

## Efekti cinka na rast, sadržaj fosfata i fotosintetičkih pigmenata graška (*Pisum sativum* L.)

---

*Ispitivan je uticaj različitih koncentracija cinka (0,05, 2,3, 23 i 50 mg/L) na rast, sadržaj fosfata i sadržaj i odnos fotosintetičkih pigmenata kod graška (Pisum sativum L.). Određivan je i stepen usvajanja cinka i translokacije ovog metala iz korena u nadzemni deo biljke. Biljke su gajene 2 nedelje u kontrolisanim uslovima u Hoaglandovom rastvoru i nakon toga je određen sadržaj cinka, fosfata, hlorofila a i b i karotenoida. Pri koncentracijama cinka od 23 i 50 mg/L u hranljivoj rastvoru uočeno je njegovo inhibitorno dejstvo na rast korena i koleoptila graška. Visoke koncentracije cinka dovode i do smanjenja sadržaja fosfata i fotosintetičkih pigmenata u nadzemnom delu biljke. Cink u koncentraciji od 2,3 mg/L stimulatивно deluje na rast korena i nadzemnog dela gajenih biljaka, dok nije uočena statistički značajna razlika u sadržaju fotosintetičkih pigmenata i koncentraciji fosfata u odnosu na kontrolnu grupu.*

---

### Uvod

Razvoj industrije i poljoprivrede doveo je do primene različitih proizvoda (veštačka đubriva, pesticidi, herbicidi), koji mogu kontaminirati zemljište toksičnim materijama među kojima su i teški metali. U teške metale ubrajaju se metali čija je gustina preko 5g/cm<sup>3</sup> (Nagajyoti 2010). Određeni teški metali (Zn, Fe, Cu) javljaju se u tragovima u živim bićima i esencijalni su za od-

ređene fiziološke procese, ali pri višim koncentracijama mogu imati štetna dejstva (Nagajyoti 2010). Usvajanje teških metala odvija se direktno apsorpcijom iz zemljišta (Wislocka 2006). Oni u biljkama mogu dovesti do brojnih poremećaja u morfološkim karakteristikama kao što su visina biljke, rast i razvoj korenova, listova, reproduktivnih organa i fiziološkim procesima (Tsonev 2012).

Cink predstavlja esencijalni mikroelement biljaka sa brojnim fiziološkim funkcijama: sastavni deo aktivatora enzima, enzima (alkohol dihidrogenaze, metionin sintetaze...), elektron-transportnog lanca, auksina i dr. Biljke koje su izložene visokim koncentracijama cinka su niskog rasta. Javlja se hloroza listova i smanjenje njihove površine, kao i smanjen broj i veličina stoma, nekroza korena i smanjen rast korenskih dlaka i bočnih korenova (Tsonev 2012). Među negativnim efektima može se javiti smanjen sadržaj ostalih elemenata, posebno makroelemenata kao posledica pojačane kompeticije za usvajanje među jonima usled prisustva cinkovih jona u visokoj koncentraciji. Cink se, ako je prisutan u velikim količinama ugrađuje u molekule hlorofila umesto magnezijuma i tako utiče na proces fotosinteze (Tsonev 2012). Glavni izvori zagađenja životne sredine cinkom su veštačka đubriva ili pesticidi koji ga sadrže, otpadne vode, topionice cinka.

U ovom istraživanju ispitivan je efekat različitih koncentracija cinka u supstratu na rast nadzemnog dela i korenova graška (*Pisum sativum* L.), stepen usvajanja cinka i translokacije ovog metala iz korena u nadzemne organe. Takođe, ispitivan je i efekat različitih koncentracija cinka na sadržaj i odnos fotosintetičkih pigmenata i sadržaj fosfata u biljnom materijalu.

---

*Milan Antonović, Zaječar, učenik 3. razreda Gimnazije u Zaječaru*

*MENTOR: Tomica Mišljenović, rukovodilac Programa biologije, ISP*

## Materijal i metode

**Uzgojanje biljaka.** Semena graška (*Pisum sativum*), sorte mali provansalac isključavana su u mraku na temperaturi od 25°C na vlažnom filter papiru obavijena aluminijumskom folijom radi sprečavanja isušivanja. Semena su isključavala 72 časa, a tokom tog perioda je na 12 časova vršeno zalivanje demineralizovanom vodom. Depestidizacija i sterilizacija semena pre isključavanja izvršena je ispiranjem većom količinom česmenske vode, nakon čega su na po 5 minuta potopljena u 5% rastvor varikine i 75% rastvor etanola, a zatim su ponovo isprana česmenskom i destilovanom vodom.

Biljke su gajene u staklenim epruvetama zapremine 75 mL u Hoaglandovom rastvoru, hranljivom medijumu pogodnom za rast viših biljaka (Hoagland i Arnon 1950). Epruvete su obavijene aluminijumskom folijom, kako bi se sprečilo razviće algi, i pokrivene parafilmom u kom je napravljen otvor kroz koji je provučen korenčić klijanca. U svakoj epruveti je gajena po jedna jedinka.

Biljke su podeljene u 4 eksperimentalne grupe, tako da su u svakoj grupi bile po 24 biljke. Jedna grupa je predstavlja kontrolnu grupu koja je uzgajana u standardnom Hoaglandovom rastvoru sa koncentracijom cinka od 0.05 mg/L. Koncentracije cinka u vodenom rastvoru u eksperimentalnim grupama prikazane su u tabeli 1. Biljke su gajene u komori za gajenje biljaka (12 h fotoperiod, sijalica 400 W, 23-25°C).

Tabela 1. Koncentracija cinka u hranljivom medijumu

Grupa	Koncentracija Zn (mg/L)
Kontrolna	0.05
I	2.3
II	23
III	50

**Analiza biljnog materijala.** Biljke su gajene dve nedelje. Nakon toga je izmerena sveža masa

podzemnog i nadzemnog dela svake individue nakon čega su fotografisane uz referentnu skalu. Sa fotografija je određena dužina najdužeg korena svake individue, kao i dužina izdanka. Biljni materijal osušen je do konstantne mase u sušnici na 85°C, odvojeni su nadzemni od podzemnih delova i do analize čuvani u papirnim kesama.

**Mokro spaljivanje.** Izmereno je tri puta po 0.3 g biljnog materijala koji je odmah nakon merenja prebačen u erlenmajer širokog grla. U erlenmajere je dodato 10 mL koncentrovane azotne kiseline i 3 mL perhlorne kiseline. Erlenmajeri su poklopljeni levcima i zagrevani na 180°C. Uzorci su ohlađeni, profiltrirani i normirani destilovanom vodom do zapremine od 50 mL (Kastori 1986).

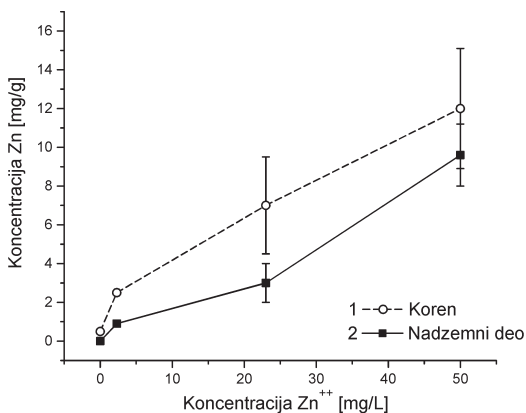
**Određivanje fosfata.** Sadržaj fosfata u biljnom materijalu određivan je spektrofotometrijski, metodom molibdenskog plavog (Lisjak 2009). U normalne sudove sipano je 5 mL alikvota uzorka i dodat je 5% amonijum molibdat, 11% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> i 0.5% hidrokinon. Uzorci su inkubirani sat vremena u mraku. Apsorbance rastvora su očitane na spektrofotometru Evolution 60S na talasnoj dužini 725 nm. Koncentracija fosfata u biljnom materijalu preračunata je pomoću standardne krive koja je konstruisana.

**Određivanje sadržaja fotosintetičkih pigmenta.** Nadzemni delovi biljaka su homogenizovani u porcelanskom avanu uz dodatak kvarcnog peska, CaCO<sub>3</sub> i acetona (10 mL po uzorku). Homogenat je filtriran i kvantitativno prenesen u normalni sud. Ukupan sadržaj hlorofila a i b i karotenoida u nadzemnom delu biljaka određivan je spektrofotometrijski na talasnoj dužini 663, 645 i 452.5 nm (Kastori 1986).

**Određivanje koncentracije cinka.** Ukupan sadržaj cinka u biljnim tkivima određivan je metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije. Na osnovu dobijenih koncentracija koje su izražene kao mg Zn/g suve mase izračunate su vrednosti translokacionog faktora (TF) za cink, kao odnos koncentracije u nadzemnom delu biljke i koncentracije u korenu (Rezvani 2011). Translokacioni faktor pokazuje sposobnost biljke da transportuje određeni element iz korena u nadzemni deo (Rezvani 2011).

## Rezultati i diskusija

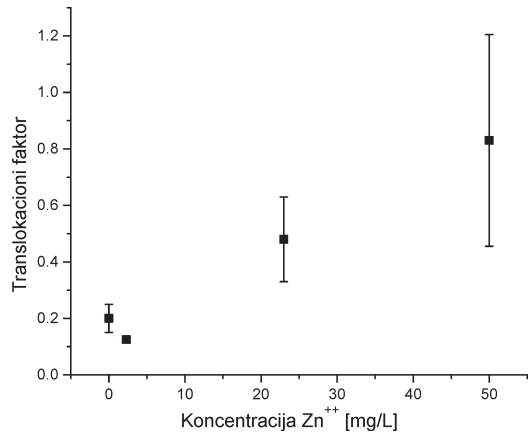
Ukupan sadržaj cinka u korenu i nadzemnim delovima gajenih biljaka prikazan je na slici 1. Koncentracija cinka u korenu i nadzemnom delu biljke povećava se sa povećanjem koncentracije cinka u hranljivom medijumu, što je u skladu sa istraživanjem Paivoke 2003. Taloženje cinka u biljnom tkivu je posledica njegovog vezivanja za anjone u makromolekulima od kojih mnogi ulaze u sastav ćelijske membrane (Sivasankar 2011). Koncentracija cinka u korenu, u svim eksperimentalnim grupama, viša je od zabeleženih koncentracija u nadzemnom delu biljke, što je u skladu sa rezultatima Paivoke iz 2003. godine. Ćelije korena u vakuolama talože jone cinka, što predstavlja odbrambeni mehanizam (Tsonev 2012).



Slika 1. Koncentracija cinka u korenu i nadzemnom delu graška u zavisnosti od koncentracije Zn u medijumu

Figure 1. Concentration of Zinc in pea roots (1) and pea shoots (2) grown in media with different Zn concentrations

Na slici 2 prikazane su vrednosti translokacionog faktora. U grupi sa koncentracijom cinka od 2.3 mg/L uočavaju se niže vrednosti translokacionog faktora u odnosu na kontrolnu grupu. Pri višim koncentracijama cinka od 23 i 50 mg/L u drugoj i trećoj grupi dolazi do porasta vrednosti translokacionog faktora. U trećoj grupi ta vrednost prelazi 1 što znači da te biljke aktivno transportuju cink iz korena u nadzemne delove. Cink



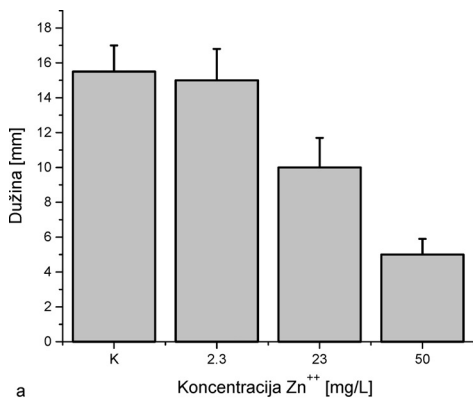
Slika 2. Vrednosti translokacionog faktora (TF)

Figure 2. Values of translocational factor (TF)

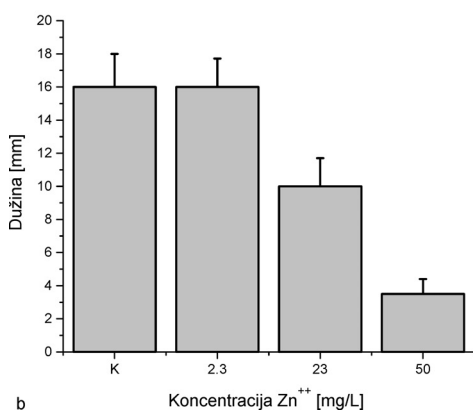
se najčešće usvaja u vidu Zn<sup>2+</sup> jona i prenosi se do ksilemskih elemenata u korenu putem apoplasta i simplasta (Tsonev 2012). Cink je prisutan i u floemskim elementima što govori o njegovoj pokretljivosti.

Dužina izdanka i dužina glavnog korena smanjuju se sa povećanjem koncentracije cinka u hranljivom rastvoru (slika 3). Koncentracija cinka od 2.3 mg/L dovodi do povećanja sveže mase korena i nadzemnog dela biljke u odnosu na kontrolnu grupu, dok sa daljim povećanjem koncentracije dolazi do smanjenja mase korena i nadzemnog dela biljke u odnosu na kontrolnu grupu (slika 4). Uzrok tome je što cink u manjim količinama podstiče izduživanje ćelija i njihovu deobu jer ulazi u sastav biljnih hormona, enzima i kofaktora (Sivasankar 2011). Pri višim koncentracijama cink inhibitorno deluje na izduživanje i deobu ćelija (Cakmak 2000) i to je jedan od glavnih uzroka smanjenog rasta kako nadzemnih delova tako i podzemnih delova biljaka druge i treće grupe.

Povećanjem koncentracije cinka u hranljivom medijumu i u izdancima, dolazi i do smanjenja koncentracije analiziranih fotosintetičkih pigmenta – hlorofila a, b i karotenoida (slika 5). Cink se ugrađuje u molekul hlorofila umesto atoma Mg (Tsonev 2012) i na taj način se može objasniti smanjenje količine hlorofila a i b u



a



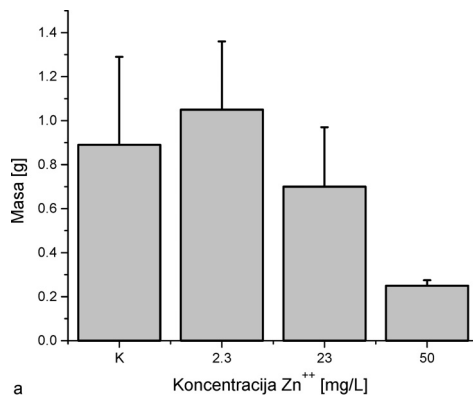
b

Slika 3. Prosečne dužine nadzemnih delova biljaka (a) i korena (b) u zavisnosti od koncentracije Zn u medijumu

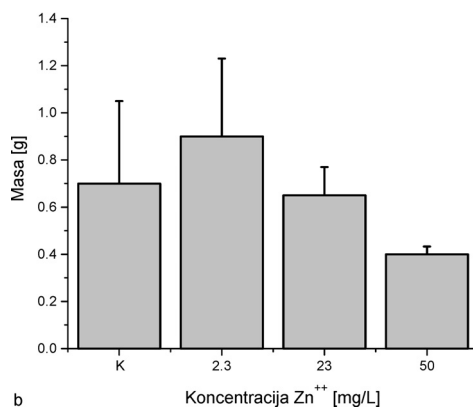
Figure 3. Average length of pea shoots (a) and pea roots (b) grown in media with different Zn concentrations

drugoj i trećoj eksperimentalnoj grupi. Za biosintezu hlorofila i karotenoida neophodno je snabdevanje biljaka gvoždem (Sivasankar 2011). Moguća povećana kompeticija jona  $Fe^{2+}$  sa jonima  $Zn^{2+}$  mogla je dovesti do negativnih efekata po biosintezu hlorofila i karotenoida. Sa povećanjem koncentracije cinka dolazi do narušavanja odnosa hlorofila a i b koji kod viših biljaka iznosi približno 3 : 1 (Tsonev 2012).

Sa porastom koncentracije cinka dolazi do opadanja koncentracije fosfata u korenu graška u odnosu na kontrolnu grupu, sa izuzetkom eksperimentalne grupe u kojoj su biljke gajene u rastvoru sa koncentracijom od 2.3 mg/L Zn, gde



a



b

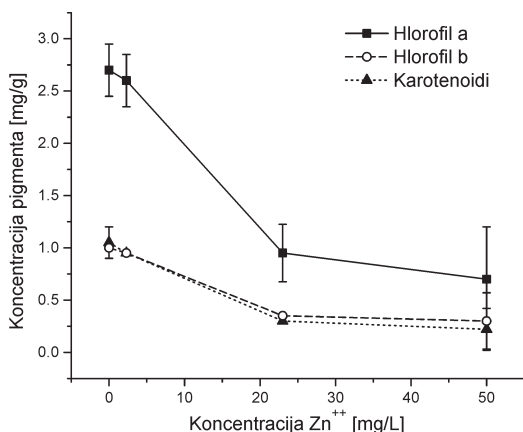
Slika 4. Prosečna sveža masa nadzemnih delova biljaka (a) i korena (b) u zavisnosti od koncentracije Zn u medijumu

Figure 4. Average fresh weight of pea shoots (a) and roots (b) grown in media with different Zn concentrations

je izmeren viši sadržaj fosfata u odnosu na kontrolnu grupu. Koncentracija fosfata u nadzemnom delu biljke najviša je pri koncentraciji od 2.3 mg/L Zn u hranljivom rastvoru, dok pri ostalim

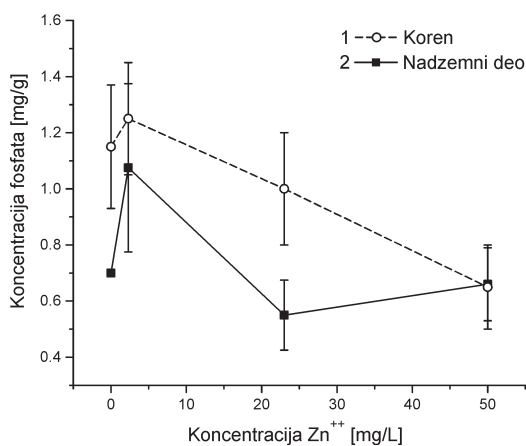
Tabela 2. Odnos hlorofila a i b u nadzemnim delovima gajenih biljaka

Grupa	Odnos hl a : hl b
Kontrolna	2.76
I	2.72
II	2.63
III	2.4



Slika 5. Koncentracija fotosintetičkih pigmenta u nadzemnim delovima biljaka u zavisnosti od koncentracije Zn u medijumu

Figure 5. Concentration of photosynthetic pigments in pea shoots grown in media with different Zn



Slika 6. Koncentracija fosfata u korenu i nadzemnom delu gajenih biljaka u zavisnosti od koncentracije Zn u medijumu

Figure 6. Concentration of phosphates in pea roots (1) and shoot (2) grown in media with different Zn concentrations

testiranim koncentracijama Zn ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju fosfata u nadzemnom delu biljke u odnosu na kontrolnu grupu. Dobijeni efekti cinka na sadržaj fosfata u biljnom materijalu u skladu su sa istraživanjima Paivoke 2003. i Smith 2001. i prikazani su na

slici 6. Moguće je da cink u visokim koncentracijama utiče na ekspresiju gena zaduženog za sintezu proteina nosača koji transportuje P kroz membranu ćelija korenskih dlačica (Smith 2001). Do opadanja koncentracije fosfata sa povećanjem koncentracije cinka moglo je doći i usled kompeticije neorganskog fosfata i cinka u hranljivom medijumu (Paivoke 2003). Posledica kompeticije je manja apsorpcija fosfata kroz plazmalemu (Paivoke 2003).

## Zaključak

Sa povećanjem koncentracije cinka u hranljivom rastvoru došlo je do povećanja koncentracije cinka u korenu i nadzemnom delu gajenih biljaka graška. Više vrednosti translokacionog faktora zabeležene su kod biljaka gajenih u rastvoru sa koncentracijom od 23 i 50 mg/L cinka u odnosu na biljke gajene u standardnom hranljivom rastvoru i rastvoru sa koncentracijom od 2.3 mg/L Zn. Transport cinka iz korena u nadzemni deo biljke zavisi i od koncentracije cinka u hranljivom medijumu.

U ekperimentalnoj grupi u kojoj su biljke gajene u rastvoru sa koncentracijom od 2.3 mg/L Zn nije došlo do pojave simptoma trovanja cinkom, već je uočena stimulacija rasta korena i nadzemnog dela biljke.

U eksperimentalnim grupama u kojima su biljke gajene u rastvoru sa koncentracijom od 23 i 50 mg/L Zn, cink je inhibitorno uticao na rast biljaka i njihovu masu, uz niži sadržaj fosfata i fotosintetičkih pigmenta u odnosu na kontrolnu grupu.

U daljim istraživanjima je moguće ispitivati uticaj cinka na sadržaj drugih makro- i mikroelemenata, njegov uticaj na ostale fiziološke procese i morfološke karakteristike kako bi se detaljnije utvrdio njegov uticaj na grašak, koji je značajna poljoprivredna kultura.

## Literatura

Borah M., Devi A. 2012. Effects of heavy metals on *Pisum sativum*. *International journal of Advanced Biological research*, **2** (2): 314.

Cakmak I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, **146**: 185.

Hoagland D. R., Arnon D. I. 1950. *The watter-culture method of growing plants without soil*. Berckley: The College of Agriculture

Kastori R. 1986. *Praktikum iz fiziologije biljaka*. Beograd: Naučna knjiga

Lisjak M., Špoljarević M., Agić D., Andrić L. 2009. *Praktikum iz fiziologije bilja*. Osijek: Poljoprivredni fakultet

Nagajyoti 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, **8**: 199.

Paivoke E. A. 2003. Responses of *Pisum sativum* to soil arsenate, lead and zinc: a greenhouse study of mineral elements, phytase activity, ATP and chlorophylls. Academic dissertation, University of Helsinki, Helsinki

Rezvani M., 2011. Bioaccumulation and translocation factors of cadmium and lead in *Aeluropus litoralis*. *AJAE*, **2** (4): 114.

Singh R., Singh D. P., Kumar N, Bhargava S. K., Barman S. C. 2009. Accumulation and translocation of heavy metals in soil and plants from fly ash contaminated area. *Journal of Environmental Biology*, **31** (4): 421.

Sivasankar R., Kalaikandhan R., Vijayarengan P. 2011. Phytoremediating capability of four plant species under zinc stress. *International Journal of Research in Enviromental Science and Techonology*, **2** (1): 1.

Smith F. A., Smith S. E., Zhu Y. G. 2001. Zinc (Zn)-phosphorus (P) Interactions in Two Cultivars of Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) differing in P uptake. *Anal. botany*, **88**: 941.

Stoyanova Z., Doncheva S., 2002. The effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **14** (2): 111.

Tsonev T., Lidon F. J. C., 2012. Zink in plants - an overview. *Plant science*, **24** (4): 332.

Wiclocka, Klink A., Morrison L., Krawczyk J., 2006. Bioaccumulation of heavy metals by selected plant species from uranium minig dumps. *Polish Journal of Environmental Studies*, **15** (5): 811.

---

Milan Antonović

## Effects of Zinc on Growth, Concentration of Phosphorus and Photosynthetic Pigments in Pea (*Pisum sativum* L.)

Effects of different concentrations of zinc in growth media on pea growth, concentration of phosphorus and concentration and ratio of photosynthetic pigments (chlorophyll a, b and carotenoids) were analyzed. The concentration of zinc in plant tissue and its translocation from roots to shoots was determined. Plants, divided into four groups with different concentrations of zinc in growth media (0.05, 2.3, 23 and 50 mg/L), were grown under controlled conditions and analyzed.

The results show inhibitory effects of high concentrations of zinc on pea growth. The higher the concentration of zinc is in the growth media, the higher it is in the plant tissue. The translocation of zinc through xylem from roots to shoots also increases with higher concentrations of zinc. The results also show negative effects of zinc on concentration of phosphorus and photosynthetic pigments. Although concentrations of 23 and 50 mg/L Zn have negative effects on growth, concentration of phosphorus and concentration and ratio of photosynthetic pigments, plants treated with 2.3 mg/L Zn did not express toxic effects of zinc treatment. At that concentration zinc increases the growth of plants and has a minor effect on concentration of phosphorus and concentration and ratio of photosynthetic pigments. ☺