotosintetičkih pigmenata i parametre indukcije fluorescencije hlorofila

Studije na većem broju biljnih vrsta su pokazale da Cd i Pb inhibiraju fotosintezu narušavanjem strukture hloroplasta, biosinteze hlorofila, karotenoida i plastohinona, destruktivnim delovanjem na pigmentproteinske komplekse, fotooksidaciju vode, enzime, usvajanje CO₂ i transport elektrona. Cd direktno zaustavlja proces fotosinteze uništavanjem tilakoidnih membrana u listovima, čime narušava osnov fotosintetske aktivnosti. Cd prouzrokuje oksidativni stres, smanjuje stomatalnu provodljivost, sadržaj pigmenata i zastupljenost hloroplasta u ćeliji. Smanjenje sadržaja pigmenata je direktno vezano za inhibiciju sinteze hlorofila i karotenoida. Vezivanjem za SH grupe u ATP-azi, Cd narušava njenu funkciju (Stikić i Jovanović, 2012).

U prikazanim eksperimentima, tretman olovom u koncentraciji od 20 i 50 µM, kod biljaka *Ailanthus altissima* koje su bile optimalno obezbeđene gvožđem nije uticao na koncentraciju hlorofila *a*, dok je pri istom tretmanu kod ovih biljaka došlo do značajnog povećanja koncentracije hlorofila *b* u odnosu na svežu masu lista (Tabela 18). Slični rezultati su dobijeni kod *Brassica pekinensis* Rupr. gde je Pb u koncentraciji od 4 mmol/kg izazvalo povećanje koncentracije hlorofila *b* (Xiong et al., 2006). Ove povećane koncentracije hlorofila *b* mogu se objasniti smanjenjem ekspanzije ćelija usled toksikacije olovom. Takođe, kod biljaka *Ailanthus altissima* je i vizuelno uočena tamnija boja listova u odnosu na kontrolne biljke. Moguće je spekulirati i o adaptivnim mehanizmima u fotosintetičkom aparatu koji dovode do povećanja sinteze hlorofila *b*, međutim, za dalju analizu trebalo bi sprovesti opsežnija istraživanja.

Kod biljaka *Acer negundo* je uočen sličan efekat, ali bez povećanja koncentracije hlorofila *b* u Pb tretmanima (Tabela 21). Kod biljaka koje su bile izložene nedostatku gvožđa u predtretmanu prisustvo olova u hranljivom rastvoru je dovelo do smanjenja koncentracije hlorofila *a* dok smanjenje koncentracije hlorofila *b* i ukupnih karotenoida nije bilo statistički značajno u odnosu na kontrolne - Fe biljke (Tabela 18). Za razliku od tretmana olovom, gde kod biljaka optimalno obezbeđenim nutrijentima olovo nije izazvalo smanjenje koncentracije hlorofila *a* u tretmanima sa kadmijumom u koncentraciji od 20 i 50 μM uočava se smanjenje hlorofila *a*, hlorofila *b* i ukupnih karotenoida (Tabela 19). Kod -Fe biljaka uočava se smanjenje količine ukupnih hlorofila i karotenoida u tretmanima sa kadmijumom u odnosu na biljke koje posle predtretmana nisu tretirane kadmijumom. Kod biljaka *Acer negundo* kadmijum u navedenim koncentracijama, takođe, utiče na smanjenje hlorofila *a*, kako kod biljaka optimalno obezbeđenih nutrijentima, tako i kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u predtretmanu (Tabela 20). Ni kod ovih biljaka olovo ne utiče dramatično na smanjenje koncentracije hlorofila *a* i *b* (Tabela 21). Zanimljivo je da se kod ovih biljaka uočava neznatno smanjenje koncentracije hlorofila *b* u odnosu na svežu masu lista kod biljaka u tretmanima olovom, što je u skladu sa rezultatima dobijenim na *Picea abies* (L.) Karst. (Vodnik, 1999) a u suprotnosti sa rezultatima Xiong-a et al. (2006).

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da povećane koncentracije kadmijuma u mnogo većoj meri utiču na smanjenje sinteze fotosintetičkih pigmenata nego olovo, što je u skladu sa literaturnim podacima koji su dobijeni u ranije objavljenim istraživanjima (Krupa & Baszynski, 1995 ; Siedlecka & Krupa, 1999; Sanita` di Toppi & Gabrielli, 1999.)

Funkcionisanje fotosintetičkog aparata *in vivo* se može proceniti praćenjem fluorescencije hlorofila u intaktnim listovima. Veza između fluorescencije hlorofila i fotohemijske aktivnosti fotosistema II se može sagledati preko parametara indukcije fluorescencije hlorofila (Schreiber et al., 1995; Arsenijević-Maksimović et al., 2002). Vreme potrebno za postizanje maksimalne

fluorescencije zavisi od efikasnosti zatvaranja reakcionih centara i od efikasnosti transporta elektrona od zatvorenih do otvorenih centara tj. zavisi od povezanosti fotosintetičkih jedinica. Razlika između F_0 i F_m predstavlja varijabilnu komponentu fluorescencije ukazuje na nefotohemijsko energetska gašenje fluorescencije, odnosno na poremećaj u radu PSII (Arsenijević - Maksimović et al., 2002). Za otkrivanje oštećenja na PSII najčešće se koristi parametar F_v/F_m . Smanjenje ovog parametra ukazuje na fotoinhibiciju. U optimalnim uslovima vrednost ovog parametra je stabilna i kreće se oko 0,8 (Bjorkman & Demmig, 1987).

Autori Marek (1988), zatim Hamerlynck (2001) i Kowarik & Saumel (2007) konstatuju visoku fotosintetsku efikasnost *Ailanthus altissima*. U našim eksperimentima parametar F_v/F_m dostiže vrednost od 0,83 kod kontrolnih biljaka, što se prema Krause & Weis (1991) smatra optimalnom vrednošću kod biljaka koje nisu izložene stresu. Kod biljaka iz tretmana sa olovom, koje su u predtretmanu obezbeđene svim esencijalnim elementima, nije došlo do značajnog uticaja na parametre indukcije fluorescencije hlorofila bez obzira na starost listova (Tabela 24 i 25). Rezultati dobijeni u eksperimentima sa biljkama *Sesbania drummondii* (Rydb.), gde je ispitivan uticaj olova u prisustvu različitih helatora na fotosintetsku aktivnost pokazuju da olovo nije imalo uticaj na fotosintezu (Ruleya, 2006). Takođe, istraživanja uticaja akumulacije olova u listovima na fotosintetičku efikasnost kod vrste *Spiraea van-houttei* (Briot) Zabel pokazuju da se vrednosti ovog parametra kreću u optimalnom opsegu (oko 0,787) (Pavlović et al., 2007). Slični rezultati su dobijeni i pri akumulaciji olova u listovima *Ligustrum ovalifolium* Hassk. (Gajić et al., 2009). Ovo je potvrđeno u eksperimentima sa *Ailanthus altissima*, koji su ovde prikazani, gde se ovaj parametar pri kontaminaciji olovom nalazi između 0,78 i 0,82 (Tabela 24 i 25). Kod -Fe biljaka kiselog drveta uočava značajno smanjenje parametra F_v/F_m , $T_{1/2}$ kao i F_0 , F_m i F_v pri kontaminaciji olovom (Tabela 25 i 24). Fotosintetička efikasnost kod -Fe biljaka, iz našeg eksperimenta, nije ispod optimalnog nivoa što je u skladu sa rezultatima Abadia et al. (1999) gde je utvrđeno da ovaj

pokazatelj aktivnosti PSII , meren posle adaptacije u mraku, ne opada kod listova sa Fe hlorozom. Biljke izložene toksikaciji olovom mogu pokazati smanjen intenzitet fotosinteze, koji je rezultat narušavanja ultrastrukture hloroplasta, smanjene sinteze hlorofila i karotenoida, prekida transpota elektrona, inhibicije aktivnosti enzima u Kalvinovom ciklusu kao i nedostatka CO₂ koji nastaje zbog zatvaranja stoma (Capuana, 2011, Lambers et al., 2008). Smanjenje parametara indukovane fluorescencije hlorofila merenih na mladim listovima biljaka *Ailanthus altissima* pokazuje da u uslovima nedostatka gvožđa, olovo dovodi do poremećaja u PSII dok kod biljaka obezbeđenih gvožđem ovaj efekat izostaje.

U tretmanima sa kadmijumom kod biljaka *Ailanthus altissima* koje su u predtretmanu izložene nedostatku gvožđa uočava se smanjenje parametra Fv/Fm sa povećanjem koncentracije kadmijuma i to na mlađim listovima (Tabela 26), što je u skladu sa rezultatima autora Siedlecka i Krupa (1999) dok u merenjima u kojima su obuhvaćeni svi listovi bez obzira na starost, nisu dobijene statistički značajne razlike (Tabela 27). Moguće objašnjenje značajnog smanjenja fotosintetičke efikasnosti mlađih listova, uvođenjem kadmijuma u hranljivi rastvor, je da Cd brže ulazi u metabolizam kod Fe deficijentnih biljaka gde zamenjuje funkciju gvožđa ali i drugih metala kao što je magnezijum, što dovodi do oštećenja fotosintetičkog aparata i poremećaja u Kalvinovom ciklusu (Siedlecka & Krupa, 1996). Ova oštećenja mogu dovesti do smanjenja apsorpcije svetlosti od strane oštećenih fotosintetičkih pigmenata što onda, posledično, dovodi do smanjenja fotosintetičke efikasnosti (Küpper et al., 1996).

5.5. Akumulacija olova i kadmijuma u biljkama

Prikazani rezultati pokazuju da biljke *Ailanthus altissima* izložene nedostatku gvožđa imaju 2 do 3 puta manju koncentraciju olova u listovima u odnosu na biljke gajene u potpunom hranljivom rastvoru (Tabele 32 i 34). Pb tretman je uticao na smanjenje koncentracije Fe u listovima -Fe i +Fe biljaka (Tabele 32 i

34). Kod biljaka *Ailanthus altissima* nisu uočene statistički značajne razlike u akumulaciji kadmijuma između biljaka optimalno obezbeđenih nutrijentima i onih koje su bile izložene nedostatku gvožđa (Tabela 30).

U uslovima optimalne obezbeđenosti gvožđem Fe^{2+} jon se transportuje preko transportnog sistema koji ima mali afinitet prema gvožđu (Marshner & Römheld, 1994), ali u uslovima nedostatka gvožđa u plazma membrani rizodermalnih ćelija dolazi do ekspresije *IRT1* gena što potvrđuje značajnu ulogu *IRT1* proteina u usvajanju Fe preko korena (Curie & Briant, 2003; Conte & Walker, 2011). Iako je *IRT1* relativno specifičan za Fe^{2+} , Zaharieva & Römheld (2000) ukazuju da metali kao što su Cd, Co, Mn i Zn mogu, takođe, biti usvojeni preko ovog transportera. Prema Cohen et al. (1998) u uslovima nedostatka gvožđa biljke akumuliraju Zn, Cd, Mn i Cu. Naši rezultati ukazuju da Fe deficientne biljke *Ailanthus altissima* akumuliraju dva do pet puta više Zn i nekoliko puta više Mn i Cu u poređenju sa akumulacijom u korenu i listovima kod kontrolnih biljaka (Tabela 33, 35). Ovi rezultati su u skladu i sa istraživanjima Connolly et al. (2006) na biljaka *Arabidopsis thaliana* koja potvrđuju da *IRT1* protein, pored gvožđa, transportuje i druge metale. Prisustvo olova, u hranljivom rasvoru bez gvožđa, je smanjilo akumulaciju dvovalentnih katjona koji, takođe, mogu biti transportovani preko specifičnog Fe^{2+} transportera, što ukazuje da postoji izražena kompeticija između Pb, Fe i ostalih dvovalentnih katjona u uslovima nedostatka gvožđa. Smanjenje akumulacije Fe, Mn, Cu i Zn kod -Fe+Pb biljaka navodi na pretpostavku da Pb blokira funkcionisanje specifičnog transportnog sistema za Fe. Autori Clemens et al. (2002) smatraju da se neregulisanom ekspresijom transportera, povećanjem eksudacije organskih kiselina i stimulacijom translokacije metala preko ksilema kao i povećanjem produkcije intracelularnih helatora može unaprediti efikasnost fitoekstrakcije primenom genetskog inženjerstva (Slika 16), međutim, ostaje da se utvrdi na koji način bi ova kve promene uticale na primarni metabolizam biljaka na kontaminiranim zemljištima.

6. Zaključci

• Olovo u primenjenim koncentracijama (25, 50, 100 μM) nije uticalo značajno na procenat klijanja analiziranog semena *Ailanthus altissima*, *Acer negundo* i *Platanus x acerifolia*. Za uzorke semena *Ailanthus altissima* i *Acer negundo* uočava se povećanje indeksa klijanja i smanjenje vigor indeksa sa povećanjem koncentracije olova, dok za uzorke semena *Platanus x acerifolia* nije uočen uticaj olova na ove pokazatelje. Kadmijum je u koncentraciji od 100 μM izazvao smanjenje procenta klijanja kod svih analiziranih uzoraka semena. U uzorcima semena *Acer negundo* i *Platanus x acerifolia* kadmijum je, u ovoj koncentraciji, doveo do smanjenja indeksa klijanja, dok je u uzorcima semena *Acer negundo* i *Ailanthus altissima* uočeno smanjenje i vigor indeksa.

• Najveće koncentracije oksalne, citratne, malatne, sukcinatne i laktatne kiseline u eksudatima korena biljaka iz zemljišne kulture su izmerene kod biljaka *Ailanthus altissima*, gajenih u nekontaminiranom zemljištu. Pri kontaminaciji zemljišta olovom ili kadmijumom koncentracija kiselina u eksudatima korena je značajno smanjena u odnosu na kontrolne biljke. Kod biljaka *Acer negundo* nije bilo značajnih razlika u koncentraciji organskih kiselina u eksudatima korena između biljaka gajenih u kontaminiranom zemljištu i kontrolnih biljaka.

• Citratna kiselina je pokazala visoku efikasnost za ekstrakciju kadmijuma iz kontaminiranog zemljišta, dok je oksalna kiselina imala nisku efikasnost. Na ekstrakcionu efikasnost oksalne i citratne kiseline za olovo, u velikoj meri je uticalo ekstrakciono vreme i primenjena koncentracija.

• U hidroponskoj kulturi, gde je detaljnije ispitivana eksudacija organskih kiselina iz korena, za biljke *Ailanthus altissima*, utvrđeno je višestruko povećanje koncentracije citratne kiseline kod biljaka izloženih nedostatku gvožđa u odnosu na kontrolne biljke. Nedostatak fosfora nije indukovao povećanu eksudaciju organskih kiselina. Prisustvo olova u hranljivom rastvoru je dovelo do smanjenja koncentracije citratne, malatne, sukcinatne i fumarne

kiseline u eksudatima korena biljaka optimalno obezbeđenih nutrijentima, dok je kod biljaka, prethodno izloženih nedostatku gvožđa, sadržaj organskih kiselina u eksudatima korena ostao na približno istom nivou.

- Fiziološki odgovori indukovani izlaganjem biljaka *Ailanthus altissima* nedostatku gvožđa, višestruko povećana Fe(III) reduktazna aktivnost korena i povećana eksudacija citratne kiseline u odnosu na kontrolne biljke, ukazuju da ova vrsta verovatno ima kapacitet za efikasnu mobilizaciju gvožđa iz rizosfere. Prisustvo olova ili kadmijuma u hranljivom rastvoru u koncentraciji od 20 μM smanjuje Fe(III) reduktaznu aktivnost korena biljaka *Ailanthus altissima* indukovanu nedostatkom gvožđa, dok kod gvoždem obezbeđenih biljaka, olovo i kadmijum nisu uticali na Fe(III) reduktaznu aktivnost korena.

- Kod biljaka *Ailanthus altissima* olovo u koncentraciji od 20 i 50 μM je dovelo do povećanja koncentracije hlorofila *b* u odnosu na kontrolne biljke dok kod biljaka *Acer negundo* nije uočeno povećanje koncentracije hlorofila *b*. U interakciji olova sa nedostatkom gvožđa, kod biljaka *Ailanthus altissima*, došlo je do smanjenja koncentracije hlorofila *a*. Kadmijum je pri koncentraciji od 50 μM doveo do smanjenja koncentracije hlorofila *a*, hlorofila *b*, ukupnih hlorofila i karotenoida, kao i odnosa hlorofila *a* i *b* kod ove vrste. Kod biljaka *Acer negundo* je uočen sličan efekat.

- Negativan uticaj kadmijuma na aktivnost fotosistema II kod biljaka *Ailanthus altissima* izloženih nedostatku gvožđa je izraženiji nego efekat olova. Kod biljaka obezbeđenih potrebnim nutrijentima negativan uticaj olova i kadmijuma na merene parametre indukcije fluorescencije hlorofila je bio manje izražen.

- U hidroponskom eksperimentalnom sistemu, gde su tretmani olovom primenjeni u dužem vremenskom intervalu, akumulacija olova u listovima biljaka *Ailanthus altissima* je bila veća u uslovima obezbeđenosti svim esencijalnim nutrijentima u odnosu na biljke izložene nedostatku gvožđa dok na akumulaciju kadmijuma predtretman nije značajno uticao. Uočeno je da

nedostatak gvožđa indukuje povećanu akumulaciju cinka. Kod biljaka *Acer negundo* nije uočen ovaj efekat.

- Prikazani rezultati ovih istraživanja, posebno interakcijski efekti ispitivanih metala, mogu imati značaja za unapređenje metoda fitoremedijacije. Dalja istraživanja treba usmeriti ka unapređenju eksperimentalnih sistema za istraživanje rizosfernih interakcija kao i ispitivanju njihovog značaja u fitoremedijaciji zemljišta urbanih i šumskih ekosistema.

7. Literatura

Abadia J., A. López-Mill, A. Rombol and A. Abadia. 2002. Organic acids and Fe deficiency: A review. *Plant and Soil*. 241: 75–86. doi:10.1023/A:1016093317898

Abadia J., F. Morales and A. Abadia. 1999. Photosystem II efficiency in low chlorophyll, iron-deficient leaves. *Plant and Soil*. 215: 183–192.

Alcantara E. F, J. Romera, M. Canete and M.D. de la Guardia. 1994. Effects of heavy metals on both induction and function of root Fe(III) reductase in Fe deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *J. Exp. Bot.* 45:1893 -1898.

Alloway B. J. 1995 Ed. Heavy metals in soils, second ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow.

Arsenijević-Maksimović I., N. M. Petrović, R. R. Kastori, L. M. Kovačev, Ž. S. Kevrešan, i P. S. Sklenar. 2002. Uticaj vodnog potencijala na parametre vodnog režima i fluorescencije hlorofila mladih biljaka šećerne repe (*Beta vulgaris*, ssp. *vulgaris*). *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* 37: 45-59.

Aydinalp C. and S. Marinova. 2009. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 15 (4) : 347-350.

Balsberg Pahlsson A. 1989. Toxicity of Heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water, Air and Soil Pollution*. 47: 287-319.

Bayçu G. 1998. Cadmium tolerance and cadmium binding polypeptides in *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. In: Tsekos I. and M. Moustakas (Eds.)

Progress in Botanical Research, Kluwer Academic Publ, Dordrecht, The Netherlands. pp. 273-276.

Bayçu G., H. Caner, B. Gönençgil and E. Eruz. 2003. Roadside pollution of cadmium and lead in Istanbul City (Turkey) and their effects on *Picea abies*. *Biologia*. 58 (1): 109-114.

Benavides M. P., S. M. Gallego and M. L. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17 (1): 21-34.

Bienfait H. F., R. J. Bino, A. M. van der Blik, J. F. Duivenvoorder and J. M. Fontaine. 1983. Characterization of ferric reducing activity in roots of Fe-deficient *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum*. 59 (2): 196-202. doi:10.1111/j.1399-3054.1983.tb00757.x

Bjorkman O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*. 17: 489-504.

Bobtelsky M. and B. Graus. 1953. Lead citrates, complexes and salts, their composition, structure and behavior. *Journal of the American Chemical Society*. 75 (17): 4172-4175. doi:10.1021/ja01113a013

Bohlar - Nordenkampf H. R., S. P. Long, N. R. Baker, G. Oquist, U. Schreiber and E. G. Lechner. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*. 3: 497-514.

Brancadoro L., G. Rabotti, A. Scienza and G. Zocchi. 1995. Mechanisms of Fe efficiency in roots of *Vitis* spp. in response to iron deficiency stress. *Plant and Soil*. 171: 229–234. doi:10.1007/BF00010276

Call L. J. and E. T. Nilsen. 2005. Analysis of interactions between the invasive tree-of-heaven (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) and the native black locust (*Robinia pseudoacacia*). *Journal of Plant Ecology*. 176 (2): 275-285.

Capelo A., C. Santos, S. Loureiro and M. A. Pedrosa. 2012. Phytotoxicity of lead on *Lactuca*: effects on growth, mineral nutrition, photosynthetic activity and oxidant metabolism. *Fresenius Environmental Bulletin*. 21 (2a): 450-459.

Capuana M. 2011. Heavy metals and woody plants - biotechnologies for phytoremediation. *Forest - Biogeosciences and Forestry*, vol. 4: 7-15.

Chang Y., M. Zouari, Y. Gogorcena, J. J. Lucena and J. Abadia. 2003. Effect of cadmium and lead on ferric chelate reductase activities in sugar beet roots. *Plant Physiology Biochemistry*. 41: 999–1005. doi:10.1016/j.plaphy.2003.07.007

Chena Y.X, Q Lina, Y.M Luob, Y.F Hea, S.J Zhena, Y.L Yua, G.M Tiana, M.H Wongc. 2003. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere* 50(6): 807-811.

Chreiber U., H. Hormann, C. Neubauer and C. Klughammer. 1995. Assessment of photosystem II photochemical quantum yield by chlorophyll fluorescence quenching analysis. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22: 209-220.

Clemens S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*. 212: 475-486.

Clemens S., M. G. Palmgren and U. Krämer. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Science*. 7 (7): 309-315.

Cline G. R., P. E. Powell, P. J. Szaniszlo and C. P. P. Raid. 1982. Comparison of the abilities of hydroxamic, synthetic and other natural organic acid to chelate iron and other ions in nutrient solution. *Soil Science Societe of America Journal*. 46: 1158-1164. doi:10.2136/sssaj1982.03615995004600060008x

Cobbett C. S. 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology*. 123: 825-832.

Connolly E.L., Fett J.P. and Guerinot M.L. 2002. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *Plant Cell*, 14: 1347-1357.

Conte S. S. and E. L. Walker. 2011. Transporters Contributing to Iron Trafficking in Plants. *Molecular Plant*. 4 (3): 464-476.

Costa G., J. C. Michaut and A. Guckert. 1997. Amino acids exuded from axenic roots of lettuce and white lupin seedlings exposed to different cadmium concentrations. *Journal of Plant Nutrition*. 20: 883-900.

Cui H. X., G. M. Jiang, S. L. Niu, C. D. Jiang, M. Liu, S. L. Yu and L. M. Gao. 2006. Ecophysiological Response of Plants to Combined Pollution from Heavy-duty Vehicles and Industrial Emissions in Higher Humidity. *Journal of Integrative Plant Biology*. 48 (12): 1391-1400.

Curie C. and J. F. Briant. 2003. Iron transport and signaling in plants. Annual Review of Plant Biology. 54: 183–206.

Cutler J. M. and D. W. Rains. 1974. Characterisation of cadmium uptake by plant tissue. Plant Physiology. 54: 67-71.

DAISIE. *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle Fact Sheet. <http://www.europe-alien.org/speciesFactsheet.do?speciesId=16970>

Dinkelaker B., C. Hengeler, G. Neumann, L. Eltrop and H. Marschner. 1997. Root exudates and mobilization of nutrients. In: Rennenberg H., W. Eschrich and H. Ziegler (Eds.) Trees - Contributions to modern tree physiology, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp. 441. doi: 10.1146/annurev.arplant.54.031902.135018

Dožić, S., M. Đukić, S. Lukić i D. Đunisijević Bojović. 2010. Rekultivacija Jalovišta Rudnika Bakra. Zbornik radova, Međunarodna konferencija: Degradirani prostori i ekoremedijacija, Beograd. 391- 400.

Dubroca E. and G. Bory. 1981. Carbohydrate and nitrogen compounds and resistance to drought in *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. (In French.) Biochemical Systematics and Ecology. 9 (4): 283–288. doi:10.1016/0305-1978(81)90009-0

Đukić M. 1999. Morfo-fiziološka svojstva drveća značajna za otpornost na aerozagađenje. Zaštita životne sredine gradova i gradskih naselja - monografija. Novi Sad. 383-388.

Đukić M., D. Đunisijević, M. Grbić i D. Skočajić. 2004. Uticaj prihranjivanja na rast jednogodišnjih sadnica smrče u različitim supstratima. Glasnik Šumarskog fakulteta 89: 103-113. DOI:10.2298/GSF0489103D

Đukić M. 2006. Fiziologija biljaka (skripta). Šumarski fakultet. Beograd.

Ebbs S., I. Lau, B. Ahner and L. Kochian. 2002. Phytochelatin synthesis is not responsible for Cd tolerance in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescences* (J. & C. Presl) Planta. 214: 635–640.

Farooqi Z. R., Iqbal M. Z., Kabir, M., & Shafiq, M. (2009). Toxic effects of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Albizia lebbeck* (L.) Benth. Pak. J. Bot. 41(1): 27-33.

Fodor F., E. Cseh, A. Varga and G. Záray. 1998. Lead uptake, distribution, and remobilization in cucumber. Journal of Plant Nutrition. 21 (7): 1363–1373. doi:10.1080/01904169809365489

Foster J. R. 1992. Photosynthesis and water relations of the floodplain tree, boxelder (*Acer negundo* L.). Tree Physiology. 11: 133–149.

Foster J.R. 1992. Photosynthesis and water relations of the floodplain tree, boxelder (*Acer negundo* L.). Tree Physiol. 11: 133–149.

Fowells, H.A. (1965): Platanus. In Sivities of forest trees of the USA. USDA For. Serv. Agr. 271-280.

Francis A. J. and C. J. Dodge. 1993. Influence of complex structure on the biodegradation of iron-citrate complexes. Applied and Environmental Microbiology. 59: 109–113.

Friedman J. M. and G. T. Auble. 1999. Mortality of riparian box elder from sediment mobilization and extended inundation. *Regulated rivers: research and Management*. 15 (5): 463-476.

Gajić G., M. Mitrović, P. Pavlović, B. Stevanović, L. Djurdjević and O. Kostić. 2009. An assessment of the tolerance of *Ligustrum ovalifolium* Hassk. to traffic-generated Pb using physiological and biochemical markers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72: 1090-1101.

Gatti E. 2008. Micropropagation of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle and in vitro heavy metal tolerance. *Biologia Plantarum*. 52: 146-148.

Gerke J. 1995. Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Cuvillier Verlag, Göttingen. Germany.

Godbold D. L. and C. Kettner. 1991. Lead influences root growth and mineral nutrition of *Picea abies* seedlings. *Journal of Plant Physiology*. 139: 95-99.

Gogorcena Y., N. Molias, A. Larbi, J. Abadía and A. Abadía. 2001. Characterization of the responses of cork oak (*Quercus suber*) to iron deficiency. *Tree Physiology*. 21 (18): 1335-1340. doi:10.1093/treephys/21.18.1335

Grbić M., M. Đukić, D. Skočajič and D. Đunisijević Bojović. 2007. Role of invasive plant species in landscape of Serbia. *Proceedings of 18th International Annual ECLAS Conference*. Belgrade. 219-228.

Hamerlynck E. P. 2001. Chlorophyll fluorescence and photosynthetic gasexchange responses to irradiance of tree of heaven (*Ailanthus altissima*) in contrasting urban environments. *Photosynthetica*. 39: 79-86. doi:10.1023/A:1012448019931

Hamm R. E., C. M. Shull, Jr. and D. M. Grant. 1954. Citrate complexes with iron(II) and iron(III). *Journal of the American Chemical Society*. 76: 2111-2114. doi:10.1021/ja01637a021

Heisey R. M. 1990. Evidence for allelopathy by tree-of-heaven. *Journal of Chemical Ecology*. 16 (6): 2039-2055.

Ivanov R., T. Brumbarova and P. Bauer. 2012. Fitting into the Harsh Reality: Regulation of Iron-deficiency Responses in Dicotyledonous Plants. *Molecular Plant*. 5 (1): 27-42.

Jelali N., M. S. Wissal, M. Dell'orto, C. Abdelly, M. Gharsalli and G. Zocchi. 2010. Changes of metabolic responses to direct and induced Fe deficiency of two *Pisum sativum* cultivars. *Environmental and Experimental Botany*. 68: 238-246. doi:10.1016/j.envexpbot.2009.12.003

Jones D. L. 1998. Organic acids in the rhizosphere: A critical review. *Plant Soil*. 205: 25-44. doi:10.1023/A:1004356007312

Jones D. L. and L. V. Kochian. 1996. Aluminum-organic acid interactions in acid soils: I. Effect of root-derived organic acids in the kinetics of Al dissolution. *Plant and Soil*. 182: 221-228.

Judy B. M., W. R. Lower, C. D. Miles, M. W. Thomas and G. F. Krause. 1990. Chlorophyll fluorescence of a higher plant as an assay for toxicity assessment of soil and water. In: Wang W., J. W. Gorsuch and W. R. Lower. (Eds.) *Plants for toxicity assessment*. American Society for Testing and Materials (ASTM STP 1091), Philadelphia, USA. pp. 308-318.

Kahle H. 1993. Response of roots of trees to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*. 33: 99-119.

Kastori R., I. Kadar, R. Sekulić, D. Bogdanović, N. Milošević i M. Pucarević. 2006. Uzorkovanje zemljišta i biljaka nezagađenih i zagađenih staništa. Novi Sad. ISBN 86-80417-13-0

Kaymakanova M. 2009. Effect of salinity on germination and seed physiology in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biotechnol. & Biotechnol. eq.* 326-329.

Kim Y. Y., Y. Y. Yang and Y. Lee. 2002. Pb and Cd uptake in rice roots. *Physiologia Plantarum*. 116: 368–372. doi:10.1034/j.1399-3054.2002.1160312.x

Kochian L. V., M. A. Pineros and O. A. Owen Hoekenga. 2005. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum tolerance and toxicity. *Plant and Soil*. 274: 175-195.

Kovács M. 1992. Trees as biological indicators, In Kovács M. (ed.), *Biological indicators in environmental protection*, Ellis Horwood, New York.

Kowarik I. and I. Saumel. 2007. Biological flora of central Europe: *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 8 (4): 207–237. doi:10.1016/j.ppees.2007.03.002

Krause H. M. and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology*. 42: 313-349.

Krupa Z. and T. Baszynski. 1995. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus-direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiologiae Plantarum*. 17: 177-190.

Kuhns M. and L. Rupp. 2000. *Selecting and Planting Landscape Trees*. Utah State University extension. pp. 19.

Küpper H., F. Küpper and M. Spiller. 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants *Journal of Experimental Botany*. 47 (2): 259-266.

Lambers H. and D. Colmer Timothy. 2005. Root physiology – from gene to function. *Plant and Soil*. 274: 7-15.

Lambers H., F. S. Chapin and T. L. Pons. 2008. *Plant physiological ecology*, 2nd ed. Springer Science, New York.

Landenberger R. E., T. A. Warner and J. B. McGraw. 2009. Spatial patterns of female *Ailanthus altissima* across an urban-to-rural land use gradient. *Urban Ecosystems*. 12: 437-448. DOI 10.1007/s11252-009-0087-x

Larbi A., F. Morales, A. Abadía, Y. Gogorcena, J. J. Lucena and J. Abadía. 2002. Effects of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: Induced Fe deficiency and growth inhibition. *Functional Plant Biology*. 29: 1453-1464. doi:10.1071/FP0209

Lawrence J. G., A. Colwell and O. J. Sexton. 1991. The ecological impact of allelopathy in *Ailanthus altissima* (*Simaroubaceae*). *American Journal of Botany* 78 (7): 948-958.

Loescher W.H., McCarmant T., Keller J.D. 1990. Carbohydrate reserves, translocation, and storage of woody plant roots. Hort. Science 25: 274–281.

Mandić V., Z. Tomić, V. Krnjaja, Z. Bijelić, M. Žujović, A. Simić i S. Prodanović. 2011. Uticaj stresa usled promene pH na klijanje i porast klijavaca crvene deteline. Biotechnology in Animal Husbandry 27 (3): 1295-1303.

Marek M. 1988. Photosynthetic characteristics of *Ailanthus* leaves. Photosynthetica 22 (2): 179–183.

Marković S. M., V. D. Pavlović, M. S. Tošić, P. V. Stankov-Jovanović, N. S. Krstić, S. M. Stamenković, Lj. T. Mitrović and V. LJ. Marković. 2012. Chloroplast pigments in post-fire-grown cryptophytes on Vidlič Mountain (Southeastern Serbia). Archives of Biological Science Belgrade. 64 (2): 531-538.

Marler T. E., R. Cruz and A. L. Blas. 2002. Iron deficiency changes in iron reductase activity in papaya roots. Journal of American Society for Horticultural Science. 127: 184–187.

Marshner H. and V. Römheld. 1994. Strategies of plants acquisition of iron. Plant and Soil. 165: 375–388.

Martell A. E. and R. M. Smith. 1974–1989. In: Critical stability constants. Vol. 6. Plenum Press, New York.

Matić-Besarabić S. 2007. The Soil – Examination of Soil Pollution in the Territory of Belgrade in 2006. In: Environment in the City of Belgrade, editorial board Grubačević M. and S. Matić-Besarabić. The Regional Environmental Center for

Central and Eastern Europe, Institute for Public Health, Secretariat for Environmental Protection. Belgrade. 30-31.

Mędrzycki P. 2007. NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – *Acer negundo* L.. – From: Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species– NOBANIS www.nobanis.org. Date of access 01.02.2010.

Meharg A. A. 1994. Integrated tolerance mechanisms: constitutive and adaptive plant responses to elevated metal concentrations in the environment. *Plant, Cell and Environment*. 17: 989–993.

Meharg A. M. 2005. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions and potential biotechnological applications. *Plant and Soil*. 274: 163–174.

Mench M. and E. Martin. 1991. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. And *Nicotiana rustica* L. *Plant and Soil*. 132: 187–196.

Mertens J., L. Van Nevel, A. De Schrijver, F. Piesschaert, A. Oosterbaan, F. Tack and K. Verheyen. 2007. Tree species effect on the redistribution of soil metals. *Environmental Pollution*. 149: 173 -181.

Meyers Donald E. R., G. J. Auchterlonie, R. I. Webb and B. Wood. 2008. Uptake and localisation of lead in the root system of *Brassica juncea*. *Environmental Pollution*. 153: 323-332.

Moraghan J. T. 1979. Manganese toxicity in flax growing on certain calcareous soils low in available iron. *Soil Science Society of America Journal*. 43(6): 1177-1180.

Nestorović M. Lj. i G. Jovanović. 2003. Kiselo drvo (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) - korov urbane sredine: *Acta agriculturae Serbica*. 8 (16): 57-64.

Nešković M., R. Konjević i Lj. Čulafić. 2003. *Fiziologija biljaka*. NNN International. Beograd.

Neumann G. and V. Römheld. 2006. The release of root exudates as affected by the plant physiological status. In: Pinto R., Z. Varanini and Z. Nannipieri (Eds.) *The rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 1-79.

Neumann G., and V. Römheld. 1999. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant Soil* 211: 121-130.

Nikolic M., V. Römheld and N. Merkt. 2000. Effect of bicarbonate on uptake and translocation of ⁵⁹Fe in two grapevine rootstocks differing in their resistance to Fe deficiency chlorosis. *Vitis* 39 (4): 145-149.

Nobel P. S. 1991. *Physicochemical and environmental plant physiology*. Academic Press. London.

Pajić D. 2005. Ispitivanje zagađenosti zemljišta na teritoriji Beograda. U: *Kvalitet životne sredine grada Beograda u 2004. godini*. Urednici: Mijić R. i A. Popović. Regionalni centar za životnu sredinu i Sekretarijat za zaštitu životne sredine. Beograd. 93-99.

Pan E. and N. Bassuk. 1986. Establishment and distribution of *Ailanthus altissima* in the urban environment. *Journal of Environmental Horticulture*. 4: 11-414.

Pavlović P., M. Mitrović, L. Djurdjević, G. Gajić, O. Kostić and S. Bojović. 2007. Ecological potential of *Spiraea van-houttei* (Briot) Zabel for urban (Belgrade city) and fly ash deposit (Obrenovac) landscaping in Serbia. *Polish Journal of Environmental Studies* 16: 427-431.

Petrović Dj., M. Todorovic, D. Manojlovic and V. D. Krsmanovic. 2009. Speciations of Trace Metals in the Accumulation Bogovina on the Crni Timok River. *Polish Journal of Environmental Studies*. 18:873-884. ISSN 1230-1485

Pierre J. L. and I. Gautier-Luneau. 2000. Iron and citric acid: A fuzzy chemistry of ubiquitous biological relevance. *BioMetals* 13: 91-96. doi:10.1023/A:1009225701332

Pohlman A. A. and J. G. McColl. 1986. Kinetics of metal dissolution from forest soils by soluble organic acids. *Journal of Environmental Quality*. 15: 86-92. doi:10.2134/jeq1986.00472425001500010020x

Powels S. B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light, *Annual Review of Plant Physiology*. 35: 15-44.

Rodecap K., D. Tingey and H. Lee. 1994. Iron nutrition influence on cadmium accumulation by *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Journal of Environmental Quality*. 23: 239-246. doi:10.2134/jeq1994.00472425002300020004x

Römer W., R. Patzke and J. Gerke. 1998. Die Kupferaufnahme von Rotklee und Weidelgras aus Cu-Nitrat-, Huminstoff-Cu- und Cu-Citrat-Lösungen. In: Merbach W. (Ed.) Pflanzenernährung Wurzeleistung und Exsudation. 8. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes. B.G. Teubner Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Leipzig. pp. 137.

Römheld V. and M. Nikolic. 2007. Iron. In: Barker A. V. and D. J. Pilbeam (Eds) Handbook of plant nutrition. CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL. 329-350.

Ruleya A. T., N. C. Sharma, S. V. Sahia, S. R. Singh, K. S. Sajwan. 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. Environmental Pollution 144 (1). 11-18.

Sanita` di Toppi L. and R. Gabbrielli. 1999. Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.

Sarret G., P. Saumitou-Laprade, V. Bert, O. Proux, J. L. Hazemann, A. S. Traverse, M. A. Marcus and A. Manceau. 2002. Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. Plant Physiology. 130: 1815-1826.

Schat H., M. Llugany, R. Vooijs, J. Hartley-Whitaker and P. M. Bleeker. 2002. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. Journal of Experimental Botany. 53: 2381-2392.

Schmidt W. 1999. Mechanism and regulation of reduction-based iron uptake in plants. New Phytologist. 141: 1-26. doi:10.1046/j.1469-8137.1999.00331.x

Schreiber U., H. Hormann, C. Neubauer, C. Klughammer. 1995. Assessment of photosystem II photochemical quantum yield by chlorophyll fluorescence quenching analysis. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22: 209-220.

Sgardelis S., S. M. Cook, J. D. Pantis and T. Lanaras. 1994. Comparison of chlorophyll fluorescence and some heavy metal concentrations in *Sonchus* spp. and *Taraxacum* spp. along an urban pollution gradient. *Science of the Total Environment* 158: 157-164.

Sharma P., S. R. Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* vol.17 (1): 35-39.

Shi G.T., Z. L. Chen, S. Y. Xu, J. Zhang, L. Wang, C. J. Bi and J. Y. Teng. 2008. Potentially toxic metal contamination of urban soils and roadside dust in Shanghai, China. *Environmental Pollution*. 156 (2): 251-260. doi:10.1016/j.envpol.2008.02.027

Siddiqui M. M., Abbasi B.H., Ahmad N., Ali M., Mahmood T. 2012. Toxic effects of heavy metals (Cd, Cr and Pb) on seed germination and growth and DPPH-scavenging activity in *Brassica rapa* var. *turnip*. *Toxicol Ind Health*. doi: 10.1177/0748233712452605

Siedlecka A. 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 64 (3): 265-272.

Siedlecka A. and Z. Krupa. 1999. Cd/Fe interaction in higher plants: Its consequences for the photosynthetic apparatus. *Photosynthetica*. 36: 321-331. doi:10.1023/A:1007097518297

Stikić R. i Jovanović Z. 2012. Fiziologija stresa biljaka. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu. Beograd.

Stilinović S. 1987. Proizvodnja sadnog materijala šumskog i ukrasnog drveća i žbunja. Šumarski fakultet. Beograd.

Ström L. 1997. Root exudation of organic acids: Importance to nutrient availability and the calcifuge and calcicole behaviour of plants. *Oikos*. 80: 459–466. doi:10.2307/3546618

Ström, L., A. G. Owen, D. L. Godbold and D. L. Jones. 2005. Organic acid behavior in a calcareous soil implication for rhizosphere nutrient cycling. *Soil Biology and Biochemistry*. 37: 2046–2054. doi:10.1016/j.soilbio.2005.03.009

Sudahono, D. H. B. and R. E. Rouse. 1994. Greenhouse Screening of citrus rootstock for tolerance to bicarbonate-induced iron chlorosis. *Horticultural Science* 29 (2): 113–116.

Tessier A., P. G. C. Campbell and M. Bisson. 1979. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *Analytical Chemistry*. 51: 844 - 851.

Timberlake C. F. 1964. Iron-malate and iron-citrate complexes. *Journal of the Chemical Society*. 5078–5085. doi:10.1039/jr9640005078

Trifilo P., F. Raimondo, A. Nardini, M. A. Lo Gullo and S. Salleo. 2004. Drought resistance of *Ailanthus altissima*: root hydraulics and water relations. *Tree Physiology*. 24: 107-114.

Triverdi S. and L. Erdei. 1992. Effect of cadmium and lead on the accumulation of Ca²⁺ and K⁺ and on the influx and translocation of K⁺ in wheat of low and high K⁺ status. *Physiologia Plantarum*. 84: 94-100.

Vassil A. D., Y. Kapulnik, I. Raskin and D. E. Salt. 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiology*. 117: 447-453.

Veneklaas E. J., J. Stevens, G. R. Cawthray, S. Turner, A. M. Grigg and H. Lambers. 2003. Chickpea and white lupin rhizosphere carboxylates vary with soil properties and enhance phosphorus uptake. *Plant and Soil* 248: 187-197.

Vodnik D., G.Jentschke, E. Fritz, N. Gogala, D.L. Godbold. 1999. Root-applied cytokinin reduces lead uptake and affects its distribution in Norway spruce seedlings. *Physiol. Plant*. 106: 75-81.

Vujković Lj., M. Nećak i D. Vujičić. 2003. Tehnika pejzažnog projektovanja. Šumarski fakultet. Beograd.

Vukićević, E. 1974. Dekorativna dendrologija. Šumarski fakultet, Beograd

Wagner G. J. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy*. 51: 173-212.

Wasay S. A., S. F. Barrington & S. Tokunaga 2010. Remediation of Soils Polluted by Heavy Metals using Salts of Organic Acids and Chelating Agents. *Environmental Technology*. 19(4): 369-379.

Wettstein D. 1957. Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Experimental Cell Research*. 12: 427-434.

Wierzbicka M. and J. Obidzinska. 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant Science*. 137 (2): 155-171.

Xiong Z. T, F. Zhao, Li. M. 2006. Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: Effect on nitrate assimilation and growth. *Environmental Toxicology*. 21 (2): 147-153.

Yang Z. and C. Chu. 2011. Towards Understanding Plant Response to Heavy Metal Stress, Abiotic Stress. In: Shanker A. and B. Venkateswarlu (Eds.) *Plants - Mechanisms and Adaptations*. ISBN: 978-953-307-394-1, InTech, DOI: 10.5772/24204.

Ye Z. H., Baker A. J. M., Wong M. H. and Willis A. J. 1997. Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by *Typha latifolia*. *New Phytologist*, 136: 469-480. doi: 10.1046/j.1469-8137.1997.00759.x

Zaharieva T. and V. Römheld. 2000. Specific Fe²⁺ uptake system in strategy I plants inducible under Fe deficiency. *Journal of Plant Nutrition*. 23 (11 & 12): 1733- 1744. doi:10.1080/01904160009382137

Zheng H., Y. Wu, J. Ding, D. Binion, W. Fu and R. Reardon. 2004. Invasive plants of Asian origin established in the United States and their natural enemies. USDA Forest Service. Vol. 1. <http://www.fs.fed.us/foresthealth/technology/pdfs/IPAOv1ed2.pdf>.

1966. Jugoslovensko društvo za proučavanje zemljišta (JDPZ) . Hemijske metode ispitivanja zemljišta (knjiga I). Priručnik za ispitivanje zemljišta. Beograd.

1985. International rules for Seed Testing. International Seed Testing Association.

1997. Jugoslovensko društvo za proučavanje zemljišta (JDPZ). Metode istraživanja i određivanja fizičkih svojstava zemljišta. Priručnik za ispitivanje zemljišta. Novi Sad.

2002. Ekološki atlas Beograda. Gradski zavod za zaštitu zdravlja. Beograd.

2007. Halting the loss of biodiversity by 2010: Proposal for a first set of indicators to monitor progress in Europe. EEA. Copenhagen.

2010. Uredba o programu sistemskog praćenja kvaliteta zemljišta, indikatorima za ocenu rizika od degradacije zemljišta i metodologiji za izradu remedijacionih programa. Sl. glasnik RS. br. 88.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а мр Данијела Ђунисијевић Бојовић

број уписа: школска 2008/09. докторанд - истраживач

Изјављујем

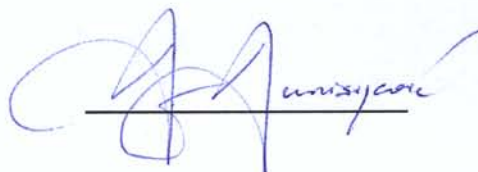
да је докторска дисертација под насловом

“Утицај концентрације олова и кадмијума у земљишту на развој дрвенастих биљака”

- 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.

Потпис докторанда

У Београду, 24.05.2013.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Данијела Ђунисијевић Бојовић

Број уписа школска 2008/09. докторанд – истраживач

Студијски програм Пејзажна архитектура и хортикултура

Наслов рада “Утицај концентрације олова и кадмијума у земљишту на
развој дрвенстих биљака”

Ментор

др Матилда Ђукић, редовни професор Универзитета у Београду – Шумарског
факултета

Потписана мр Данијела Ђунисијевић Бојовић

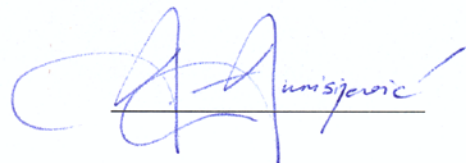
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

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.

Потпис докторанда

У Београду, 24.05.2013.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

“Утицај концентрације олова и кадмијума у земљишту на развој дрвенастих биљака”

која је моје ауторско дело.

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

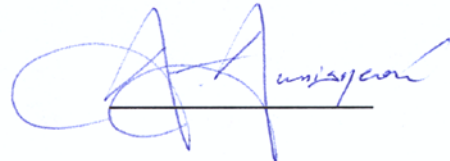
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

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, 24.05.2013.

Потпис докторанда



Biografija

Danijela Đunisijević Bojović je rođena 29. 06. 1975. u Bajinoj Bašti, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Studijski program Pejzažna arhitektura, Šumarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1994/95. U februaru 2001. godine je završila diplomatske studije i iste godine je upisala magistarske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Magistarski rad pod naslovom "Efekat različitih regulatora rasteinja i stratifikacije na klijanje semena javora (*Acer pseudoplatanus* L.)" je odbranila 2005. godine i time stekla zvanje magistra.

Radno angažovanje:

Od 2001 do 2005. – asistent pripravnik, Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Od 2005 do 2010. – asistent, Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Od 2010 – asistent, Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Usavršavanje: Univerzitet za biotehničke nauke u Beču (BOKU), Odsek za integrativnu biologiju i Centar za zaštitu životne sredine. Boravak od 3. oktobra do 3. novembra 2004. je finansiran od strane Austrijskog servisa za akademsku razmenu (ÖAD).

Do sada je kao istraživač učestvovala u 5 istraživačkih projekata Ministarstva za nauku Republike Srbije u oblasti Biotehnike, Zaštite životne sredine i Interdisciplinarnih istraživanja. Objavila je 34 naučna rada, od kojih 3 u međunarodnim časopisima sa SCI liste.