

REAKCIJA OZIMIH I JARIH SORTI ULJANE REPICE NA POVEĆANE KONCENTRACIJE Cd

Sažetak

Ispitivana je reakcija šest komercijalnih sorti uljane repice (*Brassica napus L.*) na povećane koncentracije Cd u *in vitro* uvjetima. Sjeme sorti je sterilizirano i postavljeno na modificiranu MS podlogu (Murashige i Skoog, 1962.) u koju su dodane različite koncentracije Cd. Biljke su uzgajane na temperaturi od 21 °C i fotoperiodu 16:8 (svijetlo:mrak). Praćen je razvoj biljaka tijekom dva tjedna kulture. Nakon dva tjedna mjerena je svježja i suha masa korijena i nadzemnog dijela. Kod svih ispitivanih genotipova došlo je do smanjenja mase korijena i nadzemnog dijela u odnosu na kontrolu, odnosno biljke uzgajane na MS podlozi bez Cd.

Ključne riječi: uljana repica, kadmij, fitoremedijacija.

Uvod

Prema Johnu (1973.) biljne vrste pokazuju velike razlike u akumulaciji i toleranciji prema teškim metalima. Teški metali iz različitih poljoprivrednih i industrijskih aktivnosti, koji završavaju u zemljištu, posredstvom biljaka koje ih usvajaju postaju opasnost za zdravstvenu sigurnost hrane. Pored potencijalnog rizika za zdravlje ljudi, utvrđeno je da teški metali zbog toksičnog djelovanja, posebno u većim koncentracijama, dovode do smanjenja prinosa uzgajanih biljaka (Kahle, 1993.).

Kadmij (Cd), koji pripada grupi teških metala, važan je jer je u zemljištu relativno mobilan i jedan je od najtoksičnijih, a često se i akumulira u biljkama koje se koriste za ishranu stoke i prehranu ljudi. Ispitivanja Dasa i sur. (1997.) pokazala su da su glavni izvori kadmija u zemljištu fosforna gnojiva, kao i ispušni plinovi industrije i automobila. Kadmij pripada grupi neesencijalnih teških metala koji u većim koncentracijama imaju vrlo toksično djelovanje na biljke. Ispitivanja Kahlea (1993.), Satyakala (1997.) i Toppija i sur. (1999.) pokazala su da kadmij u većim koncentracijama dovodi do inhibicije rasta korijena i izdanka, smanjenja fotosinteze, važnih promjena u sadržaju fenola i aktivnosti enzima, redukcije klorofila, sadržaja šećera i proteina, utječe na homeostazu i preuzimanje hranjivih tvari djelovanjem na permeabilnost plazma membrane, a na kraju dovodi i do smrti biljke. U takvim se uvjetima biljka mora prilagoditi kontaminiranoj

¹ dr. Dragana Miladinović¹, dr. Ana Marjanović-Jeromela¹, dr. Radovan Marinković¹, dr. Vladimir Miklič¹ - ¹Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

² Jasna Abraham, dipl. molekularni biolog - **Biološki fakultet, Novi Sad**

okolini. Neki od glavnih mehanizama tolerancije na kadmij su akumulacija, sekvestracija, sinteza Cd-vezujućih kompleksa (fitohelatini) i njihova stabilizacija sa sulfidnim ionima, aktivacija proteina toplotnog stresa i dr.

Kod netolerantnih biljnih vrsta teški metali utječu na različite aktivnosti biljnih stanica, a iako visoke koncentracije teških metala djeluju štetno na sve biljke, neke biljne vrste su tolerantnije prema nižim koncentracijama tih metala. Veći broj autora (Florijn i sur., 1993.; Hinsley i sur., 1978.; Foy, 1995.) utvrdio je da određeni genotipovi jedne vrste reagiraju različito na prisustvo teških metala u zemljištu. Te razlike u genotipovima omogućuju nastanak varijeteta i hibrida s povećanom tolerancijom na metale, kao i manju akumulaciju teških metala, a samim tim i smanjenje ulaska istih u lanac ishrane.

Uljana repica (*Brassica napus* L.) je važna vrsta, prije svega u ishrani stoke, proizvodnji jestivog ulja, ali sve više i u proizvodnji biodizela (Marjanović-Jeromela i sur., 2008.). Izuzetno velika važnost te vrste zahtijeva testiranje i izdvajanje genotipova otpornih na određene vidove stresa, a pogotovo na sve aktualnije povećanje koncentracije teških metala u zemljištu. Takav vid zagađenja zemljišta zahtijeva razvoj sustava koji mogu ukloniti ili neutralizirati toksično djelovanje teških metala. Fitoremedijacija i fitoekstrakcija je upotreba biljaka upravo u te svrhe, jer biljke imaju adaptivne i konstitutivne mehanizme za uklanjanje, toleranciju ili akumulaciju velike koncentracije metala. Prema Kosu i sur. (2003.) korištenje uljane repice za fitoekstrakciju teških metala pridonijelo bi povećanju produktivnog nivoa zagađenih zemljišta, a istovremeno bi smanjilo troškove uklanjanja istih. Ono što čini uljanu repicu jako pogodnom za fitoekstrakciju je njena tolerancija na veće koncentracije teških metala, koje ne dovode do značajnijeg smanjenja proizvodnje biomase, što je pokazano u radu Machiola i sur. (2004.). Cobbett (2000.) objašnjava toleranciju uljane repice prema kadmiju sintezom netoksičnih kompleksa kadmij-fitohelatina, kao odgovor na povećane koncentracije kadmija.

Budući da tolerancija biljaka prema određenom stresu ima genetičku osnovu, cilj ovog rada bio je ispitati otpornosti šest genotipova uljane repice na različite koncentracije Cd u *in vitro* uvjetima. *In vitro* uvjeti omogućuju znatno brže izdvajanje i utvrđivanje razlika između genotipova u njihovoj reakciji na prisustvo kadmija. Mjerena je suha i svježna masa nadzemnog dijela i korijena uljane repice u cilju usporedbe utjecaja Cd pojedinačno na oba dijela biljke.

Materijal i metode

Šest komercijalnih sorti uljane repice korišteno je kao materijal za ispitivanje tolerancije na četiri različite koncentracije kadmija u MS podlozi. Genotipovi koji su korišteni u tom istraživanju su: Jovana, Mira, Global (jare sorte), Banačanka, Slavica i Kata (ozime sorte). Korištena je nemodificirana MS podloga kao kontrola (Murashige i Skoog, 1962.; koja uključuje mineralne komponente, 3 % saharozu, 0.6 % agar, pH 5.8) i modificirane MS podloge u koje je dodan Cd u obliku $CdCl_2 \cdot xH_2O$ u koncentracijama od 5, 10, 400 i 600 μM . Eksperiment je postavljen u tri ponavljanja.

Sjeme uljane repice najprije je sterilizirano u 70 % etanolu 3 minute i u 3.1 % NaOCl 15 minuta i zatim je isprano tri puta sterilnom vodom. Nakon toga je postavljano na MS podlogu s određenom koncentracijom Cd - 0, 5, 10, 400 i 600 μM .

Svježa i suha masa korijena i nadzemnog dijela mjerena je poslije dvotjednog uzgoja na 21 °C, s fotoperiodom 16 h/8 h (svijetlo/mrak).

Rezultati su obrađeni metodom analize varijance i izračunana je razlika između srednjih vrijednosti pojedinih tretmana i kontrole.

Rezultati i diskusija

U cilju utvrđivanja utjecaja kadmija na biomasu analizirano je šest sorti uljane repice. Uspoređena su njihova svojstva radi pronalaženja genotipa s najpovoljnijim karakteristikama za uzgoj na površinama s povećanom koncentracijom kadmija. Utvrđeno je da je pri većim koncentracijama kadmija u MS podlozi došlo do redukcije svježe mase nadzemnog dijela i korijena kod svih testiranih genotipova (Tab. 1). Međutim, pri manjim koncentracijama od 5 i 10 μM kadmija, nije bilo ili je bilo vrlo malo vidljivih fizičkih oštećenja nadzemnog dijela ispitivanih genotipova u vidu kloroze, a svježa i suha masa nije bila statistički bitno smanjena u odnosu na kontrolu. Pri većim koncentracijama kadmija od 400 i 600 μM zapažene su puno drastičnije redukcije svježe i suhe mase, kako nadzemnog dijela tako i korijena. Svježa masa korijena i nadzemnog dijela bila je bitno smanjena pri koncentraciji od 400 μM kadmija kod svih genotipova. Redukcija suhe mase korijena bila je statistički važnija tek pri koncentraciji Cd od 600 μM , dok je suha masa nadzemnog dijela bitno reducirana već pri koncentraciji od 400 μM . Navedeni podaci pokazuju da izlaganje uljane repice većim koncentracijama kadmija dovodi do redukcije suhe mase nadzemnog dijela više nego što dolazi do redukcije suhe mase korijenovog sustava. Navedeni rezultati su preliminarni, a s obzirom da je pri tako velikim koncentracijama kadmija uljana repica vrlo malog porasta, uglavnom nekrotična i dehidrirana, neophodno je izvršiti dodatna ponovljena istraživanja kojima bi se utvrdilo je li suha masa preciznija u određivanju tolerantnosti genotipova na povećane koncentracije kadmija u podlozi. U prilog tome govore činjenice da kadmij dovodi do dehidratacije i poremećenog vodnog balansa biljke, posebno pri velikim koncentracijama, zbog čega bi suha masa bila pouzdaniji faktor u određivanju otpornosti genotipova. Prema radu Fileka i sur. (2007.) koncentracija Cd je veća u nadzemnom dijelu nego u korijenovom sustavu zbog njegove translokacije i bolje propustljivosti plazmaleme nadzemnog dijela biljke za Cd, tako da je taj dio biljke izloženiji toksičnom djelovanju kadmija. U skladu s njihovim rezultatima, očekivano je da korijenov sustav bude osjetljiviji tek pri većim koncentracijama kadmija u odnosu na nadzemni dio biljke.

Povećanu akumulaciju kadmija u nadzemnom dijelu biljke i kapacitet *B. napus* da akumulira kadmij i translocira ga u žetvene dijelove biljke, opisao je Rossi i sur. (2002.). Ti rezultati dodatno potvrđuju mogućnost upotrebe *B. napus* u fitoremedijaciji kadmijom

<i>Genotip</i>	<i>Koncentracija μM</i>	<i>svm nd (g)</i>	<i>sum nd (g)</i>	<i>svm ko (g)</i>	<i>sum ko (g)</i>
Jovana	Kontrola	0.1858b	0.0122b	0.0260c	0.0058a
	5	0.2596a	0.0177b	0.0386a	0.0019b
	10	0.2180b	0.0152b	0.0306b	0.0020b
	400	0.0332c	0.0068d	0.0068g	0.0008e
	600	0.0168e	0.0035g	0.0038g	0.0004g
Mira	Kontrola	0.2586a	0.0181b	0.0288c	0.0019b
	5	0.2457a	0.0228b	0.0346a	0.0022b
	10	0.2073b	0.0146b	0.0296b	0.0015b
	400	0.0243d	0.0057e	0.0084f	0.0008d
	600	0.0143e	0.0027h	0.0030g	0.0002h
Global	Kontrola	0.2342a	0.0187b	0.0383a	0.0022b
	5	0.2985a	0.0161b	0.0285c	0.0017b
	10	0.3169a	0.0187b	0.0358a	0.0032b
	400	0.3642c	0.0068d	0.0145d	0.0015b
	600	0.1903c	0.0038f	0.0051g	0.0005f
Banaćanka	Kontrola	0.3191ab	0.0376a	0.0380a	0.0021b
	5	0.4057a	0.0231b	0.0468a	0.0031b
	10	0.2609ab	0.0156bc	0.0281c	0.0018b
	400	0.0390c	0.0059e	0.0117e	0.0015b
	600	0.0253d	0.0050e	0.0030g	0.0006f
Slavica	Kontrola	0.3043a	0.0207b	0.0502a	0.0024b
	5	0.2590a	0.0171b	0.0287c	0.0021b
	10	0.2978a	0.0185b	0.0331ab	0.0025b
	400	0.0375c	0.0074c	0.0145d	0.0019b
	600	0.0214e	0.0037f	0.0051g	0.0008d
Kata	Kontrola	0.2556a	0.0204b	0.0256c	0.0026bc
	5	0.2745a	0.0210b	0.0428a	0.0030bc
	10	0.2983a	0.0201b	0.0395a	0.0032b
	400	0.0389c	0.0069d	0.0085f	0.0013c
	600	0.0213e	0.0050e	0.0022g	0.0002h
	LSD _{0.05}	0.18518	0.01411	0.01776	0.00176
	LSD _{0.01}	0.24624	0.01877	0.02361	0.00234

Tablica 1. Reakcija genotipova uljane repice na tretman s različitim koncentracijama kadmija. Vrijednosti kod kojih se nalazi isto slovo u okviru jedne kolone jednog genotipa se statistički ne razlikuju ($p < 0.05$). Lista oznaka: svm nd - svježa masa nadzemnog dijela, sum nd - suha masa nadzemnog dijela, svm ko - svježa masa korijena, sum ko - suha masa korijena.

zagađenih zemljišta; međutim, žetveni dijelovi bi se u tom slučaju mogli koristiti samo za industrijske svrhe, ali ne i za konzumaciju od strane ljudi i životinja.

Male koncentracije kadmija, u našem slučaju od 5 μM , imale su stimulatивно djelovanje na povećanje svježe biomase nadzemnog dijela i korijena, kod genotipa Jovana. Slična pojava uočena je i kod sorte Mira gdje je koncentracija kadmija od 5 i 10 μM imala stimulatивно djelovanje na povećane svježe mase korijena biljke. To je u skladu s rezultatima Petrovića i Kastorija (1994.), kao i Ernsta (1996.). Uzrok stimulativnog djelovanja kadmija na povećanje samo svježe biomase može biti preko utjecaja na vodni balans biljke dovodeći do povećanja sadržaja vode, a samim tim i ukupne svježe mase biljke. Budući da su visoke koncentracije Cd toksične, a male stimulativne, moguće je da ako pri visokim koncentracijama dolazi do dehidracije, pri niskim dolazi do povećanja sadržaja vode u biljci, čime bi se objasnio stimulativni utjecaj samo na svježju biomasu biljke.

Komparativnom analizom genotipova ispitan je odnos smanjenja biomase biljaka pri većim koncentracijama kadmija jer pri koncentracijama od 5 i 10 μM nije bilo bitnih razlika u inhibiciji rasta. Pri koncentraciji Cd od 400 μM najveću inhibiciju rasta svježe mase nadzemnog dijela pokazao je genotip Mira, mada su i ostali genotipovi pokazali slično smanjenje rasta. Za isto svojstvo pri koncentraciji Cd od 600 μM najveća inhibicija rasta također je pokazana kod genotipa Mira, dok se kao najtolerantnijom pokazala sorta Banačanka. Najveća inhibicija porasta svježe mase korijena pri koncentraciji Cd od 400 μM zapažena je kod genotipa Jovana i Mira, a najmanja kod sorte Slavica. Za isto svojstvo, ali pri koncentraciji Cd od 600 μM , svi genotipovi pokazuju sličnu inhibiciju rasta. Prema tim rezultatima, uzimajući u obzir svježju masu, dobru tolerantnost pokazuju sorte Banačanka i Slavica, dok je relativno slaba tolerantnost zapažena kod genotipova Mira i Jovana. Uzimajući u obzir i podatke za suhu masu nadzemnog dijela i korijena, dolazimo do sličnih zaključaka, koji potvrđuju već navedene genotipove kao manje ili više tolerantne na povećane koncentracije Cd.

Usporedbom tolerantnosti ozimih i jarih sorti uljane repice, na osnovu već navedenih podataka, genotipovi Slavica i Banačanka, koje pripadaju ozimim sortama, zajedno s genotipom Kata pokazuju bolju tolerantnost na povećane koncentracije kadmija u podlozi u odnosu na jare sorte koje uključuju Jovanu, Global i Miru.

Kao jedan od mogućih faktora otpornosti ispitivana je i klijavost sjemena uljane repice. Zaključeno je da na klijavost sjemena uljane repice nije utjecala ni najveća upotrijebljena koncentracija kadmija od 600 μM tako da se klijavost ne može upotrijebiti kao parametar otpornosti genotipova na povećane koncentracije kadmija u okviru testiranih vrijednosti (podatci nisu prikazani).

Zaključak

Povećana akumulacija kadmija u nadzemnom dijelu biljke i kapacitet *B. napus* da akumulira kadmij i translocira ga u žetvene dijelove biljke potvrđuju mogućnost upotrebe *B. napus* u fitoremedijaciji kadmijem zagađenih zemljišta. Međutim, žetveni ostaci bi se u tom slučaju mogli koristiti samo za industrijske svrhe, ali ne i za konzumaciju od strane ljudi i životinja. Uspoređivanjem tolerantnosti ozimih i jarih sorti uljane repice genotipovi Slavica i Banačanka, koje pripadaju ozimim sortama, zajedno s genotipom Kata pokazuju bolju tolerantnost na povećanje koncentracije kadmija u podlozi u odnosu na jare sorte koje uključuju Jovanu, Global i Miru.

Uporaba biljne vrste za fitoremedijaciju i fitoekstrakciju zahtijeva akumulaciju velike količine kadmija bez velike redukcije biomase. Prema našim istraživanjima, pri većim koncentracijama kadmija u MS podlozi došlo je do značajne redukcije svježe mase nadzemnog dijela i korijena kod svih testiranih genotipova, ali je kod genotipa Jovana pokazano da male koncentracije kadmija, u našem slučaju od 5 μM , mogu imati stimulatивно djelovanje u povećanju svježe biomase nadzemnog dijela i korijena. U uvjetima umjereno zagađenih područja od testiranih genotipova navedene jare sorte predstavljaju potencijalne biljne vrste za fitoremedijaciju.

Scientific study

REACTION OF WINTER AND SPRING SORTS OF OILSEED RAPE ON INCREASED CONCENTRATIONS OF Cd

Summary

*There has been a research of a reaction of six commercial sorts of oilseed rape (*Brassica napus* L.) on increased concentrations of Cd in in vitro conditions. Seed of the sorts has been sterilized and set on a modified MS ground (Murashige i Skoog, 1962.) and different concentrations of Cd have been added in it. Plants have been cultivated on a temperature of 21 degrees centigrade and a photoperiod of 16:8 (light: dark). Development of plants was monitored during the period of two weeks. After the two weeks, fresh and dry mass of root and above- ground part has been measured. With all the examined genotypes, there has been a decrease in mass of root and above- ground part, in comparison to control, i.e. to plants cultivated on MS ground without Cd.*

Key words: oilseed rape, cadmium, phytoremediation.

Literatura

Cobbett, C.S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant. Physiol.* 123, 825-832.

Foy, C.D. (1995). Differential manganese tolerances of cotton genotypes in nutrient solution. *J. Plant. Nutr.* 18, 685-706.

Florijn, P. J., Van Beusichem, M.L. (1993). Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines. *Plant and Soil* 44, 179-191.

Hinsley, T.D., Alexander, D.E., Zieger, E.C., Barrett, G.L. (1978). Zinc and cadmium accumulation by corn inbreds grown on sludge-amended soil. *Agron. J.* 70, 425-428.

John, M.K. (1973). Cadmium uptake by eight food crops as influenced by various soil levels and its transport from roots to shoots. *Plant and Soil* 44, 179-191.

Kahle, H. (1993). Response of roots of trees to heavy metals. *Environ. Exp. Bot.* 33, 99-119.

Kos, B., Grcman, B., Lestan, D. (2003). Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. *Plant Soil and Environment* 49, 548-553.

Marchiol, L., Sacco, P., Assolari, S., Zerbi, G. (2004). Reclamation of polluted soil: Phytoremediation potential of crop-related Brassica species. *Water, Air and Soil Pollution* 158, 345-356.

Marjanović-Jeromela, A., Marinković, R., Atlagić, J., Saftić-Panković, D., Miladinović, D., Mitrović, P., Miklič, V. (2008). Dostignuća u oplemenjivanju uljane repice (*Brassica napus* L.) u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sveska 45, 131-143.

Murasige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth on bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.

Santa di Toppi, L., Gabrielli R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.* 41, 105-30.

Filek, M., Keskinen, R., Hartikainen, H., Szarejko, I., Janiak, A., Miszalski, Z., Golda, A. (2007) The protective role of selenium in oilseed rapelings subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, doi:10.1016/j.jplph.2007.06.006 Article in press.

Petrović, N., Kastori, R., (1994). Uptake, distribution and translocation of nickel (63 Ni) in wheat. *J. Food. Physics.* 1, 71-73.

Eenst, W.H.O. (1996). Phytotoxicity of heavy metals. In: *Fertilizers and Environment*. Rodguez-Barrueco, C. Ed., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 423-430.

Rossi, G., Figliolia, A., Socciarelli, S., Pennelli, B. (2002). Capability of *Brassica napus* to accumulate cadmium, zinc and copper from soil. *Acta Biotechnologica.* 22, 133-140.

MANKAR® ULV Sistemi za prskanje

Maksimalna efikasnost za profesionalno tretiranje herbicidima

MINI-MANTRA PLUS (MC 30)

- ▶ patentirana tehnologija
- ▶ nerazrijeđeni herbicid, aplikacija bez pritiska
- ▶ ekstremno niske doze herbicida, minimalni rizik od drifta – za nisko djelovanje na okoliš
- ▶ visoka udobnost za korisnike
- ▶ niska buka
- ▶ širok izbor modela i širina prskanja
- ▶ pogon na baterije



MINI-MANTRA PLUS (MC 30)	15-45 cm
Širina prskanja	(podesivo za zakrivljeno prskanje da napravi širinu)
Brz. (km/h)	1
Kapacitet spremnika	300 ml / 6, 2.000-3.000 ml
Površina koju pokriva	2-8 ha
Težina	2,9 kg
Vrijeme rada*	10 sat

PLODOVI ZEMLJE d.o.o.



ZAGREB

e-mail: plodovi-zemlje@zg.t-com.hr
fax. (01) 34 75 700

DALMACIJA

e-mail: plodovi.zemlje@sl.t-com.hr
fax. (022) 331 972,
tel. 098 347 482



www.plodovizemlje.hr