

UNIVERZITET U BEOGRADU  
TEHNIČKI FAKULTET U BORU

**Miroslava J. Marić**

**MOGUĆNOSTI KORIŠĆENJA NEKIH  
DIVLJIH I KULTIVISANIH BILJAKA  
ZA REMEDIJACIJU ZEMLJIŠTA**

doktorska disertacija

Bor, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE  
TECHNICAL FACULTY IN BOR

**Miroslava J. Maric**

**POSSIBILITIES OF USING SOME  
WILD AND CULTIVATED PLANTS  
FOR SOIL REMEDIATION**

Doctoral Dissertation

Bor, 2014

Komisija za pregled i odbranu:

Mentor: Prof. dr Milan Antonijević,  
Tehnički fakultet u Boru

Članovi Komisije: Prof. dr Grozdanka Bogdanović  
Tehnički fakultet u Boru  
Prof. dr Časlav Lačnjevac,  
Poljoprivredni fakultet u Beogradu

Datum odbrane: \_\_.\_\_.2014. godine

## **Mogućnosti korišćenja nekih divljih i kultivisanih biljaka za remedijaciju zemljišta**

### **Rezime:**

Proizvodnja bakra u Boru tokom poslednjih 100 godina predstavlja najveći izvor zagađenja životne sredine. Zagađivači u vidu prašine, otpadnih voda, jalovine i zagađenog vazduha, utiču na kvalitet zemljišta, voda i vazduha. Preko 2.000 hektara plodnog zemljišta oštećeno je izlivom flotacijske jalovine iz borskog rudnika bakra. Cilj ovog rada je da se odredi sadržaj teških metala kod divljih biljaka (17 vrsta) koje prirodno rastu na oštećenom zemljištu i kod gajenih biljaka (devet vrsta), koje su zasejane na istom mestu. Sadržaj teških metala (Pb, Cu i Fe) je analiziran u oštećenom zemljištu. Ovom studijom su ispitivane divlje i kultivisane biljke koje su u stanju da rastu na kontaminiranom zemljištu u oblasti intenzivne industrijske proizvodnje bakra u Boru, što znači da mogu da tolerišu i akumuliraju teške metale u svojim nadzemnim tkivima. Ustanovljeno je da se sadržaj svih metala u kontaminiranom zemljištu smanjuje značajno na kraju eksperimenta. Kao što je očekivano, sve biljne vrste mogu da akumuliraju istraživane metale. Sve testirane biljke, kako divlje tako i kultivisane, izgledale su sasvim zdrave na podlogi koja je sadržala ekstremno visoke koncentracije bakra.

**Ključne reči:** zemljište, biljke, zagađenje, teški metali, remedijacija, hiperakumulatori

**Naučna oblast:** Tehnološko inženjerstvo

**Uža naučna oblast:** Hemija, hemijska tehnologija i hemijsko inženjerstvo

**UDK broj:** 502.174:627.533(043.3)

## **Possibilities of using some wild and cultivated plants for soil remediation**

### **Abstract:**

The copper production in Bor (East Serbia) during the last 100 years presents an important source of the pollution of environment. Dust, waste waters, tailing, and air pollutants influence the quality of soil, water, and air. Over 2,000 ha of fertile soil have been damaged by the flotation tailing from Bor's facilities. The goal of the present work has been to determine the content of Pb, Cu, and Fe in wild plants (17 species) naturally growing in the damaged soil and in fodder crops (nine species) planted at the same place. The content of Pb, Cu, and Fe has been analyzed in damaged soil as well. This study has also searched for native (wild) and cultivated plants which are able to grow in contaminated soil in the area of the intense industrial activity of copper production in Bor, which means that they can accumulate and tolerate heavy metals in their above-ground tissues. It has been found out that the content of all metals in contaminated soil decreases considerably at the end of the experiment. As it has been expected, all plant species could accumulate investigated metals. All tested plants, both wild-growing and cultivated plants, seem to be quite healthy on the substrate which contained extremely high concentrations of copper.

**Key words:** soil, plants, pollution, heavy metals, remediation, hyperaccumulators

**Scientific discipline:** Technological engineering

**Scientific subdiscipline:** Chemistry, chemical technology and chemical engineering

**UDK:** 502.174:627.533(043.3)

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA</b> .....	3
2.1. DEGRADACIJA ZEMLJIŠTA PIRITOM.....	3
2.1.1. Literatura.....	10
2.2. TEŠKI METALI U ZEMLJIŠTU.....	15
2.2.1. Biodostupnost teških metala.....	18
2.2.2. Uticaj svojstava zemljišta na biodostupnost metala.....	21
2.2.3. Literatura.....	24
2.3. FITOREMEDIJACIJA I ODRŽIVI RAZVOJ.....	28
2.3.1. Mehanizami fitoremedijacije i vrste fitoremedijacionih tehnika.....	30
2.3.2. Literatura.....	37
2.4. PREDNOSTI I NEDOSTACI FITOREMEDIJACIJE.....	40
2.4.1. Literatura.....	43
2.5. BILJKE FITOREMEDIJATORI.....	44
2.5.1. Biljke metalofite.....	45
2.5.2. Biljke hiperakumulatori.....	46
2.5.3. Usvajanje toksičnih metala.....	49
2.5.4. Hiperakumulatorske vrste.....	50
2.5.5. Tolerantnost biljaka na visoke koncentracije metala u zemljištu.....	54
2.5.6. Literatura.....	54
<b>3. CILJ RADA</b> .....	59
<b>4. MATERIJAL I METODE RADA</b> .....	61
4.1. POSTAVLJANJE OGLEDA.....	61

4.2. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA .....	64
4.2.1. Metode ispitivanja zemljišta .....	64
4.2.2. Metode ispitivanja biljnog materijala .....	70
4.3. Literatura .....	72
<b>5. REZULTATI I DISKUSIJA .....</b>	<b>73</b>
5.1. TEORIJSKA RAZMATRANJA .....	73
5.1.1. Literatura .....	80
5.2. REZULTATI ISTRAŽIVANJA .....	83
5.2.1. Kontrola plodnosti zemljišta .....	83
5.2.2. Teški metali u zemljištu .....	87
5.2.3. Teški metali u biljkama .....	92
5.2.4. Literatura .....	108
5.3. EKONOMSKA OPRAVDANOST KORIŠĆENJA METODE FITOREMEDIJACIJE .....	112
5.3.1. Analiza dobijenih rezultata sa aspekta ekonomske isplativosti .....	124
5.3.2. Literatura .....	125
<b>6. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>129</b>
<b>7. BIOGRAFIJA .....</b>	<b>131</b>
<b>8. Spisak naučnih radova proisteklih iz doktorske disertacije .....</b>	<b>132</b>
<b>9. PRILOZI .....</b>	<b>133</b>

## 1. UVOD

Intenzivnim korišćenjem zemljišta u biljnoj proizvodnji često dolazi do poremećaja ravnoteže činilaca koji učestvuju u stvaranju i održavanju plodnosti zemljišta, pri čemu čovek svojom aktivnošću ima najveći uticaj na ove procese. Razvoj industrije pored pozitivnih efekata doneo je sa sobom niz problema. Jedan od najvećih je skladištenje nusprodukata, otpada nastalih u procesu proizvodnje i prerade metala, hemijske industrije, poljoprivrede itd. Naročito je opasan otpad od industrije, jer metali mogu kroz zemljište da dopru do izvorišta pitke vode.

S druge strane sve veće potrebe za različitim neorganskim materijalima, pre svega metalima i nemetalima, dovode do potencijalne opasnosti da upotrebjene tehnologije za eksploataciju i pripremu mineralnih sirovina izmaknu kontroli i dovedu do narušavanja ekološke ravnoteže u prirodi. Ogromne mase rudnog materijala se eksploatišu, ali se samo mali deo tog materijala iskorišćava. Sve ostalo se nagomilava u vidu otpada (jalovine, pepela, šljake i dr.) i predstavlja izvor zagađenja životne sredine.

U sulfidnim ležištima ruda metala skoro uvek je prisutan pirit. Pri eksploataciji korisnog metala javljaju se velike količine jalovine. Mineral pirit može se nalaziti u jalovini, u koncentratu korisnog metala i u otpadnim vodama. Neprečišćene otpadne vode zagađuju reke i okolno zemljište piritom, a naknadnom oksidacijom pirita vazдушnim kiseonikom stvaraju se produkti koji još više zagađuju i vode i zemljišta.

Piritni nanosi predstavljaju odlagališta metalske industrije i stoga su nepovoljna za životnu sredinu iz nekoliko razloga: zauzimaju veliku površinu zemljišta, obradivog zemljišta, sadrže visoke koncentracije teških metala koji zagađuju zemljište i podzemne vode i imaju nepovoljne karakteristike za gajenje bilo kakvih biljaka.

Sekundarni produkti (rudnička raskrivka, jalovina i flotacijska jalovina) nastali u eksploataciji i preradi mineralnih sirovina uglavnom se deponuju na okolna zemljišta. Deponovani otpadni materijali sadrže toksične materije, jone teških metala poreklom iz same sirovine i zaostale toksične flotacijske reagense koji zagađuju vodu, vazduh i zemljište. Svi ovi zagađivači negativno utiču na fizičko-hemijske i biološke osobine zemljišta. Oni se vezuju za čestice zemljišta ili se nalazi u lako rastvorljivom obliku, pa tako postaju dostupni prisutnoj vegetaciji indirektno ulazeći u lanac ljudske ishrane i



time dovode do smanjenja sadašnjeg a i budućeg potencijala zemljišta kao najvažnijeg i nenadoknadivog sredstva biljne proizvodnje.

U cilju remedijacije zemljišta oštećenih teškim metalima u novije vreme se sve više koristi fitoremedijacija - nova tehnologija u kojoj se upotrebljavaju biljke za prečišćavanje zagađenih zemljišta. Fundamentalna i primenjena istraživanja su nedvosmisleno pokazala da pojedine biljne vrste poseduju genetski potencijal za uklanjanje, rastvaranje, pokretanje ili blokiranje širokog spektra zagađivača, odnosno štetnih elemenata.

Fitoremedijacija tek treba da postane komercijalna tehnologija. Napredak na tom polju ograničen je nedovoljnim poznavanjem osnovnih biljnih korektivnih mehanizama. Pored toga, uticaj poljoprivredne prakse na ove mehanizme je slabo razumljiv. Ostala ograničenja ogledaju se u biološkoj prirodi ovog novog pristupa. Potencijal za fitoremedijaciju zavisi od interakcije između zemljišta, štetnih materija, mikroorganizama i biljaka. Ova kompleksna interakcija, pod uticajem brojnih faktora kao što su klimatski uslovi, svojstva zemljišta, hidrogeološka svojstva, suprotstavlja se generalizaciji u korist specifične fotoremedijacione prakse.

Istraživanja koja se sprovode u ovoj oblasti doprineće boljem razumevanju osnovnih biljnih mehanizama i efekata poljoprivredne prakse na biljka / zemljište / štetne materije interakciju i omogućiće stručnjacima da optimiziraju fitoremedijaciju prilagođavanjem procesa u odnosu na specifične uslove.

## 2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA

### 2.1. DEGRADACIJA ZEMLJIŠTA PIRITOM

Tokom poslednjih decenija, zatvaranje teške industrije širom Evrope ostavilo je velike posledice, odnosno dovelo je do stvaranja velikih površina kontaminiranog zemljišta. Kao rezultat akumulacije zagađujućih materija koje potiču od industrijskih aktivnosti tokom dužeg vremenskog perioda, ovo zemljište nije podobno za upotrebu. Oporavak ovih degradiranih oblasti, posebno kada imaju višekomponentnu kontaminaciju i kad se nalaze u urbanim ili prigradskim zonama, od posebnog je interesa za privredu tog područja (Sharma and Reddy, 2004; Van Linden, 1995; Thornton et al., 2007; Popescu and Nimirciag Balint, 2012; Dheeba and Sampathkumar, 2012; Angelovičová and Fazekašová, 2014).

Mineral pirit je skoro uvek prisutan u sulfidnim ležištima ruda metala, pa se pri eksploataciji korisnog metala često može naći u koncentratima. Osim toga, znatne količine pirita su prisutne i u jalovini i u otpadnim vodama iz flotacije. Odlaganje jalovine kao i ispuštanje neprečišćenih otpadnih voda dovodi do zagađenja kako zemljišta tako i podzemnih voda i rečnih tokova piritom. Naknadnom oksidacijom pirita stvaraju se produkti koji još intenzivnije zagađuju okolno zemljište i vode.

Produkti oksidacije pirita mogu biti različiti, što zavisi od uslova pod kojima se odigrava oksidacija pirita. Naime, smatra se da se primenom jakih oksidanasa ( $E > 0,8V$ ) u kiselim sredinama kao glavni produkti oksidacije javljaju Fe(III) i sulfati, a dejstvom blažih oksidacionih sredstava ( $E < 0,8V$ ) kao produkti nastaju Fe(II) i S. Oksidacijom pirita mogu nastati i druge hemijske vrste:  $Fe(OH)_2$ ,  $Fe(OH)_3$ ,  $Fe(OH)^+$ ,  $Fe(OH)_2^+$ ,  $Fe(OH)^{2+}$ ,  $S_2O_3^{2-}$ , itd., što zavisi od redoks potencijala i kiselosti sredine (Arsenijević, 1994; Dimitrijević i sar., 2002).

U prirodnim uslovima, kao oksidans najčešće se javlja kiseonik, pri čemu kao produkti oksidacije pirita mogu nastati sulfati, Fe(III), Fe(II), elementarni sumpor,  $S_2O_3^{2-}$ . Velike količine nastale sumporne kiseline ( $2H^+ + SO_4^{2-}$ ) dovode do povećanja kiselosti zemljišta i voda (Evangelou and Zhang, 1995; Herbert, 1999; Dimitrijević, 2013).

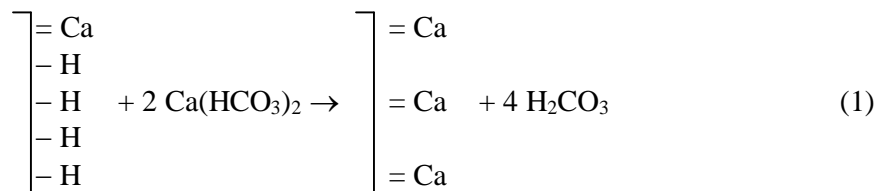
U procesima oksidacije pirita veoma važnu ulogu imaju bakterije roda *Thiobacillus Ferrooxidans* i *Thiobacillus Thiooxidans*. Ove vrste bakterija potpomažu i

ubrzavaju proces hemijske degradacije zemljišta. Katalitički deluju na prevođenje gvožđa iz fero u feri oblik i prevođenje sulfida u sulfatni oblik (Rodriguez et al., 2003; Baker and Banfield, 2003).

Sumporna kiselina, nastala oksidacijom pirita, dovodi do smanjenja pH vrednosti, odnosno do povećanja kiselosti zemljišta. Poznato je da pH vrednost zemljišta bitno utiče na oslobađanje hraniva, njihovu rastvorljivost i transport do korenovog sistema, aktivnost mikroorganizama kao i rastvaranje zemljišnih minerala i transformaciju produkata njihovog rastvaranja. Zbog toga je za gajenje biljaka neophodno pH vrednost zemljišta dovesti do približno neutralnog nivoa (Sullivan, 2004; Stevanovic et al., 2011).

Da bi se umanjila kisela reakcija zemljišta i time izbegle sve negativne posledice koje ona uslovljava, primenjuje se unošenje bazne komponente, najčešće krečnjaka, u zemljište – kalcifikacija. Količina kreča neophodna za neutralizaciju zavisi od količine vodonikovih jona u zemljištu i preračunava se na osnovu ukupne kiselosti (Indraratna et al., 2005; Regmi et al., 2009).

Reakcija između zemljišta i krečnog materijala vrši se prema sledećoj šemi:



Kao posledica kalcifikacije dolazi do povećanja pH zemljišnog rastvora, Al joni postaju nepokretni, a ponekad i Mn i Fe koji svi toksično deluju na biljke pri povećanim koncentracijama, smanjuje se vrednost hidrolitičke kiselosti i povećava kapacitet razmene katjona zemljišta. Naročito se povećava sadržaj izmenjivog kalcijuma u zemljištu, i poboljšava se hranljivi režim zemljišta. Poboljšanje hranljivog režima zemljišta ogleda se u pojačanoj mikrobiološkoj aktivnosti, ubrzanju procesa mineralizacije organskih ostataka, fiksaciji atmosferskog azota, pri čemu se snabdevanje biljaka azotom i fosforom znatno poboljšava, a takođe se povećava mobilnost i pristupačnost izmenjivog kalcijuma zbog povećanja snabdevenosti zemljišta ovim jonom (Lin et al., 2005; Indraratna et al., 2006; Martín et al., 2008; Lin, 2012).

Zemljište koje je zagađeno piritom ima niz nepovoljnih osobina koje utiču na rast i razvoj biljaka. Osim pomenute kiselosti zemljišta, evidentan je i nedostatak

osnovnih hranljivih elemenata: fosfora, kalijuma, natrijuma, azota, itd., koji se mogu zemljištu nadoknaditi dodatkom sveže i humifikovane organske materije, kao i mineralnih đubriva. Organska materija uslovljava i bolju pufernost zemljišta, dakle utiče na poboljšanje i hemijskih i fizičkih osobina zemljišta (Bernal et al., 2007; Alvarenga et al., 2009).

U piritnoj jalovini prisutni su i teški metali, tako da se nanošenjem piritne jalovine zemljište kontaminira i teškim metalima. Osim toga, teški metali dospevaju u atmosferu putem gasova, gari i dima iz dimljaka topionica i elektrana, i najčešće padavinama zagađuju zemljište i vode. Zagađivači zemljišta i vodenih tokova su i otpadne vode i jalovina iz tehnoloških procesa prerade ruda (Sastre et al., 2004; Shoeran and Shoeran, 2006; Motuzova et al., 2014).

Dodavanje organskih materija zemljištu zagađenom rudarskim otpadom vrši se sa ciljem da se pomogne revegetacija, poboljša plodnost i struktura zemljišta i smanji dostupnost teških metala biljci, što može zahtevati i primenu kreča (Tordoff et al., 2000; Abbott et al., 2001; Bernal et al., 2007; Alvarenga et al., 2009). Organski dodaci mogu smanjiti bioraspoloživost teških metala, prebacujući ih od "biljnodostupnih" formi, ekstrakcijom sa vodom ili neutralnim rastvorima soli  $\text{CaCl}_2$ , do frakcija povezanih sa organskom materijom, karbonata i metalnih oksida. To zavisi od određenog metala i tipa zemljišta koji su uključeni, kao i od karakteristika organske materije, naročito u vezi sa stepenom humifikacije, sadržaja teških metala i soli i njihovog uticaja na pH zemljišta (Ross, 1994; Narwal and Singh, 1998; Almås et al., 1999; Shuman, 1999; Walker et al., 2003; Friedlova, 2010).

U cilju sprečavanja kiselosti zemljišta i smanjenja bioraspoloživosti teških metala može se upotrebiti stajnjak koji, u kratkom roku, može pomoći da se olakša početna revegetacija terena kontaminiranih piritnim rudarskim otpadom i koje je podložno acidifikaciji. Međutim, povećanje pH zemljišta izazvano stajnjakom (u dužem vremenskom periodu) može bio glavni faktor smanjenja dostupnosti metala. Zbog toga je od vitalnog značaja da se prati dostupnost teških metala u zemljištu pri dodavanju organskih materija, jer dolazi do promena sa vremenom, usled mikrobiološke aktivnosti koja je prisutna pri transformaciji organskih jedinjenja (Almås et al., 1999; Tordoff et al., 2000; Walker et al., 2004; Bernal et al., 2007; Beesley and Dickinson, 2010).

Primena svežeg stajnjaka može da poveća rastvorljivost teških metala, zbog rastvorljivih organskih jedinjenja koja formiraju komplekse sa metalima. Ali huminske supstance, koje predstavljaju najveći deo organske materije od komposta, mogu da smanje rastvorljivost metala po formiranju stabilnog helata metala (Ross, 1994; Cao et al., 2003). Razlike u odnosu na efekte na metalnu dostupnost između primenjenog tretmana mogu biti ne samo u organskoj materiji (humifikacija), već i u mineralnim frakcijama (sadržaj soli, pH) i katjonskoj promeni kapaciteta, kao i promene u redoks uslovima zemljišta (Shuman, 1999; Walker et al., 2003).

Zagađenje zemljišta kao posledica industrijskih aktivnosti prati se i proučava u cilju pronalaženja što efikasnijih metoda za sanaciju i oporavak zemljišta. Brojne su havarije koje se dešavaju u industrijskim postrojenjima i koje dovode do zagađenja zemljišta, vazduha i voda. Kao primer za to može se navesti havarija koja se desila 1998. godine u provinciji Sevilja (Andaluzija, Španija), kada je došlo do pucanje zida brane u blizini rudnika pirita u Aznalcóllar-u. Tom prilikom izliveno je 5 miliona m<sup>3</sup> mulja sa teškim metalima i zakišeljena je voda reke Guadiamar. Toksični mulj pokrio je 40 km<sup>2</sup> susjednog obradivog zemljišta, gde su glavni zagađivači bili Cd, Cu, Pb, Sb, Tl i Zn (Simón et al., 1999, 2001; Del Río et al., 2002). Iako je veći deo mulja fizički uklonjen sa zemljišta, tragovi su ostali. Kada je ovo zagađeno zemljište vlažno i izloženo vazduhu, dolazi do oksidacije i hidrolize sulfida (S<sup>2-</sup>) u mulju što dovodi do stvaranja sumporne kiseline. Na taj način smanjuje se pH vrednost zemljišta i znatno se povećava rastvorljivost teških metala. To, kao i činjenica da u većem delu pogođenog područja ukupne količine teških metala prelaze nivo Evropske unije za maksimalne dozvoljene vrednosti za poljoprivredno zemljište (Council Directive EEC, 1986), čine neupotrebljivim ovo zemljište za gajenje useva.

Walker et al. (2004) su vršili istraživanja na lokaciji El Vikario, koja se nalazila 10 km nizvodno od puknute brane u Aznalcoollar-u, a koja je nastala od strane pokrajinske vlade Andaluzije za terensko eksperimentisanje u sanaciju kontaminiranog zemljišta. Jedan deo istraživanja remedijacije vršio se dodavanjem organske materije zemljištu. Korovska vrsta *Chenopodium album* L. (Chenopodiaceae) bila je jedna od najzastupljenijih biljaka u leto 2000. godine, a i jedna od prvih biljnih vrsta za kolonizaciju ovog zemljišta. To ukazuje na moguću toleranciju na teške metale, iako su Del Río et al. (2002) utvrdili da *C album* uzorkovan sa drugih izlivanjem zagađenih

površina Aznalcollara nije imao povišene nivoe teških metala. Cilj pomenute studije bio je da se utvrdi sposobnost organskih dodataka, kao i komposta i stajskog đubriva, da podstiču razvoj i rast *C. album*-a u nekarbonatnom zemljištu iz El Vikarija. Ova vrsta se smatra odgovarajućom vrstom testa, i od svog obilja pokazuje da će igrati važnu ulogu u početnoj revegetaciji ovog područja (Walker et al., 2003).

Jedna od tehnika remedijacije zemljišta zagađenog piritom, koja se može koristiti za smanjenje kontaminacije zemljišta, jeste ispiranje zemljišta. Ova tehnika podrazumeva koncentrisanje i smanjenje zagađujućih agenasa u pojedinim frakcijama u odnosu na početno stanje, i samim tim dolazi do dekontaminacije ostatka zemljišta. U tom cilju vrši se razdvajanje čestica po veličini, odvajanje gravitacijom, prečišćavanje i drugi procesi, sa ili bez hemijskih aditiva (Mann, 1999; Anderson, 1988; Dermont et al., 2008). Kada su u pitanju teški metali, većina pristupa se zasniva na izolaciji najboljih frakcija zemljišta zbog veće specifične površine ilovasto-glinovitih čestica, i organske materije, koji vezuju teške metale i druge elemente u tragovima. Krajnji efekti, koji se odnose na mobilnost metala, zavise od mnogih dodatnih faktora - padavina, difuzije, pretvaranja u paru i nestajanja nestabilnih minerala, površinske kompleksacije i slično. Takođe, bioraspoloživost i toksičnost može varirati u zavisnosti od pH vrednosti, redoks uslova (Eh) i promene u načinu korišćenja zemljišta. Međutim, s obzirom da ispiranje zemljište zahteva iskopavanje, svi ovi ekološki parametri su kontrolisani više nego u "in situ" tretmanima (Abumaizar and Smith, 1999; Sverjensky, 1993; Ehsan et al., 2006; Dermont et al., 2008; Liu et al., 2010).

Sierra et al. (2010) su koristili tehniku ispiranja za zemljišta kontaminirana piritnim pepelom, koja su sadržala izuzetno visoke koncentracije više toksičnih elemenata (Hg, Pb, Zn, Cu, Cd, As). Lokacija na kojoj se vršilo ispitivanje nalazi se u centralnoj zoni Asturias (Severna Španija), gde je u poslednjih nekoliko decenija zatvoren veći broj industrijskih i rudarskih objekata. Ukupna površina oštećenog zemljišta iznosi oko 70.000 m<sup>2</sup>, a više od polovine je deponija piritnog pepela dubine između 4 i 5 metara. Piritni pepeo sadrži i dosta gvožđa i otpadaka od čelika. Ostatak su parcele koje se sastoje od prirodnog zemljišta. Međutim, i one su zagađene kao rezultat decenijskog zagađivanja od proizvodnje đubriva, izlivanja otpada i emisije štetnih materija. Konkretno, piritni pepeo, koji se sastoji uglavnom od oksida i hidroksida gvožđa i drugih metala, nastao je kao nusproizvod prerade sumporne rude. Ove rude su

industrijski transformisane za proizvodnju sumporne kiseline koja se koristila za proizvodnju amonijum sulfatnih đubriva.

U našoj zemlji, Rudnik bakra u Boru je najveći zagađivač agroekosistema piritom. Izlivom piritne jalovine iz borskog rudnika bakra oštećeno je preko 2000 hektara plodnog zemljišta. Piritna jalovina, nanošena dugi niz godina, zagadila je velike površine plodnog zemljišta i stvorila nepovoljne uslove za rast i razvoj biljaka. Na takvom zemljištu ne uspeva ni jedna biljna vrsta, a jedan od glavnih ograničavajućih faktora za to je jako izražena kiselost (Milutinović i sar., 1997; Milutinović i sar., 1998a). pH vrednost na pojedinim mestima je i 2, pa je razumljivo zašto ne može da opstane ni jedna biljna vrsta. Osim toga, ova zemljišta imaju i loše fizičke osobine, u njima se ne akumulira organska materija i dolazi do osiromašenja hranljivim elementima, povećava se rastvorljivost jedinjenja Al i Mn pa tako postaju lako dostupni biljkama i u koncentracijama koje su toksične za biljke. S druge strane ovi toksični elementi se vezuju ili čine manje pokretljivim neke mikro i makroelemente (fosfor) neophodne za razvoj biljaka.

Veliki broj istraživača je radio na proučavanju zagađenja agroekosistema u okolini Borskog rudnika, kao i pronalaženju načina da se ublaže štetne posledice koje su nastajale dugi niz godina (Stevanović i sar., 1995a; Milijić, 1997; Marković i sar., 1987; Milutinović i sar., 1998b; Antonijevec et al., 2008; Bogdanović i sar., 2009; Dožić i sar., 2010; Antonijevec et al., 2012). U njihovim radovima, kao jedan od načina za rešavanje problema zagađenja, predlaže se biološka rekultivacija, odnosno setva različitih biljaka, uz određene agronomske i agrotehničke mere, sa ciljem da se poboljšaju karakteristike plodnosti ovakvih degradiranih prostora. Istovremeno ovim načinom rekultivacije pokrila bi se površina jalovišta i okolina bi se zaštitila od aerozagađenja.

Istraživanja izvršena na delu jalovišta gde je pH 5 - 6, odnosno gde procesi oksidacije sulfidnog sumpora nisu odmakli, pokazala su da je ovakva rekultivacija moguća (Milutinović i sar., 1994; Milutinović i sar., 1995), ali uz primenu adekvatnih količina organskih i mineralnih đubriva,  $\text{CaCO}_3$  i drugih neophodnih aditiva i da je moguće ostvariti uspešnu biljnu proizvodnju (Stevanović i sar., 1995b; Marić, 2000). Površine jalovišta bi se prekrile biljnim pokrivačem čime bi se i okolina zaštitila od aerozagađenja. Na površinama gde je kiselost zemljišta izraženija (pH oko 3) pored NPK đubriva unešene su i određene količine krečnjaka kao neutralizatora kiselosti, kao

i prirodni adsorbent - zeolit i sa ciljem poboljšanja karakteristika supstrata na kome u ovim uslovima mogu da rastu biljke. S druge strane ostaci korenovog sistema biljaka posle žetve poboljšavaju plodnost i ukupnu mikrofloru ovakvih degradiranih zemljišta (Antonijević i sar., 2001; Marić i sar., 2002).

Pored zeljastih biljaka korišćene su i drvenaste biljke za remedijaciju zemljišta. Istraživanja koja su vršili Marković i sar. (1987) u kontrolisanim uslovima sa zemljištima zagađenim piritom koja su pod livadama i bagremovom šumom, pokazuju da kalcifikacija i humizacija efikasno deluju na povećanje prinosa ogledne kulture. Do sličnog zaključka došli su i drugi istraživači – Legerwerff, 1967; Charnock and Grant, 2005; Singh et al., 2010; Mohd et al., 2013.

U radu Milijića (1997) prikazani su rezultati izvršene biološke rekultivacije odlagališta površinskih kopova i flotacijskih jalovišta u Boru. Za biološku rekultivaciju površinskih kopova u periodu 1979 - 1986. godine i 1992 - 1997. godine korišćen je različiti sadni materijal (bagrem, platani, breze, lipa, topola, vrba, jasen, brest, hrast, crni bor, klen, kruška, trešnja). Procenat prijema sadnica kretao se od 30 do 70 %. Pošumljavanjem je delimično sprečena erozija, došlo je do boljeg vezivanja zemljišta i vlažnosti usled razvoja sadnica, a sprečeno je i dizanje prašine u površinskom delu.

U cilju rekultivacije starog flotacijskog jalovišta u Boru, u 2008. i 2009. godini postavljen je ogled na delu jalovišta u neposrednoj blizini naselja. Na ovom oglednom polju, u cilju biološke rekultivacije korišćene su različite varijante oplemenjivanja supstrata i čiste jalovine pri sadnji i gajenju nekoliko vrsta drveća i trave. Istraživanja pokazuju da je upotreba većeg broja drvenastih vrsta u rekultivaciji jalovišta rudnika u Boru moguća, pri čemu su najbolji uspeh pokazale sadnice posađene u sloju plodne zemlje na jalovini i mešavini plodne zemlje i jalovine, a od korišćenih vrsta najbolje preživljavanje, rast i fiziološku vitalnost pokazali su bagrem, jasen i javor, a najslabije smrča i hrast lužnjak (Bogdanović i sar., 2009; Dožić i sar., 2010).

Dakle, u cilju rekultivacije ovakvih i sličnih zemljišta, u poslednjih dvadesetak godina, sve veću primenu nalazi metoda biološke rekultivacije – fitoremedijacija, odnosno gajenje jednogodišnjih i višegodišnjih zeljastih biljaka sa ciljem smanjenja koncentracija teških metala (iznošenjem u nadzemni deo biljaka), povećanja brojnosti i aktivnosti mikroflora zemljišta kao i njihove detoksifikacije (prevođenje metala u oblike koji nisu štetni za biljke).



### 2.1.1. Literatura

- Abbott D.E., Essington M.E., Mullen M.D., Ammons J.T. (2001) Fly ash and lime-stabilized biosolid mixtures in mine spoil reclamation: simulated weathering. *Journal of Environmental Quality* 30: 608–616.
- Abumaizar J., Smith H. (1999) Heavy metal contaminants removal by soil washing. *Journal of Hazardous Materials* 70: 71–86.
- Almås A., Singh B.R., Salbu B. (1999) Mobility of cadmium-109 and zinc-65 in soil influenced by equilibration time, temperature, and organic matter. *Journal of Environmental Quality* 28: 1742–1750.
- Alvarenga P., Goncalves A.P., Fernandes R.M., Varennes A., Vallini G., Duarte E. (2009) Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (I) effects on soil chemical characteristics. *Chemosphere* 74: 1292–1300.
- Anderson R., Rasor E. (1998) Particle size separation via soil washing to obtain volumen reduction. *Journal of Hazardous Materials* 6: 89–98.
- Angelovičová L., Fazekašová D. (2014) Contamination of the soil and water environment by heavy metals in the former mining area of Rudňany (Slovakia). *Soil and Water Research* 9 (1): 18–24.
- Antonišević M., Maric M. (2008) Determination of the Content of Heavy Metals in Pyrite Contaminated Soil and Plants. *Sensors* 8 (9): 5857–5865.
- Antonišević M.M., Dimitrijević M.D., Milic S.M., Nujkić M.M. (2012) Metal concentrations in the soil and native plants surrounding the old flotation tailings pond of the Copper Mining and Smelting Complex Bor. *Journal of Environmental Monitoring* 14: 57–66.
- Antonišević M.M., Dimitrijević M.D., Stevanović Z.O., Serbula G.D., Bogdanović G.D. (2008) Investigation of the possibility of copper recovery from the flotation tailings by acid leaching. *Journal of Hazardous Materials* 158: 23–34.
- Antonišević M., Marić M., Milutinović S., Stevanović D. (2001) Uticaj meliorativnih materijala na sadržaj teških metala u zemljištu oštećenom flotacionom jalovinom. *Zbornik radova, Ekološka istina, Donji Milanovac*, 160–165.
- Arsenišević S. (1994) *Hemija – opšta i neorganska*, Naučna knjiga Beograd.
- Baker B.J., Banfield J.F. (2003) Microbial communities in acid mine drainage, Mini Review. *FEMS Microbiology Ecology* 44: 139–152.
- Beesley L., Dickinson N. (2010) Carbon and trace element mobility in an urban soil amended with green waste compost. *J. Soil. Sediment.* 10: 215–222.
- Bernal M.P., Clemente R., Walker D.J. (2007) The role of organic amendments in the bioremediation of heavy metal-polluted soils, in: R.W. Gore (Ed.), *Environmental Research at the Leading Edge*, Nova Science Publishers Inc., New York, 1–57.
- Bogdanović G., Stanojlović R., Dožić S., Đukić M., Antić D., Sokolović J., Randelović D. (2009) Ogljedno polje relultivacije starog flotacijskog jalovišta u Boru. *Zbornik radova, Simpozijum “Reciklažne tehnologije i održivi razvoj”*, Kladovo, 391–397.

- Cao X., Ma L.Q., Shiralipour A. (2003) Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator. *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution* 126: 157–167.
- Charnock N.R., Grant, C.D. (2005) Assessing various rehabilitation strategies for coarse coal washery reject dumps in the Hunter Valley, Australia. I. Chemical characteristics. *International Journal of Surface Mining, Reclamation and Environment* 19 (2): 108–131.
- Council Directive EEC (1986) on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture (86/278/EEC). *Official Journal OJ L* 181, 8. 7. pp. 6.
- Del Río M., Font, R., Almela C., Vélez D., Montoro R., De Haro Bailón A. (2002) Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadiamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *J. Biotechnol.* 98: 125–137.
- Dermont G., Bergeron M., Mercier G., Richer-Lafleche M. (2008) Soil washing for metal removal: a review of physical/chemical technologies and field applications. *Journal of Hazardous Materials* 152: 1–31.
- Dermont G., Bergeron M., Mercier G., Richer-Lafleche M. (2008) Soil washing for metal removal: A review of physical/chemical technologies and field applications (Review). *Journal of Hazardous Materials*. 152 (1): 1–31.
- Dheeba B., Sampathkumar P. (2012) Evaluation of heavy metal contamination in surface soil around industrial area, Tamil Nadu, India. *International Journal of ChemTech Research* 4 (3): 1229–1240.
- Dimitrijević M., Antonijević M., Dimitrijević V. (2002) Oksidacija pirita – posledice i značaj. *Hem. ind.* 56 (7-8): 299–316.
- Dimitrijević M.D. (2013) Oksidacija pirita i kisele rudničke vode. Monografija, Univerzitet u Beogradu, Tehnički fakultet u Boru, 1–187.
- Dožić S., Đukić M., Bogdanović G., Stanojlović R., Lukić S., Đunisijević-Bojović D, Bjedov I. (2010) Novi pristup relultivaciji starog flotacijskog jalovišta u Boru. *Glasnik šumarskog fakulteta, Beograd* 101: 35–48.
- Ehsan S., Prasher S.O., Marshall W.D. (2006) A washing procedure to mobilize mixed contaminants from soil: II. Heavy metals. *Journal of Environmental Quality* 35 (6): 2084–2091.
- Evangelou V.P., Zhang Y.L. (1995) A review: Pyrite Oxidation Mechanisms and Acid Mine Drainage Prevention, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 25: 141–199.
- Friedlova M. (2010) The influence of heavy metals on soil biological and chemical properties. *Soil and Water Research* 5 (1): 21–27.
- Indraratna B., Golab A., Glamore W., Blunden B. (2005) Acid sulphate soil remediation techniques on the Shoalhaven River floodplain, Australia. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology* 38 (2): 129–142.
- Indraratna B., Golab A.N., Banasiak L.J. (2006) Installation of a lime injection barrier for the remediation of acid sulphate soil problems. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology* 39 (4): 391–401.
- Lagerwerff J.V. (1967) Heavy metal contamination of soils. *American Association for the Advancement of Science Publication* 85: 343–346.

- Lin C. (2012) Climate change adaptation in acid sulfate landscapes (Review). *American Journal of Environmental Sciences* 8 (4): 433–442.
- Lin C., Lu W., Wu Y. (2005) Agricultural soils irrigated with acidic mine water: Acidity, heavy metals, and crop contamination. *Australian Journal of Soil Research* 43 (7): 819–826.
- Liu L., Hu S.-P., Chen Y.-X., Li H. (2010) Feasibility of washing as a remediation technology for the heavy metals-polluted soils left by chemical plant. *Chinese Journal of Applied Ecology* 21 (6): 1537–1541.
- Mann M.J. (1999) Full scale and pilot scale soil washing *Journal of Hazardous Materials* 66 (1-2): 119–136.
- Marić M. (2000) Rekultivacija zemljišta oštećenog piritnom jalovinom. Magistarski rad, Tehnički fakultet, Bor, 1–95.
- Marić M., Antonijević M. (2011) Korišćenje metode fitoremedijacije za uklanjanje teških metala iz zemljišta. Zbornik radova, Prvi simpozijum o upravljanju prirodnim resursima sa međunarodnim učešćem, Bor, 365–373.
- Marić M., Antonijević M., Milutinović S., Stevanović D. (2002) Uticaj meliorativnih materijala na sadržaj teških metala u zemljištu oštećenom flotacijskom jalovinom. Zbornik radova, Zdravstveno bezbedna hrana, Eko-konferencija, Novi Sad, 125–129.
- Marić M., Milutinović S. (2003) Possibilities of recultivation of soil damaged by pyrite barren soil. Proceedings, International conference "The process of integration of the youth Euroregion «Danube XXI»", Zaječar.
- Marković N., Stevanović D., Miladinović M. (1987) Uticaj aerozagadivanja na kontaminaciju zemljišta u okolini Bora i način njihove rekultivacije. *Agrohemija* 3: 233–241.
- Martín F., García I., Díez M., Sierra M., Simon M., Dorronsoro C. (2008) Soil alteration by continued oxidation of pyrite tailings. *Applied Geochemistry* 23 (5): 1152–1165.
- Milijić Z. (1997) Jalovišta rudnika bakra, njihov uticaj na životnu sredinu i metode rekultivacije. Zbornik radova "Naša ekološka istina", Donji Milanovac, 58–66.
- Milutinović S., Marić M., Anonijević M. (2008) Recultivation of soil damaged by pyritic slag. Proceedings of 40th International October Conference on Mining and Metallurgy, Sokobanja, 296–300.
- Milutinović S., Marić M., Aleksić V. (1998a) Stanje zagađenosti zemljišta piritnom jalovinom na području SO Zaječar. Zbornik radova "Naša ekološka istina", Negotin, 147–149.
- Milutinović S., Marić M., Aleksić V. (1998b) Recultivation of soil damaged by pyritic slag. 16th World Congress of Soil Science, Symposium, Montpellier, France, 38 (II): 699.
- Milutinović S., Petrović R., Marić M. (1997) Prilog proučavanju popravke zemljišta oštećenih piritnom jalovinom. Zbornik radova "Naša ekološka istina", Donji Milanovac, 72–76.
- Milutinović S., Zdravković M., Stamenković-Jovanović S. (1994) Mogućnost rekultivacije zemljišta oštećenih piritnom jalovinom. Zbornik radova, II naučno-stručni skup o prirodnim vrednostima i zaštiti životne sredine. Zbornik radova, Borsko jezero, 21.
- Milutinović S., Zdravković M., Stamenković-Jovanović S., Petrović B., Milijić Z. (1995) Ispitivanje mogućnosti rekultivacije oštećenih zemljišta piritnom jalovinom. Zbornik radova "Naša ekološka istina", Borsko jezero, 82.

- Mohd S.N., Muhamad Majid N., Mohamed Shazili N.A., Abdu A. (2013) Growth performance, biomass and phytoextraction efficiency of *Acacia mangium* and *Melaleuca cajuputi* in remediating heavy metal contaminated soil. *American Journal of Environmental Sciences* 9 (4): 310–316.
- Motuzova G.V., Minkina T.M., Karpova E.A., Barsova N.U., Mandzhieva S.S. (2014) Soil contamination with heavy metals as a potential and real risk to the environment. *Journal of Geochemical Exploration*, Article in press.
- Narwal R.P., Singh B.R. (1998) Effect of organic materials on partitioning, extractability and plant uptake of metals in an alum shale soil. *Water Air and Soil Pollution* 103: 405–421.
- Popescu I., Nimirciag Balint R. (2012) Environmental impact of closing mining activities - A case study from Bălan, Romania (Conference Paper). 12th International Multidisciplinary Scientific GeoConference and EXPO - Modern Management of Mine Producing. *Geology and Environmental Protection SGEM* 4: 73–80.
- Regmi G., Indraratna B., Nghiem L.D. (2009) Long-term performance of a permeable reactive barrier in acid sulphate soil terrain (Conference Paper). *Water, Air and Soil Pollution* 9 (5-6): 409–419.
- Rodriguez Y., Ballester A., Blasquez M.L., Gonzales F., Munoz J.A. (2003) Study of Bacterial Attachment During the Bioleaching of Pyrite, Chalkopyrite and Sphalerite. *Geomicrobiology Journal* 20: 131–141.
- Ross S.M. (1994) Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. In: Ross, S.M. (Ed.), *Toxic Metals in Soil-Plant Systems*. John Wiley and Sons Ltd., Chichester 63–152.
- Sastre J., Hernández E., Rodríguez R., Alcobé X., Vidal M., Rauret G., (2004) Use of sorption and extraction tests to predict the dynamics of the interaction of trace elements in agricultural soils contaminated by a mine tailing accident. *Science of The Total Environment* 329: 261–281.
- Sharma H.D., Reddy K.R. (2004) *Geoenvironmental Engineering: Site Remediation, Waste Containment, and Emerging Waste Management Technologies*, John Wiley & Son, Inc., Hoboken, New Jersey, 2004 (ISBN:0-471-21599-6).
- Sheoran A.S., Sheoran V. (2006) Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: A critical review. *Minerals Engineering* 19 (2): 105–116.
- Shuman L.M. (1999) Organic waste amendments effect on zinc fractions of two soils. *Journal of Environmental Quality* 28: 1442–1447.
- Sierra C., Gallego J.R., Afif E., Menéndez-Aguado J.M., González-Coto F. (2010) Analysis of soil washing effectiveness to remediate a brownfield polluted with pyrite ashes. *Journal of Hazardous Materials* 180: 602–608.
- Simón M., Ortiz I., García I., Fernández J., Dorronsoro C., Aguilar J. (1999) Pollution of soils by the toxic spill of a pyrite mine (Aznalcollar, Spain). *Science of The Total Environment* 242: 105–115.
- Singh G., Bhati M., Rathod T. (2010) Use of tree seedlings for the phytoremediation of a municipal effluent used in dry areas of north-western India: Plant growth and nutrient uptake. *Ecological Engineering* 36 (10): 1299–1306.
- Stevanovic Z.O., Antonijevic M.M., Bogdanovic G.D., Trujic V.K., Bugarin M.M. (2011) Influence of the chemical and mineralogical composition on the acidity of an abandoned copper mine in the Bor river valley (eastern Serbia). *Chemistry and Ecology* 27 (5): 401–414.

- Stevanović D., Vukićević O., Miranović K. (1995a) Mogućnosti biološke rekultivacije flotacijskog jalovišta (Zn, Pb, Cu-mulja) u Mojkovcu. Zbornik radova "Naša ekološka istina", Borsko jezero, 83–84.
- Stevanović D., Marinko M., Milijić Z. (1995b) Biološka rekultivacija flotacijskog jalovišta "Veliki Krivelj". Zbornik radova "Naša ekološka istina", Borsko jezero, 73–74.
- Sullivan L. (2004) Preface: Sustainable management of acid sulfate soil. Australian Journal of Soil Research, 42 (5-6).
- Sverjensky D. (1993) Physical surface-complexation models for sorption at the mineral-water interface. Nature 364: 776–780.
- Thornton G., Franz M., Edwards D., Pahlen G., Nathanail P. (2007) The challenge of sustainability: incentives for brownfield regeneration in Europe. Environmental Science & Policy 10: 116–134.
- Tordoff G.M., Baker A.J.M., Willis A.J. (2000) Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. Chemosphere 41: 219–228.
- Van Linden G.W.J. (1995) European Soil Resources. Nature and Environment 71, Council of Europe, Strasburg.
- Walker D.J., Clemente R., Bernal M.P. (2004) Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. Chemosphere 57: 215–224.
- Walker D.J., Clemente R., Roig A., Bernal M.P. (2003) The effects of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils. Environmental Pollution 122: 303–312.
- Wuana R.A., Okieimen F.E. (2011) Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. International Scholarly Research Network, ISRN Ecology, 1–20.

## 2.2. TEŠKI METALI U ZEMLJIŠTU

Teški metali predstavljaju grupu elemenata sa metalnim svojstvima (rastegljivost, provodljivost, stabilnost katjona, ligand specifičnost, itd.), koji imaju atomski broj veći od 20 i specifičnu masu veću od 5 kg/dm<sup>3</sup>.

Poznato je oko 50 teških metala, a najrasprostranjeniji su Cd, Pb, Hg, As, Cr, Ni, Cu, Zn. Toksičnost pojedinih elemenata obično raste sa povećanjem specifične mase. Međutim, potrebno je istaći da su brojni teški metali potrebni za normalan rast i razvoj biljnih organizama, kao što su Co, Cu, Fe, Mn, Mo i Zn. S druge strane, teški metali kao što su As, Cd, Hg, Pb ili Se nisu neophodni, jer oni ne vrše ni jednu poznatu fiziološku ulogu u biljkama. Najčešće se kao najveći zagađivači pominju sledeći teški metali: Cd, Cr, Cu, Hg, Pb i Zn.

Metali su prirodne komponente u zemljištu. Kontaminacija je, međutim, rezultat industrijske aktivnosti, kao što su rudarstvo i topljenje ruda u metala, elektroliza, izduvni gasovi, goriva i energenti za proizvodnju, đubriva i primena pesticida, kao i stvaranje komunalnog otpada (Kabata-Pendias and Pendias, 1989; Chehregani and Malayeri, 2007; Fulekar et al., 2009; Wuana and Okieimen, 2011). U tabeli 1 prikazani su antropogeni izvori nekih teških metala u životnoj sredini.

Tabela 1. Antropogeni izvori nekih teških metala u životnoj sredini (Hazrat et al., 2013)

<b>Metal</b>	<b>Izvor</b>	<b>Referenca</b>
As	Pesticidi i zaštita šuma	Thangavel and Subbhuraam, 2004
Cd	Boje i pigmenti, plastični stabilizatori, pozlaćivanje, spaljivanje plastike koja sadrži Cd, fosfatna đubriva	Salem et al., 2000; Pulford and Watson, 2003
Cr	Prerada kože, industrija čelika, pepeo	Khan et al., 2007
Cu	Pesticidi, đubriva	Khan et al., 2007
Hg	Produkti iz Au-Ag rudarstva i sagorevanja uglja, medicinski otpad	Memon et al., 2001; Wuana and Okieimen, 2011; Rodrigues et al., 2012
Ni	Industrijske otpadne vode, kuhinjski aparati, hirurški instrumenti, legure čelika, akumulatori	Tariq et al., 2006
Pb	Vazдушna emisija od sagorevanja olovnog benzina, proizvodnja baterija, herbicidi i insekticidi	Thangavel and Subbhuraam, 2004; Wuana and Okieimen, 2011

Teški metali u zemljištu, dakle, mogu imati prirodno poreklo ili mogu biti uneti aktivnošću čoveka. Poreklo teških metala u zemljištu prvenstveno je geohemijsko, što znači da potiču iz litosfere i njihova koncentracija u zemljištu zavisi od sadržaja u stenama iz kojih je potekao matični supstrat (Ubavić i Bogdanović, 1995). Međutim, u poslednje vreme razvojem industrije i intenzifikacijom poljoprivrede došlo je do primene raznih materija koje kontaminiraju zemljište, tako da je na nekim površinama povećana koncentracija teških metala usled antropogenog uticaja.

Zagađenost zemljišta teškim metalima nije lako utvrditi i razlikuje se kod različitih tipova zemljišta. Tako u jednom zemljištu prisustvo nekog jedinjenja u određenoj količini ne izaziva poremećaje u biljnoj proizvodnji, dok u drugom izaziva, što se može primetiti kroz smanjenje prinosa i njegovog kvaliteta. Smatra se da toksičnost teških metala dolazi do izražaja samo u slučaju ako se njihova koncentracija u tkivima biljaka poveća iznad prosečnih vrednosti.

Najčešći zagađivači životne sredine teškim metalima su uglavnom industrijska postrojenja za preradu metala. Sve je više topionica i elektrana iz čijih dimnjaka izlaze velike količine pojedinih metala u vidu gasova, gari, dima, koji se šire u atmosferu i najčešće padavinama dospevaju u zemljište i zagađuju ga. Otpadne vode, korišćene u tehnološkim postupcima prerade metala, takođe sadrže velike količine štetnih elemenata, i one dospevaju u vodene tokove koji zagađuju zemljište. Isti je slučaj i sa jalovinom koja se odlaže na pojedinim mestima i na taj način se uništavaju velike površine poljoprivrednog zemljišta koje se onesposobljava za biljnu proizvodnju.

Visoki nivoi metala u zemljištu mogu biti fitotoksični. Zagađenost zemljišta toksičnim metalima uslovljava usporeni rast biljaka, i može doći do mobilizacije metala u vodama koje otiču i taloženja u blizini vodenih površina. Osim toga, ogoljena zemljišta su još podložna dejstvu vetra i eroziji i širenju kontaminacije putem vazdušne prašine. U takvim situacijama, prevashodni cilj remedijacije je da se sanacija izvrši uspostavljanjem vegetativnog pokrivača kako bi se minimizirala erozija zemljišta i širenje zagađenja.

Teški metali iz zemljišta akumulirani u biljkama ulaze u lanac ishrane i njihova prekomerna količina može toksično delovati na ljude i životinje. Mnogi teški metali i metaloidi su toksični i mogu izazvati neželjene reakcije i ozbiljne probleme i pri veoma

niskim koncentracijama (Kara, 2005; Arora et al., 2008; Memon and Schröder, 2009). U tabeli 2 prikazani su štetni efekti nekih odabranih teških metala na ljudsko zdravlje.

Tabela 2. Antropogeni izvori nekih teških metala u životnoj sredini (Hazrat et al., 2013)

<b>Metal</b>	<b>Štetni efekat</b>	<b>Referenca</b>
As	As (kao arsenat) je analog fosfatima i na taj način ometa osnovne ćelijske procese, kao što su oksidaciona fosforilacija i ATP sinteza	Tripathi et al., 2007
Cd	Kancerogene, mutagene i teratogene promene; endokrina disfunkcija; ometa regulaciju kalcijuma u biološkim sistemima; izaziva hroničnu bubrežnu insuficijenciju i anemiju	Degraeve, 1981; Salem et al., 2000; Awofolu, 2005
Cr	Izaziva opadanje kose	Salem et al., 2000
Cu	Pronađeno je da povišeni nivoi izazivaju oštećenje mozga i bubrega, cirozu jetre i hroničnu anemiju, kao i iritaciju želuca i creva	Salem et al., 2000; Wuana and Okieimen, 2011
Hg	Anksioznost, autoimune bolesti, depresija, teškoće sa ravnotežom, pospanost, umor, gubitak kose, nesanica, razdražljivost, gubitak pamćenja, povratne infekcije, uznemirenost, poremećaji vida, drhtanje, temperamentni ispadi, čirevi i oštećenja mozga, bubrega i pluća	Neustadt and Pieczenik, 2007; Ainza et al., 2010; Gulati et al., 2010
Ni	Alergijski dermatitis, udisanje može da izazove rak pluća, nosa i sinusa, takođe i rak grla i želuca, trovanje krvi, pad imuniteta, neurotoksičnost, genotoksičnost, reproduktivna toksičnost, toksičnost pluća, bubrega, izaziva gubitak kose	Salem et al., 2000; Khan et al., 2007; Das et al., 2008; Duda-Chodak and Baszczyk, 2008; Mishra et al., 2010
Pb	Trovanje olovom izaziva probleme kod dece, kao što su oštećenja u razvoju, smanjenje inteligencije, gubitak kratkoročne memorije, teškoće u učenju i problemi sa koordinacijom, izaziva bubrežne insuficijencije, povećan rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti	Salem et al., 2000; Padmavathiamma and Li, 2007; Wuana and Okieimen, 2011; Iqbal, 2012
Zn	Prekomerne doze cinka mogu da izazovu vrtoglavicu i umor	Hess and Schmid, 2002

Koncentracija teških metala u životnoj sredini povećava se iz godine u godinu (Govindasamy et al., 2011). U regionu Campine u Belgiji i Holandiji, 700 km<sup>2</sup> je zagađeno atmosferskim taloženjem Cd, Zn i Pb (Meers et al., 2010). Samo u Kini, na površini od 2,88 x 10<sup>6</sup> ha uništeno je zemljište kao rezultat rudarstva i dodatno je



uništeno još 46.700 hektara putem drugih zagađivača. Na ovoj površini skoro je potpuno nestala vegetacija zbog ozbiljnog zagađenja i na kraju dolazi i do erozije tla i nestanka zemljišta (Xia, 2004). Dakle, čišćenje od teških metala je krajnje neophodno da bi se minimizirao uticaj na ekosisteme. Ovo je izazovan posao zbog troškova i tehničke složenosti (Barceló and Poschenrieder, 2003). Do sada su korišćeni različiti fizički, hemijski i biološki pristupi u ovu svrhu. Metode konvencionalne remedijacije uključuju *in situ* vitrifikacija zemljišta, spaljivanje, vađenje i deponovanje oštećenog zemljišta, ispiranje zemljišta, očvršćavanje i stabilizaciju elektro-kinetičkih sistema (Sheoran et al., 2011; Wuana and Okieimen, 2011). Generalno, fizičke i hemijske metode imaju ograničenja kao što su visoke cene, radna snaga, nepovratne promene osobina zemljišta i narušavanje prirodne mikroflore.

Hemijske metode takođe mogu stvoriti sekundarne probleme zagađenja. Zbog toga, potrebno je da se razvije istraživanje koje je isplativo, efikasno i ekološko, remedijacione metode dekontaminacije teških metala sa zagađenih zemljišta. Jedan takav nov pristup je fitoremedijacija, koja se smatra kao zeleno alternativno rešenje za problem zagađenja teškim metalima.

### **2.2.1. Biodostupnost teških metala**

U zemljištu, metali se nalaze u nekoliko oblika:

- (1) u zemljišnom rastvoru, kao joni metala i rastvorljivi metalni kompleksi,
- (2) adsorbovani kao neorganski sastojci zemljišta za jonsku razmenu,
- (3) vezani za organske materiju zemljišta,
- (4) sjedinjeni, kao oksidi, hidroksidi, karbonati i
- (5) ugrađeni u strukture silikatnih minerala.

Ekstrakcijom se iz zemljišta izdvajaju metali i određuje njihova količina iz ovih različitih oblika (Tessier et al., 1979).

Da bi došlo do fitoekstrakcije, zagađivači moraju da budu biodostupni (spremni da se apsorbuju u korenu). Biodostupnost zavisi od rastvorljivosti metala u zemljišnom rastvoru. Samo metali u oblicima 1 i 2 (gore) su odmah dostupni za korišćenje od strane biljaka. Neki metali, kao što su Zn i Cd, se javljaju pre svega u zamenljivoj, lako

biodostupnoj formi. Drugi, kao Pb, javljaju se u teško rastvorljivoj, znatno manje biodostupnoj formi.

Biodostupnost teških metala u kontaminiranim zemljištima je različita čak i za iste elemente, i u velikoj meri zavisi od tipa zemljišta i meteoroloških uslova. Pored toga, neophodno je poznavati odnos između biodostupnosti teških metala i izvora zagađenja. Prirodni izvori teških metala nastaju pod uticajem vremenskih uslova na rudnike bogate ovim metalima (koji su inače antropogeno stvoreni). Pod uticajem činilaca sredine, kao što su pH, kiseonik, voda i zagrevanje, vremenski uslovi, dolazi do ubrzavanja niza složenih reakcija kao što su rastvaranje-taloženje, oksidacija-redukcija, adsorpcija-desorpcija. Zbog toga je koncentracija teških metala u zemljištima oko rudnika često veća od njihovih početnih nivoa u samim ležištima.

Neke rude su izvori teških metala u zemljištima čak i ako se one nalaze duboko ispod površine zemljišta. Većina fatalnih posledica za ljude prouzrokovane su od antropogenih zagađenja. Izvori ovog zagađenja nastaju kao rezultat rudarstva, topljenja i prerade ruda, navodnjavanja iz kanalizacije koja sadrži teške metale, korišćenja kanalizacionog mulja u poljoprivredi, primene pesticida i hemijskih đubriva, oslobađanja izduvnih gasova iz automobila i iz komunalnog otpada (Xu and Yang , 1995).

Kao glavni faktori koji utiču na ponašanje teških metala u zemljištu izdvajaju se pH vrednost, elektrojni potencijal, sadržaj i sastav koloida i uticaj klime, hidrologije i biologije.

Iako je biodostupnost teških metala u zemljištu vrlo složena, postoje neke zakonitosti po kojima se mogu svrstati u vodorastvorne, razmenljive, ili vezane za organsku materiju, karbonate, Fe-Mn okside i ostale oblike vezane u kristalnoj rešetki rude.

Dakle, teški metali u zemljištu, u zavisnosti od mehanizama usvajanja od strane biljaka, mogu se naći u tri oblika, kao:

- 1) dostupni (pristupačni),
- 2) zamenljivi i
- 3) nedostupni.

Dostupni teški metali imaju slobodne jone i helatne jone koje biljke lako usvajaju. Nedostupni teški metali su u ostalim oblicima i njih biljke veoma teško

usvajaju. Između dostupnih i nedostupnih su oni koji su vezani za organsku materiju, karbonate ili Fe-Mn okside, koji se delimično usvajaju od strane biljaka.

Dostupni i nedostupni oblici teških metala su često u stanju ravnoteže. Kada se biodostupnost teških metala smanji usvajanjem od strane biljaka, oni mogu biti zamenjeni nedostupnim oblicima teških metala. Ako se biodostupnost teških metala poveća zbog ulaska iz spoljne sredine, neke biodostupne i zamenjive frakcije mogu da pređu u nedostupne oblike teških metala, kao rezultat spoljašnjih poremećaja ili promena uslova životne sredine, kao što su usvajanje od strane biljaka, organski helati ili temperatura i vlažnost (He et al., 1998). Dakle, bio raspoloživost teških metala je jedan od ograničavajućih faktora za fitoekstrakciju.

Imajući u vidu glavne izvore zagađenja zemljišta, teški metali koji potiču iz industrijskih otpadnih voda koje se izlivaju po površini zemljišta, lako se apsorbuju putem korenovog sistema biljaka. Obično, ovako zagađena zemljišta sadrže niske koncentracije teških metala i pogodne su za sanaciju putem fitoekstrakcije. Kada su u pitanju zemljišta kontaminirana kao posledica rudarskih aktivnosti, sloj kontaminiranog zemljišta je često veoma dubok i koncentracija teških metala u ovakvim zemljištima je vrlo visoka. Fitoekstrakcija se ne može primeniti na lokacijama gde se teški metali nalaze na velikim dubinama koje biljka ne može da dosegne. Štaviše, ako je koncentracija teških metala u zemljištu suviše visoka, biljke ne može preživeti, iako mnoge biljke imaju visoke pragove tolerancije na teške metale, iz razloga što otpornost biljaka na teške metale nije neograničena. Pored toga, na kontaminiranim lokacijama uslovi životne sredine su nepodobni za opstanak biljaka koje se mogu koristiti za fitoekstrakciju, te je to i jedan od glavnih ograničavajućih faktora za primenu ove metode.

Takođe, teški metali se u zemljištu dosta često nalaze u nedostupnom obliku. Uzastopnim gajenjem biljaka na kontaminiranim zemljištima moguće je smanjiti sadržaj teško dostupnih metala, odnosno prevesti ih iz nedostupnih u dostupne forme, ali je ovaj proces vrlo spor i dugo traje. Zato je neophodno preduzeti neke mere i aktivirati nedostupnost metala, kako bi se poboljšala efikasnost fitoekstrakcije.

Sposobnost biljaka da apsorbuju i akumuliraju teške metale nije ograničena samo na genotip, već na nju utiču i korenova (rizosferna) mikroflora, fizičke i hemijske osobine zemljišta i biodostupnost teških metala u zemljištu.

Postoje dva načina iznošenja teških metala putem biljaka. Prvi i najvažniji je usvajanje teških metala putem korena i translokacija u nadzemne delove – stablo i list (Verma et al., 2006; Fedotov and Miró, 2007; Borda and Sparks, 2008). Drugi način je usvajanje putem lišća i njihovo otklanjanje kroz koren. Obično se teški metali integrišu sa nekim proteinima ili peptidima u biljci, tako da su akumulirani u nekim tkivima i organima (Navaza et al., 2006). Kako biljke rastu, tako se postepeno povećava sadržaj teških metala akumuliranih u biljkama. Hiperakumulaciju mogu vršiti neke posebne biljke, hiperakumulatori, i to je jedna od osnovnih teorija fitoekstrakcije.

Apsorpcija, usvajanje i akumulacija teških metala od strane biljaka su dinamički procesi. U trenutku porasta biljaka ovi procesi su uravnoteženi i mogu biti poremećeni velikim promenama spoljašnjih uslova. Kada koncentracija biodostupnih teških metala opada zbog usvajanja od strane biljaka, proces transformacije od nedostupnih u biodostupne forme će se ubrzati, i akumulacija teških metala u biljkama će biti u skladu sa tim povećanjem. Kada količina biodostupnih teških metala ne može biti akumulirana od strane biljaka, sadržaj u biljci se neće više povećavati, i to je još jedno od ograničenja za efikasnost procesa fotoekstrakcije u uklanjanju teških metala iz zemljišta putem biljaka.

### **2.2.2. Uticaj svojstava zemljišta na biodostupnost metala**

Dinamika, odnosno ponašanje elemenata u zemljištu uslovljeno je mnogim faktorima, koji mogu uticati i na njihovu pokretljivost i pristupačnost za biljke. Od tih faktora mogu se izdvojiti: pH vrednost zemljišta, sadržaj organske materije i gline u zemljištu. Na primer As i Se su mobilniji u alkalnom, dok su Hg, Pb, Cd i Zn mobilniji u kiselom zemljištu (Adriano 1986; Alloway 1990; Violante et al., 2010). Pored ova tri faktora i drugi činioci mogu uticati na njihov sadržaj i pokretljivost u zemljištu kao što su: mehanički sastav i vlažnost zemljišta, sadržaj  $\text{CaCO}_3$  i hidratiranih oksida gvožđa i aluminijuma (Ubavić i sar., 1993).

Hemija interakcije metala sa zemljišnim kompleksom je odlučujuća za fitoremedijacijski koncept. U principu, sorpcija zemljišnih čestica smanjuje aktivnost metala u sistemu. Tako, ako je veći kapacitet razmene katjona u zemljištu, veća je i

sorpcija i imobilizacija metala. Kod kiselih zemljišta, desorpcija metala koji su vezani u zemljišnom rastvoru stimuliše se zbog učešća vezanih H<sup>+</sup> jona.

pH vrednost zemljišta utiče ne samo na biodostupnost metala već i na sam proces usvajanja metala putem korena. Ovaj efekat se pojavljuje kao specifičan za metale. Na primer, u *T. caerulea*, usvajanje Zn u korenu u maloj meri zavisi od pH vrednosti, dok usvajanje Mn i Cd mnogo više zavisi od kiselosti zemljišta (Brown et al., 1995; Houben et al., 2013).

Vrednost pH zemljišta ima najvažniji uticaj na dinamiku svih elemenata u zemljištu, pa i teških metala. U kiseloj sredini oslobađaju se veće količine teških metala u zemljišni rastvor, što može biti toksično za biljke. Ta toksičnost je obično prolazna, ako se radi o lakim peskovitim zemljištima, dok se na teškim glinovitim zemljištima ona duže zadržava. U tabeli 3 je prikazan uticaj pH vrednosti na sadržaj nekih teških metala u zemljištu.

Tabela 3. Uticaj pH-vrednosti na sadržaj teških metala u zemljištu

pH	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
	mg/kg					
7,2	0,04	0,005	0,4	0,6	0,2	1,4
6,3	0,30	0,2	1,7	4,2	1,8	60,0
4,0	0,50	1,5	2,1	8,6	3,4	306,0
3,3	1,40	5,3	2,7	15,0	8,1	822,0

Upravo zbog ovako velikog uticaja pH vrednosti na sadržaj teških metala u zemljištu treba biti obazriv pri izboru kultura koje će se gajiti. Kod takvih zemljišta kalcifikacija i podizanje pH do oko 6,5 znatno smanjuje njihovu toksičnost (Sommer, 1984; Clemente et al., 2010; Beesley and Marmioli, 2011; Wu et al., 2012).

Sa povećanjem pH vrednosti u zemljištu menja se i tolerantni nivo teških metala u zemljišnom rastvoru, što se za neke od njih vidi iz tabele 4.

Tabela 4. Dozvoljeni nivoi (za biljke) teških metala u zemljišnom rastvoru pri različitim pH vrednostima zemljišta (Brinkmann and Plass, 1984)

pH zemljišta	Zn	Cu	Ni	Pb
	mg/kg			
3	<20	15	≤50	90
4	20	40	≤50	200
5	40	100	<50	200
6	100	100	50	200
7	300	100	50	200

**Organska materija zemljišta** ima veliki uticaj na dinamiku mikroelemenata i teških metala. Prisustvo organske materije u zemljištu povećava adsorpciju ovih elemenata. Utvrđeno je da organska jedinjenja sa elementima stvaraju komplekse koji stabilizirajuće utiču na sadržaj ovih elemenata u zemljištu. Prema Schnitzeru i Skinneru (1967) stabilnost kompleksa teških metala sa fulvo-kiselinama ide ovim redom:



**Sadržaj gline** takođe ima veliki uticaj na dinamiku teških metala u zemljištu. Njihovo vezivanje u zemljištima bogatim glinom izuzetno je veliko. Prema Anderssonu (1979) redosled vezivanja teških metala sa glinom ide ovim redom:



Međutim, naglašava se da pH vrednost može uticati na mogućnost remećenja te stabilnosti. Takođe, i visok sadržaj sulfata u zemljištu pri visokom i niskom redoks potencijalu može prevoditi teške metale u rastvor.

Remedijacijom zemljišta treba eliminisati rizik po ljude ili životnu sredinu od toksičnih metala. Ljudske bolesti nastaju od Cd-a (Nogawa et al., 1987; Kobayashi, 1978; Cai et al., 1990; Salem et al., 2000; Awofolu, 2005), Se-a (Yang et al., 1983; Khan et al., 2007) i Pb-a u zemljištu (Chaney et al., 1999; Padmavathiamma and Li, 2007; Wuana and Okieimen, 2011). Domaće i divlje životinje su patile od trovanja Senom (Rosenfeld and Beath, 1964; Ohlendorf et al., 1986; ). Pored toga, zemljište koje je kontaminirano sa Zn, Ni iz rudnika bakra i otpadom iz topionica može biti fitotoksično za neke osetljive biljne vrste (Chaney et al., 1999; Hess and Schmid, 2002; Das et al., 2008).

Jedan od najvećih problema za ljudsko zdravlje nastaje usled kontaminacije sa olovom. Do izlaganja Pb-u može da dođe na više načina, uključujući i udisanje vazduha i unošenje sa hranom, vodom, zemljištem ili prašinom. Prekomerno izlaganje Pb-u može da dovede do epileptičnih napada, mentalne retardacije i poremećaja u ponašanju (Iqbal, 2012). Opasnost od Pb-a je povećana zbog niske mobilnosti Pb-a u životnoj sredini (Lasat, 2000).

### 2.2.3. Literatura

- Adriano D.C., Chlopecka A., Kaplan D.I., Clijsters H., Vangronsveld J. (1995) Soil contamination and remediation: Philosophy, science, and technology. 465–504, In R. Prost (ed.) Contaminated Soils 3rd Int. Conf. on the Biogeochemistry Trace Elements, Paris. 15-19 INRA Press, Paris.
- Ainza C., Trevors J., Saier M. (2010) Environmental mercury rising. *Water Air and Soil Pollution* 205: 47–48.
- Alloway B.J. (1990) *Heavy metals in Soils*. Wiley, New York.
- Andersson A. (1979) On the distribution of heavy metals as compared to some other elements between grain size fraction. *Swedish Journal of Agricultural Research* 9: 7.
- Arora M., Kiran B., Rani S., Rani A., Kaur B., Mittal N. (2008) Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. *Food Chemistry* 111: 811–815.
- Asami T. (1998) Soil pollution by metals from mining and smelting activities. 144–169, In W. Salomons and U. Forstner (ed.) *Chemistry and biology of solid waste*, Springer-Verlag, Berlin.
- Awofolu O. (2005) A survey of trace metals in vegetation, soil and lower animal along some selected major roads in metropolitan city of Lagos. *Environmental Monitoring and Assessment* 105: 431–447.
- Barceló J., Poschenrieder C. (2003) Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science* 2 (3): 333–344.
- Beesley L., Marmiroli M. (2011) The immobilisation and retention of soluble arsenic, cadmium and zinc by biochar. *Environmental Pollution* 159 (2): 474–480.
- Borda M.J., Sparks D.L. (2008) Mobility of trace elements in soil environments. In: A. Violante, P.M. Huang, G.M. Gadd (eds). *Biophysico-Chemical Processes of Metals and Metalloids in Soil Environments*, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 97–168.
- Brinkmann W.L.F., Plass W. (1984) The Spatial Distribution of Heavy Metals in the Soils of the Steinbach Basin - Rhine-Main Area. *Proceedings of International Symposium on Recent Investigations in the Zone of Aeration*, Munich, 1: 57–68.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S. and Baker A.M. (1995) Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal-tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils. *Environmental Science and Technology* 29: 1581–1585.

- Cai S., Yue L., Hu Z., Zong X., Ye Z., Xu H., Liu Y., Ji R., Zhang, W., Zhang F. (1990) Cadmium exposure and health effects among residents in an irrigation area with ore dressing wastewater. *Science of the Total Environment* 90: 67–73.
- Chaney R.L., Li Y.M., Angle J.S., Baker A.J.M., Reeves R.D., Brown S.L., Homer F.A., Malik M., Chin M. (1999) Improving metal-hyperaccumulators wild plants to develop commercial phytoextraction systems: Approaches and progress. In *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, eds. N. Terry, G.S. Bañuelos, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Chehregani A., Malayeri B.E. (2007) Removal of heavy metals by native accumulator plants. *Int. J. Agri. Biol.* 9: 462–465.
- Clemente, R., Hartley, W., Riby, P., Dickinson, N.M., Lepp, N.W. (2010) Trace element mobility in a contaminated soil two years after field-amendment with a greenwaste compost mulch. *Environmental Pollution* 158 (5): 1644–1651.
- Das K., Das S., Dhundasi S. (2008) Nickel, its adverse health effects and oxidative stress. *Indian Journal of Medical Research* 128: 412–425.
- Degraeve N. (1981) Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutation Research* 86: 115–135.
- Duda-Chodak A., Baszczyk U. (2008) The impact of nickel on human health. *Journal of Elementology* 13: 685–696.
- Fedotov P.S., Miró M. (2007) Fractionation and Mobility of Trace Elements in Soils and Sediments. In: *Biophysico-Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments* 467–520.
- Fulekar M., Singh A., Bhaduri A.M. (2009) Genetic engineering strategies for enhancing phytoremediation of heavy metals. *African Journal of Biotechnology* 8: 529–535.
- Govindasamy C., Arulpriya M., Ruban P., Francisca L.J., Ilayaraja A. (2011) Concentration of heavy metals in seagrasses tissue of the Palk Strait, Bay of Bengal. *International Journal of Environmental Science* 2: 145–153.
- Gulati K., Banerjee B., Bala Lall S., Ray A. (2010) Effects of diesel exhaust, heavy metals and pesticides on various organ systems: possible mechanisms and strategies for prevention and treatment. *Indian Journal of Experimental Biology* 48: 710–721.
- Hazrat A, Ezzat K., Sajad M.A. (2013) Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. *Chemosphere* 91: 869–881.
- He Z.L., Zhou Q.X., Xie Z.M. (1998) *Soil-chemical Balances of Pollution and Beneficial Elements*. China Environmental Science Press 129–130.
- Hess,R., Schmid B. (2002) Zinc supplement overdose can have toxic effects. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 24: 582–584.
- Houben, D., Evrard, L., Sonnet, P. (2013) Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere* 92 (11): 1450–1457.
- Iqbal M.P. (2012) Lead pollution - a risk factor for cardiovascular disease in Asian developing countries. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 25: 289–294.
- Kabata-Pendias A, Pendias H. (1989) *Trace elements in the Soil and Plants*. CRC Press, Boca raton, FL.



- Kara, Y. (2005) Bioaccumulation of Cu, Zn and Ni from the wastewater by treated *Nasturtium officinale*. *International Journal of Environmental Science and Technology* 2: 63–67.
- Khan M.A., Ahmad I., Rahman I. (2007) Effect of environmental pollution on heavy metals content of *Withania somnifera*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 54: 339–343.
- Kobayashi J. (1978) Pollution by cadmium and the itai-itai disease in Japan. In: *Toxicity of heavy metals in the Environment*, ed. F. W. Oehme, 199–260. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Lasat M.M. (2000) Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Journal of Hazardous Substance Research* 2: 5–25.
- Meers E., Slycken S.V., Adriaensen K., Ruttens A., Vangronsveld J., Laing G.D., Witters N., Thewys T., Tack F.M.G. (2010) The use of bio-energy crops (*Zea mays*) for ‘phytoremediation’ of heavy metals on moderately contaminated soils: a field experiment. *Chemosphere* 78: 35–41.
- Memon A.R., Aktoprakligil D., Ozdemir A., Vertii A. (2001) Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turkish Journal of Botany* 25: 111–121.
- Memon A.R., Schröder P. (2009) Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 162–175.
- Mishra S., Dwivedi S.P., Singh R.B. (2010) A review on epigenetic effect of heavy metal carcinogenesis on human health. *The Open Nutraceuticals Journal* 3: 188–193.
- Navaza A.P., Montes-Bayon M., LeDuc D.L., Terry N., Sanz-Medel A. (2006) Study of phytochelatin and other related thiols as complexing biomolecules of As and Cd in wild type and genetically modified *Brassica juncea* plants. *Journal of Mass Spectrometry* 41: 323–331.
- Neustadt J., Pieczenik S. (2007) Toxic-metal contamination: mercury. *Integrative Medicine* 6 (2): 36–37.
- Nogawa K., Honda R., Kido T., Tsuritani I. and Yamada Y. (1987) Limits to protect people eating cadmium in rice, based on epidemiological studies. *Trace Substances in Environmental Health* 21: 431–439.
- Ohlendorf H.M., Oldfield J.E., Sarka M.K., Aldrich T.W. (1986) Embryonic mortality and abnormalities of aquatic birds: Apparent impacts by selenium from irrigation drain water. *Science of the Total Environment* 52: 49–63.
- Padmavathamma P.K., Li L.Y. (2007) Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants. *Water Air and Soil Pollution* 184: 105–126.
- Pulford I., Watson C. (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - a review. *Environment International* 29: 529–540.
- Rodrigues S., Henriques B., Reis A., Duarte A., Pereira E., Römken P.F.A.M. (2012) Hg transfer from contaminated soils to plants and animals. *Environmental Chemistry Letters* 10: 61–67.
- Rosenfeld I., Beath O.A. (1964) *Selenium: Geobotany, Biochemistry, Toxicity and Nutrition*. Academic Press, New York, NY.
- Salem H.M., Eweida E.A., Farag A. (2000) Heavy Metals in Drinking Water and their Environmental Impact on Human Health. ICEHM, Cairo University, Egypt, 542–556.
- Schnitzer M. and Skinner S. M. I. (1967) Organo-metallic interaction in soils, 5. Stability constants of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  - fulvic acid. *Soil Science* 102: 361–365.

- Sheoran V., Sheoran A., Poonia P. (2011) Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41: 168–214.
- Sommer G., (1984) Pflanzenverfügbarkeit von Schwermetallen in einer Los-Parabraunerde nach langjährige Düngung mit Klarschlammen. Dissertation, Agrarw. Fak. Univ. Hohenheim.
- Tariq M., Ali M., Shah Z. (2006) Characteristics of industrial effluents and their possible impacts on quality of underground water. *Soil & Environment* 25 (1): 64–69.
- Tessier A., Campbell P.G., Bisson M. (1979) Sequential extraction procedures for the specification of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 5: 844–855.
- Thangavel P., Subbhuraam C. (2004) Phytoextraction: role of hyperaccumulators in metal contaminated soils. *Proceedings of the Indian National Science Academy, Part B* 70: 109–130.
- Tripathi R.D., Srivastava S., Mishra S., Singh N., Tuli R., Gupta D.K., Maathuis F.J.M. (2007) Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends in Biotechnology* 25: 158–165.
- Ubavić M., Bogdanović D. (1995) *Agrohemija*, Poljoprivredni Fakultet, Novi Sad.
- Ubavić M., Dozet D., Bogdanović D. (1993) Teški metali u zemljištu. U: R. Kastori (ured.), *Teški metali i pesticidi u zemljištima Vojvodine*, Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 31–46.
- Verma P., George K.V., Singh H.V., Singh S.K., Juwarkar A., Singh R.N. (2006) Modeling rhizofiltration: Heavy-metal uptake by plant roots. *Environmental Modeling and Assessment* 11(4): 387–394.
- Violante A., Cozzolino V., Perelomov L., Caporale A.G., Pigna M. (2010) Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10 (3): 268–292.
- Wu L., Li Z., Akahane, I., Liu L., Han C., Makino T., Luo Y., (...), Christie P. (2012) Effects of organic amendments on Cd, Zn and Cu bioavailability in soil with repeated phytoremediation by *Sedum plumbizincicola*. *International Journal of Phytoremediation* 14 (10): 1024–1038.
- Wuana R.A., Okieimen F.E. (2011) Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology* 1–20.
- Xia H.P. (2004) Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere* 54: 345–353.
- Xu J.L., Yang J.R. (1995) *The Heavy Metals in Terrestrial Ecology System*. Chinese Environmental Science Press, China, Beijing.
- Yang G., Wang S., Zhou R., Sun S. (1983) Endemic selenium intoxication of humans in China. *American Journal of Clinical Nutrition* 37: 872–81.

### 2.3. FITOREMEDIJACIJA I ODRŽIVI RAZVOJ

Jedan od načina za uklanjanje teških metala iz zemljišta na kome se danas dosta radi je biološka rekultivacija – gajenje biljaka na takvim zemljištima.

Posebna pažnja se posvećuje pronalazenju biljnih vrsta koje bi akumulirale određene teške metale i na taj način ih iznosile iz zemljišta. Biomasa ovih biljaka se ne koristi za ishranu, već se suši, spaljuje i deponuje na za to određenim mestima (Hamed et al., 2006; Vangronsveld et al., 2009; Bani et al., 2010; Satpathy and Reddy, 2013; Paz-Ferreiro et al., 2014).

Uklanjanje teških metala iz zemljišta može se vršiti i pomoću mikroorganizama, koji vrše njihovu mobilizaciju iz minerala (na primer iz sulfida:  $\text{FeS}_2 = \text{Fe}^{2+} + \text{SO}_4^{2-}$ ), nakon čega je moguće njihovo lakše otklanjanje iz zone korenovog sistema ispiranjem.

Smanjenje štetnog dejstva teških metala za biljke (fitotoksičnosti) vrši se adekvatnim procesima imobilizacije rastvorljivih oblika odgovarajućim meliorativnim merama u biološkoj rekultivaciji (neutralizacija, humizacija i sl). Ovim načinom, osim smanjenja veće akumulacije teških metala u biljkama, ne postiže se i stalna dekontaminacija, već samo “blokada” (Beesley and Marmiroli, 2011; Ali et al., 2013).

U današnjim uslovima, u mnogim ekosistemima, koji su pod uticajem čoveka degradirani, brojni mikroorganizmi, a pre svega bakterije, dobijaju i svoju novu ekološku ulogu. Naime, određene heterotrofne bakterije imaju sposobnost da razlažu različite sintetičke materije, pesticide, mineralna đubriva i druge štetne materije koje dospevaju u zemljište (Stevanović i Janković, 2001). Ovde se radi o biotehnologiji poznatoj pod nazivom *bioremedijacija*. Eszényiová et al. (2000) definišu bioremedijaciju i kao menadžment životne sredine, koji se sprovodi s ciljem da se podstakne razlaganje organskog zagađenja pomoću mikroorganizama. Iako se ona široko koristi u svetu za saniranje organskog zagađenja u životnoj sredini, ona nije rešenje za sva zagađenja. Kao i ostale tehnologije, i ona je ograničena vrstom zagađenja koje može da sanira, uslovima u životnoj sredini i vremenom potrebnim za njeno odvijanje.

Dok je, s jedne strane, ona izuzetno korisna kod tretiranja zagađenja poreklom od ugljovodonika nafte, dotle je praktično nemoćna u slučajevima zagađenja teškim metalima. Prisustvo teških metala i soli predstavlja ograničavajući faktor, jer u takvim

uslovima dolazi do inhibicije rasta mikroorganizama i onemogućavanja ili značajnog usporavanja bioremedijacije (Reis, 1996). Bioremedijacija ne može da katališe razgradnju teških metala, ali može da ih transformiše tako da promeni njihovu pokretljivost ili da ih koncentruje na takav način, da mogu lako da se izdvoje iz zagađene sredine (Atlas, 2002). Veliki je broj radova u literaturi koji govori o tome da neke više biljke imaju prirodni potencijal da iz zemljišta i vode uklone toksične teške metale. Ovo njihovo prirodno svojstvo osnova je za biotehnologiju poznatu kao fitoremedijacija.

Dakle, druga biotehnologija je primena biljaka, koje ekstrahuju teške metale iz zemljišta, stimulišu degradaciju organskih zagađujućih materija ili ih stabilizuju (EPA/600/R-99/107, cit: Reichenauer, 2002). Sve je više dokaza koji nedvosmisleno ukazuju na veliki prirodni potencijal odnosno snagu koju biljke poseduju za uklanjanje različitih vrsta zagađujućih materija iz prirode.

Fitoremedijacija je tehnologija koja se još uvek razvija, mada su brojni podaci i rezultati već prisutni u literaturi. Ona se može uspešno kombinovati sa ostalim biotehnologijama, a naročito kada su u pitanju zagađeni lokaliteti sa složenom problematikom.

Američka agencija za zaštitu životne sredine EPA (Pilipović i sar., 2002) definisala je fitoremedijaciju kao tehnologiju koja koristi biljke i njihove rizosferične mikroorganizme da ukloni, degradira ili zadrži štetne hemijske materije koje se nalaze u zemljištu, podzemnim i površinskim vodama i atmosferi.

Intenzivna istraživanja započeta su u poslednjoj dekadi prošlog veka u Sjedinjenim Državama (Pilipović i sar., 2002), mada je još davne 1885. godine Baumann (Lasat, 2002) identifikovao neke biljne vrste koje su bile sposobne da akumuliraju u svojim tkivima neuobičajno velike količine cinka. Nakon toga, isti autor navodi, Byers je 1935. godine saopštio sličnu pojavu, ali ovog puta vezanu za metal selen i to kod *Astragalus spp.*, da bi jednu deceniju kasnije, tačnije 1948, Minguzzi i Vergnano, identifikovali biljne vrste koje su bile sposobne da akumuliraju čak do 1% nikla u svojim izdancima. Ovo su naravno bili počeci istraživanja biljaka koje imaju sposobnost hiperakumulacije pojedinih teških metala u svojim tkivima.

Iako su brojna istraživanja već izvršena ili su u toku, još puno truda i napretka treba uložiti da bi se prirodni potencijal biljaka iskoristio i u komercijalne svrhe

(Reichenauer, 2002). Isti autor smatra da je napredak u smislu komercijalizacije ove biotehnologije usporen nedovoljnim poznavanjem složenog odnosa koji postoji između rizosfere i mehanizama koji su zasnovani na sposobnosti biljaka da usvajaju i translociraju metale iz zagađene sredine.

### **2.3.1. Mehanizami fitoremedijacije i vrste fitoremedijacionih tehnika**

Koncept fitoremedijacije (kao fitoekstrakcije) je predložio Chaney (1983). Ideja je bila dobro prihvaćena, jer je pogodna za primenu na velikim poljskim površinama, gde druge remedijacione metode nisu isplative ili izvodljive (Garbisu and Alkorta, 2003). Fitoremedijacija ima niske početne i troškove održavanja u odnosu na druge opcije remedijacije (Van Aken, 2009). Što se tiče troškova, fitoremedijacija može da košta do 5% manje od drugih alternativnih metoda čišćenja zemljišta (Prasad, 2003). Uspostavljanje vegetacije na zagađenim zemljištima takođe sprečava eroziju zemljišta (Chaudhry et al., 1998).

Sa ekonomske tačke gledišta, korist od fitoremedijacije zagađenog zemljišta može biti trostruka (Vangronsveld et al., 2009):

- (1) smanjivanje rizika (fitostabilizacija);
- (2) metali koji se izdvajaju fitoekstrakcijom imaju svoju tržišnu vrednost, kao što su Ni, Tl i Au;
- (3) trajno upravljanje zemljištem gde fitoekstrakcija postepeno poboljšava kvalitet zemljišta za kasnije gajenje useva sa povećanjem tržišne vrednosti.

Osim toga, brz rast i visoki prinos biomase kod biljaka kao što su vrba, topola i sl. može da se iskoristi i za proizvodnju energije putem fitoremedijacije (Abhilash et al., 2012).

Fitoremedijacija takođe uživa popularnost u javnosti kao "zelena", čista alternativa hemijskim tehnologijama (Pilon-Smits, 2005).

Na osnovu načina delovanja biljaka na polutante, današnja nauka izdvaja nekoliko različitih sistema fitoremedijacije zemljišta i voda, koji se prema Pilipović i sar. (2002) mogu klasifikovati u 5 grupa, prikazanih u nastavku.

## ***1. Fitoakumulacija (Fitoekstrakcija)***

Fitoekstrakcija je upotreba viših biljaka s ciljem da se pomoću njih uklone zagađujuće materije, primarno teški metali, iz zemljišta (Lasat, 2002). U ovom pristupu koriste se biljke koje su sposobne da usvajaju kontaminante putem korenovog sistema i translociraju i/ili akumuliraju ih do nadzemnih delova - stabla i listova (Sekara et al., 2005; Yoon et al., 2006; Rafati et al., 2011). Po dostizanju određenog stepena rasta i razvoja vrši se žetva biomase iznad površine zemlje i na taj način se deo ukupne količine teških metala koji se nalazi u zemljištu, uklanja. Translokacija metala u nadzemni deo biljke je ključni biohemijski proces i poželjna je u situacijama kada nije moguće odstraniti koren biljke (Zacchini et al., 2009; Tangahu et al., 2011).

Utvrđeno je da biljke poseduju prirodni potencijal da uklone teške metale iz zemljišta, kao što su: Cu, Co, Fe, Mo, Mn, Ni, Zn, koji su u malim količinama biljkama neophodni za nesmetan rast i razvoj, i Cd i Pb, koje pojedine vrste biljaka takođe akumuliraju, a koji nemaju poznatu fiziološku aktivnost u biljnom organizmu.

Različite biljne vrste mogu da usvajaju i koncentrišu različite teške metale pa čak i radioaktivne elemente i olovo. Demonstracioni projekti izvedeni su na više lokacija, kao što je Černobilj u Rusiji, koji je bio teško zagađen radioaktivnim elementima nakon havarije nuklearnog reaktora. Tako npr. utvrđeno je da zemljišta kontaminirana uranijumom mogu da se tretiraju limunskom kiselinom što za 100 puta povećava mogućnost usvajanja i koncentracije ovog radioaktivnog elementa od strane korenovih sistema biljaka, jer ova kiselina povećava rastvorljivost uranijuma u vodi i njegovo usvajanje.

Skoro je utvrđeno da amonijumovi joni povećavaju sposobnost usvajanja cezijuma iz zemljišta od strane biljaka. Fuhrmann et al. (2002) su utvrdili da vrsta *Amaranthus retroflexus* čak do 40 puta više usvaja ovaj radioaktivni element iz kontaminiranog zemljišta od ostalih biljaka. Tokom jedne vegetacione sezone (tj. 3 meseca) uklonjeno je oko 3% od ukupne količine cezijuma iz zemljišta, što znači da bi celokupna količina ovog radioaktivnog elementa bila uklonjena za oko 15 godina.

Biljke su razvile mehanizme koji ih štite od potencijalnog stresa jer su teški metali za biljke toksični. Tolerancija prema sredini u kojoj postoji povećana količina teških metala, prema Baker-u (1981), nastaje kao posledica dva mehanizma: ne

usvajanja metala i detoksifikacije metala. Biljke koje poseduju prvi mehanizam ne usvajaju metale iz podloge, sprečavajući time njihovo prenošenje iz korena do izdanaka. Za razliku od njih druga grupa biljaka apsorbuje teške metale, ali ih u svojim ćelijama vezuje za molekule niske molekularne mase, ili katališu redoks reakcije kojima menjaju hemizam metalnih jona.

Iako mehanizam genetičke kontrole procesa hiperakumulacije teških metala u biljnom tkivu još uvek nije dobro shvaćen, genetska istraživanja pokazala su da su za tolerantost biljaka prema teškim metalima odgovorni neki major geni na njihovim genskim mapama (Macnair, 1993).

Smatra se da najveći broj vrsta biljaka poseduje pod prirodnim uslovima mikorize. Simbioza sa gljivama ima potencijal da poveća absorpcionu površinu korena i stimuliše usvajanje hranljivih materija, pa između ostalog i teških metala (Khan et al., 2002), ali i da utiče na premeštanje teških metala u biljci.

Iako neke biljke poseduju genetički potencijal za uklanjanje teških metala iz zemljišta, one pokazuju i neke negativne osobine s aspekta biotehnologije. Na primer, većina biljaka koje su hiperakumulatori su sitne i sporo rastuće vrste. Zbog toga je potrebno usmeriti se na genetički inženjering kako bi se veštačkim putem ove osobine korigovale. Brown et al. (1995) predlažu transfer gena odgovornih za fenotip hiperakumulacije iz vrsta koje su niske i sporo rastuće u one koje imaju visoku produkciju biomase ali nisku sposobnost hiperakumuliranja teških metala. Pilipović i sar. (2002) navode da rod *Populus* ima potencijal da ekstrahuje velike količine arsena (As) i kadmijuma (Cd).

## **2. Fitostabilizacija**

Fitostabilizacija ili fitoimobilizacija je upotreba određenih biljaka za stabilizaciju zagađivača u zemljištima (Singh, 2012). Ova tehnika se koristi za smanjenje mobilnosti i biodostupnosti zagađujućih materija u životnu sredinu, čime se sprečava njihova migracija u podzemne vode ili njihov unos u lanac ishrane (Erakhrumen, 2007).

Fitostabilizacija je proces (fenomen) proizvodnje (sintetisanja) hemijskih jedinjenja od strane biljaka kako bi se imobilisale zagađujuće materije koje se nalaze u

prostoru između površine korena i samog zemljišta. Fitostabilizacijom se takođe sprečava migracija polutanata eolskom, vodenom erozijom ili spiranjem ili dispergovanjem u zemljištu (Barceló and Poschenrieder, 2003; Ghosh and Singh, 2005; Yoon et al., 2006; Wuana and Okieimen, 2011). Fitostabilizacija se odvija kroz korenovu zonu mikrobiološkim ili hemijskim mehanizmima same zone korena pri čemu dolazi do promene hemizma zemljišta i/ili zagađujuće materije, kao što je promena pH vrednosti zemljišta kao posledica izdvajanja ekskudata korenovog sistema ili usled nastajanja ugljen dioksida.

Metali različitih valenci razlikuju se u toksičnosti. Biljke luče specijalne redoks enzime, pomoću kojih pretvaraju štetne metale u relativno manje toksične oblike i smanjuju mogući stres i oštećenja teškim metalima. Na primer, pretvaranje Cr(VI) u Cr(III) je dosta proučavano, što dovodi do manje pokretljivosti i manje toksičnosti ovog elementa (Wu et al., 2010).

Fitostabilizacija ograničava akumulaciju teških metala i smanjuje njihovo dospevanje u podzeme vode. Međutim, fitostabilizacija nije trajno rešenje jer teški metali ostaju u zemljištu, samo im je kretanje ograničeno. Zapravo, to je strategija upravljanja i stabilizacije (dezaktivacija) potencijalno toksičnih zagađivača (Vangronsveld et al., 2009).

Fitostabilizacija može da dovede do promene rastvorljivosti metala ili organskih jedinjenja. Može doći i do fitolignifikacije, odnosno oblika fitostabilizacije kada se organska jedinjenja ugrađuju u lignin biljaka.

Fitostabilizacija se s uspehom može primenjivati za prečišćavanje zemljišta, sedimenata i muljeva koji sadrže zagađujuće materije u zoni korenovog sistema, ali i dublje. U tom aspektu naročito su izučavane topole jer one poseduju koren dubine od 1,5 do 3 metra. Prednosti ovog sistema su velike, jer nije potrebno uklanjanje zemljišta odnosno njegovo prenošenje na neku drugu lokaciju, čime se postiže veća ekonomičnost. Obnova vegetacije je takođe veoma značajna jer ona pojačava održavanje ekosistema i njegovu stabilnost. Odlaganje opasnih zagađujućih materija ili biomase koja je ekstrahovana isto nije potrebno.

Dakle, fitostabilizacijom se postiže vezivanje zagađujućih materija za delove vegetacije prisutne na nekoj lokaciji koja je zagađena i to je i osnovni nedostatak ove vrste biotehnologije, jer sama zagađujuća materija ostaje na terenu, vegetacija se mora



održavati meliorativnim merama kao i đubrenjem u jednom dužem vremenskom periodu, koji je ipak vremenski ograničen. Opasnost takođe postoji i zbog toga što može da dođe do povećavanja rastvorljivosti teških metala i njihovog naknadnog ispiranja u dublje slojeve van domašaja korenovih sistema, zbog čega se mora vršiti stalna kontrola korenove zone, korenskih izlučevina, zagađujućih materija i zemljišta.

### ***3. Rizosferna biodegradacija (stimulacija mikroorganizama)***

Rizosferna degradacija se odnosi na razgradnju organskih materija u zemljištu putem mikroorganizama u rizosferi (Mukhopadhyay and Maiti, 2010). Ona se odvija u zemljištu koje je u neposrednoj okolini korenovih sistema biljaka. To je mikrobiološko razlaganje organskih zagađujućih materija koje je potpomognuto korenovim sistemima viših biljaka, jer sami korenovi sistemi luče i obezbeđuju enzime i organske supstance (polisaharidi, aminokiseline, organske i masne kiseline, faktori rasta), koje stimulišu rast i razmnožavanje mikroorganizama i omogućavaju im da svojom aktivnošću razgrade zagađujuće materije.

S druge strane korenov sistem povećeva aktivnu površinu za odvijanje degradacije zagađujućih materija, zatim poboljšava aeraciju zemljišta, sadržaj vlage u zemljištu i uopšteno doprinosi stvaranju optimalnijih uslova za dejstvo mikroorganizama (Kuiper et al., 2004; Yadav et al., 2010).

Prednosti ove metode su *in situ* uslovi razgradnje zagađujućih organskih jedinjenja, što doprinosi znatnoj uštedi materijalnih sredstava pri sanaciji zagađenja, zatim smanjena je mogućnost premeštanja zagađenja iz zemljišta u biljku i dalje u lanac ishrane, ili iz biljke u atmosferu. Nedostatak ove metode je u tome što je za odvijanje ovog procesa potrebno dosta vremena, što može biti izrazito nepovoljno kada zagađeno zemljište ima loše vodno-vazdušne, ili mehaničke osobine, koje dodatno usporavaju razvoj mikroorganizama i njihovo dejstvo kao i razvoj samih korenovih sistema biljaka.

Ova vrsta fitoremedijacije je naročito uspešna za razgradnju organskih jedinjenja poreklom iz nafte i derivata, zatim za jedinjenja BTEX kompleksa (benzen, toluen, etilbenzen i ksilen), pesticide, itd.

#### **4. Fitodegradacija (Fitotransformacija)**

Fitodegradacija ili fitotransformacija podrazumeva degradaciju zagađujućih materija putem metaboličkih procesa samih biljaka, pri čemu se to razlaganje odnosno degradacija može odvijati unutar samih biljaka, u okolini biljke pod dejstvom njenih enzima (dehalogenaze, oksigenaze) ili izlučivanjem enzima biljaka u samo zemljište (EPA, 2000), i ne zavisi od mikroorganizama u rizosferi (Vishnoi and Srivastava, 2008). Dakle, osnovni mehanizmi u ovoj fitoremedijaciji su usvajanje i metabolizam zagađujućih materija.

Osobine molekula zagađujućih jedinjenja kao što su rastvorljivost, hidrofobnost i polarnost umnogome određuju stepen uspešnosti ove biotehnologije. Umereno hidrofobna organska jedinjenja najčešće bivaju usvojena, dok jako hidrofobna ostaju vezana za površinu korena ponekad razložena u njemu, ali retko dalje translocirana (Schnoor et al., 1995). Što se polarnosti tiče, prema Bell-u (1992) nepolarni molekuli molekularne mase ispod 500 biće vezani za površinu korena, dok će polarni molekuli biti usvojeni i translocirani.

Fitodegradacija je ograničena na uklanjanje organskih zagađivača samo zato što su teški metali nerazgradivi. Nedavno, naučnici su pokazali svoje interesovanje za proučavanje fitodegradacije različitih organskih zagađivača, uključujući sintetičke herbicide i insekticide. Neke studije su pokazale da se mogu koristiti i genetski modifikovane biljke (npr. transgene topole) za ovu svrhu (Doty et al., 2007). Pilipović i sar. (2002) takođe smatraju da se topole mogu uspešno koristiti za fitodegradaciju trihloretana, atrazina, TNT-a i veštačkih đubriva kojima su zagađene podzemne vode.

Metoda fitodegradacije korisna je pri tretiranju zagađenog plitkog zemljišta, zatim podzemnih i površinskih voda i to u širokom opsegu klimatskih prilika. Prednosti ove metode se ogledaju u tome što se fitodegradacija može primeniti kod onih zemljišta koja nemaju vijabilnu i aktivnu mikrofloru, koja bi svojom aktivnošću takođe mogla doprineti razlaganju zagađujućih materija. Nedostatak je mogućnost obrazovanja toksičnih metabolita i međuproizvoda metabolizma o čemu se mora striktno voditi računa prilikom opredeljivanja i implementacije ove metode u praksi.

## ***5. Fitovolatizacija***

Fitovolatizacija je usvajanje polutanata iz zemljišta od strane biljaka, njihova konverzija u nestabilnu formu i kasnije otpustanje u atmosferu. Ova tehnika se može koristiti kod organskih zagađivača i nekih teških metala kao što su Hg i Se. Međutim, njena upotreba je ograničena činjenicom da se ne uklanja zagađivač, već se samo prenosi iz jednog segmenta (zemljište) u drugi (atmosfera), odakle se može ponovo vratiti u zemljište i vode. Fitovolatizacija je najkontraverznija od svih fitoremedijacionih tehnologija (Padmavathiamma and Li, 2007).

Fitovolatilizacija je, dakle, proces usvajanja, transporta i oslobađanja zagađujućih materija, putem mehanizma transpiracije kod viših biljaka uz otpuštanje zagađujućih materija u istom ili modifikovanom obliku u atmosferu (EPA, 2000). Emisija putem transpiracije manje toksičnih ili netoksičnih jedinjenja je završna faza ove fitoremedijacije. Početna faza je usvajanje iz zagađenog medijuma toksične ili opasne materije, zatim njena translokacija do mesta metaboličke promene i sama promena putem metaboličkih mehanizama u ćelijama tkiva biljnog orgnizma.

Fitovolatilizacija se može uspešno primenjivati za tretiranje podzemnih voda, zemljišta, sedimenata i muljeva. Da bi se ona mogla s uspehom odigravati potrebno je da budu ispunjeni neki uslovi. Kada je u pitanju zagađeno zemljište onda je neophodno da ima dobre vodne osobine da bi se zagađujuća materija mogla usvojiti. Pošto se kod ove metode radi o procesu transpiracije svi oni činioci koji utiču na odvijanje transpiracije kod biljaka mogu pozitivno ili negativno uticati i na fitovolatilizaciju. Naime, klimatski uslovi, temperatura, padavine, insolacija, vazdušni pritisak i vetar znatno mogu uticati na efikasnost i količinu transpirisane zagađujuće materije.

Ukoliko dođe do transformacije zagađujuće materije u manje štetna jedinjenja postoji mogućnost da nakon transpiracije dođe do dalje transformacije pod uticajem sunčeve energije u procesu fotodegradacije.

Problem kod fitovolatilizacije može da predstavlja emisija u atmosferu štetnih jedinjenja koja mogu da imaju kancerogeno dejstvo, kao što je vinil hlorid, koji se u nekim slučajevima dobija metabolizmom trihloretana. Drugi nedostatak predstavlja mogućnost akumulacije štetnih metabolita i među-proizvoda u biljnim tkivima i plodovima čime oni mogu da uđu u lanac ishrane.

### 2.3.2. Literatura

- Abhilash P.C., Powell J.R., Singh H.B., Singh B.K. (2012) Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. *Trends in Biotechnology* 30: 416–420.
- Ali H., Khan E., Sajad M.A. (2013) Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. *Chemosphere* 91 (7): 869–881.
- Baker A.J.M. (1981) Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* 3: 643–654.
- Bani A., Pavlova D., Echevarria G., Mullaj A., Reeves R.D., Morel J.L., Sulçe S. (2010) Nickel hyperaccumulation by the species of *Alyssum* and *Thlaspi* (Brassicaceae) from the ultramafic soils of the Balkans. *Botanica Serbica* 34 (1): 3–14.
- Barceló J., Poschenrieder C. (2003) Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science* 2 (3): 333–344.
- Beesley L., Marmiroli M. (2011) The immobilisation and retention of soluble arsenic, cadmium and zinc by biochar. *Environmental Pollution* 159 (2): 474–480.
- Bell R.M. (1992) Higher plant accumulation of organic pollutants from soils. Cincinnati, OH: Risk reduction engineering Laboratory, EPA/600 R-92/138.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S. and Baker A.J.M. (1995) Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal* 59: 125–133.
- Chaney R.L. (1983) Plant uptake of inorganic waste constituents. In: Parr, J.F.E.A. (Ed.), *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Noyes Data Corp., Park Ridge, NJ, 50–76.
- Chaudhry T.M., Hayes W.J., Khan A.G., Khoo C.S. (1998) Phytoremediation - focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 4: 37–51.
- Doty S.L., Shang Q.T., Wilson A.M., Moore A.L., Newman L.A., Strand S.E. (2007) Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian P450 2E1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 97: 6287–6291.
- EPA (2000) Introduction to phytoremediation. Ohio: US Environmental Protection Agency, EPA /600/R-99/107, 45268.
- Erakhrumen A.A. (2007) Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. *Educational Research and Review* 2: 151–156.
- Eszényiová A., Polakovicová G., Bilská V., Rajnohová H. (2000) Biological clean-up of hydrocarbon pollution. *Petroleum Technology Quarterly* 133–137.
- Fuhrmann M., Lasat M.M., Ebbs S.D., Kochian L.V., Cornish J. (2002) Uptake of cesium-137 and strontium-90 from contaminated soil by three plant species; application to phytoremediation. *Journal of Environmental Quality* 31 (3): 904–909.

- Garbisu C., Alkorta I. (2003) Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection* 3: 58–66.
- Ghosh M., Singh S.P. (2005) A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 1–18.
- Hamed M.M., Badaw, J.C., El-Housseini M., Abdel-Shafi E (2006) Phytoremediation of heavy metal contaminated soil using *Sorghum virgatum*. *Journal of Engineering and Applied Science* 53 (6): 731–748.
- Khan A.G., Keuk C., Chaudhry T.M., Khoo C.S. and Hayes W.J. (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41: 197–207.
- Kuiper I., Legendijk E.L., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J.J. (2004) Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17: 6–15.
- Lasat M.M. (2002) Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms, *Journal of Environmental Quality* 31: 109–120.
- Macnair M.R. (1993) The genetics of metal tolerance in vascula plants. *New Phytologist* 124: 541–559.
- Mukhopadhyay S., Maiti S.K. (2010) Phytoremediation of metal enriched mine waste: a review. *Global Journal of Environmental Research* 4: 135–150.
- Padmavathiamma P.K., Li L.Y. (2007) Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants. *Water Air and Soil Pollution* 184: 105–126.
- Paz-Ferreiro J., Lu H., Fu S., Méndez A., Gascó G. (2014) Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: A review. *Solid Earth* 5 (1): 65–75.
- Pilipović A., Klačnja B., Orlović S. (2002) Uloga topola u fitoremedijaciji zemljišta i podzemnih voda. *Topola* 169/170: 57–66.
- Pilon-Smits E. (2005) Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56: 15–39.
- Prasad M.N.V. (2003) Phytoremediation of metal-polluted ecosystems: hype for commercialization. *Russian Journal of Plant Physiology* 50: 686–700.
- Rafati M., Khorasani N., Moattar F., Shirvany A., Moraghebi F., Hosseinzadeh S. (2011) Phytoremediation potential of *Populus alba* and *Morus alba* for cadmium, chromium and nickel absorption from polluted soil. *International Journal of Environmental Research* 5: 961–970.
- Reichenauer T. (2002) Selection of Stress-Resistant clones of *Populus nigra* and Possible Application. In: van Dam C. Barbara and S. Bordacs, *Proceedings of an International Symposium Europop, Szekszard, Hungary*.
- Reis J. (1996) *Environmental Control in Petroleum Engineering*. Gulf Publishing Company, Houston, Texas, USA.
- Satpathy D., Reddy, M.V. (2013) Phytoextraction of Cd, Pb, Zn, Cu and Mn by Indian mustard (*Brassica juncea* L.) grown on loamy soil amended with heavy metal contaminated municipal solid waste compost. *Applied Ecology and Environmental Research* 11 (4): 661–679.
- Schnoor J.L., Licht L.A., Mccutcheon S.C., Wolfe N.L., Carreira L.H. (1995) Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environmental Science and Technology* 29: 318A–323A.
- Scullion J. (2006) Remediating polluted soils. *Naturwissenschaften* 93 (2): 51–65.

- Sekara A., Poniedzialek M., Ciura J., Jedrzczyk E. (2005) Cadmium and lead accumulation and distribution in the organs of nine crops: implications for phytoremediation. *Polish Journal of Environmental Studies* 14: 509–516.
- Singh S. (2012) Phytoremediation: a sustainable alternative for environmental challenges. *International Journal of Green and Herbal Chemistry* 1: 133–139.
- Stevanović B., Janković M.M. (2001) *Ekologija biljaka sa osnovama fiziološke ekologije biljaka*. NNK, Beograd.
- Tangahu B.V., Abdullah S.R.S., Basri H., Idris M., Anuar N., Mukhlisin M. (2011) A review on heavy metals (As, Pb and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, Art. ID 939161 (SCOPUS)
- Van Aken B. (2009) Transgenic plants for enhanced phytoremediation of toxic explosives. *Current Opinion in Biotechnology* 20: 231–236.
- Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., Van der Lelie D., Mench M. (2009) Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 765–794.
- Vishnoi S.R., Srivastava P.N. (2008) Phytoremediation - green for environmental clean. In: *The 12th World Lake Conference*, 1016–1021.
- Wu G., Kang H., Zhang X., Shao H., Chu L., Ruan C. (2010) A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *Journal of Hazardous Materials* 174: 1–8.
- Wuana R.A., Okieimen F.E. (2011) Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology* 1–20.
- Yadav R., Arora P., Kumar S., Chaudhury A., (2010) Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities. *Ecotoxicology* 19: 1574–1588.
- Yoon J., Cao X., Zhou Q., Ma L.Q. (2006) Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of The Total Environment* 368: 456–464.
- Zacchini M., Pietrini F., Mugnozza G.S., Iori V., Pietrosanti L., Massacci A. (2009) Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. *Water Air and Soil Pollution* 197: 23–34.

## 2.4. PREDNOSTI I NEDOSTACI FITOREMEDIJACIJE

Kao što je ranije pomenuto, fitoremedijacija je relativno nova oblast istraživanja i primene. Trenutno većina istraživanja je ograničena na laboratorijska ispitivanja i staklenike, dok je vrlo malo istraživanja sprovedeno i testirana efikasnost fitoremedijacije na otvorenom polju. Rezultati u realnim uslovima u polju mogu biti različiti od onih dobijenih u laboratorijskim uslovima i staklenicima (Ji et al., 2011) zato što je otvoreno polje realni svet gde različiti faktori istovremeno deluju i imaju svoju ulogu. Faktori koji mogu da utiču na fitoremedijaciju na otvorenom polju uključuju varijacije u temperaturi, hranljivim elementima, atmosferskim padavinama i vlazi, biljnim bolestima, nejednakoj raspodeli zagađivača, tipu zemljišta, pH zemljišta, strukturi zemljišta (Vangronsveld et al., 2009). Efikasnost fitoremedijacije različitih biljaka za ciljane teške metale mora biti testirana u poljskim uslovima u cilju realizacije izvodljivosti ove tehnologije za komercijalizaciju.

Nakon identifikacije poželjnih osobina u prirodnim hiperakumulatorima, te osobine se mogu izdvojiti konvencionalnim tehnikama oplemenjivanja ili korišćenjem novih metoda hibridizacije kao što je fuzija protoplasta ili genska manipulacija kod transgenih biljaka (Pollard et al., 2002). U toku je istraživanje da se identifikuje genski kod za hiperakumulaciju određenih teških metala u biljkama. Identifikacija i uspešna transformacija takvih gena u odgovarajuće biljke omogućava da se dobiju tzv. "superbag" biljke za fitoremedijaciju. Transgene (modifikovane) biljke mogu biti tako razvijene da luče selektivne metalne ligande u rizosferu, kojima bi omogućili veću rastvorljivost elemenata koji su važni za fitoremedijaciju (Thakur, 2006). Na taj način različite poželjne osobine mogu da se kombinuju u jednoj biljci, koja će najbolje služiti svrsi.

Međutim, genske transformacije moraju da se proučavaju vrlo pažljivo i odgovorno, kako bi se izbegli neželjeni štetni efekti na biosferu u sadašnjosti i u budućnosti. Dobro razumevanje hemijskih osobina i ponašanja metala u biljnim tkivima pomoći će istraživačima da precizno definišu proces fitoremedijacije (Saraswat and Rai, 2011). Uprkos brojnim novim izazovima i nepoznicama, fitoremedijacija se smatra zelenom, ekološkom remedijacionom tehnologijom sa očekivanim visokim potencijalom u budućnosti.

Jedna od najvećih prednosti fitoremedijacije, kao i nekih drugih biotehnologija, kao što je na primer bioremedijacija, je ta što ona spada u jednu od jeftinijih biotehnologija koja je uz to i prirodna, «environmental friendly» (Lasat, 2002), odnosno njenom primenom ne opterećuje se dodatno životna sredina jer se kao činioci prečišćavanja koriste isključivo prirodni objekti tj. one vrste koje i inače mogu da rastu ili rastu na datom zagađenom području.

Pilipović i sar. (2002) navode kao prednost to da se obezbeđivanje energije za ovu biotehnologiju odvija na potpuno prirodan način jer biljke same koriste energiju sunca u onoj meri u kojoj im je neophodna kako za rast, razvoj i obavljanje svih fizioloških procesa, tako i za mehanizme fitoremedijacije.

Zatim, ovom biotehnologijom postižu se i neke propratne pojave koje nisu od malog značaja za očuvanje životne sredine, a čiji značaj se menja u zavisnosti od toga koja se biljna vrsta ili vrste primenjuju u fitoremedijaciji. Sadnjom nekih drvenastih vrsta stvaraju se i zaštitni pojasevi koji mogu efikasno da smanje buku u regionu i da predstavljaju zaštitu od vetra, da smanje emisiju ugljen dioksida u atmosferu, da stvore nova staništa za razvoj faune ili da predstavljaju izvor biomase za seču stabala na kraju tretmana ukoliko ih je potrebno ukloniti sa date lokacije.

Prema Ernst-u (1996), uspešnost fitoremedijacije zavisi od:

- stepena zagađenja zemljišta,
- dostupnosti metala za usvajanje korenovima biljaka (biodostupnost) i
- sposobnosti biljaka da absorbuju i akumuliraju teške metale u svojim organima.

S druge strane postoje ograničenja u smislu tipa zagađenja (toksične materije) koji je prisutan u prirodi kao i na njegovu koncentraciju, jer ukoliko ta koncentracija prevazilazi kapacitet vrste za tolerantnost prema toksičnoj materiji, ona će na nju delovati supresivno pa možda i letalno. Ovo se posebno odnosi na zagađenja poreklom od pesticida (Anderson, 2002).

Dakako, jedan od takođe veoma važnih činioca kada je u pitanju primenljivost i uspešnost fitoremedijacije jeste i dostupnost zagađujućih materija biljci i njenoj rizosferi. Da bi se zagađujuća materija s uspehom mogla sanirati ona prvo ne sme biti preduboko s obzirom da je mesto dešavanja vezano za zemljište koje okružuje korenove biljaka tj. rizosferu. Zatim, ona ne sme biti suviše čvrsto vezana za čestice zagađenog



zemljišta, kao što to može biti slučaj kada imamo veliki udeo frakcije gline u istom. Glina je poznata po tome da ima veliku moć adsorpcije molekula na svojoj površini. Korenovi biljaka će najbolje i najlakše usvajati one molekule, jone i atome koji se nalaze rastvoreni u zemljišnom rastvoru.

Odabir vrste koja će se primeniti u fitoremedijaciji je kritičan korak koji određuje uspešnost fitoremedijacije (Anderson, 2002). Zato je poznavanje vrsta, njihove celokupne ekologije, kao i fiziologije i osobina njihovih tkiva i organa, odnosno anatomije i morfologije od vitalnog značaja.

Iako je fitoremedijacija obećavajući pristup za remedijaciju zemljišta kontaminiranih teškim metalima, ona takođe ima i izvesna ograničenja (Clemens, 2001; Tong et al., 2004; LeDuc and Terry, 2005; Karami and Shamsuddin, 2010; Mukhopadhyay and Maiti, 2010; Naees et al., 2011; Ramamurthy and Memarian, 2012). Neka od tih ograničenja su:

- Dug vremenski period za čišćenje zemljišta;
- Efikasnost fitoremedijacije kod većine hiperakumulatora metala je obično ograničena njihovim sporim rastom i malom biomasom;
- Poteškoće u mobilizaciji čvrsto vezanih jona metala za čestice zemljišta, odnosno ograničena bioraspoloživost zagađivača u zemljištu. Primenjiva je samo na područjima sa niskim do umerenim koncentracijama metala, jer je rast biljaka otežan na veoma zagađenim zemljištima;
- Postoji rizik od kontaminacije hrane u slučaju lošeg upravljanja i nedostatka odgovarajuće odgovornosti i brige.

U sažetoj formi Pilipović i sar. (2002) ističu sledeće nedostatke i ograničenja fitoremedijacije:

- Primena je ograničena na plića zemljišta;
- Primena je ograničena kod pojedinih vrsta vodotokova;
- Za svaku biljnu vrstu postoje određene vrednosti ekoloških faktora pa tako i u pogledu tolerancije biljaka prema toksičnim materijama;
- Vremenski period za odvijanje uklanjanja zagađenja iz životne sredine je veći nego kod neke druge metode, na primer mehaničkog uklanjanja;
- Fitoremedijacija je efikasna samo na umereno hidrofobna jedinjenja;
- Postoji potencijalna opasnost da dođe do ulaska toksina u lanac ishrane unošenjem biljnih tkiva sa akumulirnim zagađujućim materijama u životinje i njegova dalja distribucija kroz lanac ishrane.

### 2.4.1. Literatura

- Anderson A.T. (2002) Development of a Phytoremediation Handbook: Considerations for Enhancing Microbial Degradation in the Rhizosphere. Institute of Environmental and Human Health, Texas Tech University, Texas.
- Clemens S. (2001) Developing tools for phytoremediation: towards a molecular understanding of plant metal tolerance and accumulation. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 14: 235–239.
- Ernst W.H.O. (1996) Bioavailability of heavy metals and decontamination of soil by plants. *Applied Geochemistry* 11: 63–167.
- Ji P., Sun T., Song Y., Ackland M.L., Liu Y. (2011) Strategies for enhancing the phytoremediation of cadmium-contaminated agricultural soils by *Solanum nigrum* L. *Environmental Pollution* 159: 762–768.
- Karami A., Shamsuddin Z.H. (2010) Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. *African Journal of Biotechnology* 9: 3689–3698.
- Lasat M.M. (2002) Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 31: 109–120.
- LeDuc D.L., Terry N. (2005) Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 32: 514–520.
- Mukhopadhyay S., Maiti S.K. (2010) Phytoremediation of metal enriched mine waste: a review. *Global Journal of Environmental Research* 4: 135–150.
- Naees M., Ali, Q., Shahbaz M., Ali F. (2011) Role of rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals: an overview. *International Journal of Plant Sciences* 2: 220–232.
- Pilipović A., Klačnja B., Orlović S. (2002) Uloga topola u fitoremedijaciji zemljišta i podzemnih voda. *Topola* 169/170: 57–66.
- Pollard A.J., Powell K.D., Harper F.A., Smith J.A.C. (2002) The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21: 539–566.
- Ramamurthy A.S., Memarian R. (2012) Phytoremediation of mixed soil contaminants. *Water Air and Soil Pollution* 223: 511–518.
- Saraswat S., Rai J.P.N. (2011) Complexation and detoxification of Zn and Cd in metal accumulating plants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 10: 327–339.
- Thakur I.S., (2006) *Environmental Biotechnology*. I. K. International, New Delhi.
- Tong Y.P., Kneer R., Zhu Y.G. (2004) Vacuolar compartmentalization: a second generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends in Plant Science* 9: 7–9.
- Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., Van der Lelie D., Mench M. (2009) Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 765–794.

## 2.5. BILJKE FITOREMEDIJATORI

Jedan od načina za uklanjanje teških metala iz zemljišta na kome se danas dosta radi je biološka rekultivacija – gajenje biljaka na takvim zemljištima.

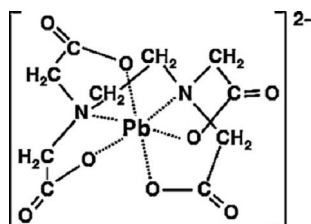
Posebna pažnja se posvećuje pronalazenju biljnih vrsta koje bi akumulirale određene teške metale i na taj način ih iznosile iz zemljišta. Biomasa ovih biljaka se ne koristi za ishranu, već se suši, spaljuje i deponuje na za to određenim mestima.

Smanjenje štetnog dejstva teških metala za biljke (fitotoksičnosti) vrši se adekvatnim procesima imobilizacije rastvorljivih oblika odgovarajućim meliorativnim merama u biološkoj rekultivaciji (neutralizacija, humizacija i sl). Ovim načinom osim smanjenja veće akumulacije teških metala u biljkama ne postiže se i stalna dekontaminacija, već samo “blokada”.

Smanjenje sadržaja i štetnog uticaja teških metala u zemljištu gajenjem odgovarajućih biljaka ili mikroorganizma predstavlja do sada najekonomičniju metodu koja daje dosta dobre rezultate.

U praksi se za remedijaciju zemljišta koriste fizičke (metod luženja zemljišta ili fiksacija putem adsorpcije) i hemijske metode (bioredukcija ili ekstrakcija pomoću helata). U ovim metodama ne može biti izbegnuta upotreba helata. Dodatkom sintetičkih helata, kao što je EDTA (etilen diamin tetrasirćetna kiselina), rastvorljivost i bioraspoloživost teških metala se povećava.

Molekul helatnog reagensa može da formira nekoliko koordinativnih veza do određenog atoma metala, povećavajući njegovu koncentraciju u vodenom rastvoru zemljišta i njegovu mobilnost (slika 1) (Wenzel et al., 2003).



Slika 1: EDTA-Pb kompleks

S obzirom da se neki metalni joni snažno vezuju za zemljišnu fazu i manje su biodostupni, za njihovo vezivanje se koriste moćni helatni reagensi kao što su natrijumove soli EDTA. Međutim, za takav pristup su potrebni ne samo skupi hemijski reagensi i mašine, već i mnogo osoblja. Što je još gore, preterano korišćenje hemijskih helata je dokazano da zagađuje podzemne vode i negativno utiče na kvalitet zemljišta, jer su mnogi neophodni joni kompleksirani i nedostupni.

Na primer, elementi Fe i Ca se obično gube posle dodatka EDTA jer je njihova koncentracija u zemljištu mnogo veća od nekih teških metala kao što je Pb i tako će imati veću pristupačnost i mogućnosti vezivanja.

Wenzel et al. (2003) su sproveli eksperiment pomoću repice (*Brassica napus L*) i utvrdili su da su ekstrakcioni gubici Cu, Pb i Zn (koji zagađuju podzemne vode) daleko premašili količinu metala koja je preuzeta od strane biljaka posle primene EDTA, što ukazuje da je pod nekim određenim okolnostima helatni reagens ima više mana nego prednosti.

Zbog toga, uzimajući u obzir toksičnost, neselektivnost i neefikasnost ovog reagensa, pažljivo razmatranje u vezi ekologije, ekonomije i ljudskog zdravlja je imperativ pred korišćenjem helata u praksi (Bizily et al., 2000).

### **2.5.1. Biljke metalofite**

Metalofite su biljke koje su posebno prilagođene za rast i razvoj na zemljištima bogatim teškim metalima (Bothe, 2011; Sheoran et al., 2011). Površine na kojima rastu biljke otporne na teške metale su zemljišta oko rudnih nalazišta (Ernst, 1974). Izlaganje suficitu od raznih metala tokom hiljada godina vodilo je stvaranju biljaka otpornih na teške metale (metalofita) pod lokalnim uslovima.

Rudarske aktivnosti su uništile i još uvek umanjuju staništa ovih biljaka i samim tim se menja stanište za metalofite (Ernst, 2000). Metalofite su botanička zanimljivost (Alford et al., 2010). Ove biljke uglavom pripadaju porodici biljaka roda *Brassicaceae*. Njihova upotreba, bilo samostalno ili u kombinaciji sa mikroorganizmima, za fitoremedijaciju zagađenog zemljišta teškim metalima je privlačna ideja (Bothe, 2011).

Metalofite su podeljeni u tri kategorije: biljke koje akumuliraju metale u korenu (*Metal excluders*), indikatore metala (*Metal indicators*) i hiperakumulatore metala (*Metal hyperaccumulators*).

*Metal excluders* biljke akumuliraju teške metale iz podloge u svojim korenima, ali je ograničen njihov transport i ulazak u nadzemne delove biljaka (Sheoran et al., 2011; Malik and Biswas, 2012). Takve biljke imaju mali potencijal za ekstrakciju metala, ali mogu da budu efikasne u fitostabilizacione svrhe (Lasat, 2002; Barceló and Poschenrieder, 2003).

Indikatori metala akumuliraju teške metale u njihovim nadzemnim delovima. Kao što ime govori, ove biljke uglavnom odražavaju koncentracije teških metala u podlozi (Sheoran et al., 2011).

### **2.5.2. Biljke hiperakumulatori**

Interesovanje za fitoremedijaciju znatno je naraslo nakon identifikacije biljnih vrsta hiperakumulatora metala. Hiperakumulatori se konvencionalno definišu kao vrsta sposobne da akumuliraju metale u količini 100 puta većoj od onih koje se obično izmere kod biljaka neakumulatora. Tako hiperakumulatori će sadržati koncentracije više od: 10 ppm Hg; 100 ppm Cd; 1.000 ppm Co, Sb, Cu i Pb; 10.000 ppm Ni i Zn. Obično ako biljka akumulira 1.000 mg/kg (ili 1.000 ppm) Cu, Co, Cr, Ni ili Pb, ili više od 10.000 mg/kg (ili 10.000 ppm) Mn ili Zn, ona se definiše kao hiperakumulator (Kagi, 1991; Loeffler et al., 1989).

Hiperakumulatori su biljke koje mogu da koncentrišu teške metale u svojim nadzemnim tkivima u koncentracijama daleko većim od onih koji su prisutne u zemljištu ili u blizini rastuće neakumulatorske biljke (Memon et al., 2001; Memon and Schröder, 2009). Oni su hipertolerantni na metale, koji se akumuliraju u nadzemnim delovima biljke (McGrath et al., 2001).

Do danas je detektovano preko 400 biljnih vrsta iz oko 45 familija koje su definisane kao hiperakumulatori jednog ili više teških metala. Najveći broj biljaka hiperakumuliraju nikel (Ni), oko 30 biljaka absorbuju ili kobalt (Co) ili bakar (Cu) i/ili cink (Zn), a mali broj biljaka akumuliraju mangan (Mn) i kadmijum (Cd).

Standard za hiperakumulatore nije naučno definisan (Nazir et al., 2011). Međutim, pojedini autori ili istraživačke grupe su definisali hiperakumulatore. Termin "hiperakumulator" je prvi uveo Brooks (1977), koji je definisao biljke koje sadrže Ni u koncentracijama većim od 1.000 mg/kg suve materije (0,1%). Reeves (1992) je pokušao da definiše hiperakumulator nikla s većom preciznošću kao "Ni hiperakumulator je biljka u kojoj je koncentracija Ni najmanje 1.000 mg/kg suve materije nadzemnog tkiva koja raste u najmanje jednom primerku u svom prirodnom staništu". Za utvrđivanje statusa hiperakumulatora, nadzemnim tkivom treba smatrati samo lišće biljaka. Izraz "raste u svom prirodnom staništu" podrazumeva da biljka postigne hiperakumulaciju metala ostajući dovoljno zdrava da se održi u tom staništu, odnosno da postane samoodrživa (Van der Ent et al., 2013).

Najviše citiranih kriterijuma za hiperakumulaciju metala imaju Baker and Brooks (1989) (sa blizu 1400 citata do sada), prema kojima "hiperakumulatori su biljne vrste koje akumuliraju više od 100 mg/kg suve materije Cd, ili više od 1.000 mg/kg suve materije Ni, Cu i Pb ili više od 10.000 mg/kg suve materije Zn i Mn u njihovim nadzemnim delovima kada se uzgajaju na zemljištima bogatim metalima".

Van der Ent et al. (2013) misle da su kriterijumi koji se obično koriste za hiperakumulatore za neke metale nepotrebno prestrogi i predlažu da se snize kriterijumi za hiperakumulaciju tih metala. Oni preporučuju sledeće kriterijume za različite koncentracije metala i metaloida u suvom lišću biljaka koje su rasle u svojim prirodnim staništima: 100 mg/kg za Cd, Se i Tl; 300 mg/kg za Co i Cu i Cr; 1.000 mg/kg za Ni, Pb i As; 3.000 mg/kg za Zn; 10.000 mg/kg za Mn. Generalno, hiperakumulatori postižu 100 puta veću koncentraciju metala u lišću (bez smanjenja prinosa) u odnosu na poljoprivredne kulture ili uobičajene biljke neakumulatore metala (Lasat, 2002; Chaney et al., 2007).

Najbolje biljke hiperakumulatori trebalo bi da imaju sledeće osobine (Mejare and Bülow, 2001; Tong et al., 2004; Sakakibara et al., 2011; Shabani and Sayadi, 2012):

- da budu visoke rastom,
- da daju visok prinos,
- da brzo rastu,
- da imaju široko rasprostranjen i veoma razgranat koren,
- da više akumuliraju ciljane teške metale iz zemljišta,

- da translociraju teške metale iz korena do nadzemnog dela,
- da su tolerantne na toksične efekte ciljnih teških metala,
- da su dobro adaptirani na preovlađujuće uslove životne sredine i klimatske uslove,
- da su otporne na biljne bolesti i štetočine,
- da su otporne prema biljojedima kako bi se izbegla kontaminacija u lancu ishrane,
- da su laka za gajenje i žetvu,
- da su duboko ukorenjene.

Takođe treba da sadrže bogat mineralni sastav biljnog nadzemnog dela, koji bi se žetvom uklanjao i iz koga bi se dalje izdvajali korisni metali.

Fitoekstrakcioni potencijal biljnih vrsta uglavnom određuju dva ključna faktora: koncentracija metala u nadzemnom delu biljke i količina biomase (Li et al., 2010). Testirana su dva različita pristupa za fitoekstrakciju teških metala:

- (1) upotreba hiperakumulatora, koje proizvode relativno manju nadzemnu biomasu ali akumuliraju ciljne teške metale u većoj meri, i
- (2) primena drugih biljaka, kao što su *Brassica juncea*, koje akumuliraju ciljne teške metale u manjoj meri, ali proizvode više nadzemne biomase, tako da je ukupna akumulacija teških metala uporediva sa hiperakumulatorima zbog proizvodnje više biomase (Robinson et al, 1998; Tlustoš et al., 2006).

Chaney et al. (1997) navode da su hiperakumulacija i hipertolerancija važnije za fitoremedijaciju nego velika količina biomase. Korišćenje hiperakumulatora će dati metalom bogate prinose, manju količinu biomase, koja je ekonomična i laka za rukovanje i bezbedno odlaganje. S druge strane, upotreba neakumulatora će doneti prinose sa manjim sadržajem metala i veliku količinu biomase, koja će biti neekonomična za dalje iskorišćenje metala i skupa za bezbedno odlaganje.

Biljke koje imaju više žetvi u jednom periodu rasta (kao *Trifolium spp.*) mogu da imaju veliki potencijal za fitoekstrakciju teških metala (Ali et al., 2012). Trave su poželjnije za fitoekstrakciju od žbunja i drveća zbog njihove visoke stope rasta, veće prilagodljivosti na stres iz okruženje i visoku biomasu (Malik et al., 2010).

Neki istraživači su ocenili da se mogu koristiti i usevi kao što su kukuruz i ječam za fitoekstrakciju teških metala. U ovom slučaju, višegodišnjim gajenjem smanjiće se

zagađenje teškim metalima na prihvatljiv nivo. Međutim, korišćenje useva za fitoekstrakciju teških metala može da dovede do kontaminacije u lancu ishrane. U tom slučaju, ratarske kulture korišćene za fitoekstrakcione svrhe ne bi trebalo da se koriste za ishranu životinja ili neposrednu ljudsku ishranu (Vamerali et al., 2010).

### 2.5.3. Usvajanje toksičnih metala

Da bi rasle i kompletirale svoj životni ciklus, biljke moraju uzimati ne samo makronutrijente (N, P, K, S, Ca i Mg), već i bitne mikroelemente, kao što su Fe, Zn, Mn, Ni, Cu i Mo. Biljke su razvile vrlo specifične mehanizme da uzmu, premeste i skladište te hranljive sastojke. Na primer, kretanje metala kroz međućelijske membrane je uslovljeno proteinima, koji vrše tu transportnu funkciju. Pored toga, mehanizam usvajanja je selektivan, biljke usvajaju neke jone više od drugih. Selektivnost usvajanja jona zavisi od strukture i osobina membrana kao transportera. Ove karakteristike omogućavaju da se prepozna, poveže i utvrdi membranski prenos za određene jone. Na primer, kroz neke membrane transportuju se dvovalentni katjoni, ali ti transporteri ne prepoznaju mono ili trovalentne jone.

U rizosferi hiperakumulatorskih biljaka, protoni oslobođeni u korenu mogu zakiseliti zemljište, a kiselost mobilize jone metala i povećava bioraspoloživost metala (Crowley et al., 1991). Međutim, lipo-ćelijska membrana, gde se smeštaju metalni joni, bila bi prva barijera ulaza jona u ćelije. Proces transporta kroz membranu može se olakšati pomoću:

- (1) **Proteinskih transportera.** U takvim proteinima postoji specifični izgrađeni domen, koji se vezuje i prenosi metalne jone iz ekstracelularnog prostora u ćelije. Lasat et al. (1996) su otkrili da hiperakumulator *Thlaspi caerulescens* ima veći kapacitet za  $Zn^{2+}$  od *T. arvense*.
- (2) **Prirodnih helata.** Poznato je da helati, kao što je EDTA, mogu vezati jone teških metala i prevesti ih u rastvorne komplekse. Postoje i prirodni helati, koje biljke sadrže, i koji su manje toksični i bolje rastvorljivi od npr. EDTA.
- (3) **Organskih kiselina.** Nekoliko organskih kiselina (kao što su jabučna i limunska kiselina) identifikovane su kao bioreagensi za pokretanje absorpcije teških metala u korenu.



Mnogi metali kao što su Zn, Mn, Ni i Cu su esencijalni mikroelementi. Zajedničko za sve biljke neakumulatore je da akumulacija ovih mikroelemenata ne prelazi njihove metaboličke potrebe (<10 ppm). Nasuprot tome, biljke hiperakumulatori mogu akumulirati izuzetno visoke količine metala (u hiljadama ppm-a). S obzirom da je akumulacija metala jedan energetski proces, može se postaviti pitanje koju je to evolucionu prednost hiperakumulacija metala dala biljkama? Neke studije su pokazale da akumulacija metala u lišću može da omogući hiperakumulatorskim vrstama da izbegnu pojedine vrsta predatora, uključujući gusenice, gljive i bakterije (Boyd i Martens, 1994, Pollard i Baker, 1997).

Biljke hiperakumulatori ne samo da akumuliraju visoke nivoe osnovnih mikroelemenata, već one mogu da apsorbuju značajnu količinu teških metala, kao što je Cd. Mehanizam akumulacije Cd-a još nije u potpunosti razjašnjen. Moguće je da se ovaj metal usvaja preko korena tako što se transportuje sa drugim važnim dvovalentnim mikroelementima, moguće  $Zn^{2+}$ -om. Kadmijum je hemijski analogan cinku, i biljke nisu u stanju da naprave razliku između ova dva jona (Chaney et al., 1994).

#### **2.5.4. Hiperakumulatorske vrste**

Verovatno najpoznatiji hiperakumulator teških metala je vrsta *Thlaspi caerulescens* (Lasat, 2002). Dok najveći broj biljaka pokazuje simptome toksičnosti pri koncentraciji cinka od oko 100 ppm, ova biljka akumulira Zn u koncentraciji od 26.000 ppm bez ikakvih oštećenja (Brown et al., 1995). Kod Zn-hiperakumulatora *T. Caerulescens* tolerancija na sadržaj Zn-a je uslovljena njegovim smeštanjem u vakuole lišća (Lasat et al., 1996, 1998).

Mnoge biljke, uključujući i *T. caerulescens* pokazuju sposobnost naseljavanja (kolonizacije) staništa (zemljišta) koja su obogaćena olovom (Pb), cinkom (Zn) i kadmijumom (Cd), tzv. "kalaminska" zemljišta. Ova vrsta zajedno sa vrstom *Brassica juncea* predstavlja model za istraživanje fiziologije i biohemije usvajanja teških metala. Zbog ovakvih njihovih sposobnosti intenzivno se proučavaju one biljke hiperakumulatori i/ili indikatori koje su endemične za pojedine tipove zemljišta obogaćenih metalima (Assunção et al., 2003; Poniedziałek et al., 2010).

Raniji tragači za zlatom i plemenitim metalima u Evropi, koristili su razne korove kao pokazatelje prisustva metala na određenim teritorijama. Ove biljke odlikovale su se osobinom da mogu da uspevaju na terenima gde je prisutna velika količina odgovarajućih metala. Jedna od takvih biljaka je alpine pennycress, *Thlaspi caerulescens*, divlja višegodišnja biljka, koja raste na cink i nikel bogatim zemljištima širom sveta, a takođe dobro apsorbuje i kadmijum (Becker, 2000). Biljka *Thlaspi caerulescens* poseduje hiperakumulatorske osobine. *Thlaspi* je mali, slabunjav član iz porodice kupusnjača. Uspeva na zemljištima koja imaju visok nivo cinka i kadmijuma. Laboratorijskim ispitivanjima utvrđeni su osnovni mehanizmi putem kojih ova biljka akumulira teške metale.

Hiperakumulatori kao što je ova biljka predstavljaju izvanredan model sistema za objašnjenje osnovnih mehanizama i na kraju gena koji kontrolišu hiperakumulaciju metala.

Pojedini delovi biljaka mogu biti pod kontrolom različitih gena koji doprinose hiperakumulatorskim osobinama. Ovi geni regulišu procese koji mogu da povećaju rastvorljivost metala u zemljištu oko korena, kao i transport proteina kojima se kreću metali u korenu. Odatle, metali se dalje transportuju do drugih delova biljke i na kraju se deponuju u lišću.

Biljka *Thlaspi caerulescens* akumulira teške metale u svojim izdancima na zadivljujuće visokom nivou. Obične biljke mogu da akumuliraju oko 100 ppm cinka i 1 ppm kadmijuma, dok *Thlaspi* može da akumulira čak do 30.000 ppm cinka i 1.500 ppm kadmijuma u svojim izdancima, a da pokazuje vrlo malo, ili čak i ne pokazuje simptome toksičnosti. Normalna biljka može biti zatrovana sa manje od 1.000 ppm cinka ili 20 do 50 ppm kadmijuma u svojim izdancima.

Bakar (Cu) u velikim količinama podnose *Minuartia verna*, ekotipovi *Silene vulgaris*, zatim *Gypsophila patrinii* u centralnoj Aziji, *Polycarpha spirostylis* u Australiji, neke vrste roda *Gladiolus* u Africi, *Eleocharis acicularis* (Sakakibara et al., 2011), zabeleženo je čak 20.200 mg/kg Cu.

Na cink (Zn) su otporni ekotipovi vrsta *Minuartia verna*, zatim vrste *Silene vulgaris*, *Armeria maritima*, *Thlaspi alpestre* subsp. *calaminare*, *Viola calaminaria* itd. (ime *calaminare* potiče od španske reči "calamine" koje ukazuje na tip podloge bogate cinkom i silicijumovim oksidima).

Olovo (Pb) akumuliraju *Agrostis tenuis*, *Minuartia verna* i *Festuca ovina*, *Euphorbia cheiradenia* (Chehregani and Malayeri, 2007).

Kadmijum (Cd) akumuliraju *Minuartia verna*, *Thlaspi alpestre* subsp. *calaminare*, *Azolla pinnata*, *Rorippa globosa*, *Solanum photeinocarpum*, *Thlaspi caerulescens*, *Eleocharis acicularis* (Rai, 2008; Wei et al., 2008; Zhang et al., 2011; Lombi et al., 2001; Sakakibara et al., 2011)

Pojedine biljke koje nagomilavaju izuzetno štetne hemijske elemente kakvi su arsen ili selen, nazivaju se i toksikofite. Tako *Jasione montana*, *Calluna vulgaris*, kao i *Agrostis tenuis* akumuliraju arsen, dok se u listovima *Astragalus racemosus*, *Xylorhiza tortifolia*, ili vrsta iz roda *Stanleya* mogu naći velike količine selena. Izuzetnu mogućnost akumulacije raznovrsnih jona teških metala (pre svega olova) i drugih toksičnih supstanci ima i tropska flotantna biljka *Eichhornia crassipes* zbog čega se danas široko primenjuje u prečišćavanju jezera i drugih vodenih ekosistema.

Jedna od najinteresantnijih i najkontraverznijih biljaka za biološku indicaciju zagađenosti zemljišta u urbanim ekosistemima je *Ailanthus altissima* - kiselo drvo (pajasen) (Jovanović i sar., 1997). Ova vrsta je introdukovana iz jugoistočne Azije u Evropu (London) sredinom 18-tog veka sa prvobitnom namerom da služi kao hrana za uzgoj svilene bube. Danas je kiselo drvo jedna od najbolje prilagođenih adventivnih lišćarskih vrsta na kompleksne uslove zagađenih gradskih biotopa. Stoga su i rađena istraživanja ukupne brojnosti, populacione strukture, kao i uporedna proučavanja morfo-fizioloških karakteristika jedinki koje se razvijaju u uslovima ekstremno zagađenog zemljišta (kao i vazduha) na različitim ruderalnim staništima uže gradske zone Beograda. Cilj je bio bolje poznavanje ukupnog adaptivnog mehanizma (biohemijsko-fiziološkog i morfo-anatomskog) kiselog drveta u urbanim uslovima.

Moguće je da biljke hiperakumulatori mogu da imaju više zahteve za metalima kao što je Zn i u odnosu na biljke neakumulatore (Hajar, 1997). U prilog tome, mnogi hiperakumulatori, uključujući i *T. caerulescens*, su pokazali da kolonizuju metalima bogata zemljišta kao što su „calamine“ zemljišta (zemljišta bogata u Pb, Zn i Cd). Zbog ove sposobnosti, veliki naponi su usmereni da se identifikuju endemske biljke hiperakumulatori metala u bogatim zemljištima (Baker and Proctor, 1990).

Do danas je registrovano otprilike 400 biljnih vrsta od najmanje 45 biljnih familija kao hiperakumulatori metala. Većina hiperakumulatora usvaja Ni, oko 30

apsorbuju Co, Cu, i / ili Zn, manji broj vrsta akumuliraju Mn i Cd, i ne postoje poznati prirodni Pb-hiperakumulatori (Reeves i Baker, 1999). Nekoliko hiperakumulatora i njihovi bioakumulacijski potencijali navedeni su u Tabeli 5.

Tabela 5. Nekoliko hiperakumulatotskih biljnih vrsta i njihovi potencijali bioakumulacije

Metal	Plant species	Konc. akumul. metala (mg/kg)	Reference
Ni	<i>Alyssum bertolonii</i>	10.900	Li et al. (2003)
	<i>Alyssum caricum</i>	12.500	Li et al. (2003)
	<i>Alyssum corsicum</i>	18.100	Li et al. (2003)
	<i>Alyssum heldreichii</i>	11.800	Bani et al. (2010)
	<i>Alyssum markgrafii</i>	19.100	Bani et al. (2010)
	<i>Alyssum murale</i>	4.730–20.100	Bani et al. (2010)
		15.000	Li et al. (2003)
	<i>Alyssum pterocarpum</i>	13.500	Li et al. (2003)
	<i>Alyssum serpyllifolium</i>	10.000	Prasad (2005)
	<i>Berkheya coddii</i>	18.000	Mesjasz-Przybylowicz et al. (2004)
	<i>Isatis pinnatiloba</i>	1.441	Altinozlu et al. (2012)
Cd	<i>Azolla pinnata</i>	740	Rai (2008)
	<i>Eleocharis acicularis</i>	239	Sakakibara et al. (2011)
	<i>Rorippa globosa</i>	>100	Wei et al. (2008)
	<i>Solanum photeinocarpum</i>	158	Zhang et al. (2011)
	<i>Thlaspi caerulescens</i>	263	Lombi et al. (2001)
As	<i>Corrigiola telephiiifolia</i>	2.110	Garcia-Salgado et al. (2012)
	<i>Eleocharis acicularis</i>	1.470	Sakakibara et al. (2011)
	<i>Pteris biaurita</i>	~2.000	Srivastava et al. (2006)
	<i>Pteris cretica</i>	~1.800	Srivastava et al. (2006)
		2.200–3.030	Zhao et al. (2002)
	<i>Pteris quadriaurita</i>	~2.900	Srivastava et al. (2006)
	<i>Pteris ryukyuensis</i>	3.647	Srivastava et al. (2006)
	<i>Pteris vittata</i>	8.331	Kalve et al. (2011)
	~1.000	Baldwin and Butcher (2007)	
Cr	<i>Pteris vittata</i>	20.675	Kalve et al. (2011)
Mn	<i>Schima superba</i>	62.412,3	Yang et al. (2008)
Cu	<i>Eleocharis acicularis</i>	20.200	Sakakibara et al. (2011)
Zn	<i>Eleocharis acicularis</i>	11.200	Sakakibara et al. (2011)
Pb	<i>Euphorbia cheiradenia</i>	1.138	Chehregani and Malayeri (2007)

### 2.5.5. Tolerantnost biljaka na visoke koncentracije metala u zemljištu

Ekološka istraživanja su otkrila postojanje specifičnih biljnih zajednica, endemičnih flora, koje su prilagođena zemljištima kontaminiranim povišenim količinama Cu, Zn i Ni. Različiti ekotipovi iste vrste mogu se naći na zemljištima koja nisu kontaminirana metalima. Za endemske biljne vrste u zemljištima koja su kontaminirana metalima, tolerancija na metale je neophodna osobina. Poređenja radi, u odnosu na populacije nastanjene u nenezagađenim područjima, kontinualno se pojavljuju ekotipovi sa visokim i niskim stepenima tolerancije.

Biljke evoluiraju tako što se pojavljuje nekoliko efikasnih mehanizama za toleranciju na visoke koncentracije metala u zemljištu. Kod nekih vrsta, tolerancija se postiže tako što se sprečava unos toksičnih metala u ćelije korena. Ove biljke imaju mali potencijal za ekstrakciju metala. Takva biljka je "Merlin", komercijalna sorta crvene fescue (*Festuca rubra*), koja se koristi da stabilizuje eroziju kod metalima kontaminiranih zemljišta. Druga grupa biljaka akumulatora ne sprečava ulazak metala iz korena. Akumulatori ove vrste su razvili posebne mehanizme za detoksikaciju visokog nivoa akumuliranih metala u ćelije. Ovi mehanizmi omogućavaju bioakumulaciju ekstremno visokih koncentracija metala. I na kraju, treća grupa biljaka, nazvane indikatori, pokazuju da ima povećane akumulacije metala u zemljištu. U ovim biljkama, stepen akumulacije metala odražava koncentracije metala u rizosferi zemljišta. Ove indikatorske vrste su korišćene za rudna istraživanja da bi se našla nova tela rude (Raskin i sar, 1994).

### 2.5.6. Literatura

- Ali H., Khan E., Sajad M.A. (2013) Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications. *Chemosphere* 91: 869–881.
- Ali H., Naseer M., Sajad M.A. (2012) Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. *International Journal of Environmental Science* 2: 1459–1469.
- Altinozlu H., Karagoz A., Polat T., Ünver I. (2012). Nickel hyperaccumulation by natural plants in Turkish serpentine soils. *Turkish Journal of Botany* 36: 269–280.
- Assunção A.G.L., Schat H., Aarts M.G.M. (2003) *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 159: 351–360.
- Baker A.J.M. Brooks, R.R. (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81–126.

- Baker A.J.M., Proctor J. (1990) The influence of cadmium, copper, lead, and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Systematics and Evolution* 173: 91–108.
- Baker A.J.M., Walker P.L. (1990) Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspect*. Ed AJ Shaw 155–177, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Baldwin P.R., Butcher D.J. (2007) Phytoremediation of arsenic by two hyperaccumulators in a hydroponic environment. *Microchemical Journal* 85: 297–300.
- Bani A., Pavlova D., Echevarria G., Mullaj A., Reeves R.D., Morel J.L., Sulçe S. (2010) Nickel hyperaccumulation by the species of *Alyssum* and *Thlaspi* (*Brassicaceae*) from the ultramafic soils of the Balkans. *Botanica Serbica* 34: 3–14.
- Barceló J., Poschenrieder C. (2003) Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science* 2: 333–344.
- Beath O.A., Eppsom H.F., Gilbert C.S. (1937) Selenium distribution in and seasonal variation of vegetation type occurring on seleniferous soils. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 26: 394–405.
- Becker H. (2000) Phytoremediation: Using Plants to Clean Up Soils. *Agricultural Research* 48 (6): 4–9.
- Bizily S.P., Rugh C.L., Meagher R.B. (2000) Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. *Nature Biotechnology* 18: 213–217.
- Bothe, H. (2011) Plants in heavy metal soils. In: Sherameti I., Varma A. (Eds.) *Detoxification of Heavy Metals*. Soil Biology, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 30: 35–57.
- Boyd R.S., Martens S.N. (1994) Nickel hyperaccumulated by *Thlaspi montanum* var. *montanum* is acutely toxic to an insect herbivore. *Oikos* 70: 21–25
- Brooks R.R. (1977) Copper and cobalt uptake by *Haumaniastrum* species. *Plant and Soil* 48 (2): 541–544.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S., Baker A.M. (1995) Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal* 59: 125–133.
- Chaney R.L., Angle J.S., Broadhurst C.L., Peters C.A., Tappero R.V., Sparks D.L. (2007) Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality* 36: 1429–1443.
- Chaney R.L., Green C.E., Filcheva E., Brown S.L. (1994) Effect of iron, manganese, and zinc enriched biosolids compost on uptake of cadmium by lettuce from cadmium-contaminated soils. In *Sewage Sludge: Land Utilization and the Environment*. Eds CE Clapp, WE Larson, RH Dowdy, 205–207, American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Chaney R.L., Malik M., Li Y.M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Baker A.J.M. (1997) Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 279–284.
- Chehregani A., Malayeri B.E. (2007) Removal of heavy metals by native accumulator plants. *International Journal of Agriculture and Biology* 9: 462–465.
- Crowley D.E., Wang Y.C., Reid C.P.P., Szanisloet P.J. (1991) Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants. *Plant and Soil* 130: 179–198.
- Ernst W. (1974) *Schwermetallvegetation der Erde*. G. Fischer, Stuttgart, Germany.

- Ernst W.H.O. (2000) Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype. *New Phytologist* 146: 357–358.
- Garcia-Salgado S., Garcia-Casillas D., Quijano-Nieto M.A., Bonilla-Simon M.M. (2012) Arsenic and heavy metal uptake and accumulation in native plant species from soils polluted by mining activities. *Water, Air & Soil Pollution* 223: 559–572.
- Hajar A.S.M. (1987) Comparative ecology of *Minuartia verna* (L.) Hiern and *Thlaspi alpestre* L. in southern Pennines, with special reference to heavy metal tolerance. Ph.D. Univ of Sheffield, Sheffield UK.
- Jaffre T., Brooks R.R., Lee J., Reeves R.D. (1976) *Sebertia acuminata*: a nickel-accumulating plant from new Caledonia. *Science* 193: 579-580.
- Jovanović S., Filipović V., Mačukanović M., Dražić G., Stevanović B. (1997) Rasprostranjenost i ekologija vrste *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle na području grada Beograda. *Glasnik Instituta za botaniku i botaničke bašte Univerziteta u Beogradu*, Tom XXXI, 9–22.
- Kagi J.H.R. (1991) Overview of metallothionein, *Methods in Enzymology* 205: 613–626.
- Kalve S., Sarangi B.K., Pandey R.A., Chakrabarti T. (2011) Arsenic and chromium hyperaccumulation by an ecotype of *Pteris vittata* - prospective for phytoextraction from contaminated water and soil. *Current Science* 100: 888–894.
- Lasat M.M. (2002) Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 31: 109–120.
- Lasat M.M., Baker A.J.M., Kochian L.V. (1996) Physiological characterization of root Zn<sup>2+</sup> absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiology* 112: 1715–1722.
- Lasat M.M., Baker A.J.M., Kochian L.V. (1998) Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology* 118: 875–883.
- Li J.T., Liao B., Lan C.Y., Ye Z.H., Baker A.J.M., Shu W.S. (2010) Cadmium tolerance and accumulation in cultivars of a high-biomass tropical tree (*Averrhoa carambola*) and its potential for phytoextraction. *Journal of Environmental Quality* 39: 1262–1268.
- Li Y.M., Chaney R., Brewer E., Roseberg R., Angle J.S., Baker A., Reeves R., Nelkin J. (2003) Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. *Plant and Soil* 249: 107–115.
- Loeffler S., Hochbergera A., Grilla E., Winnackerb E-L., Zenk M.H. (1989) Termination of the phytochelatin synthase reaction through sequestration of heavy metals by the reaction product, *FEBS Lett.* 258: 42–46.
- Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P. (2001) Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemical enhanced phytoextraction. *Journal of Environmental Quality* 30: 1919–1926.
- Malik N., Biswas A.K. (2012) Role of higher plants in remediation of metal contaminated sites. *Scientific Reviews & Chemical Communications* 2(2): 141–146.
- Malik R.N., Husain S.Z., Nazir I. (2010) Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. *Pakistan Botanical Society* 42: 291–301.

- McGrath S.P., Zhao F.J., Lombi E. (2001) Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant and Soil* 232: 207–214.
- Mejáre M., Bülow L. (2001) Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology* 19: 67–73.
- Memon A.R., Aktoprakligil D., Ozdemir A., Vertii A. (2001) Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turkish Journal of Botany* 25: 111–121.
- Memon A.R., Schröder P. (2009) Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 162–175.
- Mesjasz-Przybylowicz J., Nakonieczny M., Migula P., Augustyniak M., Tarnawska M., Reimold W.U., Koeberl C., Przybylowicz W., Glowacka E. (2004) Uptake of cadmium, lead, nickel and zinc from soil and water solutions by the nickel hyperaccumulator *Berkheya coddii*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 46: 75–85.
- Nazir A., Malik R.N., Ajaib M., Khan N., Siddiqui M.F. (2011) Hyperaccumulators of heavy metals of industrial areas of Islamabad and Rawalpindi. *Pakistan Botanical Society* 43: 1925–1933.
- Pollard J.A., Baker A.J.M. (1997) Deterrence of herbivory by zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae). *New Phytologist* 135: 655–658.
- Poniedziałek M., Sekara A., Jedrzejczyk E., Ciura, J. (2010) Phytoremediation efficiency of crop plants in removing cadmium, lead and zinc from soil. *Folia Horticulturae* 22: 25–31.
- Prasad M.N.V. (2005) Nickelophilous plants and their significance in phytotechnologies. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 113–128.
- Rai P.K. (2008) Phytoremediation of Hg and Cd from industrial effluents using an aquatic free floating macrophyte *Azolla pinnata*. *International Journal of Phytoremediation* 10: 430–439.
- Raskin I., Nanda Kumar P.B.A., Dushenkov S., Salt D.E. (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5: 285–290.
- Reeves R.D. (1992) Hyperaccumulation of nickel by serpentine plants. In: Baker, A.J.M., Proctor, J., Reeves, R.D. (Eds.). *The Vegetation of Ultramafic (Serpentine) Soils*. Intercept, Andover UK, 253–277.
- Reeves R.D., Baker A.J.M. (1999) Metal-accumulating plants. In: *Phytoremediation of toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*. Eds, I Raskin, BD Ensley, 193–229, John Wiley & Sons Inc, New York, NY.
- Reeves R.D., Brooks R.R. (1983) European species of *Thlaspi* L. (Cruciferae) as indicators of nickel and zinc. *Journal of Geochemical Exploration* 18: 275–283.
- Robinson B.H., Leblanc M., Petit D., Brooks R.R., Kirkman J.H., Gregg P.E.H. (1998) The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant and Soil* 203: 47–56.
- Sakakibara M., Ohmori Y., Ha N.T.H., Sano S., Sera K. (2011) Phytoremediation of heavy metal contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*. *Clean: Soil, Air, Water* 39: 735–741.
- Shabani N., Sayadi M.H. (2012) Evaluation of heavy metals accumulation by two emergent macrophytes from the polluted soil: an experimental study. *Environmentalist* 32: 91–98.



- Sheoran V., Sheoran A., Poonia P. (2011) Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41: 168–214.
- Srivastava M., Ma L.Q., Santos J.A.G. (2006) Three new arsenic hyperaccumulating ferns. *Science of the Total Environment* 364: 24–31.
- Tlustoš P., Száková J., Hrubý J., Hartman I., Najmanová J., Nedělník J., Pavlíková D., Batysta M. (2006) Removal of As, Cd, Pb, and Zn from contaminated soil by high biomass producing plants. *Plant, Soil and Environment* 52: 413–423.
- Tong Y.P., Kneer R., Zhu Y.G. (2004) Vacuolar compartmentalization: a second generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends in Plant Science* 9: 7–9.
- Vamerali T., Bandiera M., Mosca G. (2010) Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters* 8: 1–17.
- Van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D., Pollard A.J., Schat H. (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. *Plant and Soil* 362: 319–334.
- Wei S., Zhou Q., Saha U.K. (2008) Hyperaccumulative characteristics of weed species to heavy metals. *Water, Air & Soil Pollution* 192: 173–181.
- Wenzel W.W., Unterbrunner R., Sommer P., Sacco P. (2003) Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant and Soil* 249: 83–96.
- Yang S.X., Deng H., Li M.S. (2008) Manganese uptake and accumulation in a woody hyperaccumulator, *Schima superba*. *Plant Soil and Environment* 54: 441–446.
- Zhang X., Xia H., Li Z., Zhuang P., Gao B. (2011) Identification of a new potential Cd-hyperaccumulator *Solanum photeinocarpum* by soil seed bank-metal concentration gradient method. *Journal of Hazardous Materials* 189: 414–419.
- Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P. (2002) Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist* 156: 27–31.

### 3. CILJ RADA

Teški metali iz zemljišta akumulirani u biljkama ulaze u lanac ishrane i njihova prekomerna količina može toksično delovati na ljude i životinje. Zbog toga se u poslednje vreme dosta radi na pronalaženju biljaka koje mogu da usvajaju, distribuiraju i akumuliraju teške metale u nadzemni deo biljaka. Tokom nekoliko godina gajenja ovih biljaka koncentracija teških metala se smanjuje u zemljištu do dozvoljene vrednosti i na taj način se čisti zemljište. S druge strane biljke ostavljaju korenovu masu u zemljištu čime se pospešuje razvoj mikroflore koja takođe učestvuje u detoksifikaciji zagađivača. Tokom nekoliko godina primene biljaka na ovim zemljištima, stvoriće se uslovi za normalnu poljoprivrednu proizvodnju.

Dakle, u cilju rekultivacije ovakvih i sličnih zemljišta, u poslednjih dvadesetak godina, sve veću primenu nalazi metoda biološke rekultivacije – fitoremedijacije, odnosno gajenje jednogodišnjih i višegodišnjih zeljastih biljaka sa ciljem smanjenja koncentracija teških metala (iznošenjem u nadzemni deo biljaka), povećanja brojnosti i aktivnosti mikroflore zemljišta kao i njihove detoksifikacije (prevođenje metala u oblike koji nisu štetni za biljke).

Biljke koje rastu na zemljištima koja su oštećena teškim metalima mogu da ne usvajaju metale, tj da budu tolerantne prema visokim koncentracijama metala u zemljištu; da usvajaju metale, i da se oni akumuliraju u korenovom sistemu i mikoriznoj flori korena; da usvajaju metale i akumuliraju ih u nadzemnom delu. Za istraživanja prikazana u ovom radu bitne su biljne vrste iz sve tri kategorije.

Na zemljištima koja imaju visoke koncentracije metala koriste se biljne vrste koje su tolerantne prema metalima. U početku vegetacije dodaju se jedinjenja koja utiču na povećanje pH i popravku strukture zemljišta. Zatim se u fazi punog biološkog prinosa tolerantnih biljaka u zemljište dodaje EDTA i drugi materijali koje prevode nerastvorljive oblike metala u rastvorljive i time omogućavaju efikasno usvajanje i translokaciju metala iz zemljišta u nadzemni deo biljaka. Biljke u ovoj fazi velikom brzinom usvajaju metale (smanjujući njihovu koncentraciju u zemljištu) i pri tome uginu, potom se sklanjaju sa zemljišta i spaljuju dok metali ostaju u pepelu. Poželjno je koristiti biljke koje imaju visoki biološki prinos.

U drugoj fazi se koriste biljke koje imaju dobro razvijen korenov sistem i mogu da opstanu u uslovima relativno nižih koncentracije metala. Ove biljke, zbog velike

biomase korena, poboljšavaju strukturu i aktivnost/brojnost mikroflore zemljišta i time stvaraju bolje uslove za gajenje narednih useva. Pri tome zbog poboljšane mikroflorne aktivnosti mnogi metali se prevode u netoksične oblike.

U trećoj fazi usled poboljšanja strukture i plodnosti zemljišta, smanjuje se koncentracija metala u njima, i tada mogu da se gaje biljke za dobijanje normalnog prinosa uz odgovarajuće agrotehničke mere. Prvih nekoliko godina bi se vršila kontrola u pogledu sadržaja metala u nadzemnom delu a potom bi te biljke mogle da se koriste za ljudsku i stočnu ishranu.

U ovom radu, ispitivanja su izvedena na oštećenom zemljištu bez ikakvih pokušaja poboljšanja njegovog kvaliteta.

Stoga ova teza ima nekoliko osnovnih ciljeva:

- Ispitivanje plodnosti zemljišta (pH, lakopristupačni fosfor i kalijum, humus) u cilju sagledavanja potreba za poboljšanjem fizičko-hemijskih osobina ovakvih zemljišta - dodavanje humusa, đubriva i kalcifikacija, što je glavni preduslov za uspešno gajenje biljaka;
- Određivanje sadržaja teških metala u zemljištu koje se nalazi na odabranoj lokaciji u blizini rudnika, sa opravdanom pretpostavkom da se pojedini teški metali nalaze u višku;
- Utvrđivanje sadržaja teških metala u divljim i gajenim biljkama koje imaju veću biomasu i koje bi mogle da se koriste kao hiperakumulatori teških metala;
- Testiranje sposobnosti usvajanja i translokacije teških metala u različitim divljim i gajenim biljkama koje bi mogle da se koriste za remedijaciju zemljišta;
- Analiza mogućnosti i ekonomske isplativosti izdvajanja teških metala iz biljaka hiperakumulatora.

Osnovni cilj istraživanja je povećanje plodnosti zagađenih zemljišta teškim metalima i paralelno s tom merom gajenje biljnih vrsta koje usvajaju i iznose teške metale u nadzemni deo biomase smanjujući na taj način koncentraciju metala u zemljištu uz istovremeno povećanje plodnosti zemljišta kao neophodnog uslova za uspešnu biljnu proizvodnju.



Po metodologiji blok sistema postavljen je ogled na odabranoj parceli na zemljištu koje se nalazi u blizini piritnih nanosa površinskog kopa rudnika bakra Veliki Krivelj, u neposrednoj blizini sela Oštrelj. Zasejano je 9 različitih vrsta krmnog bilja, biljaka koje imaju veliku biomasu i potencijalni su hiperakumulatori.

Pre početka eksperimenta izvršeno je uzorkovanje zemljišta i urađene su analize plodnosti zemljišta i sadržaja teških metala. Iste analize ponovljene su i na kraju eksperimenta, odnosno nakon žetve.

Takođe su analizirani i uzorci samoniklih biljaka (17 biljnih vrsta prirodno uzraslih na eksperimentalnom mestu) na sadržaj teških metala. Analize uzoraka zemljišta i biljnog materijala urađene su po standardnim metodama koje se koriste u agrohemijskim laboratorijama.

Seme krmnog bilja potiče iz Instituta za krmno bilje Kruševac. U eksperimentu je korišćeno devet vrsta biljaka, i to sedam vrsta trava (*Poaceae*): ježevica, mačji rep, engleski ljulj, italijanski ljulj, francuski ljulj, livadski vijuk i visoki vijuk, i dve vrste leguminoza (*Fabaceae*): žuti zvezdan i crvena detelina (tabela 6).

Tabela 6. Nazivi gajenih biljaka

Narodni naziv	Latinski naziv
1. Ježevica	<i>Dactylis glomerata</i> L.
2. Mačji rep	<i>Phleum pratense</i> L.
3. Engleski ljulj	<i>Lolium perenne</i> L.
4. Italijanski ljulj	<i>Lolium multiflorum</i> Lam
5. Francuski ljulj	<i>Arrhenatherum elatius</i> L.
6. Livadski vijuk	<i>Festuca pratensis</i> Huds.
7. Visoki vijuk	<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.
8. Žuti zvezdan	<i>Lotus corniculatus</i> L.
9. Crvena detelina	<i>Trifolium pratense</i> L.

Ovih devet višegodišnjih zeljastih biljnih vrsta bilo je posejano na eksperimentalnom polju. Seme od svake vrste bilo je podeljeno u po 3 grupe i posejano po blok sistemu 9 x 3 (9 vrsta u 3 kolone, tj. 3 ponavljanja). Biljni uzorci ovih vrsta (nadzemni delovi), sakupljeni su dva puta: I uzorkovanje – 45 dana posle nicanja i II

uzorkovanje – jesenja žetva. Sve vrste trava nikle su 15 dana nakon setve, a leguminoze malo kasnije – 20 dana nakon setve.

Nadzemni delovi 16 zeljastih samoniklih biljaka i lišće divlje trešnje (*Prunus avium* L.), bili su sakupljeni kao uzorci iz jesenje žetve. Specifikacije (botanički klasifikovani i identifikovani primerci) 17 ispitivanih samoniklih biljaka, čuvaju se u Herbarijumu Tehničkog fakulteta u Boru. Pet vrsta trava (*Poaceae*) su bile: divlja ježevica, zubača, ovčji vijuk (vlasulja), ljulj i rosulja bela. Četiri vrste leguminoza (*Fabaceae*) su bile: obična grahorica, divlja crvena detelina, lucerka i žuti zvezdan. Dve vrste ljutića (*Ranunculaceae*) bile su: ljutić i kukurek, dok su ostale vrste: rastavić poljski, štir, maslačak, mleč i prilepača (broćika) – tabela 7.

Tabela 7. Nazivi prikupljenih samoniklih (divljih) biljaka

Narodni naziv	Latinski naziv
1. Divlja ježevica	<i>Dactylis glomerata</i> L. ( <i>Poaceae</i> )
2. Ljutić	<i>Ranunculus arvensis</i> L. ( <i>Ranunculaceae</i> )
3. Obična grahorica	<i>Vicia sativa</i> L. ( <i>Fabaceae</i> )
4. Rastavić poljski	<i>Equisetum arvense</i> L. ( <i>Equisetaceae</i> )
5. Zubača	<i>Cynodon dactylon</i> L. ( <i>Poaceae</i> )
6. Štir	<i>Amaranthus retroflexus</i> L. ( <i>Amaranthaceae</i> )
7. Kukurek	<i>Helleborus odoratus</i> L. ( <i>Ranunculaceae</i> )
8. Divlja crvena detelina	<i>Trifolium pratense</i> L. ( <i>Fabaceae</i> )
9. Ovčji vijuk (vlasulja)	<i>Anthoxanthum odoratum</i> L. ( <i>Poaceae</i> )
10. Maslačak	<i>Taraxacum officinale</i> L. ( <i>Asteraceae</i> )
11. Divlja trešnja	<i>Prunus avium</i> L. ( <i>Rosaceae</i> )
12. Ljulj	<i>Lolium perenne</i> L. ( <i>Poaceae</i> )
13. Mleč	<i>Euphorbia cyparissias</i> L. ( <i>Euphorbiaceae</i> )
14. Lucerka	<i>Medicago falcata</i> L. ( <i>Fabaceae</i> )
15. Prilepača (broćika)	<i>Gallium aparine</i> L. ( <i>Rubiaceae</i> )
16. Rosulja bela	<i>Agrostis gigantea</i> L. ( <i>Poaceae</i> )
17. Žuti zvezdan	<i>Lotus corniculatus</i> L. ( <i>Fabaceae</i> )

## 4.2. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Uzorci zemljišta i biljaka za analizu sakupljani su plastičnim predmetima ili čeličnim oruđem da bi se izbegla kontaminacija. Posle uzorkovanja, svi uzorci su sušeni na vazduhu, na sobnoj temperaturi, u toku 15 dana, zatim su homogenizovani, samleveni na mlinu i na kraju prosejani na situ sa otvorima 1,5 mm.

### 4.2.1. Metode ispitivanja zemljišta

#### **Kontrola plodnosti zemljišta**

Kontrola plodnosti zemljišta izvršena je radi utvrđivanja stanja snabdevenosti zemljišta osnovnim hranljivim elementima i sagledavanja potrebe za pravilnu upotrebu mineralnih đubriva. U tom cilju urađene su sledeće analize: kiselost zemljišta (pH), sadržaj pristupačnog fosfora i kalijuma, sadržaj humusa i sadržaj ukupnog kalcijuma.

#### ***Kiselost zemljišta (pH)***

Kiselost zemljišta utiče na biološke procese, na delovanje đubriva, kao i na sam razvoj biljaka. Izražava se u jedinicama pH i predstavlja negativni logaritam koncentracije vodonikovih jona u zemljišnom rastvoru:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

Pri neutralnoj reakciji pH vrednost rastvora zemljišta jednaka je 7, pri kiseloj manja od 7, a pri baznoj veća od 7.

U zavisnosti od toga u kakvom se stanju nalaze joni vodonika u zemljištu, razlikuju se sledeće forme kiselosti: aktivna (aktuelna) i potencijalna.

Aktivnu kiselost čine joni vodonika koji se nalaze u rastvoru zemljišta.

Potencijalna kiselost uslovljena je adsorbovanim jonima vodonika i aluminijuma. Određuje se iz sonog ekstrakta zemljišta. U zavisnosti od toga kakvom soli se zamenjuju adsorbovani joni, koji određuju kiselost, razlikuju se dve njene forme: razmenjiva i hidrolitička kiselost.

Razmenjiva kiselost određuje se tretiranjem uzorka zemljišta rastvorom neutralne soli (npr. 1M KCl).

Hidrolitička kiselost se određuje tretiranjem zemljišta rastvorima soli jakih baza i slabih kiselina (npr. 1M CH<sub>3</sub>COONa).

Da bi se doneo zaključak o kiselosti zemljišta određuje se pH vrednost vodnog i sonog ekstrakta zemljišta. Veličina pH vodnog ekstrakta karakteriše aktivnu, a sonog potencijalnu kiselost. Veličina pH vrednosti sonog ekstrakta zemljišta ima veliki praktični značaj za rešavanje pitanja kalcifikacije i pri primenjivanju đubriva. Obično je pH vrednost sonog ekstrakta niža od pH vrednosti vodnog ekstrakta zemljišta.

Određivanje pH vrednosti rađeno je elektrometrijskom metodom. Merenja su vršena na pH-metru MA 5730, Iskra, a postupak određivanja je sledeći:

Izmeri se dva puta po 10 grama zemlje i stavi u čaše od 50 ml. U jednu čašu se unese pipetom 25 ml destilovane i prokuvane vode, a u drugu 25 ml 1M KCl. Zatim se povremeno vrši mešanje staklenim štapićem u toku 30 minuta, nakon čega se uroni staklena elektroda u suspenziju i očita vrednost pH na pH-metru.

### ***Lakopristupačni fosfor i kalijum***

Pod “lakopristupačnim” fosforom i kalijumom podrazumeva se onaj deo ukupnog sadržaja fosfora i kalijuma koji se nalazi u lakše rastvorljivim jedinjenjima ili zamenjivom obliku iz kojih biljke mogu lako da ih iskorišćavaju, pošto se najveći deo ovih, kao i drugih biogenih elemenata u zemljištu nalazi u takvom obliku iz kojih biljke ne mogu direktno da ih koriste za svoju ishranu.

Za određivanje lakopristupačnog fosfora i kalijuma u zemljištu postoji više metoda. Najpogodnija je AL-metoda Egner-Riehm-a (Manojlović i Vajdić, 1960; Zbiral, 2000), jer se iz istog ekstrakta određuju lakopristupačni fosfor i kalijum. Određivanje se vrši tzv. “AL-rastvorom” koji je po sastavu 0,1M amonijum laktat i 0,4M sirćetna kiselina. U ekstraktu fosfor se određuje kolorimetrijski, a kalijum plamenofotometrijski. Postupak određivanja je sledeći:

Odmeri se 2,5 g vazdušno suvog zemljišta, koje je prosejano kroz sito sa otvorima 2 mm, i prenese u reagens bocu od 250 ml. Uzorak se prelije sa 100 ml ekstrakcionog rastvora (rastvor 2), boce dobro zatvore, stave na rotacionu mućkalicu i



mućkaju 2 sata (na temperaturi  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  pri 30-40 obrtaja u minuti). Po završenom mućkanju ekstrakt se profiltrira kroz gust filter papir (plava traka) u čaše od 100 ml. Pošto su prve porcije filtrata obično zamućene, bacaju se a hvata se samo bistar rastvor. Ovako dobijeni filtrat služi za određivanje fosfora i kalijuma.

*Rastvor 1.* Koncentrovani AL-rastvor priprema se od mlečne kiseline p.a., 96 % sirćetne kiseline i amonijum acetata p.a. Najpre se 1000 g mlečne kiseline p.a. stavi u kolbu sa 2000 ml destilovane vode i ostavi u termostatu da hidrolizira na  $50^\circ\text{C}$  48 časova. Isparena količina vode se dodaje, i posle hlađenja odredi se koncentracija rastvora titracijom natrijum-hidroksidom uz indikator fenolftalein. Na osnovu dobijenog molariteta preračuna se količina razblažene mlečne kiseline koju treba uzeti za pripremanje 10 litara koncentrovanog AL rastvora. Ova količina mlečne kiseline pomeša se sa 1785 ml 96% sirćetne kiseline p.a., 700 g amonijum acetata p.a. i dopuni destilovanom vodom do 10 litara. Na taj način pripremljen je koncentrovani AL rastvor.

*Rastvor 2.* Ekstrakcioni AL rastvor priprema se tako što se 1 litar koncentrovanog AL-rastvora razblaži do 10 litara. Ovaj rastvor upotrebljava se za ekstrakciju i njegov pH je 3,75.

Za određivanje fosfora i kalijuma iz filtrata neophodna je serija standardnih rastvora. Osnovni standardni rastvor treba da sadrži 1 mg/ml  $\text{P}_2\text{O}_5$  i 1 mg/ml  $\text{K}_2\text{O}$  i priprema se rastvaranjem 1,9170 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i 0,534 g KCl p.a. (koji su svaki posebno osušeni na  $105^\circ\text{C}$ ) u balonu od 1000 ml. Razblaživanjem ovog rastvora 10 puta dobija se radni standardni rastvor (0,1 mg/ml  $\text{P}_2\text{O}_5$  i 0,1 mg/ml  $\text{K}_2\text{O}$ ) od koga se pravi serija standardnih rastvora. Serija standardnih rastvora pravi se u odmernim balonima od 200 ml tako što se odmeri 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40 ml radnog standardnog rastvora, doda 10 ml koncentrovanog AL-rastvora i dopuni destilovanom vodom do crte. Ovi rastvori sadrže 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$  i  $\text{K}_2\text{O}$  u 100 g zemlje.

Određivanje fosfora iz filtrata rađeno je metodom sa askorbinskom kiselinom uz zagrevanje (Urlich et al., 1960 u: Manojlović i sar., 1969). U odmerne balone od 100 ml prenese se 25 ml filtrata u kome se određuje sadržaj fosfora. Istovremeno se od serije standardnih rastvora takođe uzme po 25 ml. Zatim se u sve odmerne balone doda 9 ml 4M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 10 ml 1,44% amonijum molibdata, 2 ml askorbinske kiseline i destilovana voda do zapremine od 80 ml. Svi ovako pripremljeni odmerni baloni stave se u sušnicu zagrejanu na  $90^\circ\text{C}$  i tako zagrevaju 30 minuta. Posle tog vremena, baloni se skinu i

ostave se da se ohlade do sobne temperature, a zatim dopune destilovanom vodom do crte i dobro izmučkaju. Na ovaj način pripremljeni obojeni rastvori spremni su za kolorimetrisanje.

Kolorimetrisanje je vršeno na kolorimetru MA 9507 Iskra uz filter 6403 (crveni). Za baždarenje aparata koristi se pripremljena slepa proba (prvi rastvor iz serije standardnih rastvora koji ne sadrži radni standardni rastvor, ali sadrži sve ostale sastojke). Zatim se očitavaju apsorbancije standardnih rastvora, od najmanje prema najvećoj koncentraciji, kao i pripremljenih uzoraka. Na osnovu vrednosti apsorbancija pojedinih članova serije standarda konstruiše se kalibraciona kriva sa koje se očitavaju nepoznate koncentracije uzoraka. Dobijena vrednost izražava se u mg  $P_2O_5$  na 100 g zemljišta.

Određivanje kalijuma iz filtrata vršeno je plameno-fotometrijski, na plamenofotometru PFP-7, Jenway. Za baždarenje aparata korišćena je slepa proba, tj. prvi član iz serije standarda koji nosi oznaku 0, kojim se podešava očitana vrednost na nulu, i najveći standard od 40 mg  $K_2O/100$ , kojim se očitavanje podešava na vrednost 100. Ovaj postupak se ponovi nekoliko puta dok se ne ustali, a zatim se izvrši očitavanje serije standarda od nižih ka višim koncentracijama. Posle toga očitaju se pripremljeni uzorci, a zatim se na osnovu očitanih vrednosti i poznatih koncentracija standarda napravi kalibraciona kriva sa koje se očitavaju nepoznate koncentracije uzoraka.

### ***Humus***

Pod humusom se podrazumeva organska materija koja se u zemljištu nalazi u raznim stadijumima razlaganja i sinteze. U zemljištu ima kiselinska svojstva, pa kao takav apsorbuje katjone u zemljištu.

Humus ima veliki uticaj na fizička i hemijska svojstva zemljišta. Izvor je hranljivih sastojaka za biljke, uglavnom azota. Utiče na niz osobina zemljišta - strukturu, vodne, toplotne i vazdušne osobine. Osim za biljke, izvor je ishrane i za zemljišne organizme.

Određivanje sadržaja humusa vršeno je po metodi Kotzmann-a (Dugalić i Gajić, 2005). Postupak određivanja sastoji se u oksidaciji organskih materija zemljišta pomoću 0,02 M rastvora  $KMnO_4$ . Sadržaj razvijenog  $CO_2$  pri oksidaciji ugljenika iz humusa ne

izračunava se direktno, već se određuje količina oksidacionog sredstva (0,02 M  $\text{KMnO}_4$ ) koje se razori na oksidaciju ugljenika organskih materija u uzetoj probi, a zatim se pomoću koeficijenta izračunava količina ugljenika.

Za određivanje sadržaja humusa uzorak zemljišta se proseje kroz sito s otvorima od 0,25 mm. Od pripremljenog uzorka odmeri se 0,5 g (ako se očekuje manji sadržaj humusa u uzorku). Odmerena količina uzorka prenosi se u erlenmajer zapremine 500 ml i doda se 130 ml destilovane vode, 20 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3) i 50 ml 0,02 M  $\text{KMnO}_4$ . Zatim se na erlenmajer stavlja mali levak koji sprečava isparavanje, odnosno gubitak tečnosti, i počinje se sa zagrevanjem. Od momenta ključanja kuvanje se nastavlja u trajanju od 15 minuta. Tiho ključanje pospešuje oksidaciju ugljenika humusa u  $\text{CO}_2$ . Po završenom kuvanju uzorak se skida s rešoa i vrši se titracija sa 0,05 M  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ , pri čemu se vrši reakcija viška 0,02 M  $\text{KMnO}_4$ , koji nije utrošen za oksidaciju ugljenika u  $\text{CO}_2$ . Titracija se vrši do obezbojavanja rastvora. Po završenoj titraciji očitava se na bireti utrošeni broj ml 0,05 M  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ . Reakcija između oksalne kiseline i  $\text{KMnO}_4$  nije momentalna, pa pri titraciji dolazi do greške, pošto je dodata veća količina oksalne kiseline. Da bi se ispravila ostvarena greška vrši se retitracija rastvorom 0,02 M  $\text{KMnO}_4$  do pojave blede ružičaste boje. Po završenoj reakciji na bireti se očita tačno utrošena količina rastvora 0,02 M  $\text{KMnO}_4$ .

Procentualno učešće humusa u zemljištu izračunava se po obrascu:

$$\text{humus (\%)} = (A \cdot 0,514 \cdot 1,72 \cdot 100)/c$$

A - broj ml utrošenog rastvora 0,02 M  $\text{KMnO}_4$  za oksidaciju ugljenika;

$$(A = \text{ml } \text{KMnO}_4 \cdot F_{\text{KMnO}_4} - \text{ml } \text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot F_{\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4})$$

0,514 - koeficijent koji označava da svaki ml  $\text{KMnO}_4$  oksidiše 0,514 mg ugljenika u  $\text{CO}_2$ ;

1,72 - koeficijent za prevođenje ugljenika u humus (ugljenika ima u humusu oko 58%);

c - odvaga uzorka zemljišta, u mg.

### ***Određivanje teških metala***

Teški metali, čije poreklo u zemljištu može biti prirodno (geohemijsko) i antropogeno (zagađivanje iz različitih izvora), imaju različite jačine veze sa čvrstom fazom zemljišta. Zbog toga se za njihovu ekstrakciju iz zemljišta koriste sredstva različite jačine.

Određivanje ukupnog sadržaja nekih teških metala (Cu, Pb, Zn, Fe) vršeno je radi dobijanja opšteg uvida o njihovom sadržaju u zemljištu, odnosno za ocenu zagađenosti zemljišta teškim metalima, jer se oni, kada su veštačkog porekla, nalaze u obliku više rastvorljivih jedinjenja. Međutim, biljke nisu u stanju da usvajaju sve oblike u kojima se teški metali nalaze u zemljištu, zbog čega je, da bi se utvrdila potencijalna opasnost od njihovog nepovoljnog dejstva na živi svet, nedostatak ili suvišak, određen i za biljke pristupačan sadržaj elemenata (Cu i Zn).

Za utvrđivanje ukupnih količina, ekstrakcija teških metala iz zemljišta može se vršiti upotrebom mineralnih kiselina ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ) ili njihovom smešom, dok se pri određivanju pristupačnih oblika teških metala u zemljištu kao ekstrakciona sredstva mogu uspešno koristiti 0,01 ili 0,05 M EDTA i 0,005 M DTPA (Alloway, 1995).

Uzorak zemljišta koji se koristi za određivanje sadržaja teških metala mora biti homogenizovan i prosejan kroz sito sa otvorima 0,2 mm. Količina uzorka se kreće od 1-5 g zavisno od toga koji se element određuje, odnosno u zavisnosti od očekivane koncentracije datog elementa. Odmerena količina uzorka prenosi se u Kjeldalov balon za razaranje od 250 ml i tretira sa 10 ml koncentrovane azotne kiseline. Kad se reakcija smiri, uzorak se postepeno zagreva na rešou (počinje se sa temperaturom od  $50^\circ\text{C}$ ). Zagrevanje traje dok se razvijaju bele pare azotne kiseline. Ako je uzorak posle toga jako crn, dodaje se još 5-10 ml azotne kiseline i 3 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  i ponovo vrši zagrevanje dok se uzorak potpuno ili delimično obezboji.

Posle toga uzorak se hladi i filtrira kroz filter papir "plava traka" u sud od 50 ml. Talog se ispere destilovanom vodom a sadržaj u sudu dopuni do crte. Na taj način izvršeno je prevođenje teških metala u rastvor iz kog se vrši određivanje sadržaja teških metala na atomskom apsorpcionom spektrofotometru (AAS).

Istovremeno se priprema i tzv “slepa proba” koja sadrži iste količine  $\text{HNO}_3$  i  $\text{H}_2\text{O}_2$  kao i uzorci.

Na isti način vršeno je i određivanje sadržaja ukupnog kalcijuma u zemljištu.

Za određivanje sadržaja lako pristupačnih metala odmeri se najmanje 2 g uzorka zemljišta i prenese se u bocu za ekstrakciju. Uzorak se prelije sa 20 ml 1 % rastvora  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , zatvori gumenim zapušačem i osigura da bude u vertikalnom položaju na rotacionoj mućkalici. Posle 2 sata mućkanja suspenzija se filtrira kroz hartiju za ceđenje Whatman 42. Filtrat se analizira metodom AAS.

Za određivanje elemenata na atomskom apsorpcionom spektrofotometru neophodno je pripremiti standardne rastvore poznatih koncentracija. Osnovni standardni rastvor treba da sadrži 1 g/l elementa koji se očitava. Od njega se prave serije standardnih rastvora u zavisnosti od očekivanog sadržaja pojedinih elemenata u zemljištu.

#### **4.2.2. Metode ispitivanja biljnog materijala**

##### ***Određivanje fosfora, kalijuma i natrijuma***

Određivanje mineralnih elemenata u biljnom materijalu sastoji se u tome što se suva biljna supstanca razara prvo koncentrovanom sumpornom kiselinom, a zatim smešom sumporne i perhlorne kiseline. Celokupna količina fosfora, kalijuma i natrijuma iz biljnog materijala prelazi u rastvor. Dobijeni rastvor služi za određivanje fosfora, kalijuma i natrijuma. Fosfor se iz rastvora određuje kolorimetrijski u vidu redukovanog fosformolibdatskog kompleksa i izražava kao  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Kalijum i natrijum se određuju na plamenofotometru i izražavaju u obliku  $\text{K}_2\text{O}$ , odnosno  $\text{Na}_2\text{O}$ . Postupak određivanja koji će biti opisan predstavlja modifikaciju po M.A. Shakeru (1958) (Džamić, 1986).

Usitnjeni biljni materijal suši se 12 časova na temperaturi  $100\text{-}105^\circ\text{C}$ . Od osušenog materijala meri se oko 0,1-0,2 g i prenosi u tikvice za mikrorazaranje. Uzorku se dodaje 2-5 ml koncentrovane sumporne kiseline p.a. (spec. tež. 1,84) i uzorak stavlja na umereno zagrejan rešo da ključa oko 10 minuta, u toku kog vremena se biljni materijal potpuno razori i dobijeni rastvor dobije tamno crvenu boju. Balon se sklanja s rešoa da se ohladi, a zatim se u njega dodaju 4 kapi (0,15 ml) smeše jednakih zapremina

sumporne i perhlorne kiseline. Zatim se balon vraća na rešo i u početku vrši lagano, a zatim snažno razaranje postepenim povećanjem temperature. Boja se u toku prvih 5 minuta brzo menja u žutu. Snažno razaranje se mora nastaviti još 10 minuta kako bi se dehidrirao  $\text{SiO}_2$  i konačno rastvor postao bezbojan i bistar. Ukoliko to nije slučaj, tikvica za razaranje se ostavi da se ohladi, doda se kap mešavine sumporne i perhlorne kiseline i razaranje se ponavlja.

Po završenom razaranju tikvice se skidaju sa rešoa da se ohlade, a zatim se sadržaj razblaži destilovanom vodom, pažljivo se prenese u odmernu tikvicu od 100 ml i dopuni do oznake destilovanom vodom. Sadržaj odmernih tikvica se zatim filtrira kroz filter papir Whatman br. 2 i filtrat, koji sadrži fosfor, kalijum i natrijum, koristi za dalje analize.

Određivanje fosfora iz filtrata rađeno je metodom sa askorbinskom kiselinom uz zagrevanje (Scheffer et al., 1960). U odmerni balon od 100 ml sipa se 5 ml filtrata, a zatim se doda 1,8 ml 4M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2 ml 2,44% amonijum molibdata i 0,4 ml 25% askorbinske kiseline. Dalji postupak određivanja fosfora je isti kao i kod zemljišta, s tom razlikom što se kod biljnog materijala primenjuje serija standardnih rastvora čije su koncentracije u intervalu od 0,100-0,500 mg/100 ml i obračun vrši u %  $\text{P}_2\text{O}_5$ .

Kalijum i natrijum se određuju u rastvoru razorene biljne supstance (filtratu) plamenofotometrijski, uz korišćenje standardnih rastvora poznatih koncentracija kalijuma i natrijuma. Za određivanje kalijuma koristi se serija standardnih rastvora koncentracija 1-8 mg  $\text{K}_2\text{O}$ /100 ml rastvora, a za određivanje natrijuma serija standarda od 0,002-0,020 mg  $\text{Na}_2\text{O}$ /100 ml rastvora. Proračun se vrši na %  $\text{K}_2\text{O}$ , odnosno  $\text{Na}_2\text{O}$ .

### ***Određivanje teških metala***

Sadržaj teških metala određivan je gajenim biljkama i sakupljenom (divljem) biljnom materijalu. Određivanje teških metala vršeno je metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS). Za razaranje uzoraka korišćen je postupak razaranja sa  $\text{HNO}_3$  i 39%-nim  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Westerman, 1990). Nakon odgovarajućeg razblaženja očitavanje koncentracija pojedinih elemenata vršeno je na atomskom apsorpcionom spektrofotometru marke Philips, Pye Unicam SP9.

Odmerava se 0,5 g prethodno osušenog i isitnjenog biljnog materijala u sud po Erlenmeyer-u zapremine 50 ili 100 ml. Zatim se doda 5 ml koncentrovane azotne kiseline i na vrh suda se stavi mali levak ili sahatno staklo. Ostavi se da stoji preko noći zbog sporog rastvaranja organske materije. Sud se zatim stavlja na električni rešo, čija je temperatura podešena na 125°C, i razara se 1 čas. Posle toga se sud sklanja sa rešoa da bi se rastvor u njemu ohladio do sobne temperature i dodaje se 0,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Hlađenje i dodavanje 30 %-nog H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ponavlja se dotle dok se ne dobije bistar rastvor. Po potrebi se doda još HNO<sub>3</sub> da bi se sprečilo isušivanje rastvora. Kada rastvor postane bezbojan smanji se temperatura električnog rešoa na 80°C. Zatim se sa suda ukloni levak ili sahatno staklo i rastvor se ostavi da uparava skoro do suva. Ostatak treba da bude beo ili bezbojan. Posle toga se sud sklanja sa rešoa da bi se rastvor u njemu ohladio do sobne temperature. Celokupna zapremina tečnosti se prenosi u normalni sud od 25 ml. Doda se HNO<sub>3</sub> ili HCl (1:10) do crte. Dobro se promućka. Ovako pripremljen rastvor, koji treba da je bistar, spreman je za dalju analizu, odnosno određivanje teških metala.

Određivanje teških metala iz dobijenog rastvora vrši se očitavanjem na atomskom apsorpcionom spektrofotometru, svaki elemenat pomoću odgovarajuće lampe, na odgovarajućoj talasnoj dužini i jačini struje, koristeći seriju standardnih rastvora poznatih koncentracija.

### 4.3. Literatura

- Alloway B.J. (1995) Heavy Metals in Soils, Second edition. Blackie academic & Professional 1–368.
- Dugalić G., Gajić B. (2005) Pedologija – praktikum. Agronomski fakultet Čačak, 1–125.
- Džamić M. (1986) Praktikum iz biohemije. Poljoprivredni fakultet, Beograd, 565–568.
- Manojlović S., Vajdić S. (1960) Određivanje lakopristupačnog kalijuma u zemljištu AL metodom (Egner-Riehm). Savremena poljoprivreda 12, Novi Sad.
- Manojlović S., Rajković Ž., Glintić M., Šestić S., Janković M. (1969) Priručnik za sistematsku kontrolu plodnosti zemljišta i upotrebu đubriva. Beograd, 37–41.
- Scheffer F., Ulrich B., Benzler J.H. (1960) Bestimmung von Phosphorsaure und Kieselsäure als Molybdänblau. Landwirtsch Forsch 13: 191–201.
- Zbiral J. (2000) Determination of phosphorus in calcareous soils by Mehlich 3, Mehlich 2, CAL and Egner extractants. Communications of Soil Science and Plant Analysis 31: 3037–3048.
- Westerman R.L. (1990) Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of America, Madison-Wisconsin, 406.

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. TEORIJSKA RAZMATRANJA

Prisustvo teških metala u životnoj sredini izaziva ozbiljna oštećenja biljaka i životinja, i predstavlja rizik za ljudsko zdravlje. Teški metali ulaze u ljudsko telo putem vazduha, vode, a pre svega kroz uzimanje preko lanca ishrane.

Ponašanje teških metala, kao i smanjenje njihovog sadržaja u zemljištu, stalni je predmet interesovanja mnogih istraživača kod nas i u svetu (Wang et al., 2005; Gupta and Rastogi, 2009). Dva glavna faktora koji utiču na koncentraciju teških metala u zemljištu i biljkama su:

- hemijske i fizičke karakteristike zemljišta, kao i njihove interakcije i
- specifična sposobnost pojedinih biljnih vrsta da akumuliraju toksične teške metale.

Jedan od načina smanjenja sadržaja teških metala u zemljištu je biološka rekultivacija (fitoremedijacija) – nova tehnologija upotrebe biljaka za čišćenje zemljišta i voda zagađenih teškim metalima (Kinnerseely, 1993; Raskin et al., 1994, 1997; Salt et al., 1995; Cunningham et al., 1995; French et al., 2006; Long et al., 2002; Denys et al., 2006; Mench et al., 2009, 2010).

Neke biljne vrste mogu akumulirati u svom korenu kao i u nadzemnim delovima teške metale i na taj način ukloniti izvesne količine teških metala iz zemljišta. Akumulirani teški metali, u zavisnosti od njihove tržišne vrednosti, mogu se vratiti iz kontaminirane biomase ili pepela (Angle and Linacre, 2005; Dickinson et al., 2009; Lu et al., 2012).

Do sada je istraženo nekoliko mehanizama usvajanje metala putem biljaka:

- Biljke ne usvajaju metale, tj tolerantne su prema visokim koncentracijama metala u zemljištu.
- Biljke usvajaju metale, ali se oni akumuliraju u korenovom sistemu i mikoriznoj flori korena.
- Biljke usvajaju metale i akumuliraju ih u nadzemnom delu.

Biljne vrste koje akumuliraju teške metale možemo podeliti u dve grupe: indikatore i hiperakumulatore. Teški metali u biljkama indikatorima su na nivou



njihovog sadržaja u zemljištu, dok su kod biljaka hiperakumulatora koncentracije metala u tkivima biljaka daleko preko nivog njihovog sadržaja u zemljištu.

Biljke koje su sposobne da akumuliraju ekstremno visoke koncentracije teških metala nazvane su hiperakumulatorima. Hiperakumulatori akumuliraju 100 - 1.000 puta veće količine od onih koje se normalno akumuliraju u biljkama i to bez negativnih efekata po njihov rast (Kubota and Takenaka, 2003). U idealnom slučaju, hiperakumulatori su samonikle (divlje) biljke ili biljke koje su u stanju da se prilagode u velikoj meri životnoj sredini, odnosno zagađenom zemljištu.

Idealna biljka za fitoekstrakciju trebalo bi da uspeva na zemljištu obogaćenom metalima, da daje visoku biomasu i da ima visoku stopu porasta, da može da akumulira i toleriše visoke koncentracije metala u izdancima, da ima sposobnost da akumulira više metala i pokazuje otpornost prema bolestima i štetočinama (Salt et al., 1998; Tong et al., 2004; Shabani and Sayadi, 2012). Međutim, hiperakumulatori su, uobičajeno, specifični za jedan određeni metal.

Biljke hiperakumulatori se prilagođavaju klimatskim i edafskim uslovima sredine i to su uglavnom biljke sa sporim rastom. One obično imaju malu biomasu i kratak životni vek. Među njima, biljke koje mogu da se uklone žetvom, imaju dobre predispozicije za uklanjanje toksičnih mikroelemenata iz zemljišta (Cunningham and Ow, 1996). Razne vrste trava su od posebnog značaja jer dosta njih se može naći na zagađenom zemljištu. One imaju jednostavnu građu, mogu brzo da rastu i dostignu fazu zrelosti. Većina takvih trava akumuliraju su korovi, koji mogu brzo da se reprodukuju i mogu da rastu na zemljištima niske plodnosti, odnosno mogu se lako prilagoditi različitim uslovima okruženja (Angle and Linacre, 2005).

Razvoj fitoremedijacije u velikoj meri je usporen usled nedovoljnog razumevanja mehanizama transporta i mehanizama tolerancije.

Pristupačnost pojedinih metala apsorpciji od strane biljaka zavisi od postojeće forme metala u zemljištu, kao i od njihove koncentracije i od same biljne vrste. Biljke se razlikuju po svom usvajanju metala u tragovima, kao i po načinu distribucije istih kroz biljna tkiva koja zatim sledi. Žive biljke su dinamični sistemi, pa apsorpcija teških metala varira sa genetskom konstitucijom i karakteristikama korena, njegovim apsorptivnim kapacitetom i nivoom evapotranspiracije. Najvažniji procesi usvajanja metala jesu put transporta metala do korenovog centralnog cilindra i kretanje metala od

korena do nadzemnih delova biljke. Usvajanje metala se takođe može ostvariti i preko lišća biljke. Mobilnost pojedinih metala usvojenih od strane lista je slobodna u svim pravcima i njihova aktivnost je slična onima koji su usvojeni putem korena. Ipak, neki metali koji su usvojeni preko lista, ostaju fiksirani u lisnom tkivu i, kao takvi, nisu pokretni.

Literaturni podaci ukazuju da se svi hiperakumulatori mogu podeliti u tri grupe u odnosu na njihovu tendenciju da akumuliraju različite metale: Cu/Co akumulatori, Zn/Cd/Pb akumulatori i Ni akumulatori. Hiperakumulatori su adaptirani na određene klimatske i edafske uslove i često su to male biljke sa sporim rastom koje se ne mogu smatrati kao konvencionalni usev. Oni često daju nisku biomasu i mogu imati kratak životni ciklus ne pokazujući očiglednu ekonomsku korist.

U odnosu na ovo, fitoekstrakcioni pristup je obimno istraživan sa nekim hiperakumulatorima ili akumulirajućim biljkama koje imaju visoki prinos biomase, najčešće različite vrste zeljastih biljaka, ali i drveća takođe. Među njima, biljke koje se mogu žeti igraju glavnu ulogu u uklanjanju toksičnih elemenata u tragovima iz zemljišta. Biljke koje se mogu žeti, međutim, razlikuju se po svojim sposobnostima da uzimaju i akumuliraju u svojim tkivima, različite elemente u tragu. Travnne vrste su od posebnog interesa jer su one obilne na kontaminiranim zemljištima, imaju jednostavnu građu i rastu brzo do faze zrelosti. Većina travnih akumulatora su korovi, koji se brzo reprodukuju, rastu u uslovima slabog đubrenja i adaptirani su na najrazličitije uslove sredine (zemljište i klima).

Biljke uzimaju teške metale iz zemljišnog rastvora preko korena. Nakon ulaska u koren, joni teških metala mogu da se skladište u korenu ili translociraju do izdanaka prvenstveno kroz ksilemske sudove (Prasad, 2004; Jabeen et al., 2009) gde se uglavnom deponuju u vakuolama. Vakuole su ćelijske organele sa niskom metaboličkom aktivnošću (Denton, 2007). Deponovanje teških metala u vakuolama je jedan od načina za uklanjanje viška jona metala iz citosola i na taj način se može smanjiti njihova interakcija sa ćelijskim metaboličkim procesima (Assunção et al., 2003; Sheoran et al., 2011).

Smeštanje metala u vakuolama je deo mehanizma tolerancije kod hiperakumulatora metala (Cluis, 2004; Tong et al., 2004). Ceo mehanizam fitoekstrakcije teških metala ima pet osnovnih aspekata: mobilizacija teških metala u

zemljištu, uzimanja metalnih jona preko korena biljaka, translokacija nagomilanih metala od korena do tkiva, sekvestracija metalnih jona u biljnim tkivima i metalna tolerancija. Metalna tolerancija je ključni preduslov za akumulaciju metala, odnosno za fitoremedijaciju (Clemens, 2001; Tong et al., 2004). Mehanizmi koji regulišu toleranciju teških metala u biljnim ćelijama su vezivni ćelijski zid, aktivni transport jona u vakuole i helacija putem indukcije metal - vezivnih peptida i stvaranje metalnih kompleksa (Mejára and Bülow, 2001; Memon and Schröder, 2009).

Transport teških metala iz zemljišnog rastvora do vakuola kontrolišu i regulišu razni molekuli. Neki molekuli su ugrađeni u kros-membranski transport teških metala, a drugi su uključeni u njihovu kompleksaciju i sekvestraciju. Usvajanje jona teških metala iz zemljišnog rastvora se sprovodi putem specijalizovanih transportera (proteina) ili  $H^+$  jona spojenog sa nosećim proteinima prisutnim u plazma membrani korena (Greipsson, 2011).

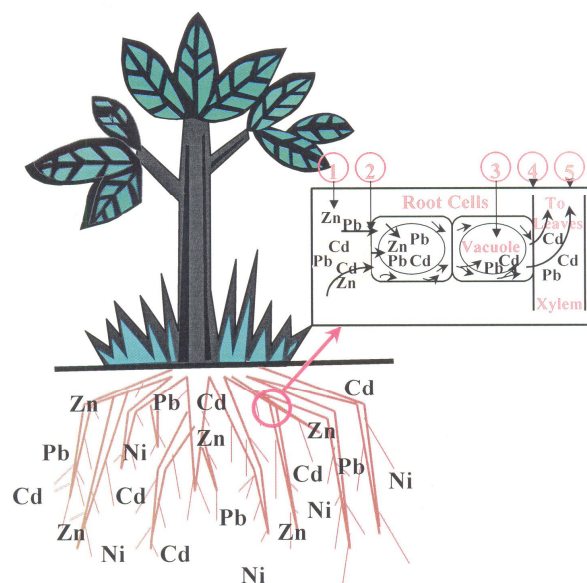
Zbog naelektrisanja, metalni joni ne mogu da se slobodno kreću kroz ćelijske membrane, koje su lipofilične strukture. Zbog toga, transport jona u ćelijama mora biti preko proteinskih membrana sa transportnom funkcijom, poznatim kao tzv transporteri. Transmembrane transporteri poseduju vanćelijsko vezivno područje koje joni zauzimaju neposredno pre transporta, i transmembransku strukturu koja povezuje spoljašnju i unutrašnju sredinu ćelije. To vanćelijsko vezivno područje je pristupačno samo za specifične jone i odgovorno za transport iz spoljašnjeg prostora kroz hidrofobno okruženje membrane u ćeliju. Ovi transporteri se odlikuju nekim kinetičkim parametarima, kao što su transportni kapacitet ( $V_{max}$ ) i jonski afinitet ( $K_m$ ).  $V_{max}$  predstavlja maksimalni iznos transporta jona kroz ćelijske membrane.  $K_m$  predstavlja afinitet transportera za određene jone i predstavlja koncentraciju jona u spoljašnjem rastvoru gde su brzine transporta izjednačene  $V_{max}/2$ . Niska vrednost  $K_m$ , visok afinitet, ukazuju na visok nivo jona koji se transportuju u ćelije čak i pri niskim spoljnim koncentracijama jona. Proučavanjem kinetičkih parametara,  $K_m$  i  $V_{max}$ , biolozi dobijaju uvid u specifičnost i selektivnost transportnog sistema.

Važno je napomenuti da od ukupnog iznosa jona koji se vezuju putem korena, samo deo se apsorbuje u ćelije. Značajan deo jona je fizički adsorbovan na negativno naelektrisanim delovima ( $COO^-$ ) ćelijskih zidova korena. Ove frakcije, vezane u ćelijskom zidu korena, ne mogu biti translocirane u nadzemne delove i, stoga, ne mogu

biti uklonjene putem biomase nadzemnog dela biljke (fitoekstrakcija). Dakle, moguće je da biljka značajno akumulira metale u korenu, ali da u isto vreme pokazuje ograničeni kapacitet za fitoekstrakciju. Na primer, mnoge biljke akumuliraju Pb u korenu, ali translokacija Pb u nadzemne delove biljke je veoma niska. U prilog tome, Blaylock i Huang (1999) zaključili su da je ograničavajući faktor za Pb fitoekstrakciju veliko rastojanje translokacije od korena do nadzemnih delova.

Vežanost putem ćelijskog zida nije jedini biljni mehanizam odgovoran za imobilizaciju metala u korenu i kasniju inhibiciju translokacije jona u nadzemne delove. Metali mogu takođe biti kompleksirani i zastupljeni u samoj ćelijskoj strukturi (npr. vakuole) postajući na taj način nedostupni za translokaciju u nadzemne delove (Lasat et al., 1998). Pored toga, neke biljke poseduju specijalizovane mehanizme za ograničavanje unosa metala u koren. Međutim, koncept isključenja metala nije dovoljno poznat (Peterson, 1983).

Usvajanje metala u ćelijama korena, tačka ulaska u život tkiva, je korak od najvećeg značaja za proces fitoekstrakcije. Međutim, za fitoekstrakciju metala takođe mora da dođe do transporta iz korena do nadzemnih delova. Premeštanje metala od korena do nadzemnih delova prvenstveno je pod kontrolom dva procesa: pritisak u korenu i transpiracija preko lišća. Translokacija u listove podrazumeva da se metali apsorbuju iz ćelijskog soka u ćelije lista. Šematski prikaz procesa transporta metala koji se dešava u korenu i nadzemnim delovima biljke prikazan je na slici 3.



Slika 3. Usvajanje metala i akumulacija u biljkama

- 1) Metali se adsorbuju na površini korena
- 2) Biodostupni metali se kreću kroz ćelijsku membranu u ćelije korena
- 3) Deo metala se unosi u koren i imobiše u vakuolama
- 4) Unutarćelijski mobilni metali prolaze kroz ćelijske membrane u tkivo korena (ksilem)
- 5) Metal je translociran od korena do spoljnih tkiva (stabla i listova)

Iako su mikroelementi kao što su Zn, Mn, Ni i Cu neophodni za rast i razvoj biljaka, visoka koncentracija ovih jona u biljkama može biti toksična. Kako bi se izborile sa ovim potencijalnim stresom, biljke neakumulatori su razvile nekoliko mehanizama da kontrolišu usvajanje jona. Takvi mehanizmi uključuju regulisanje jonskog priliva (stimulacija aktivnosti pri niskom jon snabdevanju, i inhibicija pri visokim koncentracijama), kao i vraćanje usvojenih jona nazad u spoljnu sredinu. Hiperakumulatorske biljne vrste, sposobne da akumuliraju metale u hiljadama ppm-a, poseduju dodatne mehanizme detoksifikacije. Na primer, istraživanja su pokazala da je kod *T. Goesingens*, Ni-hiperakumulatora, visoka tolerancija na Ni zbog kompleksiranja sa histidinom, koji utiče da metal bude neaktivan (Krämer et al, 1997).

Istraživanja takođe sugerišu na ekonomsku opravdanost izdvajanja ovih teških metala putem biljaka hiperakumulatora. Cink i kadmijum su metali koji se mogu ukloniti iz kontaminiranog zemljišta nakon žetve nadzemnih delova putem hiperakumulatora. U normalnim biljkama aktivnost cink transportnog gena regulisana je količinom cinka u biljci. Kod *Thlaspi*, međutim, ovi geni su maksimalno aktivni sve vreme, nezavisno od nivoa cinka u biljci, sve dok se ne podigne nivo cinka u tkivima na veoma visoke koncentracije. Ovo dovodi do toga da se velike količine cinka transportuju iz zemljišta i premeštaju u nadzemne delove biljke.

Za zemljišta koja su kontaminirana uranijumom, dodatak organske limunske kiseline u zemljište povećava rastvorljivost uranijuma a takođe i njegovu biodostupnost za usvajanje od strane biljke i translokaciju, tako što se citrat vezuje za nerastvorljivi uranijum u zemljištu. Sa ovim tretmanom putem citrata, kod testiranih biljaka u mladim izdancima je utvrđena koncentracija uranijuma od preko 2.000 ppm – 100 puta veća nego u kontrolnoj varijanti. Dakle, moguće je smanjiti zagađenost zemljišta uranijumom upotrebom citrata – dodatka koji ne košta puno[1].

Metode koje se koriste za čišćenje zemljišta od radioaktivnih elemenata su visoko energetske i jako skupe, tako da fitoremedijacija predstavlja atraktivnu alternativu u odnosu na ustaljene metode koje se primenjuju. Istraživanja koja su sprovedena na identifikaciji specifičnih metoda i biljnih vrsta za remedijaciju zemljišta oštećenih radioaktivnim cezijumom (cezijum-137) pokazala su da je primarno ograničenje za izdvajanje cezijuma iz zemljišta njegova biodostupnost. Forma u kojoj se ovaj element nalazi u zemljištu čini ga nedostupnim za usvajanje od strane biljke. U nizu laboratorijskih ispitivanja pokazalo se da je amonijum jon najefikasniji za rastvaranje cezijuma-137 u zemljištu. Ovim tretmanom povećava se dostupnost cezijuma-137 za usvajanje putem korena i značajno se stimuliše akumulacija radioaktivnog cezijuma u biljnim tkivima. Kasnija istraživanja na terenu, sa šest različitih biljaka, pokazala su značajne varijacije u delotvornosti biljnih vrsta za čišćenje kontaminiranih zemljišta. Jedna vrsta štira, *Amaranthus retroflexus*, bila je 40 puta efikasnija u odnosu na druge biljke koje su korišćene u testiranju radi uklanjanja radiokativnog cezijuma iz zemljišta. Eksperimentom je uklonjeno 3% od ukupne količine cezijuma za samo jedan tromesečni vegetacioni ciklus. Sa dva ili tri useva godišnje, moguće je da se putem ove biljke zemljište očisti od radiokativnog cezijuma za manje od 15 godina.

Kisela zemljišta su nepogodna za rast i razvoj biljaka, jer na takvim zemljištima visok nivo aluminijuma limitira biljnu proizvodnju. Na alkalnim i neutralnim zemljištima aluminijum nije problem za biljke. Međutim, u kiselim zemljištima aluminijum se nalazi rastoren u obliku  $Al^{3+}$  jona koji je za biljke toksičan. Toksičnost aluminijuma ograničava biljnu proizvodnju na kiselim zemljištima. Kada zemljište postane kiselo, toksični aluminijum dovodi do oštećenja korenovog sistema, što u velikoj meri smanjuje prinos.

### 5.1.1. Literatura

- Angle J.S., Linacre N.A. (2005) Metal phytoextraction - a survey of potential risks. *International Journal of Phytoremediation* 7: 241–254.
- Assunção A.G.L., Schat H., Aarts M.G.M. (2003) *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 159: 351–360.
- Baker A.J.M., Brooks R.R. (1989) Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements – A Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81–126.
- Baker A.J.M., Walker P.L. (1990) Ecophysiology of Metal Uptake by Tolerant Plants. In: *Heavy metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. Edited by Shaw A.J. Boca Raton: CRS Press, 155–177.
- Blaylock M.J., Huang J.W. (1999) Phytoextraction of metals. In: *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*. Eds. I Raskin, BD Ensley, 53–70, John Wiley & Sons Inc, New York, NY.
- Chaney R.L., Angle J.S., Broadhurst C.L., Peters C.A., Tappero R.V., Sparks D.L. (2007) Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality* 36: 1429–1443.
- Clemens S. (2001) Developing tools for phytoremediation: towards a molecular understanding of plant metal tolerance and accumulation. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 14: 235–239.
- Cluis C. (2004) Junk-greedy greens: phytoremediation as a new option for soil decontamination. *BioTech Journal* 2: 61–67.
- Cunningham S.D., Berti W.R., Huang J.W. (1995) Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology* 13: 393–397.
- Cunningham S.D., Ow D.W. (1996) Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology* 110: 715–719.
- Denton B. (2007) Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. *Basic Biotechnology* 3: 1–5.
- Denys S., Rollin C., Guillot F., Baroudi H. (2006) In situ phytoremediation of PAHs contaminated soils following a bioremediation treatment. *Water, Air & Soil Pollution: Focus* 6: 299–315.
- Dickinson N.M., Baker A.J.M., Doronila A., Laidlaw S., Reeves R.D. (2009) Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* 11: 97–114.
- French C.J., Dickinson N.M., Putwain P.F. (2006) Woody biomass phytoremediation of contaminated brownfield land. *Environ Pollution* 141:387–395.
- Greipsson S. (2011) Phytoremediation. *Nature Education Knowledge* 2 (1): 7.
- Gupta V.K., Rastogi A. (2009) Biosorption of hexavalent chromium by raw and acid-treated green alga *Oedogonium hatei* from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials* 163(1): 396–402.
- Jabeen R., Ahmad A., Iqbal M. (2009) Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *Botanical Review* 75: 339–364.

- Kinnerseley A.M. (1993) The Role of Phytochelates in Plant Growth and Productivity. *Plant Growth Regulation* 12: 207–217.
- Krämer U., Smith R.D., Wenzel W., Raskin I., Salt D.E. (1997) The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy. *Plant Physiology* 115: 1641–1650.
- Kubota H., Takenaka C. (2003) *Arabis gemmifera* is a hyperaccumulator of Cd and Zn. *International Journal of Phytoremediation* 5(3): 197–201.
- Lasat M.M., Baker A.J.M., Kochian L.V. (1996) Physiological characterization of root  $Zn^{2+}$  absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiology* 112: 1715–1722.
- Lasat M.M., Baker A.J.M., Kochian L.V. (1998) Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology* 118: 875–883.
- Long X.X., Yang X.E., Ni W.Z. (2002) Current situation and prospect on the remediation of soils contaminated by heavy metals. *Chinese Journal of Applied Ecology* 13(6): 757–762.
- Lu S., Du Y., Zhong D., Zhao B., Li X., Xu M., Li Z., Luo Y., Yan J., Wu L. (2012) Comparison of trace element emissions from thermal treatments of heavy metal hyperaccumulators. *Environmental Science & Technology* 46: 5025–5031.
- Mejáre M., Bülow L. (2001) Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology* 19: 67–73.
- Memon A.R., Schröder P. (2009) Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 162–175.
- Mench M., Lepp N., Bert V., Schwitzguébel J.P., Gawronski S.W., Schröder P., Vangronsveld J. (2010) Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. *Journal of Soils and Sediments* 10: 1039–1070.
- Mench M., Schwitzguébel J.P., Schröder P., Bert V., Gawronski S., Gupta S. (2009) Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 876–900.
- Peterson P.J. (1983) Adaptation to toxic metals. In: *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*. Eds. DA Robb, WS Pierpoint, 51–69, Academic Press, London.
- Prasad M.N.V. (2004) Phytoremediation of metals in the environment for sustainable development. *Proceedings of the National Academy of Sciences Part B* 70: 71–98.
- Raskin I., Kumar P.B.A.N., Duchekov S., Salt D.E. (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5: 285–290.
- Raskin I., Smith R.D., Salt D.E. (1997) Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 221–226.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar P.B.A.N., Duchekov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. (1995) Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio-Technology* 13: 468–474.
- Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. (1998) Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 643–668.



- Shabani N., Sayadi M.H. (2012) Evaluation of heavy metals accumulation by two emergent macrophytes from the polluted soil: an experimental study. *Environmentalist* 32: 91–98.
- Sheoran V., Sheoran A., Poonia P. (2011) Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41: 168–214.
- Singh O.V., Labana S., Pandey G., Budhiraja R., Jain R.K. (2003) Phytoremediation: An overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61 (5-6): 405–412.
- Tong Y.P., Kneer R., Zhu Y.G. (2004) Vacuolar compartmentalization: a second generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends in Plant Science* 9: 7–9.
- Wang X., Sato T., Xing B., Tao S. (2005) Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. *Science of The Total Environment* 350 (1-3): 28–37.
- [1] <http://www.ars.usda.gov/is/AR/archive/jun00/soil0600.pdf> (Phytoremediation:Using Plants To Clean Up Soils (2000) 48: 6)

## 5.2. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

### 5.2.1. Kontrola plodnosti zemljišta

#### pH vrednost

pH vrednost je jedna od osnovnih osobina zemljišta. pH kontroliše hemijske, fizičke i biološke osobine zemljišta i utiče na:

- pristupačnost pojedinih hranljivih elemenata i efikasnost đubrenja,
- pokretljivost đubriva,
- stabilnost zemljišta,
- pokretljivost vode u zemljištu i njegovu aeraciju,
- toksičnost jona,
- mikrobiološku aktivnost,
- rast biljaka,
- efikasnost pesticida,
- životnu okolinu.

Vremenom, pod uticajem više činioca, dolazi do promene sadržaja alkalnih i zemnoalkalnih metala, tako da ispiranje baza (najčešće Ca) izaziva promenu zemljišta kako u hemijskom tako i fizičkom pogledu.

Ispiranje baza u zemljištu počinje sa količinom padavina većom od 630 mm godišnje. U tom procesu dolazi do zamene baznih jona sa vodonikovim i kiselost zemljišta raste (pH pada ispod 7) (Bošković-Rakočević i Bokan, 2005).

Takođe, pH u gornjih 5 cm površine zemljišta često je niži za 0,5 do 1,0 pH jedinice prema ostalom delu zemljišta, najčešće zbog đubrenja azotom.

Kiselost zemljišta mogu izazvati i industrijska zagađenja, kao i kisele kiše oko područja velikih energetske postrojenja.

Klasifikacija zemljišta u odnosu na pH vrednost prikazana je u tabeli 8.

Tabela 8. Klasifikacija zemljišta u odnosu na pH vrednost

Grupa zemljišta	pH	Reakcija zemljišta
I	Više od 7,20	Alkalna-bazna
II	6,51 - 7,20	Neutralna
III	5,51-6,50	Slabo kisela
IV	4,51-5,50	Kisela
V	Manje od 4,50	Jako kisela

Povećanjem kiselosti zemljišta nastaje niz problema u ishrani biljaka. Nakupljanje gline na određenoj dubini omogućava nastanak vodno-nepropusne zone. U takvim okolnostima ( $\text{pH} < 5,5$ ) najčešće višak vodonikovih jona ( $\text{H}^+$ ) aktivira jone aluminijuma i gvožđa koji u većim količinama deluju otrovno za biljke, blokiraju snabdevanje fosforom i drugim elementima.

pH vrednost zemljišta utiče ne samo na biodostupnost metala već i na sam proces usvajanja metala putem korena. Ovaj efekat se pojavljuje kao specifičan za metale. Na primer, u *T. caerulea*, usvajanje Zn u korenu u maloj meri zavisi od pH vrednosti, dok usvajanje Mn i Cd mnogo više zavisi od kiselosti zemljišta (Brown et al., 1995).

Promene pH vrednosti od početka do kraja eksperimenta prikazane su u tabeli 9.

Tabela 9. Promene pH od početka do kraja eksperimenta

Varijante ogleda	Vreme određivanja*			% smanjenja
	I	II	III	
1 Ježevica	5,32	5,05	4,20	21,05
2 Mačji rep	5,23	5,10	4,50	13,96
3 Engleski ljulj	5,20	4,96	4,40	15,38
4 Italijanski ljulj	5,25	5,20	4,36	16,95
5 Francuski ljulj	5,28	4,88	4,16	21,21
6 Livadski vijuk	5,40	5,16	4,60	14,81
7 Visoki vijuk	5,24	4,96	4,48	14,50
8 Žuti zvezdan	5,20	5,10	4,42	15,00
9 Crvena detelina	5,18	5,00	4,70	9,27
<b>Prosek:</b>	<b>5,26</b>	<b>5,05</b>	<b>4,42</b>	<b>15,79</b>

\*Vreme određivanja: I – pre setve;  
 II – nakon nicanja biljaka;  
 III – na kraju eksperimenta

Iz prikazanih rezultata može se videti da se prosečna vrednost pH zemljišta smanjila do kraja eksperimenta za 15,79 %. Najmanji procenat smanjenja pH vrednosti zemljišta utvrđen je u zemljištu gde je bila zasejana crvena detelina (9,27 %), a najveći na zemljištu gde su uzgajani francusli ljulj (21,21 %) i ježevica (21,05 %).

## Lakopristupačni fosfor i kalijum

Fosfor i kalijum pripadaju grupi neophodnih makroelemenata. Najveći deo ovih biogenih elemenata nalazi se u zemljištu u takvom obliku iz koga biljke ne mogu direktno da ih koriste. Zbog toga se u zemljištu određuje tzv. lakopristupačni fosfor i kalijum, a to je onaj deo ukupnog sadržaja fosfora i kalijuma koji se nalazi u lakše rastvorljivim jedinjenjima ili zamenjivom obliku iz kojih biljke mogu lako da ih iskorišćavaju.

Određivanje lakopristupačnog fosfora i kalijuma u zemljištu vrši se radi utvrđivanja obezbeđenosti zemljišta ovim neophodnim elementima za ishranu biljaka, kako bi se na osnovu toga utvrdile potrebne količine fosfornih i kalijumovih đubriva za efikasnu i ekonomičnu upotrebu.

Rezultati određivanja lakopristupačnog kalijuma i fosfora prikazani su u tabeli 10.

Tabela 10. Sadržaj lakopristupačnog fosfora i kalijuma u različitim varijantama i procenat smanjenja u odnosu na početno stanje

Varijanta ogleda	Sadržaj u mg/100g				% smanjenja	
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		K <sub>2</sub> O		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
	Poč.	Kraj.	Poč.	Kraj.		
1	26,20	25,00	32,10	30,80	4,58	4,05
2	27,50	26,60	32,60	32,00	3,27	1,84
3	27,20	25,80	33,80	32,50	5,15	3,85
4	26,40	26,00	33,00	31,50	1,52	4,55
5	26,80	22,70	32,80	31,80	15,30	3,05
6	27,00	26,90	31,40	30,40	0,37	3,18
7	25,30	24,30	33,50	31,90	3,95	4,78
8	26,30	25,70	32,80	31,40	2,28	4,27
9	27,20	26,30	34,60	30,80	3,31	10,98
<b>Prosek:</b>	<b>26,66</b>	<b>25,48</b>	<b>32,96</b>	<b>31,46</b>	<b>4,41</b>	<b>4,50</b>

Rezultati pokazuju da je zemljište dobro snabdeveno lakopristupačnim fosforom i kalijumom, što je najverovatnije posledica đubrenja, odnosno korišćenja zemljišta za poljoprivrednu proizvodnju. Sadržaji pristupačnog fosfora i kalijuma smanjuju se na

kraju eksperimenta u svakoj od varijanti oglada. Najveći procenat smanjenja fosfora izmeren je u varijanti broj 5, gde je uzgajan francuski ljulj (15,30 %), a kada je u pitanju sadržaj kalijuma najveći procenat smanjenja njegovog sadržaja je u varijanti broj 9 (crvena detelina) – 10,98 %. Sa stanovišta biljne proizvodnje, ovo smanjenje je beznačajno i ne utiče na smanjenje prinosa gajenih biljaka.

### Humus

Humus sadrži velike zalihe biogenih elemenata (C, N, P i S), koje čuva od ispiranja, i posle mineralizacije stavlja biljkama na raspolaganje. Takođe, humusne materije putem adsorpcije vezuju kako  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ , kao i katjone mikroelemenata  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  i dr, čuvajući ih od ispiranja iz zemljišta, a u obliku koji je lako pristupačan biljkama. (Sutton, 1986). Takođe, humus je vrlo važan regulator mobilnosti teških metala u zemljištu.

Rezultati ispitivanja sadržaja humusa u različitim varijantama oglada prikazani su u tabeli 11.

Tabela 11. Sadržaj humusa (u %) u različitim varijantama oglada

Varijante oglada	Sadržaj humusa u %		% smanjenja
	Na početku	Na kraju	
1 Ježevica	2,86	2,84	0,70
2 Mačji rep	2,90	2,84	2,07
3 Engleski ljulj	2,92	2,88	1,37
4 Italijanski ljulj	2,80	2,65	5,36
5 Francuski ljulj	2,96	2,80	5,41
6 Livadski vijuk	2,80	2,80	0,00
7 Visoki vijuk	2,84	2,80	1,41
8 Žuti zvezdan	2,90	2,88	0,69
9 Crvena detelina	2,86	2,75	3,85
<b>Prosek:</b>	<b>2,87</b>	<b>2,80</b>	<b>2,32</b>

U svim varijantama oglada sadržaj humusa je na nižem nivou u odnosu na normalna zemljišta. Kod varijante oglada broj 6 (livadski vijuk) nije došlo do promene sadržaja humusa na kraju eksperimenta, a takođe je i u varijantama oglada broj 8 (žuti

zvezdan) i broj 1 (ježevica) zabeleženo beznačajno smanjenje sadržaja humusa – 0,69%, odnosno 0,70 %. Najveći procenat smanjenja sadržaja humusa izmeren je u varijantama broj 4 i broj 5, gde su gajeni italijanski ljulj (5,36 %) i francuski ljulj (5,41 %).

### 5.2.2. Teški metali u zemljištu

Maksimalno dozvoljene količine teških metala u zemljištu propisane su Pravilnikom (Službeni glasnik RS, br. 23, 1994) i prikazane su u tabeli 12. Slične podatke navodi i Kloke (1980), koji su dati u tabeli 13.

Tabela 12. Maksimalno dozvoljene količine opasnih i štetnih materija u zemljištu (Sl. glasnik RS, 23/94)

Elementi	Max. dozvoljeni sadržaj (mg/kg)
Kadmijum (Cd)	3
Olovo (Pb)	100
Živa (Hg)	2
Arsen (As)	25
Hrom (Cr)	100
Nikl (Ni)	50
Fluor (F)	300
Bakar (Cu)	100
Cink (Zn)	300
Bor (B)	50

Tabela 13. Orijentacione vrednosti za dozvoljeni ukupni sadržaj nekih elemenata u poljoprivrednim zemljištima pri neutralnoj pH vrednosti (Kloke, 1980)

Elementi	Ukupan sadržaj teških metala u suvom zemljištu (mg/kg)	
	Najčešći sadržaj	Dopušteni sadržaj
Kadmijum (Cd)	0,1 – 1	3
Olovo (Pb)	0,1 – 20	100
Živa (Hg)	0,1 – 1	2
Arsen (As)	2 – 20	20
Hrom (Cr)	2 – 50	100
Nikl (Ni)	2 - 50	50
Fluor (F)	20 – 200	200
Bakar (Cu)	1 – 20	100
Cink (Zn)	3 – 50	300
Bor (B)	5 – 30	25

U tabeli 14 prikazana je klasifikacija zemljišta u četiri kategorije kontaminacije, u zavisnosti od sadržaja (koncentracije) teških metala u zemljištu.

Tabela 14. Klasifikacija zagađenog zemljišta prema sadržaju teških metala (mg/kg) (Soriano et al., 2012)

Metal	Nezagađeno	Nisko zagađeno	Srednje zagađeno	Visoko zagađeno	Ekstrem. zagađeno
Arsen (As)	0 – 30	30 – 50	50 – 100	100 – 500	> 500
Kadmijum (Cd)	0 – 1	1 – 3	3 – 10	10 – 50	> 50
Hrom (Cr)	0 – 100	100 – 200	200 – 500	500 – 2500	> 2500
Bakar (Cu)	0 – 100	100 – 200	200 – 500	500 – 2500	> 2500
Olovo (Pb)	0 – 500	500 – 1000	1000 – 2000	2000 – 1%	> 1%
Magnezijum (Mg)	0 – 500	500 – 1000	1000 – 2000	2000 – 1%	> 1%
Nikl (Ni)	0 – 20	20 – 50	50 – 200	200 – 1000	> 1000
Cink (Zn)	0 – 20	20 – 50	50 – 200	200 – 1000	> 1000

Izmerene vrednosti pH i koncentracije metala Fe, Cu i Pb u zemljištu pre setve i na kraju eksperimenta prikazane su u Tabeli 15.

Tabela 15. pH zemljišta i sadržaj Fe, Cu i Pb u analiziranom zemljištu

Uzorci zemljišta	pH	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)
Pre setve	5,26	18.800,0	184,6	85,5
Na kraju eksperimenta	4,42	16.300,0	106,9	45,5

Maksimalno dozvoljena koncentracija teških metala Cu i Pb u normalnim zemljištima iznosi 100 mg/kg za svaki. Upoređujući ovaj podatak sa onima koji su dobijeni u ovom radu, očigledno je da je sadržaj Cu u zemljištu pre zasejavanja (184,57 mg/kg) bio značajno veći od maksimalne dozvoljene koncentracije. Sadržaj olova u zemljištu, pre zasejavanja (85,45 mg/kg), bio je u dozvoljenim granicama.

Takođe se može videti da su sadržaji metala u zemljištu na kraju eksperimenta bili značajno niži od onih u zemljištu pre zasejavanja. Smanjenje je bilo: od 184,6 mg/kg do 106,9 mg/kg za Cu, od 85,5 mg/kg do 45,5 mg/kg za Pb i od 18.800,0 mg/kg do 16.300,0 mg/kg za Fe.

Prosečni sadržaj teških metala u zemljištu na kome je gajeno 9 različitih vrsta trava i leguminoza prikazan je u tabeli 16.

Tabela 16. Prosečni sadržaj teških metala u zemljištu na početku eksperimenta, nakon nicanja biljaka i na kraju eksperimenta

Opis uzorka	Fe (%)	Cu (mg/kg)	Co (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Ca (%)	Mg (%)
Pre početka eksperimenta	1,88	184,57	13,55	85,45	3,62	1,63	0,44
Nakon nicanja biljaka	1,89	123,23	19,19	260,26	3,06	0,95	0,34
Na kraju eksperimenta	1,63	106,92	11,65	45,49	2,50	0,99	0,25

**Bakar (Cu)** se nalazi se u zemljinoj kori u koncentraciji od 0,003 %. U zemljištima se najčešće sreće u sulfidnim mineralima. Najvažniji minerali bakra su halkopirit ( $\text{CuFeS}_2$ ), halkozin ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ) i kovelin ( $\text{CuS}$ ), dok se oksidni minerali bakra ređe sreću: kuprit ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) i malahit [ $\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCO}_3$ ] (Ubavić i sar., 1993).

Bakar se u zemljištu nalazi u primarnim i sekundarnim mineralima, ugrađen u organsku materiju, vezan na površini koloida i rastvoren u zemljišnom rastvoru. Jače se vezuje za organsku materiju nego drugi mikroelementi, na primer mangan ili cink.

Najčešće vrednosti **ukupnog Cu** u zemljištu kreću se od 1 do 20 ppm, a toleratne vrednosti su do 100 ppm (Kloke, 1980). Sadržaj **pristupačnog Cu** u zemljištu je nizak i kreće se od 2 do 50 ppm, a u vodi rastvorljivog < 1 % od ukupnog sadržaja. Više bakra obično ima u teškim glinovitim zemljištima nego na lakim peskovitim (Kastori, 1983).

Na njegovu rastvorljivost i pristupačnost utiče niz faktora, pre svih povećana koncentracija vodonikovih jona, unošenje fiziološko kiselih azotnih i kalijumovih đubriva, te mineralizacija organskih materija. Smanjenu rastvorljivost i pristupačnost izaziva kalcifikacija, primena sveže organske materije, te povećan sadržaj Fe, Mo, Mn, Al, P i Zn, zbog antagonizma Cu sa njima (Ryan et al., 2013). Velike količine Cu u zemljištu nalaze se u blizini topionica, gde se od bakarnih otpadaka i bakarnog taloga jako povećava njegova količina. I stalna primena sredstava za zaštitu biljaka na osnovu Cu može dovesti do obogaćivanja zemljišta ovim elementom kao i navodnjavanje



vodama koje ga sadrže u većoj meri. Višak Cu može se smanjiti dodavanjem zemljištu CaO, CaCO<sub>3</sub>, sirove organske materije, kao i povećanim dozama fosfornih đubriva (Ubavić i sar., 1993).

**Gvožđe (Fe)** se u zemljištu nalazi u različitim mineralima i u vidu amfoternih oksida i hidroksida. Obradiva zemljišta u proseku sadrže od 0,5 – 4 % Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, znatno više od sadržaja kalijuma kao neophodnog makroelementa.

Biljke mogu da usvajaju gvožđe kao gvožđe(II) jon (Fe<sup>2+</sup>), gvožđe(III) jon (Fe<sup>3+</sup>) i u vidu Fe-helata. Smatra se da je usvajanje gvožđa povezano sa redukcijom Fe<sup>3+</sup> u Fe<sup>2+</sup> (Ambler et al., 1970). Redukcija prethodi usvajanju i onda kada se gvožđe prima u obliku Fe-helata.

Eksperimentima je utvrđeno da postoje dva mehanizma usvajanja gvožđa: Fe<sup>2+</sup> usvojen iz rastvora u kome je koncentracija gvožđa niska (mehanizam I) brzo se premešta u druge delove biljke. U slučaju da je njegova koncentracija u spoljašnjoj sredini visoka, tada na usvajanje gvožđa (mehanizam II) u značajnoj meri utiče prisustvo drugih jona. Zapaženo je da veći broj jona Mn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Zn<sup>2+</sup> smanjuje usvajanje gvožđa (Lingle et al., 1963; Brown et al., 1966; Barton and Abadía, 2006; García-Mina et al., 2013). Veće koncentracije teških metala izazivaju Fe-hlorozu - nedostatak gvožđa (Hindt and Guerinot, 2012).

Na usvajanje gvožđa utiče veliki broj faktora spoljašnje sredine. Visoka vrednost pH, velika koncentracija fosfata i Ca<sup>2+</sup> u hranljivoj sredini smanjuju njegovo usvajanje. U slučaju visoke vrednosti pH i dobre aeracije, dolazi do oksidacije Fe<sup>2+</sup> u Fe<sup>3+</sup> i taloženja Fe(III) soli (Kastori, 1983).

Translokacija gvožđa u biljci zavisi od njegove koncentracije u spoljašnjoj sredini. Pri koncentraciji Fe u spoljnoj sredini do 0,5 ppm postoji pozitivna linearna zavisnot između intenziteta translokacije gvožđa u nadzemni deo i njegovog sadržaja u spoljašnjem rastvoru. Pri većoj koncentraciji najpre se uočava opadanje intenziteta translokacije, a zatim naglo hiperbolično povećanje (Walker and Salkar, 1979; Bacaicoa and García-Mina, 2009).

Do nedostatka gvožđa može doći kako na alkalnim, tako i na neutralnim, a znatno ređe na kiselim zemljištima. Najčešće, međutim, javlja se na alkalnim i zemljištima bogatim krečom i glinom.

Suvišak gvožđa se najčešće javlja na sulfatnim i lateritnim zemljištima pri niskoj vrednosti pH, kao i na zemljištima bogatim organskom materijom u kojima se gvožđe pretežno nalazi u vidu  $\text{Fe}^{2+}$  jona. Primenom većih doza kalcijuma moguće je delimično odstraniti ovu štetnu pojavu.

**Cink (Zn).** Sadržaj cinka u Zemljinoj kori kreće se oko 0,001 %. Pretežno se nalazi u obliku sulfida. Od minerala u kojima se nalazi najpoznatiji su svalerit ( $\text{ZnS}$ ), franklinit  $\text{Zn}(\text{Fe}_9\text{Mn})_2\text{O}_4$ , vilenit ( $\text{Zn}_2\text{SiO}_4$ ) i cinkit ( $\text{ZnO}$ ).

Sadržaj ukupnog cinka u zemljištu kreće se u rasponu od 10 do 300 ppm. Najčešće vrednosti su od 3 do 50 ppm, a njegove dozvoljene količine su do 300 ppm. Sadržaj lakopristupačnog cinka varira od 1 do 3 ppm (Kastori, 1983). Njegov nedostatak za ishranu biljaka može se očekivati na kiselim i lakim zemljištima, zbog velike pokretljivosti i ispiranja. Do nedostatka često dolazi i na alkalnim zemljištima zbog nastajanja cinkata, kao i u zemljištima s većim sadržajem fosfora i gvožđa.

Cink se u zemljištu najčešće nalazi kao dvovalentni katjon, kao takav može da se adsorbuje na organskim i mineralnim koloidima. Tu adsorpciju smanjuju Ca i Mg koji se u zemljištu nalaze u većoj koncentraciji. Veliki broj autora utvrdio je da i bakar jako inhibira usvajanje cinka (Bowen, 1969; Lotti et al., 1968; Sadovnikova and Ladonin, 2000; Alumaa et al., 2002; Sprynskyy, 2011). Gvožđe i mangan takođe deluju antagonistički na usvajanje cinka, kao i joni fosfata, koji pri većim koncentracijama u značajnoj meri smanjuju usvajanje cinka (Paribok, 1970; Giordanu et al., 1974; Antoniadis and Tsadilas, 2007). Vrednost pH sredine je takođe veoma značajan činilac. U kiseloj sredini usvajanje cinka je intenzivnije (Chaudhry and Loneragan, 1972; Arias et al. 2005).

Suvišak cinka u zemljištu može se smanjiti upotrebom organskih đubriva, povećanih doza fosfornih đubriva ili pak dodavanjem CaO ili  $\text{CaCO}_3$ .

**Olovo (Pb).** Sadržaj olova u zemljinoj kori je oko  $1 \times 10^{-4}$  %. U zemljištu ga ima u sulfidnim rudama, a njegovi najpoznatiji minerali su galenit ( $\text{PbS}$ ) i anglezit ( $\text{PbSO}_4$ ).

Sadržaj Pb u zemljištu je veoma varijabilan i najviše zavisi od matičnog substrata na kome je zemljište formirano. Za zemljišta koja se koriste u poljoprivredne

svrhe Brewer (1966) navodi varijabilnost od 2 do 200 ppm. Najčešći udeo Pb u zemljištima neutralne reakcije kreće se od 0,1 do 20 ppm (Kloke, 1980).

Veće količine olova u poljoprivrednom zemljištu treba očekivati oko industrija koje prerađuju olovo, pored velikih saobraćajnica kao i zemljišta gde je korišćen kanalizacioni mulj u kome sadržaj Pb može varirati od 50 do 2600 ppm, što zavisi od njegovog porekla (Tiller, 1992; Pourrut et al., 2011; Feleafel and Mirdad, 2013).

Ponašanje olova u zemljištu zavisi od pH-vrednosti, sadržaja organske materije i gline u njemu, i nije dovoljno razjašnjena. Utvrđena je njegova velika adsorpcija od strane organske materije (adsorbuje se 2 do 3 puta jače od  $\text{Ca}^{2+}$  jona). Nalazi se u rastvorljivom halogenom obliku ( $\text{PbClBr}$ ), a kasnije nastaju i druga relativno malo rastvorljiva jedinjenja kao što su  $\text{PbCO}_3$ ,  $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$ , a u manjoj meri  $\text{PbSO}_4$ . Zbog nastanka ovih jedinjenja i njegove velike adsorpcije, pokretljivost Pb u zemljištu je veoma mala (Adriano, 2001; Adhikari and Singh, 2003).

### 5.2.3. Teški metali u biljkama

Dobro je poznato da su mikronutritijenti kao što su gvožđe (Fe), mangan (Mn), bakar (Cu) i cink (Zn) esencijalni metali za biljni rast i prinos. Međutim, biljke mogu da akumuliraju i neke druge metale koji egzistiraju u zemljištima, kao što su kadmijum (Cd), olovo (Pb), živa (Hg) itd., a koji nisu esencijalni za biljke i mogu da prouzrokuju ozbiljne probleme u životnoj sredini.

U biljnim tkivima do danas je utvrđeno prisustvo oko 70 elemenata. Neki od njih su biljkama neophodni da bi normalno završile svoj životni ciklus, drugi mogu da deluju stimulatивно, dok jedna grupa elemenata, posebno teški metali, pri većim koncentracijama deluju toksično na biljke.

U tabeli 17 prikazana je prosečna i toksična koncentracija nekih teških metala u biljkama (Kabata-Pendias and Pendias, 2001).

Epstein (1972) navodi sledeće podatke za prosečan sadržaj nekih elemenata u suvoj materiji biljaka: Fe – 100 ppm; Mn – 80 ppm; Zn – 25 ppm; Cu – 6 ppm; Pb – 2 ppm; Ni – 2 ppm.

Tabela 17. Prosečna i toksična koncentracija nekih mikroelemenata u potpuno razvijenim listovima različitih biljnih vrsta (Kabata-Pendias and Pendias, 2001)

Element	Koncentracija (mg/kg)	
	prosečna	toksična
Cd	0,05-0,2	3-30
Co	0,02-1	15-50
Cr	0,01-0,5	5-30
Cu	5-30	20-100
Mn	200-300	300-500
Mo	0,2-1	10-50
Ni	0,1-5	10-100
Pb	5-10	30-300
Zn	27-150	200-400

### **Teški metali u gajenim vrstama biljaka**

#### ***Bakar (Cu)***

Bakar (Cu) je veoma toksičan za biljke, ali je neophodan i ima stimulatивно dejstvo na rastenje i razviće biljaka. Sadržaj Cu u biljkama kreće se u veoma širokim granicama, u zavisnosti od vrste i genotipa. Prosečan sadržaj Cu u razvijenim listovima biljaka kreće se od 5 - 30 mg/kg, a toksična koncentracija je 20 - 100 mg/kg.

Biljke usvajaju male količine bakra. Pretežno ga uzimaju u obliku  $\text{Cu}^{2+}$  jona i u vidu helata. Sa povećanjem koncentracije Cu u spoljnoj sredini, intenzitet njegovog usvajanja se naglo povećava. Na njegovo usvajanje, posredno ili neposredno može da utiče i prisustvo drugih jona, posebno teških metala (Zn, Mn, Fe) i fosfata. Jone bakra biljke veoma intenzivno usvajaju i preko nadzemnih organa.

Pokretljivost Cu u biljkama je osrednja.

Ulogu bakra u životnim procesima biljaka određuje njegova sposobnost promene valentnosti, velika atomska masa, mali jonski prečnik i sklonost stvaranju stabilnih kompleksnih jedinjenja. Bakar ulazi u sastav enzima, i zahvaljujući tome, posredno ili neposredno utiče na odvijanje mnogih procesa važnih za život biljaka. On

utiče na metabolizam azotnih jedinjenja i ugljenih hidrata, obrazovanje i fertilitet polena i otpornost biljaka prema bolestima (Kastori, 1990).

Prekomerno nakupljanje Cu u biljkama može da bude prouzrokovano visokim sadržajem bakra u zemljištu, dugotrajnom primenom sredstava koja sadrže bakar ili zagađenjem sredine. Uopšteno se može reći da se suvišak Cu u korenu biljaka najčešće javlja na kiselim zemljištima u kojima sadržaj za biljke pristupačnog Cu može ponekad da bude visok. Znaci suviška bakra na biljkama na mnogim zemljištima se retko uočavaju pošto se on čvrsto vezuje za čestice zemljišta tako da ga biljke ne mogu nakupljati u većoj količini.

Kada je koncentracija bakra u spoljašnjoj sredini visoka, on se kod nekih biljaka u velikoj meri nakuplja u korenu. Smatra se da je to jedan od mehanizama zaštite biljaka od suviška bakra (Savage et al., 1981).

Joni  $\text{Cu}^{2+}$  mogu da budu čvrsto vezani za proteine, i zahvaljujući tome u biljnim tkivima postoji određena zavisnost između sadržaja bakra i azota. Tako, na primer, odnos N : Cu (%N : ppmCu) u fazi početka vlatanja, pri povoljnoj obezbeđenosti ovasa bakrom, iznosi 8, a pri nedovoljnoj 16 (Thiel, 1972; Pederson et al., 2002; Krzywy-Gawrońska, 2010).

Suvišak bakra smanjuje sadržaj fosfora i obrnuto, pri povećanju koncentracije fosfora u spoljašnjoj sredini opada udeo bakra u biljkama. Suvišak bakra je skoro uvek praćen simptomima nedostatka gvožđa, jer suvišak bakra smanjuje usvajanje i premeštanje gvožđa iz korena u nadzemne organe biljaka (Kastori, 1983).

Bakar ima značajnu fiziološku ulogu u organizmu ljudi i životinja. Resorpcija bakra u organizmu životinja zavisi od hemijskog oblika jedinjenja Cu, i najbolje se apsorbuju sulfati, zatim oksidi, karbonati, a najteže sulfidi. U principu se Cu slabo resorbuje (samo oko 5 – 10 % od unete količine).

Bakar igra ulogu u transportu elektrona u procesu fotosinteze, on je konstituent proteina hloroplasta i takođe je poznato da je važan konstituent mnogih enzima oksidoredukcionih reakcija, tj. Cu je kofaktor enzima: plastocianina, superoksid-dismutaze i amino-oksidaze. Bakar je minorni metal, sadržaja u tragu, pri čemu je 70 % od ukupnog Cu smešteno u hloroplastima lišća kopnenih biljaka. Bakar ima stabilizujući uticaj na hloroplast štiteći ga od oštećenja, pa ipak je sugerisano je da je fotosintetička funkcija veoma osetljiva prema toksičnosti Cu. Poremećaji u snabdevanju

bakrom mogu prouzrokovati značajnu promenu biohemijskih procesa kod biljaka dovodeći do nižih prinosa i kvaliteta poljoprivrednih useva. Prekomerno snabdevanje bakrom uzrokuje simptome hloroze koji su slični simptomima nedostatka gvožđa.

Kontinuirano unošenje Cu u većoj količini kod životinja dovodi do njegove akumulacije u tkivima, prvenstveno u jetri, sa oštećenjem njene funkcije, a tolerancija prema visokim količinama unetog Cu zavisi od vrste životinja. Toksičnost Cu se smanjuje ukoliko se istovremeno sa većim količinama Cu obezbede i visoke doze Zn i Fe u hrani (Vapa, 1993; He et al., 2009; Prabhakar et al., 2012).

Toksikoza bakrom kod ljudi se veoma retko dešava, iz razloga što veće količine unetog Cu i njegovih soli izazivaju povraćanje. I pored korišćenja Cu u raznim industrijama, slučajevi profesionalnog trovanja kod ljudi nisu zabeleženi. Ipak, na osnovu medicinskih ispitivanja ustanovljeno je da kada se u krvi čoveka nalaze povećane količine Cu<sup>2+</sup> jona, dolazi do ozbiljnih nervnih poremećaja.

Tolerantni nivo sadržaja Cu u ljudskoj hrani je 200 ppm, što je 20 puta veća koncentracija od normalno prisutne, dok kod životinja tolerantni nivo Cu zavisi od vrste i starosti životinja i kreće se od 25 – 800 ppm.

U tabeli 18 prikazani su rezultati određivanja sadržaja bakra kod 9 vrsta gajenih biljaka, za 3 ponavljanja.

Tabela 18. Sadržaj bakra (Cu) u gajenim biljkama (u mg/kg)

Cu (mg/kg)	Prvo uzorkovanje				Drugo uzorkovanje			
	Ponavljanja			Srednja vrednost	Ponavljanja			Srednja vrednost
	I	II	III		I	II	III	
1	88,2	78,2	78,2	81,5	98,4	102,6	100,2	100,4
2	56,8	60,5	60,4	59,2	88,6	82,2	79,1	83,3
3	89,2	78,4	77,6	81,7	102,3	80,4	111,2	98,0
4	90,2	78,8	88,2	85,7	92,1	87	87,1	88,7
5	66,4	74,1	/	70,2	125,6	114,6	/	120,1
6	/	62,5	47,5	55	/	88,6	89,6	89,1
7	81,7	80,6	76,4	79,6	116,3	102,1	127,5	115,3
8	75,3	69,6	76,4	73,8	80,5	86,2	83,2	83,3
9	82,6	81,8	90,2	84,9	96,3	97,3	87,2	93,6

Normalne koncentracije Cu u biljkama kreću se od 2-20 mg/kg. Nivo od 30 mg/kg je fitotoksični nivo za ovaj metal, u skladu sa Kabata-Pendias i Piotrowska (1984). Prema Ross-u (1994), koncentracije u kontaminiranim biljkama su 20-100 mg/kg, a koncentracije u zemljištu koje se smatraju toksičnim su 60-125 mg/kg. U ovom eksperimentu, svi uzorci gajenih biljaka posedovali su veoma visoke sadržaje Cu. Koncentracije bakra u uzorcima kretale su se od 47,5 mg/kg (livadski vijuk, I uzorkovanje, III ponavljanje) do 127,5 mg/kg (visoki vijuk, II uzorkovanje, III ponavljanje). Ovi podaci su u skladu sa podacima za kontaminirane biljke (20-100 mg/kg), ali sve Cu koncentracije su mnogo manje nego kod biljaka koje su verifikovane kao hiperakumulatori, na primer *Ipomoea alpina*: 12.300 mg/kg.

### ***Olovo (Pb)***

Olovo (Pb) je jedan od najopasnijih elemenata, koji se ne javlja kao prirodan i koji nema sasvim poznatu funkciju u biohemiji i fiziologiji živih organizama. Olovo može dospeti u ljudsko telo preko vazduha, vode, a najčešće putem usvajanja iz hrane. Kod ljudi, Pb se može povezati sa oštećenjima bubrega i mozga, povećanim krvnim pritiskom, poremećenim ponašanjem dece i poremećenom sposobnošću pamćenja.

U biljkama, Pb je manje mobilno od Cd i Zn, mada njegovo usvajanje iz zemljišta može podići folijarnu Pb-koncentraciju. Usvajanje Pb kroz korenov sistem postiže se u uslovima staklene bašte. U poljskim uslovima se može videti da je usvajanje olova najveće preko listova.

Biljke olovo usvajaju u vidu  $Pb^{2+}$  jona i/ili u vidu organskih jedinjenja. Koncentracije pristupačnog olova su obično veoma niske, usled njihove jake povezanosti sa organskom materijom, Fe-Mn oksidima, glinom i taloženjem u obliku karbonata, hidroksida i fosfata (Shen et al. 2002). Pb u neorganskom obliku biljke slabo usvajaju, izuzev na kiselim zemljištima iz kojih usvajaju znatno veće količine Pb (Wiklander and Vahtras, 1977; Melo et al., 2008; Freitas et al., 2013).

Nakupljanje Pb kod većine biljaka je intenzivnije u korenu nego u nadzemnom delu. Na taj način se nadzemni deo štiti od njegove veće koncentracije u spoljašnjoj sredini.

Mehanizam tolerantnosti biljaka prema suvišku Pb nije sasvim jasan i često se povezuje sa metabolizmom fosfora. Pretpostavlja se da su biljke osjetljivije na Pb ukoliko su nedovoljno obezbeđene fosforom.

Olovo spada u grupu veoma toksičnih materija kako za ljude tako i za životinje. Deluje kao sistematski otrov koji oštećuje razna tkiva. Profesionalna trovanja olovom (saturnizam) dešavaju se udisanjem olovne pare ili prašine u industriji: topionice, livnice, produkcija boja, fabrike akumulatora, grafička industrija, keramička industrija (emajl), industrija stakla i dr.

Kod ljudi se od ukupne količine unetog Pb resorbuje samo 5 – 10 %, pri čemu se oko 90 % Pb akumulira u kostima.

Simptomi akutnog trovanja olovom su: suvo grlo, žeđ, metalni ukus u ustima, povraćanje, abdominalni bolovi, grčevi i paraliza, a kao posledica hroničnog trovanja javlja se anemija, gubitak apetita, umor, depresija, bolovi u abdomenu, povraćanje, oštećenje mišića sa paralizom i dr.

Maksimalna količina Pb u hrani koja se koristi za ishranu životinja iznosi 30 ppm.

Sadržaj olova kod 9 vrsta ispitivanih gajenih biljaka prikazan je u tabeli 19.

Tabela 19. Sadržaj olova (Pb) u gajenim biljkama (u mg/kg)

Pb (mg/kg)	Prvo uzorkovanje				Drugo uzorkovanje			
	Ponavljjanja			Srednja vrednost	Ponavljjanja			Srednja vrednost
	I	II	III		I	II	III	
1	25,4	22,1	20,5	22,7	24,4	22,2	23,2	23,2
2	21,5	22,4	19,8	21,2	20,5	20,4	19,7	20,2
3	25,1	19,7	18,5	21,1	22,5	20,5	19,9	21,0
4	20,6	23,5	21,5	21,9	20,2	21,4	20,4	20,6
5	16,4	20,1	/	18,2	18,6	19,1	/	18,9
6	/	15,5	16,4	15,9	/	16,3	16,9	16,6
7	26,5	30,6	28,7	28,6	22,6	29,9	27,2	26,6
8	22,4	21,4	20,5	21,4	18,4	22,6	21,9	20,9
9	28,4	24,4	25,5	26,1	30,6	28,5	27,6	28,9

Sadržaji Pb u svim kultivisanim travama i leguminozama ispitivanim u ovom radu bili su viši od normalnih koncentracija u biljkama (10 mg/kg prema Kabata-



Pendias and Piotrowska (1984), 3 mg/kg prema Allen-u (1989) i prosečne ECCE (1990) vrednosti: 0,1 - 5 mg/kg), ali mnogo niži od koncentracija u biljkama koje se smatraju kontaminiranim (30 - 300 mg/kg) i kretali su se od 15,5 mg/kg (livadski vijuk, I uzorkovanje, II ponavljanje) do 30,6 mg/kg (crvena detelina, II uzorkovanje, I ponavljanje). Ove koncentracije su mnogo niže nego koncentracije kod npr. *Thlaspi rotundifolium*, poznatog Pb-hiperakumulatora: 8.200 mg/kg u izdancima (Reeves and Brooks, 1983).

### **Gvožđe (Fe)**

Gvožđe (Fe) igra značajnu ulogu u različitim funkcionisanjima transfera energije u biljci, u skladu sa lakom izmenom valentnosti ( $Fe^{2+} = Fe^{3+} + e^-$ ). Ono takođe ima tendenciju da formira helatne komplekse. Gvožđe ima važnu ulogu u procesu fotosinteze i u stvaranju molekula hlorofila. Više od 75 % Fe u biljkama, lokalizovano je upravo u hloroplastima. Gvožđe je skladišteno u biljkama kao feri-fosfoprotein, zvani fitoferitin. Kako je Fe imobilni element u biljkama, nedostaci Fe obično se manifestuju u novom tkivu ili gornjim delovima biljke.

Sadržaj gvožđa u suvoj materiji biljaka kreće se u širokim granicama, od 50 do 1.000 ppm.

Distribucija gvožđa u biljkama je specifična. U nadzemnim organima najviše ga ima u lišću, zatim u stablu i najzad u zrnu. Koren biljaka sadrži takođe značajne količine gvožđa.

Utvrđeni sadržaj gvožđa kod 9 vrsta gajenih biljaka prikazan je u tabeli 20.

Sadržaj Fe u biljci može značajno da varira. Gvožđe se akumulira u biljkama bez ikakvih očiglednih štetnih efekata. Zato, nije neuobičajeno sresti Fe koncentracije u suvišku od više stotina mg/kg. Generalno, dovoljan iznos Fe u lisnom tkivu, za većinu biljaka je od 50 do 100 mg/kg suve materije. Takozvana kritična (neophodna) koncentracija je 50 mg/kg. Simptomi nedostatka gvožđa nisu uvek laki za razlikovanje i mogu se lako pomešati sa nedostacima drugih elemenata (S, Mn, Zn). Jedan od simptoma nedostatka Fe je gubitak zelene biljne boje, u skladu sa gubitkom hlorofila. Kada se jednom razvije u biljci, nadostatak Fe se veoma teško može nadoknaditi.

Tabela 20. Sadržaj gvožđa (Fe) u gajenim biljkama (u mg/kg)

Fe (mg/kg)	Prvo uzorkovanje				Drugo uzorkovanje			
	Ponavljanja			Srednja vrednost	Ponavljanja			Srednja vrednost
	I	II	III		I	II	III	
1	6847,5	5287,3	4987,3	5707,3	6587,1	4571,3	5487,3	5548,6
2	4785,3	4256,4	4488,4	4510,0	5632,1	3547,2	4268,2	4482,5
3	3987,3	4058,4	3854,3	3966,6	4012,5	4205,4	3589,7	3935,9
4	5874,3	4875,4	5265,4	5338,4	4869,9	4057,4	4769,5	4565,6
5	7745,9	7425,3	/	7585,6	8054,6	8476,2	/	8265,4
6	/	6987,4	5874,3	6430,8	/	5897,7	5628,5	5763,1
7	9658,5	6889,2	7054,9	7867,5	8847,5	8202,5	8047,4	8365,8
8	8254,3	7822,9	6824,4	7633,8	6987,7	6699,4	5548,8	6412,0
9	9178,2	8547,2	8887,3	8870,9	9975,7	8863,5	8044,6	8961,2

Sadržaji ukupnog Fe u svim analiziranim uzorcima gajenih biljaka bili su veći od kritične koncentracije – 50 mg/kg u lisnom tkivu. Oni su se kretali od 3589,7 mg/kg (engleski ljulj, II uzorkovanje, III ponavljanje) do 9975,7 mg/kg (crvena detelina, II uzorkovanje, I ponavljanje).

### **Cink (Zn)**

Biljke skoro isključivo Zn usvajaju iz zemljišta, delom u vidu dvovalentnog katjona  $Zn^{2+}$ , a pri višim pH vrednostima kao monovalentni katjon  $Zn(OH)^+$ . Zn spada u grupu elemenata čija je pokretljivost u biljkama osrednja. U slučaju da je njegova koncentracija u spoljašnjoj sredini visoka, nakuplja se u korenu.

Koncentracija Zn u suvoj materiji biljaka kreće u proseku od 30 do 150 mg/kg, najčešće od 20 do 50 mg/kg. Po nekim autorima sadržaj Zn kreće se oko 20 mg/kg suve materije (Sarić, 1983). Raspodela cinka je specifična. On se u većoj meri nakuplja u korenu i mladim listovima (Kastori i Petrović, 1993). Pri optimalnoj obezbeđenosti biljaka cinkom, odnos P/Zn kreće se od 200 - 400.

Osetljivost pojedinih biljnih vrsta na nadostatak cinka je različita. Najotpornija su žita – ovas, pšenica, ječam i raž.

Velika koncentracija cinka deluje toksično na biljke. Vidljivi simptomi suviška Zn se javljaju kada njegova koncentracija u suvoj materiji prelazi 300 do 5.000 mg/kg. Suvišak Zn može da smanji usvajanje drugih neophodnih elemenata, posebno gvožđa.

U organizmu ljudi i životinja Zn učestvuje u brojnim fiziološkim reakcijama. Nalazi se u svim živim ćelijama i njegova količina u organizmu je relativno velika u poređenju sa ostalim mikroelementima. Resorbuje se u digestivnom traktu, zavisno od potreba organizma za ovim metalom.

Cink igra važnu ulogu u metabolizmu aminokiselina, proteina, nukleinskih kiselina i drugih organskih molekula. Količina Zn koja može prouzrokovati štetne efekte nije precizno definisana, jer ne zavisi samo od količine unete soli Zn, već i od njene koncentracije i interakcije sa drugim mikroelementima prisutnim u hrani (Fe, Cu, Ca i dr). Mnogo su češći slučajevi deficita Zn nego suviška. Nedostatak Zn negativno se odražava na ćelije i tkiva koja imaju brz porast (Welch et al., 1982; Alloway, 2008).

Maksimalni nivo Zn u životinjskoj hrani, zavisno od vrste životinja, iznosi 300 – 1.000 ppm. Ako je nivo Zn u hrani veći od 1.000 ppm dolazi do toksikoze čiji su simptomi gastrointestinalne smetnje, prolivi, povraćanja, smanjeno uzimanje hrane, usporen rast, anemija, unutrašnja krvarenja, loša mineralizacija kostiju, artritis, hromost, oštećenje pankreasa i rađanje slabo vitalnih mladunaca.

Izmerene koncentracije cinka kod 9 vrsta gajenih biljaka predstavljene su u tabeli 21.

Tabela 21. Sadržaj cinka (Zn) u gajenim biljkama (u mg/kg)

Zn (mg/kg)	Prvo uzorkovanje				Drugo uzorkovanje			
	Ponavljanja			Srednja vrednost	Ponavljanja			Srednja vrednost
	I	II	III		I	II	III	
1	0,731	0,678	1,524	0,978	1,459	1,255	1,648	1,454
2	0,772	0,863	1,544	1,060	1,259	1,660	1,542	1,487
3	1,084	0,397	1,129	0,870	1,355	1,025	1,658	1,346
4	0,973	0,264	1,120	0,786	1,205	1,549	1,254	1,336
5	0,624	0,781	/	0,703	1,488	0,487	/	0,987
6	/	0,840	1,687	1,263	/	1,370	1,875	1,623
7	1,085	2,033	1,220	1,446	1,969	1,969	1,786	1,908
8	0,858	0,832	0,941	0,877	1,205	1,003	1,488	1,232
9	0,801	0,811	1,069	0,894	1,103	1,366	1,785	1,418

Sadržaj Zn u svim ispitivanim varijantama ne prelazi maksimalno dozvoljeni sadržaj za ovaj element.

### **Sadržaj teških metala u samoniklim biljnim vrstama**

U radu je analizirano i 17 samoniklim (divljih) biljaka, koje prirodno rastu na mestu izvođenja eksperimenta.

Utvrđeni sadržaj Fe, Cu i Pb prikazan je u tabeli 22.

Tabela 22. Sadržaj Fe, Cu i Pb u divljim biljnim vrstama (u mg/kg)

	<b>Biljna vrsta</b>	<b>Fe</b>	<b>Cu</b>	<b>Pb</b>
1.	Divlja ježevica	600,0	23,4	5,3
2.	Ljutić	600,0	387,7	5,3
3.	Obična grahorica	600,0	673,9	7,8
4.	Rastavić poljski	300,0	26,9	5,3
5.	Zubača	1700,0	275,0	10,3
6.	Štir	400,0	142,2	5,3
7.	Kukurek	200,0	282,5	10,3
8.	Divlja crvena detelina	600,0	375,0	7,8
9.	Ovčji vijuk (vlasulja)	700,0	653,5	7,8
10.	Maslačak	1300,0	608,0	10,3
11.	Divlja trešnja	500,0	708,4	5,3
12.	Ljulj	500,0	81,3	10,3
13.	Mleč	200,0	185,1	5,3
14.	Lucerka	500,0	217,1	7,8
15.	Prilepača (broćika)	500,0	350,4	10,3
16.	Rosulja bela	900,0	40,3	7,8
17.	Žuti zvezdan	1000,0	30,3	5,3

**Gvožđe (Fe).** Sadržaj Fe u biljci može značajno da varira. Gvožđe se akumulira u biljkama bez ikakvih očiglednih štetnih efekata. Zato, nije neuobičajeno sresti Fe koncentracije u suvišku od više stotina mg/kg. Generalno, dovoljan iznos Fe u lisnom tkivu, za većinu biljaka je od 50 do 100 mg/kg suve materije. Takozvana kritična (neophodna) koncentracija je 50 mg/kg. Simptomi nedostatka gvožđa nisu uvek laki za razlikovanje i mogu se lako pomešati sa nedostacima drugih elemenata (S, Mn, Zn). Jedan od simptoma nedostatka Fe je gubitak zelene biljne boje, u skladu sa gubitkom hlorofila. Kada se jednom pojavi u biljci, nadostatak Fe se veoma teško može

nadoknaditi. Sadržaji ukupnog Fe u svim divljim biljnim vrstama iz ovog rada bili su veći od kritične koncentracije i kretali su se od 200,0 mg/kg u uzorcima 7 (kukurek) i 13 (mleč) do 1.700,0 mg/kg u uzorku 5 (zubača).

**Bakar (Cu)** je izuzetno važan mikronutritijent za biljku, pri čemu su njegove najvažnije funkcije te da igra ulogu u transportu elektrona u procesu fotosinteze, da je konstituent proteina hloroplasta i važan je konstituent mnogih enzima oksidoredukcionih reakcija, tj. Cu je kofaktor enzima: plastocianina, superoksid-dismutaze i amino-oksidaze (Hagemeyer, 2004). Bakar je minorni metal, sadržaja u tragu, pri čemu je 70% od ukupnog Cu u biljci, smešteno u hloroplastima lišća (Wilkinson, 1994). Bakar ima stabilizujući uticaj na hloroplast štiteći ga od oštećenja, ali je takođe uočeno da je fotosintetička funkcija veoma osetljiva prema njegovim visokim koncentracijama (Ouzounidou, 1994). Prekomerno snabdevanje ovim metalom redukuje rast biljke i uzrokuje simptome hloroze koji su slični simptomima nedostatka gvožđa (Bergman, 1983). Prema Vanmechelen-u (1997), kritična koncentracija za biljke je 15 mg/kg, a prema Kabata-Pendias i Piotrowskoj (1984), ovaj metal se smatra visoko fitotoksičnim ukoliko pređe nivo od 30 mg/kg. Prema Ross-u (1994), koncentracije u biljkama koje se smatraju kontaminiranim kreću se od 20 do 100 mg/kg, a koncentracije u zemljištu koje se smatraju toksičnim su 60 - 125 mg/kg. Normalne koncentracije Cu u biljkama kreću se od 2 - 20 mg/kg.

U ovom radu, svi uzorci prikupljenih divljih biljaka posedovali su veoma visoke sadržaje Cu, osim u slučaju uzorka 1 (divlja ježevica), uzorka 4 (rastavić poljski) i uzorka 17 (žuti zvezdan), gde su koncentracije bile bliske normalnim: 23,4 mg/kg, 26,9 mg/kg i 30,3 mg/kg. Najveće koncentracije Cu bile su u uzorcima: 3 (obična grahorica), 9 (ovčiji vijuk (vlasulja)), 10 (maslačak) i 11 (divlja trešnja): 673,9 mg/kg, 653,5 mg/kg, 608,0 mg/kg i 708,4 mg/kg. Ovako visoke koncentracije akumuliranog bakra u divljim biljkama u odnosu na gajene biljke mogu biti posledica dugogodišnje akumulacije u korenu, jer se radi o višegodišnjim biljkama. Iako su sve ove koncentracije ekstremno visoke, one su još uvek mnogo niže od onih u *Ipomoea alpina*, najpoznatiji hiperakumulator Cu, koji može da akumulira i do 12.300 mg/kg Cu u svojim izdancima (Cunningham and Ow, 1996).

Opšte je poznata činjenica da su svi ispitivani metali, osim kadmijuma, esencijalni za sve žive organizme, pa tako i biljke. Ukoliko nedostaju u ishrani biljke, one mogu pretrpeti značajna oštećenja. Pri tome, kalcijum i magnezijum smatraju se makro, dok se bakar smatra mikronutritijentom. Pod normalnim uslovima, slobodan Cu praktično ne postoji u biljnoj ćeliji, jer one poseduju veliki kapacitet za sekvestraciju Cu. U uslovima preteranih količina Cu, biljke mogu da akumuliraju njegove jone u višku, pokušavajući na taj način da izbegnu toksične efekte. Generalno, strategije koje su biljke razvile u ovom smislu razlikuju se za različite metale, ali i za različite biljne vrste. Ovi specifični mehanizmi mogu biti: mehanizmi koji redukuju usvajanje metala u ćelijskom citosolu njegovim zarobljavanjem u apoplastičnom prostoru, zatim helatizacijom metala u citosolu pomoću niza različitih liganada, kao i istakanje metala iz citosola u apoplast ili u ograničeni prostor vakuole. Takođe je moguće da je više nego jedan od navedenih mehanizama, uključeno u redukovanje toksičnosti određenog metala (Hall, 2002). Pošto Cu ima jak afinitet prema funkcionalnim grupama kao što je sulfhidrilna u proteinima membrana, ali i hidroksilna, karboksilna, aldehidna i amino grupa, koje su prisutne u celulozi, hemicelulozi i ligninu ćelijskog zida, izgleda da je u slučaju ovog metala, najjednostavnije da se on veže upravo na ovim reaktivnim mestima. Mnogi radovi su potvrdili da ove funkcionalne grupe mogu učestvovati u različitim reakcijama adsorpcije, kompleksiranja, jonske izmene, precipitacije i kristalizacije, vodeći do sekvestracije metala u uslovima njegove fitotoksičnosti i potvrdili su da su ćelijski zid i hloroplasti glavna mesta detoksifikacije Cu; dodatno, biljne ćelije mogu da aktivno luče kaluse koji imaju sposobnost helatizacije metalnih jona, pa tako i Cu (Peng et al., 2005; Hall, 2002). Svi pomenuti ligandi mogu da se kombinuju sa jonom Cu, ali i svim ostalim teškim metalima i tako ograniče njihov transport kroz membranu; helatizacija smanjuje koncentraciju jona teških metala u protoplazmi, tako da se sve fiziološke aktivnosti u biljnoj ćeliji mogu normalno odvijati (Ni and Wei, 2003).

**Olovo (Pb).** Prema Kabata-Pendias and Piotrowska (1984), normalne koncentracije Pb u biljkama su manje od 10 mg/kg. Prema Allen-u (1989), normalni, prirodni nivo za biljke je mnogo niža vrednost od 3 mg/kg. Kao prosečna ECCE (1990) vrednost predlaže se 0,1 - 5 mg/kg. Prema Ross-u (1994), koncentracije u biljkama koje

se smatraju kontaminiranim su 30 - 300 mg/kg, a koncentracije u zemljištu koje se smatraju toksičnim su 100 - 400 mg/kg. Nivo od 43 mg/kg je vrednost onog praga koji indikuje smrt drveća. Izvanredan Pb-hiperakumulator je *Thlaspi rotundifolium*, koji u izdancima akumulira 8.200 mg/kg (Reeves and Brooks, 1983). Koncentracije olova u samoniklim biljkama koje su ispitivane u ovom istraživanju kretale su se od 5,3 mg/kg u uzorcima: 1, 2, 4, 6, 11 i 17 (divlja ježevica, ljutić, rastavić poljski, štir, divlja trešnja i žuti zvezdan) do 10,3 mg/kg u uzorcima: 5, 7, 10, 12 i 15 (zubača, kukurek, maslačak, ljulj i prilepača (broćika)), što je nešto više od prosečnih ECCE (1990) vrednosti, ali u dozvoljenim granicama prema Kabata-Pendias i Piotrowska (1984).

Sadržaj Co, Cd, Ca i Mg u samoniklim biljnim vrstama koje su prirodno rasle na eksperimentalnom mestu dati su u tabeli 23.

Tabela 23. Sadržaj Co, Cd, Ca i Mg u divljim biljnim vrstama (u mg/kg)

	<b>Biljna vrsta</b>	<b>Co (mg/kg)</b>	<b>Cd (mg/kg)</b>	<b>Ca (%)</b>	<b>Mg (%)</b>
1.	Divlja ježevica	0,99	3,49	0,17	0,03
2.	Ljutić	1,00	1,25	0,62	0,18
3.	Obična grahorica	1,00	0,97	0,35	0,06
4.	Rastavić poljski	1,00	0,69	0,79	0,14
5.	Zubača	1,00	0,97	0,54	0,15
6.	Štir	1,00	0,97	0,59	0,22
7.	Kukurek	1,00	0,97	0,70	0,13
8.	Divlja crvena detelina	0,99	0,97	0,83	0,25
9.	Ovčji vijuk (vlasulja)	1,00	0,97	0,26	0,08
10.	Maslačak	1,00	0,69	0,66	0,11
11.	Divlja trešnja	1,00	0,69	0,77	0,35
12.	Ljulj	1,00	0,69	0,20	0,03
13.	Mleč	1,00	0,69	0,46	0,09
14.	Lucerka	0,99	0,69	0,80	0,14
15.	Prilepača (broćika)	0,99	0,69	0,53	0,23
16.	Rosulja bela	0,99	0,69	0,16	0,03
17.	Žuti zvezdan	1,00	0,69	0,64	0,14

**Kadmijum (Cd)** se smatra izuzetno opasnim kontaminantom koji utiče na sve životne forme zbog njegove visoke toksičnosti i velike rastvorljivosti u vodi i zemljištu.

Kod biljaka, kadmijum može da indukuje nizak mitotički indeks, da inhibiše ćelijsku deobu i proliferaciju i pokazuje toksični efekat na morfologiju hromozoma (Liu and Kottke, 2004). Načini na koji biljke pokušavaju da izbegnu izuzetno štetne efekte toksičnosti ovog metala su različiti, tako da su mnogobrojne studije koje su se bavile ovom problematikom dale konfliktne rezultate (Cosio at al., 2004). Tako napr., neke studije su pokazale da se Cd uglavnom akumulira na ćelijskom zidu (Küper at al., 2000), dok druge ukazuju da se višak Cd nalazi uglavnom u vakuolama i nukleusu (Liu and Kottke, 2004).

U najvećem broju uzoraka biljaka koje su ispitivane u ovom radu, koncentracije Cd iznosile su 0,7 mg/kg, što je blisko kritičnim koncentracijama po Vanmechelen at al. (1997), dok su se ostale koncentracije kretale od 1,0 - 3,5 mg/kg. Sve vrednosti koncentracija su u skladu sa Ross-ovim podacima za kontaminirane biljke (Ross, 1994). Ipak, i najveća detektovana koncentracija, 3,5 mg/kg, u divljoj ježevici, bila je neuporedivo manja u odnosu na 1.800,0 mg/kg koliko *Thlaspi caerulescens*, poznati Cd-akumulator, može da akumulira u svojim izdancima (Cunningham and Ow, 1996).

**Kalcijum (Ca)** je element kojeg ima u svakoj zelenoj biljci i to u velikim količinama, iako je poznato da ne ulazi u sastav hlorofila i proteina. Kalcijum zapravo ulazi u sastav ćelijskih membrana i čini ih jačim, a igra i značajnu ulogu u neutralizaciji organskih kiselina koje se sintetišu u biljnoj ćeliji (Sarić, 1983). Ovaj metal služi i kao signal u različitim fiziološkim i razvojnim procesima u biljci, a takođe i kao važan osmotik (Webb, 1999). Kao neophodan element za rast i razvoj, njegov nedostatak veoma utiče na biljke, naročito na kvalitet plodova. Korenje braon boje i tamne fleke na plodovima, najčešći su znaci nedostatka Ca. Pošto ovaj element nije toliko mobilan u biljci, njegov nedostatak primećuje se pre svega u mlađim biljnim tkivima. Sadržaj Ca obično raste sa starenjem biljke. Koncentracije Ca od 0,20 do 0,25 % u zelenim delovima, obično su dovoljne za biljke iz porodice trava, dok je sadržaj potreban za leguminoze nešto veći: kod soje do 0,50 % Ca u zrelih listovima, a kod kikirikija 1,25 %; lišće jabuke bi trebalo da sadrži oko 1 % Ca, a lišće breskve oko 1,25 %. Smatra se da je Ca prisutan u višku ukoliko njegove koncentracije u listu iznose od 600 - 1000 mg/kg. Danas je opšte prihvaćeno mišljenje da koncentracije slobodnog Ca u ćelijskom rastvoru ne smeju da budu veće od  $\sim 10^{-7}$  M, jer u suprotnom, one mogu da ometu



brojne ključne ćelijske procese, uključujući kalcijum-zavisnu signalizaciju, ćelijski metabolizam i mikroskeletnu dinamiku (Webb, 1999).

Biljke apsorbiraju Ca kroz koren i akumuliraju ga, čak i ako je prisutan u višku, u odnosu na zahteve i limite koje ima ćelijski citosol. Uz to, većina biljaka, za razliku od životinja, nema dobro razvijen ekskretorni sistem koji bi mogao da na pogodan način "odlaže" višak Ca. Umesto toga, više biljke moduliraju razlike između prirodnog obilja Ca u životnoj sredini i niskih zahteva za koncentracijama slobodnog Ca u citosolu, putem kontrole njegove distribucije i njegovom kompartmentacijom u okviru ćelije. Pri tome, glavni rezervoari za njegovo odlaganje su ćelijski zid i vakuole (Webb, 1999). Kao odgovor na Ca u višku, mnoge biljke ga odlažu kao Ca-oksalat, formirajući morfološki različite oblike kristala kod različitih biljnih vrsta. Sa proizvodom rastvorljivosti od  $1,3 \times 10^{-9}$ , Ca-oksalat obezbeđuje relativno nerastvornu, metabolički inaktivnu so za sekvestraciju Ca; pri tome, kristali Ca-oksalata ne formiraju potpuno inertan, nepovratan pul, već on, po potrebi, može i da se rastvara. U višim biljkama, kristali Ca-oksalata, tipično se formiraju unutar vakuola specijalizovanih ćelija. Kod većine biomineralizacionih procesa, specijalizovane ćelije ali i organski makromolekuli koji se nalaze u, ili oko specijalizovanih ćelija, upravljaju i posreduju u formiranju kristala; ove ćelije i molekuli koji čine zajedničku organsku matricu, funkcionišu na različite načine da bi kompartmenizovali kristalizacioni proces, generisali kristale i menjali rast i morfologiju kristala; ipak, zajedničko za većinu sistema je da se kristali tipično razvijaju unutar vakuola, tj unutar komora intravakuolarne membrane; na ovaj način obezbeđuje se visoko-kapacitetno skladište za Ca, te biljke mogu da akumuliraju Ca-oksalat u značajnom iznosu, čak do 80% od suve materije, odnosno čak do 90 % od ukupnog Ca u biljci (Webb, 1999).

Sve vrste biljaka koje su ispitivane u ovom radu imale su veoma visok sadržaj Ca u svojim zelenim delovima i on se kretao od 1.600,0 mg/kg u belojoj rosulji (uzorak br. 16), do 8.300,0 mg/kg u divljoj crvenoj detelini (uzorak br. 8).

**Magnezijum (Mg)** je prisutan u svakoj živoj ćeliji, igra specifičnu ulogu u metabolizmu fosfora, vitalan je za iskorišćenje ATP-a, jedan je od sastojaka ćelijske membrane, a u biljkama je bio prepoznat kao veoma važan jon u signalnim procesima za aktivaciju i održavanje biohemijskih reakcija (napr. regulacija fiksacije ugljenika u u

hloroplastima u Kalvinovom ciklusu. Uloga Mg u neutralizaciji organskih kiselina sintetisanih u biljci slična je ulozi Ca, ali za razliku od Ca, Mg se vezuje na proteine i enzime kao kofaktor i veoma je važan konstituent molekula hlorofila, ali i Goldžijevog aparata, endoplazmatičnog retikuluma itd. U mnogo slučajeva deluje kao antagonist Ca-jonu (Sarić, 1983). Magnezijum je veoma mobilan element u biljci, tako da u uslovima "gladovanja" može biti redistribuiran iz starih u mlade listove. Simptomi njegovog nedostatka upravo su uočljiviji u starijim biljnim tkivima (na primer žutilo i nekroza donjih listova, tzv hloroza). Nedostatak Mg kod biljaka utiče na smanjenje fotosinteze, što povlači značajno smanjenje u rastu biljke, kao i smanjenje reproduktivnih sposobnosti. Smatra se da nedostatak Mg postoji kod onih biljaka čije lišće sadrži manje od 0,10 do 0,15 % ovog elementa; neophodne količine Mg variraju za različite biljke: za leguminoze, kao što su to soja i kikiriki, neophodan sadržaj je 0,25 do 0,30 %, neophodan sadržaj za biljku pamuka je 0,30%, dok mnoge povrtarske biljke imaju povećan zahtev za Mg, blizu 0,40 %.

Koncentracije Mg u biljci, kao i u slučaju Ca, rastu sa vremenom, ali generalno, one su ipak mnogo niže nego koncentracije Ca. Iako ne drastično, prevelike koncentracije ovog elementa mogu naškoditi biljci, što je naročito izraženo u uslovima suše. Potreba za slobodnim Mg u citoplazmi ćelije veoma je niska, ~ 2 mmol/L, tako da se i u slučaju Mg, preterane količine mogu uskladištiti u vakuolama i kasnije koristiti po potrebi (Stelzer at al., 1990; Marschner, 1995).

Biljke ispitivane u ovom radu sadržale su Mg uglavnom u normalnim količinama, ali su neki uzorci pokazali i izuzetno nizak sadržaj ovog metala: 300,0 mg/kg u divlja ježevica, ljulj i rosulja bela, sve biljke iz porodice trava, zatim 600,0 mg/kg u uzorku broj 3 (obična grahorica), 800,0 mg/kg u ovčijem vijuku (vlasulji) i 900,0 mg/kg u mleču (uzorak br. 13). Na osnovu spoljašnjeg izgleda ovih biljaka, nije se moglo zaključiti da pate od nedostatka Mg.

Prema Ross-u (1994), biljke koje se smatraju kontaminiranim ovim metalom mogu da sadrže 0,03 - 3,8 mg/kg. Prema Vanmechelen at al. (1997), kritična koncentracija za biljke je 0,63 mg/kg.

#### 5.2.4. Literatura

- Adhikari T., Singh M.V. (2003) Sorption characteristics of lead and cadmium in some soils of India. *Geoderma* 114 (1-2): 81–92.
- Adriano D.C. (2001) Trace elements in terrestrial environments, Springer-Verlag, New York.
- Allen S.E. (1989) Chemical analysis of ecological material (2nd ed.). Blackwell Scientific Publications, London.
- Alloway B.J. (2008) Zinc in Soils and Crop Nutrition (2nd ed.). IZA and IFA, France.
- Alumaa P., Kirso U., Petersell V., Steinnes E. (2002) Sorption of toxic heavy metals to soils. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 204 (5–6): 375–376.
- Ambler J. E., Brown J.C., Gauch H.G. (1970) Effect of zinc on translocation of iron in soybean plants. *Plant Physiology* 46: 320.
- Antoniadis V., Tsadilas C.D. (2007) Sorption of cadmium, nickel, and zinc in mono- and multimetal systems. *Applied Geochemistry* 22 (11): 2375–2380.
- Arias M., Pérez-Novo C., Osorio F., López E., Soto B. (2005) Adsorption and desorption of copper and zinc in the surface layer of acid soils. *Journal of Colloid and Interface Science* 288 (1): 21–29.
- Bacaicoa E., García-Mina J.M. (2009) Iron efficiency in different cucumber cultivars: the importance of optimizing the use of foliar iron. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134: 405–416.
- Barton L.L., Abadía J. (2006) Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. Springer, The Netherlands.
- Bergman W. (1983) Farbatlas Ernährungsstorungen bei Kulturpflanzen für den Gebrauch im Feldbestand. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany.
- Bošković-Rakočević Lj., Bokan N. (2005) Uticaj neutralizacije kiselih zemljišta na mobilnost neophodnih mikroelemenata. *Acta agriculturae Serbica* 10(20): 23–28.
- Bowen J.E. (1969) Absorption of Copper, Zinc and Manganese by Sugarcane Leaf Tissue. *Plant Physiology* 44: 225–261.
- Brewer R.F. (1966) Lead. In: Diagnosis criteria for plants soils. Ed. Chapman H.D., Univ. Cal. Div. Agric. Sci., Riverside, USA.
- Brown A.L., Yamaguchi S., Lhal-Diaz J. (1966) Evidence for translocation of iron in plants. *Plant Physiology* 40: 35–38.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S., Baker A.M. (1995) Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerant *Silene vulgaris* grown on sludgeamended soils. *Environmental Science & Technology* 29: 1581–1585.
- Chaudhry F.M., Loneragan J.E. (1972) Zinc absorption by wheat seedlings. II. Inhibition by hydrogen ions and by micronutrient cations. *Soil Science Society of America Journal* 36 (2): 327–331.
- Cosio C., Martinoia E., Keller C. (2004) Hyperaccumulation of Cadmium and Zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the Leaf Cellular Level. *Plant Physiology* 134: 716–725.

- Cunningham S.D., Ow D.W. (1996) Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology* 110: 715–719.
- ECCE (1990) Element concentration cadasters in ecosystems. VCH Publishers Weinheim.
- Epstein E. (1972) *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. John Wiley and Sons, Inc. New York, London, Sydney, Toronto.
- Feleafel M.N., Mirdad Z.M. (2013) Hazard and Effects of Pollution by Lead on Vegetable Crops (Review). *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 26 (3): 547–567.
- Freitas E.V.S., Nascimento C.W.A., Silva Sousa A., Silva F.B. (2013). Citric acid-assisted phytoextraction of lead: a field experiment. *Chemosphere* 92: 213–217.
- Garcia-Mina J.M., Bacaicoa E., Fuentes M., Casanova E. (2013) Fine regulation of leaf iron use efficiency and iron root uptake under limited iron bioavailability. *Plant Science* 198: 39–45.
- Giordano P.M., Noggle J.C., Mortvedt J.J. (1974) *Plant and Soil* 41: 637–646.
- Hagemeyer J. (2004) Ecophysiology of plant growth under heavy metal stress. In: M.N.V. Prasad (Ed.), *Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems*, 2nd ed. Berlin: Springer, 201–222.
- Hall J.L. (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53 (366): 1–11.
- He M.-m., Tian G.-m., Liang X.-q. (2009) Phytotoxicity and speciation of copper, zinc and lead during the aerobic composting of sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials* 163 (2-3): 671–677.
- Hindt M.N., Guerinot M.L. (2012) Getting sense for signals: regulation of the plant iron deficiency response. *Biochimica et Biophysica Acta* 1823: 1521–1530.
- <http://aesl.ces.uga.edu/publications/plant/Nutrient.htm>
- Kabata-Pendias A., H. Pendias H. (2001) *Trace Elements in Soils and Plants* (3rd ed.). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kabata-Pendias A., Piotrowska M. (1984) *Zanieczyszczenie Gleb i Roslin Uprawnych Pierwiastkami Sładowymi*. CBR-opracowanie Problemowe, Warszawa, Poland.
- Kastori R. (1983) *Uloga elemenata u ishrani biljaka*. Matica srpska, Novi Sad.
- Kastori R. (1990) *Neophodni mikroelementi – fiziološka uloga i značaj u biljnoj proizvodnji*. Naučna knjiga, Beograd.
- Kastori R., Petrović N. (1993) *Uticao težkih metala na biljke. Teški metali i pesticidi u zemljištu*. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 31–46.
- Kloke A. (1980) Richtwerte '80 - Orientierungsdaten für tolerierbaren Gesamtgehalte einiger Elementen in Kulturböden. *Mitt. VDLUFA*, H. 1–3, S. 9–11.
- Krzywy-Gawrońska E. (2010) Impact of composts with the participation of municipal sewage sludge on the content of the total forms of copper, manganese and zinc in soil. *Polish Journal of Chemical Technology* 12 (4): 15–18.
- Küper H., Lombi E., Zhao F.J., McGrath S.P. (2000) Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator. *Planta* 212: 75–84.

- Lingle J.C., Tiffin L.O., Brown J.C. (1963) Iron uptake and transport of soybeans as influenced by other cations. *Plant Physiology* 38: 71–76.
- Liu H., Kottke I. (2004) Subcellular localization of cadmium in the root cell of *Allium cepa* by electron energy loss spectroscopy and cytochemistry. *Journal of Bioscience* 29 (3): 329–335.
- Lotti G., Petronici C., Bazan E. (1968) Assorbimento delo zinco da radicale piante intere di arancio. *Agricoltura Italiana* 23: 84.
- Marschner H. (1995) Mineral nutrition of higher plants (2nd ed.). Academic Press, London.
- Melo E.E.C., Nascimento C.W.A., Accioly A.M.A., Santos A.C.Q. (2008) Phytoextraction and fractionation of heavy metals in soil after multiple applications of natural chelants. *Scientia Agricola* 65: 61–68.
- Ni T.H. and Wei Y.Z. (2003) Subcellular Distribution of Cadmium in Mining Ecotype *Sedum alfredii*. *Acta Botanica Sinica* 45 (8): 925–928.
- Ouzounidou G. (1994) Copper-induced changes on growth metal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* L. plants. *Environmental and Experimental Botany* 34: 165–172.
- Paribok T.A. (1970) Vzaimodejstije zinka i fosfora v mineranov pitanii rastenii. *Agrohemija* 2: 153–165.
- Pederson G.A., Brink G.E., Fairbrother T.E. (2002) Nutrient uptake in plant parts of sixteen forages fertilized with poultry litter: Nitrogen, phosphorus, potassium, copper, and zinc. *Agronomy Journal* 94 (4): 895–904.
- Peng H., Zang X., Tian S. (2005) Accumulation and ultrastructural distribution of copper in *Elsholtzia splendens*. *Journal of Zhejiang University SCIENCE* 6B(5): 311–318.
- Pourrut B., Shahid M., Dumat C., Winterton P., Pinelli E. (2011) Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213: 113–136.
- Prabhakar S., Singh A.K., Pooni D.S. (2012) Effect of environmental pollution on animal and human health: A review. *Indian Journal of Animal Sciences* 82 (3): 244–255.
- Reeves RD, Brooks RR (1983) Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from a mining area in Central Europe. *Environmental Pollution* 31: 277–287.
- Ross M.S. (1994) Sources and form of potentially toxic metals in soil-plant systems. In: M.S. Ross (ed), *Toxic Metals in Soil-Plant Systems*. John Wiley, Chichester, 3–25.
- Ryan B.M., Kirby J.K., Degryse F., Harris H., Mclaughlin M.J., Scheiderich K. (2013) Copper speciation and isotopic fractionation in plants: Uptake and translocation mechanisms. *New Phytologist* 199 (2): 367–378.
- Sadovnikova L.K., Ladonin D.V. (2000) Uptake of copper and zinc by spodosol soil at different level of artificial pollution. *Vestnik of Moscow University (Soil Science)* 17 (3): 37–39.
- Sarić M. (1983) Fiziologija biljaka, 4. izdanje. Naučna knjiga, Beograd.
- Savage W., Berry W., Reed C.A. (1981) Effects of trace element tres on the morphology of developing seedlings of lettuce (*lactuca sativa* L. Grand Rapids) as shown by scanning electron microscopy. *Journal of Plant Nutrition* 3: 129–138.
- Shen Z.G., Li X.D., Wang C.C., Chen H.M., Chua H. (2002) Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality* 31: 1893–1900.

- Službeni glasnik Republike Srbije (1994) 23: 553–554.
- Soriano A., Pallarés S., Pardo F., Vicente A.B., Sanfeliu T., Bech J. (2012) Deposition of heavy metals from particulate settleable matter in soils of an industrialised area. *Journal of Geochemical Exploration* 113: 36–44.
- Sprynsky M., Kowalkowski T., Tutu, H., Cozmuta L.M., Cukrowski E.M., Buszewski B. (2011) The Adsorption properties of agricultural and forest soils towards heavy metal ions (Ni, Cu, Zn, and Cd). *Soil and Sediment Contamination* 20 (1): 12–29.
- Stelzer R., Lehmann H., Krammer D., Luttge U. (1990) X-Ray microprobe analysis of vacuoles of spruce needle mesophyll, endodermis and transfusion parenchyma cells at different seasons of the year. *Botanica Acta* 103: 415–423.
- Sutton A.L., Nelson D.W., Kelly D.T., Hill D.L. (1986) Comparasion of solid us. liquid dairy manure applications on corn yield and soil composition. *Journal of Environmental Quality* 15: 370–375.
- Thiel H. (1972) Untersuchungen zur Kennzeichnung des Kupfer-Versorgungsgrades von Sommergetreide. *Landw. Forsch.*, 27/I Sonderh., 229–236.
- Tiller K.G. (1992) Urban soil contamination in Australia. *Australian Journal of Soil Research* 30 (6): 937–957.
- Ubavić M, Dozet D., Bogdanović D. (1993) Teški metali u zemljištu. Teški metali i pesticidi u zemljištu. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 31–46.
- Vanmechelen L., Groeneman P., Vanrans E. (1997) Forest Soils Condition in Europe of Large-Scale Soil Survay, 1997 Technical Report, EC, UN/ECE, Ministry of the Flemish Community, Brysseele-Geneva, 259.
- Vapa M. (1993) Teški metali i zdravlje ljudi i životinja. Teški metali i pesticidi u zemljištu. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 73–92.
- Walker R.B., Sarkar A.K. (1979) Iron uptake and utilisation in maize. *Proceedings Of the First International Symposium On Plant Nutrition, Mineral Nutrition of Plants. Vol. I, Varna*, 39–46.
- Webb M.A. (1999) Cell-Mediated Crystallization of Calcium Oxalate in Plants. *Plant Cell* 11: 751–761.
- Welch R.M., Webb M.J., Loneragan J.F. (1982) Zinc in membrane function and its role in phosphorus toxicity A. Scaife (Ed.), *Proceedings of the Ninth Plant Nutrition Colloquium*. CAB International, Warwick, UK; Wallingford, UK, 710–715.
- Wiklander L., Vahtras K. Solubility and uptake of heavy metals from a Swedish soil (1977) *Geoderma* 19 (2): 123–129.
- Wilkinson R.E. (1994) *Plant-environment interactions*. Marcel Dekker, New York.

### **5.3. EKONOMSKA OPRAVDANOST KORIŠĆENJA METODE FITOREMEDIJACIJE**

Poznato je da je jako teško popraviti zemljišta kontaminirana metalima. Tehnologije koje se uglavnom koriste pribegavaju iskopavanju i nanošenju novog zemljišta ili ispiranju koje je praćeno fizičkim ili hemijskim razdvajanjem od zagađivača. Troškovi remedijacije zemljišta na ovaj način su veliki, a i inače su veoma promenljivi i zavise kako od brige samih zagađivača, tako i od osobina zemljišta i uslova sredine.

Fitoremedijacija se često predstavlja kao nisko kapitalno intenzivna i jeftina tehnika remedijacije, posebno za umerena zagađenja na velikim područjima. Fitoremedijacija zahteva duži vremenski period, i to predstavlja glavnu manu ove tehnike remedijacije zemljišta. S tim u vezi, ako tradicionalna tehnika rekultivacija dostigne svoj cilj mnogo brže nego fitoremedijacija, i ekonomski se ranije povrate prihodi na očišćenom zemljištu, može doći do smanjenja visokih troškova tradicionalne tehnike u poređenju sa troškovima fitoremedijacije.

Prilikom odlučivanja koju tehniku rekultivacije usvojiti, treba uzeti u obzir troškove i koristi tokom celog perioda remedijacije. Posebnu pažnju treba posvetiti najvažnijim troškovima i korisnim elementima koji pomeraju ravnotežu u korist fitoremedijacije. Kao prvi korak u donošenju odluke treba uraditi tzv. "cost-benefit" analizu, kojom se vrši evaluacija troškova i koristi kroz vreme, uz pomoć merljivih parametara. Konkretno, kada je u pitanju fitoremedijacija, mora da se napravi razlika između privatnog i društvenog pristupa, u pogledu prednosti. Nisu u pitanju samo socijalne povlastice koje proizilaze iz rekultivacije zemljišta, odnosno privatna korist za vlasnika ili korisnika zemljišta, već treba voditi računa o smanjenju negativnih eksternih efekata. Manje zagađeno zemljište znači manje rizično okruženje za ljude. Procena da li i koliko su ljudi spremni da plate da se izbegne rizik koji nastaje od kontaminacije zemljišta teško se može izvršiti, ali kao primer može da posluži vrednost stambenih objekata u susedstvu zagađenog područja (Thewys, 2003). Ovakvi rezultati nisu široko rasprostranjeni i istraživanja se i dalje razvijaju.

Korišćenje biljaka za čišćenje zemljišta od teških metala je ekološki prihvatljivija i jeftinija metoda u poređenju sa fizičko-hemijskim i inženjerskim tehnikama, pri čemu je vreme postizanja krajnjeg ishoda jedan od ograničavajućih

faktora. (Denys et al., 2006; Komives et al., 2009; Mench et al., 2009, 2010; Schwitzguébel et al., 2011; Vangronsveld et al. 2009). Biomasa biljaka koje sadrže akumulirane teške metale može biti spaljena za dobijanje energije, a preostali pepeo, "bio-ruda", može biti iskorišćen za vraćanje, odnosno ekstrakciju teških metala. Prednost ove metode, koja se naziva *phytomining*, jeste isplativost dobijene energije sagorevanjem biomase (Brooks et al., 1998; Sheoran et al., 2009, 2013; Wilson-Corral et al., 2012). Rezultati poljskog ogleda, koji je sproveo Meers et al. (2010), pokazuju da spaljivanjem biomase kukuruza, koji je gajen u regionu Campine u Belgiji i Holandiji, može da se proizvede 30.000 – 42.000 kW obnovljive energije po hektaru. Ako se pretpostavi zamena kalorične moći uglja biljkama, to bi izazvalo smanjenje proizvodnje CO<sub>2</sub> čak za 21 t/ha. Spaljivanje bio-rude doprinosi manjoj emisiji CO<sub>x</sub> gasova u atmosferu zbog niskog sadržaja sumpora. Iz tog razloga, *phytomining* je ekološki opravdanija opcija u odnosu na konvencionalne metode ekstrakcije.

Chaney et al. (2007) ističu korišćenje biljaka za izdvajanje vrednih teških metala iz kontaminiranih ili mineralnih zemljišta, uz istovremenu dekontaminacije zemljišta. Ove biljke bi se zasejavale i rasle do zrelosti za žetvu, a kada nakupe dovoljno minerala kose se i baliraju. Zatim se spaljuju a pepeo se prodaje kao ruda cinka. Pepeo koji je dobijen od *alpine pennycress* gajene na cinkom bogatim zemljištima u Pensilvaniji, može da donese 30 do 40 % cinka koji je visokog kvaliteta. Električna energija dobijena spaljivanjem može delimično da ublaži troškove biorudarenja. Chaney i njegove kolege sa Univerziteta iz Merilenda su još 1998. godine patentirali metodu upotrebe ovih biljaka kao "fito-rudnik" nikla, kobalta i drugih metala.

Analiza troškova fitoekstrakcije metala je otežana zbog nedostatka informacija. U prilog tome, do sada ni jedno područje zagađeno metalima nije potpuno očišćeno putem remedijacije sa biljkama. Dakle, dostupni podaci o troškovima su ograničeni na kratkoročna (dve do tri godine) terenska istraživanja. Pitanje je da li se ovi rezultati mogu koristiti za preciznu procenu troškova pravih projekata koji mogu trajati do 15 godina.

Uprkos ovim ograničenjima, nekoliko autora su istraživali vremenski okvir i cene fitoekstrakcije metala. Na primer, Braun et al. (1995) zaključuju da su zemljišta kontaminirana sa 400 mg/kg Zn očišćena do željenog nivoa od 40 mg/kg. Ovi autori koriste *T. caerulescens* u svojoj analizi i pretpostavljaju konstantnu stopu uzimanja



4000 mg/kg i godišnji prinos od 10 t/ha. Oni su procenili da će biti potrebno 18 vegetacionih sezona da se ukloni višak cinka iz zemljišta.

U jednoj od studija, troškovi sanacije metal-kontaminiranog zemljišta korišćenjem konvencionalnih inženjerskih tehnika iznosili su između 50 \$ i 500 \$ po toni (Cunningham and Ow, 1996). Dakle, cena otklanjanja po hektaru zemljišta (tri metra duboka kontaminacija), težine oko 4500 tona, bila bi više od 250.000 \$. Ovi autori procenjuje da se gajenjem useva po hektaru zemljišta može postići manja cena, u rasponu od dva do četiri reda veličine, u odnosu na cenu iskopavanja i nanošenja zemljišta. Salt et al. (1995) procenjuju da će korišćenje fitoekstrakcije za čišćenje jednog hektara zemljišta do dubine od 50 cm koštati 60.000 - 100.000 \$, u poređenju sa najmanje 400.000 \$ za iskopavanje zemljišta i njegovo skladištenje.

Procena troškova korišćenja nekoliko različitih tehnologija za uklanjanje metala iz kontaminiranog zemljišta prikazana je u tabeli 24.

Tabela 24. Troškovi tretmana zemljišta (Glass, 1999a)

Tretman	Cena koštanja (\$/tona)	Dodatni faktori/rashodi
Vitrifikacija	75-425	Dugoročni monitoring
Pokrivanje novim slojem	100-500	Transport/iskopavanje/monitoring
Hemijski tretman	100-500	Reciklaža zagađivača
Elektrokinetika	20-200	Monitoring
Fitoekstrakcija	5- 40	Monitoring

Ekonomske procene dobiti od fitoremedijacije se kreću između 25 \$ i 100 \$ po toni zemljišta (Glass, 2000).

Troškovi fitoremedijacije su povoljniji u odnosu na sanaciju po toni zemljišta pomoću drugih tehnologija koje se trenutno koriste ili su proučavane (tabela 25).

Međutim, da bi se fitoremedijacija pokazala kao ekonomski i tehnološki održiva, trebalo bi raspolagati hiperakumulatorskom biomasom, tako da to postaje relativno važno pitanje. Koncentracije teških metala u požnjevenoj (skinutoj) biomasi će zahtevati dalju obradu da se imobilišu ili iskoriste metali. U suprotnom, njihovo odlaganje bi trebalo da bude kao toksičnog otpada na kontrolisanim deponijama.

Tabela 25. Troškovi različitih tretmana zemljišta (Glass, 1999)

Tretman	Cena koštanja (\$/tona)
Hemijski tretman	100-500
Ispiranje zemljišta	75-200
<i>In-situ</i> ispiranje zemljišta	40-190
Reagens vitrifikacija	75-90
Termička vitrifikacija	250-425
Termička desorpcija	150-500
Termička obrada	170-300
Elektrokinetika	20-200
Spaljivanje	200-1500
Deponovanje	100-500

Čišćenje zemljišta kontaminiranog metalima putem konvencionalnih inženjerskih metoda, kao što je napred rečeno, može biti jako skupo. Procena troškova za sanaciju zemljišta kontaminiranih teškim metalima, i teškim metalima pomešanim sa organskim jedinjenjima, prikazana je u tabeli 26.

Tabela 26. Projektovani petogodišnji troškovi sanacije zemljišta kontaminiranih toksičnim metalima i mešavinom toksičnih metala i organskih jedinjenja (U.S. EPA, 1993)

Sektor	Samo metali	Metali sa organskim jedinjenjima
	(u milionima \$)	
Superfond <sup>1</sup>	2.400	10.400
RCRA <sup>2</sup>	3.000	12.800
DOD <sup>3</sup>	400	2.400
DOE <sup>4</sup>	900	6.500
Državno <sup>5</sup>	200	800
Privatno <sup>6</sup>	200	2.500
Ukupno:	7.100	35.400

<sup>1</sup>Lokacije rangirane na listi nacionalnih prioriteta

<sup>2</sup>Lokacije koje zahtevaju korektivne akcije prema odredbama RCDA (Resource Conservation and Recovery Act)

<sup>3</sup>Ministarstvo odbrane

<sup>4</sup>Ministarstvo energetike

<sup>5</sup>Državno finansiranje kontaminiranih lokacija

<sup>6</sup>Privatno finansiranje kontaminiranih lokacija

Izdvajanje metala iz hiperakumulatorske biomase je od velikog značaja za nastajanje tehnologije pod nazivom *phytomining*. Iako je ova tehnologija još u povoju, određena otkrića bi mogla učiniti phytomining tehnologiju izvodljivom, koja se može predložiti za čišćenje zemljišta od teških metala (Brooks i Robinson, 1998). Ovo uključuje korišćenje genetske tehnologije, konvencionalno uzgajanje biljaka, dodatak đubriva za povećanje hiperakumulatorske biomase i dodatak helata zemljištima da bi se povećala apsorpcija metala od strane hiperakumulatora.

U radu Lakshmi et al. (2003) ispitivana je izvodljivosti korišćenja pirolize za proizvodnju koncentrata metala (Ni, Zn, Cu, Cr, Co) iz hiperakumulatorske mase.

Zbog visoke cene, postoji potreba za manje skupim tehnologijama koje se mogu koristiti za čišćenje zemljišta. Fitoremedijacija se pojavila kao isplativa alternativa. Neke analize su pokazale da je cena fitoekstrakcije metala znatno povoljnija u poređenju sa konvencionalnim inženjerskim metodama (tabela 25). Pored toga, iz razloga što se vrši remedijacija zemljišta *in situ*, fitoremedijacijom se izbegava poremećaj okoline i čuva se ekosistem. Ali, uprkos ovim prednostima, nekoliko nedostataka i ograničavajućih faktora ograničavaju primenjivost fitoekstrakcije (tabela 27).

Tabela 27. Glavni ograničavajući faktori uspeha i primenjivosti fitoekstrakcije

<b>Biološka ograničenja same biljke</b>	<b>Regulatorna ograničenja</b>	<b>Ostala ograničenja</b>
1) Smanjena tolerancija biljaka	1) Nedostatak podataka o ceni i performansama	1) Zagađivanje ispod zone korena
2) Nepostojanje translokacije zagađivača od korena do listova	2) Regulatori nisu u skladu sa tehnologijom	2) Dugotrajan proces
3) Mala veličina biljaka remedijatora	3) Odlaganje kontaminiranog biljnog otpada	3) Zagađivači u biološki nedostupnoj formi
	4) Rizik od kontaminacije lanca ishrane	4) Nedostatak biljnih vrsta remedijatora

Sveobuhvatnu analizu tržišta fitoremedijacije je objavio Glass (1999a; 1999b). Autor ukazuje da je procenjeno da je 1999 tržište fitoremedijacije dva puta veće nego

1998. Ovaj rast je pripisan povećanju broja kompanija koje pružaju usluge, posebno preduzeća u sektoru konsalting inženjeringa, i da je u porastu prihvatanje novih tehnologija.

U tabeli 28 je prikazana procena tržišta za fitoremedijaciju u U.S. u 1999. godini, u zavisnosti od različitih kontaminirajućih sredstava i zagađivača.

Tabela 28. Procenjeno tržište za fitoremedijaciju u 1999. godini u U.S. (Glass, 1999b)

Organske materije u podzemnim vodama	\$ 7 - 12 miliona
Deponije na zemljištu	\$ 5 - 8 miliona
Organske materije u zemljištu	\$ 5 - 7 miliona
Metali u zemljištu	\$ 4,5 - 6 miliona
Neorganske materije u otpadnim vodama	\$ 2 - 4 miliona
Neorganske materije u podzemnim vodama	\$ 2 - 3 miliona
Organske materije u otpadnim vodama	\$ 1 - 2 miliona
Metali u podzemnim vodama	\$ 1 - 2 miliona
Radionuklidi	\$ 0,5 - 1 miliona
Metali u otpadnim vodama	\$ 0,1 – 0,2 miliona
Ostalo	\$ 1,9 – 3,8 miliona
Ukupno	\$ 30 - 49 miliona

Završni izveštaji za 1999. i 2000. godinu pokazuju da su prihodi nešto niži nego što je bilo prethodno projektovano, uglavnom zbog sporije komercijalizacije tehnologije za čišćenje metala i radionuklida iz kontaminiranih lokacija. Drugo po veličini tržište za fitoremedijaciju je identifikovano u Evropi, mada se procenjuje da je Evropsko tržište 10 puta manje od US tržišta (Glass, 1999b).

Prilikom odlučivanja koja tehniku rekultivaciju usvojiti, treba uzeti u obzir troškove i koristi tokom celog perioda remedijacije. Prvi korak pri utvrđivanju najvažnijih troškova fitoremedijacije je "cost-benefit" analiza - analiza troškova i koristi koji su merljivi, kroz vreme. Konkretno, u odnosu na koristi, mora da se napraviti razlika između privatnog i društvenog pristupa. Socijalne povlastice podstiču rekultivaciju zemljišta ne samo da bi se dobila privatna korist za vlasnika ili korisnika

zemljišta, već i da se postigne smanjenje negativnih eksternih efekata. Manje zagađeno područje znači manje rizično okruženje za ljude.

Pod pretpostavkom da je unapred definisan vremenski period za izvođenje sanacije (koji se može menjati kao element osetljivosti analize), u "cost-benefit" analizi mogu se izdvojiti sledeće stavke:

1. Troškovi fitoremedijacionih aktivnosti, odnosno kapitalni i operativni troškovi, koji se odnose na uklanjanje zagađivača, uslove zemljišta, razliku između početnog i krajnjeg nivoa zagađenja, itd. Sve ove stavke utiču na dužinu perioda remedijacije.

2. Izgubljeni prihod koji zemljište i dalje ima, čak i u zagađenom stanju.

3. Mogućnost da se neki od ovih troškova nadoknade, na primer valorizacijom biomase.

4. Ponovni prihod od zemljišta nakon rekultivacije, u zavisnosti od toga kakva će biti njegova funkcionalna upotreba nakon rekultivacije.

Ove stavke treba razmotriti pre početka aktivnosti remedijacije zemljišta, i uračunati troškove koji pokrivaju period sanacije plus period nakon sanacije kako bi se došlo do prihoda od očišćenog zemljišta. Sa stanovišta vlasnika zemljišta, ovaj period može da bude, na primer, 30-40 godina. Diskontovanjem troškova i koristi u toku perioda remedijacije, dolazi se do "neto sadašnje vrednosti" (NSV) od fitoremedijacije (Robinson et al., 2003).

Fitoremedijacija se posebno primenjuje u kontekstu "upravljanja zemljištem" velikih područja, gde se sanacijom postiže:

a) priprema zemljišta za korišćenje u budućnosti;

b) u slučajevima kada je taj prostor zapravo izvor poljoprivrednog prihoda.

U kasnijem periodu, postepeno usvajanje od strane fitoremedijacionih useva (akumulatora) uticaće na prihod kod lokalnih poljoprivrednika. U tom kontekstu može se koristiti "prihod od rada po hektaru godišnje", kao koncept merenja. To znači da se bruto prihod od jedne radne aktivnost na zemljištu (pre i posle rekultivacije), dobija nakon odbitka kapitalnih i operativnih troškova.

Prilikom sprovođenja "cost-benefit" analize pretpostavlja se da je prihod od rada nakon sanacije veći nego pre fitoremedijacije. Takođe se pretpostavlja da u toku remedijacionog perioda postoji mogućnost za pozitivan prihod od rada, na primer od

obrade biomase. Ovaj prihod treba uračunati kada se izračunavaju troškovi fitoremedijacije, gde se uključuju i troškovi za valorizaciju biomase. Pretpostavlja se da će aktivnosti tokom rekultivacionog perioda dati neto dobit, tako da su prihodi u toku perioda rekultivacije pozitivni. Naravno, ako je prihod od valorizacije biomase suviše mali (ili ga nema), potrebno je nadoknadi troškove fitoremedijacije, te je u tom slučaju prihod tokom sanacije negativan (Vassilev et al., 2004).

Neto sadašnja vrednost (NSV) se izračunava kao razlika između sadašnje vrednosti - povraćenog prihoda od rada na očišćenom prostoru i sadašnje vrednosti izgubljenih prihoda, odnosno troškova.

NSV može da se koristi na više načina:

- Da analizira "osetljivost" za promene bitnih parametara kao što su razlika između krajnje sanacije i početnog nivoa, uklanjanje zagađenih useva, nivo povratka prihoda u odnosu na stvarni prihod zemljišta, itd.
- Da bi se uporedila fitoremedijacija sa alternativnim tehnikama remedijacije.
- Da služi kao osnova za eventualno ulaganje države u sanaciju zemljišta na ovaj način, dajući podatak o izgubljenoj zaradi za vreme rekultivacije, u slučaju daje NSV negativna. Posebno treba imati u vidu pozitivne eksterne efekte koji proističu iz čišćenja zagađenog područja.

Informacije o troškovima odnose se uglavnom na troškove fitoremedijacionih aktivnosti. Mereno apsolutno, ovi troškovi jako variraju u odnosu na specifične uslove, zagađenu površinu, korišćenu biljnu kulturu, udaljenost do ciljnog nivoa, razmere primenjenih aktivnosti, itd. (Glass, 1999).

Za fitostabilizaciju, troškovi sistema gajenja su procenjeni na 200 - 10.000 \$/ha, što je ekvivalent 0,02 - 1,00 \$/m<sup>3</sup> zemljišta, pod pretpostavkom do 1 m dubine korena (Cunningham et al. 1995). U okviru EU projekta koji se odnosi na fitoekstrakciju Pb iz zemljišta, troškovi uključeni u sprovođenje pilot sistema fitoremedijacije iznose oko 10.000 €100 m<sup>2</sup>. Ovde nisu uzeti u obzir troškovi osoblja, jer se pretpostavlja da stvarne aktivnosti na terenu sanacije može vršiti vlasnik ili neko od strane organa lokalne sredine. Dobijeni rezultati pilot projekta, odnosno troškovi, mogu se dalje upotrebiti za različite aplikacije, odnosno izračunavanja.

Ekonomsku perspektivu fitoremedijacije karakterišu dva razloga: potencijal za primenu i troškovi u odnosu na konvencionalne tretmane. Prilikom takvih poređenja,

mora se voditi računa da se razmotri ceo sistem troškova koji se može kontrolisati (EPA, 2000):

1. *Planirani troškovi*: karakterizacija područja, plan rada i priprema izveštaja, mogućnosti primene i pilot testiranje.
2. *Kreirani troškovi*: (1) priprema lokacije, (2) priprema zemljišta (fizička modifikacija: obrađivanje, helatni agensi, pH kontrola, odvodnjavanje), (3) infrastruktura (sistem za navodnjavanje, zaštita), (4) uzgajanje (seme, biljke, rad, zaštita).
3. *Operativni troškovi*: (1) održavanje (navodnjavanje, đubriva, pH kontrola, helatni agensi, drenaža za odvodnjavanje, pesticidi, zaštita od štetočina, sađenje), (2) praćenje (hranljivi sastojci u zemljištu, pH zemljišta, vlažnost zemljišta, nutritivni sastav biljaka, status biljaka kao zagađivača).

S obzirom da se fitoremedijacioni troškovi određuju na specifičan način, određeni broj autora usmeren je na upoređivanje tih troškova sa tradicionalnim tehnikama. Bishop (1997) navodi da, na odgovarajućim lokacijama, troškovi primene fitoremedijacije mogu da se kreću od polovine do manje od 20 % vrednosti od troškova korišćenja fizičkih, hemijskih ili termičkih tehnika. Glass (1997), kao i mnogi drugi autori, su procenili da će ukupni troškovi sistema za neke fitoremedijacione aktivnosti biti 50 – 80 % manji nego druge alternative (EPA, 2000). Još jedan takav pregled uporednih rezultati dao je Pivetz (2001), koji je uporedio rezultate autora Blaylock et al. (1999), Berti and Cunningham (1997) i Cornish et al. (1995). Na osnovu oglednih podataka za fitoekstrakciju olova (Pb), Blaylock et al. (1999) navode da su predviđeni troškovi za uklanjanje olova iz zemljišta putem fitoekstrakcije za 50 - 75 % niži od troškova tradicionalnih tehnologija. Procenu troškova za fitoremedijaciju do 60 cm dubine Pb - kontaminiranog zemljišta izvršili su Berti i Cunningham (1997), na 6 \$/m<sup>2</sup>, u odnosu na opseg oko 15 \$/m<sup>2</sup> za kaptiranje zemljišta i 730 \$/m<sup>2</sup> za iskopavanje, stabilizaciju i odlaganje materijala. Troškovi napravljeni za remedijaciju u hipotetičkom slučaju u sloju zemljišta od 20 cm za Cd, Zn i Cs-137 zagađenih sedimenata na 1,2 hektara odlagališta hemijskog otpada putem metode fitoekstrakcije, iznose oko jednu trećinu od troškova remedijacije zemljišta ispiranjem (Cornish et al., 1995).

Robinson et al. (2003) se bave analizom troškova i koristi za procenu održivosti korišćenja šumarstva za sanaciju kontaminiranog zemljišta od strane rudnika

Aznalcóllar u južnoj Španiji, gde je 1998. godine došlo do pucanja brane i izlivanja jalovine. Nađeno je da neke vrste drveća, kao što su primorski bor (*Pinus pinaster*) i bela topola (*Populus alba*), mogu da uspeavaju na tako zagađenom zemljištu. Njihovi proračuni pokazuju da je vreme potrebno za fitoekstrakciju teških metala, od kontaminirajućeg do prihvatljivog nivoa, koristeći šumarstvo, negde od 30 godine pa do stotinu godina. Najbolja alternativna tehnologija je fizičko uklanjanje i skladištenje kontaminiranog zemljišta, jer je za to potrebno oko 2 godine. Troškovi za uklanjanje kontaminiranog zemljišta (do 0,3 m dubine) se procenjuju na 500 miliona dolara za oko 4.300 ha, odnosno 116.000 USD/ha. Troškovi neaktivnosti se procenjuju na oko 10.000 USD/ha, uglavnom zbog uništene reputaciju kao proizvođača hrane i gubitka potencijalnog turizma, jer je u blizini park svetske kulturne baštine Doñana. Fitoekstrakcija korišćenjem šumarstva za proizvodnju drveta će stvarati mali profit, koji se procenjuje na 2.000 USD/ha, svakih 30 godina.

Kada je započelo istraživanje fitoremedijacije, početne procene troškova predviđale su da će fitoremedijacija imati niže troškove od drugih tehnologija. Realni podaci za cene koštanja fitoremedijacionih tehnologija su retki, a trenutno se iz pilot projekata ili eksperimentalnih studija ne mogu jasno precizirati troškovi praktične primene fitoremedijacije (Pivetz, 2001). Dobijeni podaci za troškove fitoremedijacije imaju smisla samo kao osnova da se napravi poređenje između troškova fitoremedijacije i onih kod tradicionalnih tehnika (tretmana). U odgovarajućim slučajevima, fitoremedijacija je izgledala kao mnogo isplativija. EPA (2000) procenjuje da će fitoremedijacioni troškovi biti 50 - 80 % niži od drugih alternativa, ali samo za neke određene aplikacije. U većini slučajeva, troškovi inženjeringa su minimalni, a naročito je značajno pokrivanje površine vegetacijom, koja pomaže da se ograniči širenje kontaminacije.

Do danas, komercijalizacija fitoekstrakcije je ograničena, jer su očekivanja da sanacija zagađenih područja bude realno opravdana, odnosno isplativija u poređenju sa drugim, konvencionalnim tehnologijama. Međutim, ako bi fitoekstrakcija mogla da donese dodatni prihod, onda bi ovo ograničenje, koje se često smatra Ahilovom petom fitoekstrakcije, postalo manje važno. Nadoknada troškova, uz adekvatan kriterijum za izbor biljaka, je predmet mnogih istraživanja. Valorizacija biomase je naročito obećavajući pristup (Robinson et al., 2003). Kao primer, Li et al. (2003) ističu da je



moć razvoju fitoekstrakcije nikla (Ni) kao komercijalne tehnologije, napominjući da bi proizvodnja energije dobijene spaljivanjem biomase ili piroliza pomogle da fitoekstrakcija postane isplativija.

Načini da se nadoknade neki fitoremedijacioni troškovi mogu biti:

1. Prodaja metala koji se dobija nakon fitoekstrakcije. Problem u ovom slučaju je odgovarajuća tehnologija izdvajanja metala, kao i pronalaženje tržišta za metale iz zagađenog biljnog materijala (Pivetz, 2001).
2. Slično tome, povraćaj troškova od prodaje dobijene biomase vegetacije, kao što su lucerka, drvena građa i ostali proizvodi od drveta, može biti otežana zbog zabrinutosti oko potencijalnih ostataka zagađivača u biomasi. U tom slučaju potrebna je potvrda da je proizvod biološki i hemijski ispravan.
3. Valorizacija biomase.

Glavne tehnologije za konverziju biomase (Gross, 2003), odnosno metode koje su relevantne za povraćaj fitoremedijacionih troškova su:

1. *Direktno sagorevanje biomase.* Biomasa može biti spaljena u malim modernim kotlovima za grejanje ili u većim kotlovima za proizvodnju električne energije ili za kombinovanu proizvodnju toplotne i snage. Najviše električne energije se proizvodi na osnovu ciklusa parne turbine. Sistemi za sagorevanje biomase imaju komercijalnu upotrebu širom sveta, koristeći različite tehnologije. Namenska postrojenja za sagorevanje mogu da koriste širok spektar goriva, uključujući i otpad. Takođe se može koristiti i smeša biomase i uglja.
2. *Gasifikacija biomase.* Gasifikacijom se biomasa pretvara do gasovitog goriva niske do srednje toplotne vrednosti. Gorivo može da se koristi za proizvodnju toplotne i električne energije direktno u motorima, turbinama i kotlovima nakon odgovarajućeg čišćenja. Alternativno, proizvedeni gas može da se iskoristi za proizvodnju gasova kao što su metanol i vodonik, koji mogu da se iskoriste u gorivim ćelijama ili mikro turbinama, na primer. Gasifikacija može da ima prednost u odnosu na sagorevanje u smislu ekonomskog obima i čistijeg i efikasnijeg rada. Industrijalizovane zemlje, kada je u pitanju gasifikacija, posebno se fokusiraju na fluidizovane sisteme, uključujući i cirkulaciju sistema fluidizovanih slojeva. Veliki sistemi koji kombinuju gasne i parne turbine (biomasa integrisana u kombinovanom ciklusu gasifikacije) su u

demonstracionoj fazi. Ovakvi sistemi mogu dovesti do uvećanja povećanja iskorišćenja električne energije od oko 50 %.

3. *Piroliza biomase*. Pirolitički se od biomase proizvodi tečno gorivo koje se može transportovati i skladištiti, a omogućava razdvajanje goriva po fazama proizvodnje i proizvodnju energije. Gorivo može da se koristi za stvaranje toplotne i električne energije sagorevanjem u kotlovima, motorima i turbinama. Tečnost može biti od koristi za proizvodnju niza specijalnih hemikalija i proizvoda. Osim tečnih goriva, pirolizom se mogu dobiti i drugi proizvodi, kao što su ugalj i gorivi gas.
4. *Fizičko-hemijska konverzija*. Fizičko-hemijskom konverzijom iz biomase može da se dobije biljno ulje, pritiskanjem i vađenjem ulja iz biomase. Biljna ulja se mogu koristiti u specijalnim motorima ili u dizel motorima nakon esterifikacije, što je korak do proizvodnje metil ester ulja. Biogorivo iz uljane repice se proizvodi u nekoliko evropskih zemalja.

Tretiranje umereno zagađenog zemljišta i remedijacija usevima koji se mogu koristiti kao energetska sirovina može biti alternativni prihod za poljoprivrednike. U toku sanacionog perioda u isto vreme se smanjuje i emisija gasova - ugljen-dioksida. Interesovanje poljoprivrednika takođe može biti stimulirano kada bi se zagađene oblasti tretirale kao odvojena zemljišta, gde postoji mogućnost da se uzgajaju neprehrambeni usevi bez gubljenja postojećih prostora.

Postoji veliko interesovanje posebno za korišćenje vrba (*Salix* spp.) za fitoremedijaciju. Konkretno, upotreba biljaka koje brzo rastu, žbunastih vrsta, biljaka koje se mogu lako gajiti sa kraćim vegetacionim ciklusom, sa žetvom svakih 3-5 godina, predstavlja nove pogodnosti za razvoj i ekonomsku isplativost fitoremedijacije. Sagorevanje posećenog drveta za proizvodnju bio-obnovljivih energija je takođe atraktivna opcija kada je u pitanju ukupan životni ciklus sistema (Pulford and Watson, 2003).

### 5.3.1. Analiza dobijenih rezultata sa aspekta ekonomske isplativosti

Imajući u vidu prethodno iznete podatke i analize da su troškovi fitoremedijacije povoljniji u odnosu na sanaciju pomoću drugih tehnologija koje se trenutno koriste ili su proučavane, u nastavku je izvršen proračun potencijalne dobiti, ukoliko se iz dobijene biomase izvrši izdvajanje korisnih metala (tabela 29).

Tabela 29. Količina metala Cu i Pb u dobijenoj biomasi gajenih biljaka (kg/ha)

Varijante ogleda	Prinos (t/ha)	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cu (kg/ha)	Pb (kg/ha)
1 Ježevica	12	100,4	23,2	1,20	0,28
2 Mačji rep	8	83,3	20,2	0,67	0,16
3 Engleski ljulj	8	98,0	21,0	0,78	0,17
4 Italijanski ljulj	15	88,7	20,6	1,33	0,31
5 Francuski ljulj	13	120,1	18,9	1,56	0,25
6 Livadski vijuk	9,5	89,1	16,6	0,85	0,16
7 Visoki vijuk	13	115,3	26,6	1,50	0,35
8 Žuti zvezdan	12	83,3	20,9	1,00	0,25
9 Crvena detelina	18	93,6	28,9	1,68	0,52

Iz tabele 29 može se videti da se najviše bakra dobija iz biomase crvene deteline – 1,68 kg/ha, i francuskog ljulja i visokog vijuka – 1,56, odnosno 1,50 kg/ha. Ove biljne vrste ostvaruju veći prinos biomase, a samim tim iznose i veću količinu metala iz zemljišta. Slična je situacija i sa olovom. Najviše olova iz zemljišta iznosi se u slučaju korišćenja useva crvene deteline – 0,52 kg/ha, zatim visokog vijuka – 0,35 kg/ha i italijanskog ljulja – 0,31 kg/ha.

Cena bakra na svetskom tržištu kreće se od 7,25 – 7,45 \$/kg, a cena olova 2,10 – 2,25 \$/kg (<http://www.jugo-impex.com/cene.html>, pristup: 15.01.2014. godine). Za proračun, koji je prikazan u tabeli 30, korišćena je srednja vrednost: 7,35 \$/kg za Cu i 2,175 \$/kg za Pb.

Tabela 30. Potencijalni prihod od izdvajanja metala Cu i Pb (\$/ha)

Varijante ogleđa		Cu (kg/ha)	Pb (kg/ha)	Cu (\$/ha)	Pb (\$/ha)
1	Ježevica	1,20	0,28	8,86	0,61
2	Mačji rep	0,67	0,16	4,90	0,35
3	Engleski ljulj	0,78	0,17	5,76	0,37
4	Italijanski ljulj	1,33	0,31	9,78	0,67
5	Francuski ljulj	1,56	0,25	11,48	0,53
6	Livadski vijuk	0,85	0,16	6,22	0,34
7	Visoki vijuk	1,50	0,35	11,02	0,75
8	Žuti zvezdan	1,00	0,25	7,35	0,55
9	Crvena detelina	1,68	0,52	12,38	1,13

Ostvareni prihod nije značajan sa ekonomskog aspekta, pri čemu treba imati u vidu da biljke koje su korišćene u eksperimentu nisu verifikovane kao hiperakumulatori pomenutih teških metala. One se mogu koristiti zbog velike biomase i manjih troškova proizvodnje – priprema zemljišta, dostupnosti i relativno povoljne cene sadnog materijala, poznatih tehnika i tehnologija proizvodnje i sl.

Iz literaturnih podataka poznato je da biljka *Ipomoea alpina*, koja je verifikovana kao hiperakumulator bakra, usvaja 12.300 mg/kg Cu, što je 100-150 puta veći iznos nego u našim eksperimentima. Međutim, čak ni u tom slučaju se ne ostvaruje značajan prihod sa ekonomskog aspekta. Značaj korišćenja metode fitoremedijacije za čišćenje zemljišta ogleđa se prvenstveno u ekološkom smislu, i zasniva se na ekološkim principima, pored smanjenja ukupnih troškova, odnosno ostvarenja prihoda od izdvajanja teškim metalima i njihove prodaje na tržištu.

### 5.3.2. Literatura

- Berti W.R., Cunningham S.D. (1997) In-place inactivation of Pb in Pb-contaminated soils. *Environmental Science & Technology* 31(5): 1359–1364.
- Bishop J. (1997) Phytoremediation: a new technology gets ready to bloom. *Environmental Solutions* 10(4): 29(6).
- Blaylock M.J., Elless M.P., Huang J.W., Dushenkov S.M. (1999) Phytoremediation of lead-contaminated soil at a New Jersey brownfield site. *Remediation* 9(3): 93–101.

- Brooks R.R., Chambers M.F., Nicks L.J., Robinson B.H. (1998) Phytomining. *Trends in Plant Science* 3 (9): 359–362.
- Brooks R.R., Robinson B.H. (1998) The potential use of hyperaccumulators and other plants for phytomining. In: Brooks RR, editor. *Plants that hyperaccumulate heavy metals - their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining*. New York, NY: CAB International.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S., Baker A.M. (1995) Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal-tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils. *Environmental Science and Technology* 29: 1581–1585.
- Chaney R.L., Angle J.S., Broadhurst C.L., Peters C.A., Tappero R.V., Sparks D.L. (2007) Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality* 36: 1429–1443.
- Cornish J.E., Goldberg W.C., Levine R.S., Benemann J.R. (1995) Phytoremediation of soils contaminated with toxic elements and radionuclides. In: *Bioremediation of Inorganics*. Hinchee, R.E., Means, J.L., and Burris, D.R. Eds. Battelle Press, Columbus, OH, 55–63.
- Cunningham, S.D., and D.W. Ow, 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology* 110: 715–719.
- Denys S., Rollin C., Guillot F., Baroudi H. (2006) In-situ phytoremediation of PAHs contaminated soils following a bioremediation treatment. *Water Air Soil Pollut Focus* 6: 299–315.
- EPA (2000) *Introduction to Phytoremediation*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. 72.
- Glass D.J. (2000) Economic potential of phytoremediation. In: Raskin I., Ensley B.D. Eds. *Phytoremediation of toxic metals - using plants to clean up the environment*. New York, NY: Wiley.
- Glass, D.J. (1999a) Economic potential of phytoremediation. In *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*, eds. I. Raskin and B.D. Ensley, 15–31, John Wiley & Sons Inc, New York, NY.
- Glass D.J. (1999b) *U.S. and International Markets for Phytoremediation. 1999-2000*. D. Glass Assoc Inc, Needham, MA.
- Glass D.J. (1999) Current market trends in phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation* 1(1): 1–8.
- Glass D.J. (1997) Evaluating phytoremediations's potential share of the hazardous site remediation market. In: *Phytoremediation*. Thibeault C.A., Savage L.M. Eds. IBC Library Series. International Business Communications, Southborough, MA.
- Komives T., Gullner G., Bittsanszky A., Pascal S., Laurent F. (2009) Phytoremediation of persistent organic pollutants. *Cereal Research Communications* 37: 537–540.
- Lakshmi K., Agblevor F.A., Clements L.D. (2003) Pyrolysis as a technique for separating heavy metals from hyperaccumulators. Part II: Lab-scale pyrolysis of synthetic hyperaccumulator biomass. *Biomass and Bioenergy* 25: 651–663.
- Li Y.M., Chaney R., Brewer E., Roseberg R., Angle J.S., Baker A., Reeves R., Nelkin J. (2003) Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. *Plant and Soil* 249: 107–115.

- Meers E., Slycken S.V., Adriaensen K., Ruttens A., Vangronsveld J., Laing G.D., Witters N., Thewys T., Tack F.M.G. (2010) The use of bio-energy crops (*Zea mays*) for 'phytoremediation' of heavy metals on moderately contaminated soils: a field experiment. *Chemosphere* 78: 35–41.
- Mench M., Lepp N., Bert V., Schwitzguébel J.P., Gawronski S.W., Schröder P., Vangronsveld J. (2010) Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. *Journal of Soils and Sediments* 10: 1039–1070.
- Mench M., Schwitzguébel J.P., Schröder P., Bert V., Gawronski S., Gupta S. (2009) Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 876–900.
- Pivetz B.E. (2001) *Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites*. EPA 540-S-01-500, Ground Water Issue.
- Pulford I.D., Watson C. (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - a review. *Environment International* 29: 529–540.
- Robinson B., Fernandez J.E., Madejon P., Maranon T., Murillo J.M., Green S., Clothier B. (2003) Phytoextraction: an assessment of biogeochemical and economic viability. *Plant and Soil* 249: 117–125.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. (1995) Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology* 13: 468–475.
- Schwitzguébel J.P., Comino E., Plata N., Khalvati M. (2011) Is phytoremediation a sustainable and reliable approach to clean-up contaminated water and soil in Alpine areas? *Environmental Science and Pollution Research* 18: 842–856.
- Sheoran V., Sheoran A.S., Poonia P. (2009) Phytomining: a review. *Minerals Engineering* 22: 1007–1019.
- Sheoran V., S.Sheoran A., Poonia P. (2013) Phytomining of gold: A review. *Journal of Geochemical Exploration* 128: 42–50.
- Thewys T., Clauw F. (2003) Are people willing to pay to avoid health risks arising from land contamination? Evidence from housing values in Belgium. In: *Environmental Health Risk 2003*. Brebbia C.A., Fayzieva D., Eds. Wessex Institute of Technology Press, Southampton, 260.
- U.S. EPA (1993) *Cleaning up the Nation's Waste Sites; Markets and Technology Trends*. Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office. Washington DC, EPA 542-R-92-012.
- Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., van der Lelie D., Mench M. (2009) Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 765–794.
- Vassilev A., Schwitzguébel J.P., Thewys T., van der Lelie D., Vangronsveld J. (2004) The Use of Plants for Remediation of Metal-Contaminated Soils. *The Scientific World Journal* 4: 9–34.
- Wilson-Corral V., Anderson C.W.N., Rodriguez-Lopez M. (2012) Gold phytomining. A review of the relevance of this technology to mineral extraction in the 21st century (Review). *Journal of Environmental Management* 111: 249–257.



## 6. ZAKLJUČAK

Remedijacija zemljišta oštećenog teškim metalima uspešno se sprovodi primenom fitoremedijacije - gajenjem biljaka na oštećenim zemljištima. U ovom radu ispitivane su mogućnosti čišćenja zemljišta od teških metala koji su posledica piritnih nanosa, odnosno industrijskih aktivnosti iz rudnika bakra Bor.

Kontrolom plodnosti zemljišta utvrđena je pH vrednost, sadržaj lakopristupačnog fosfora i kalijuma i sadržaj humusa. Prosečna vrednost pH smanjila se na kraju eksperimenta za 15,79% (od početne vrednosti 5,26 do 4,42 na kraju eksperimenta). Sadržaji pristupačnog fosfora i kalijuma smanjuju se na kraju eksperimenta u svakoj od varijanti ogleđa, dok je sadržaj humusa u svim varijantama ogleđa na nižem nivou u odnosu na normalna zemljišta.

Naši rezultati pokazuju da je sadržaj Pb, Cu i Fe u kontaminiranom zemljištu značajno opao na kraju eksperimenta, saglasno sposobnosti svih ispitivanih biljnih vrsta da akumuliraju pomenute metale. Najveća akumulacija bila je za slučaj Fe i to kod svih biljnih vrsta, kao što je i bilo očekivano. Akumulacija Cu u svim biljkama takođe je bila veoma visoka, mnogo viša nego u biljkama koje se smatraju kontaminiranim, dok akumulacija Pb nije bila značajna. Koncentracije Pb bile su veoma bliske normalnim koncentracijama u biljkama. Sve ispitivane biljke, samonikle i kultivisane, izgledale su zdravo na supstratu koji je sadržao ekstremno visoke koncentracije bakra.

Sve biljne vrste ispitivane u ovom radu, rasle su na zemljištu koje je, na početku eksperimenta imalo sadržaj Cu od 184,6 mg/kg, skoro duplo veći od vrednosti MDK i sadržaj Cd od 3,6 mg/kg, koji je bio u dozvoljenim granicama.

Iako su biljke očigledno bile izložene stresu usled sadržaja visokih koncentracija Cu u zemljištu, sve one su pokazale sposobnost da ovaj metal akumuliraju u ekstremno visokim iznosima, osim kod divlje ježevice i rastavića poljskog, gde su koncentracije bile bliske normalnim: 23,4 mg/kg i 26,9 mg/kg. Najveća koncentracija Cu bila je detektovana u lišću samoniklog drveta trešnje – 708,4 mg/kg. Iako su sve koncentracije u nadzemnim biljnim tkivima prevazilazile vrednosti za kontaminirane biljke i bile na nivou fitotoksičnosti, sve biljke su zadržale zdrav izgled i istovremeno uspešno smanjile



sadržaj Cu u zemljištu na kojem su rasle - na kraju eksperimenta, sadržaj Cu u zemljištu smanjio se do normalnih vrednosti od 106,9 mg/kg. Ipak, iznosi akumuliranog Cu u biljkama ne mogu se uporediti sa količinama koje se mogu naći u hiperakumulatoru *Ipomoea alpina* (12.300,0 mg/kg).

Koncentracije Cd u svim ispitivanim biljkama bile su na nivou za kontaminirane biljke. Najveća koncentracija je bila detektovana u divljoj ježevici – 3,5 mg/kg, što je neuporedivo manje u odnosu na hiperakumulator *Thlaspi caerulescens* (1.800,0 mg/kg). Može se reći da su se u pogledu razvijanja otpornosti prema ovom teškom metalu, u uslovima gde sadržaj Cd u zemljištu nije prelazio vrednosti MDK, sve biljke pokazale uspešnim, ali ostaje nepoznato kako bi se ponašale u uslovima veće zagađenosti. Sadržaj Cd u zemljištu, na kraju eksperimenta, spao je na 2,5 mg/kg.

Sadržaj makronutritijenata Ca i Mg, kod svih ispitivanih biljaka, uglavnom se kretao u granicama normale, osim u slučajevima nekoliko biljnih vrsta koje su imale niske koncentracije Mg. Najniže koncentracije ovog metala, 300,0 mg/kg, detektovane su kod divlje ježevice, ljulja i rosulje bele, sve biljke iz porodice trava.

Proračun potencijalne dobiti, ukoliko se iz dobijene biomase izvrši izdvajanje korisnih metala, pokazuje da ostvareni prihod nije značajan sa ekonomskog aspekta, pri čemu treba imati u vidu da biljke koje su korišćene u eksperimentu nisu verifikovane kao hiperakumulatori pomenutih teških metala. One se mogu koristiti zbog velike biomase i manjih troškova proizvodnje – priprema zemljišta, dostupnosti i relativno povoljne cene sadnog materijala, poznatih tehnika i tehnologija proizvodnje i sl.

Značajan prihod sa ekonomskog aspekta je zanemarljiv, a značaj korišćenja metode fitoremedijacije za čišćenje zemljišta ogleda se prvenstveno u ekološkom smislu, i zasniva se na ekološkim principima unapređenja i zaštite životne sredine.

## 7. BIOGRAFIJA

**Ime i prezime:** Miroslava Marić  
**Datum rođenja:** 21.09.1967. godine  
**Mesto rođenja:** Zaječar, Srbija

### Obrazovanje:

1974-1982 Osnovna škola u Zvezdanu  
1982-1986 Gimnazija u Zaječaru  
1986-1992 Tehnički fakultet u Boru, Univerzitet u Beogradu  
Odsek za tehnologiju, smer – neorganska hemijska tehnologija  
1992 Odbranjen diplomski rad na Tehničkom fakultetu u Boru sa temom  
“Uticaj ugljenika na rastvaranje piritita”  
2000 Odbranjen magistarski rad na Tehničkom fakultetu u Boru sa temom  
“Rekultivacija zemljišta oštećenog piritnom jalovinom”

### Radno iskustvo:

1993-2006 Institut za istraživanja u poljoprivredi “SRBIJA” Beograd, Centar za poljoprivredna i tehnološka istraživanja Zaječar  
1996-1998 Angažovanje u projektu „Primena novih tehnoloških postupaka u očuvanju i popravljanju zemljišta i voda korišćenjem domaćih sirovina i racionalnih sistema obrade i hidromelioracije” (S.4.01.36.307)  
1996-1998 Angažovanje u projektu „Razvoj agrotehničkih i tehnoloških mera, izučavanje novih biljnih vrsta i genotipova i problem navodnjavanja u cilju ublažavanja negativnih posledica suše” (S.4.08.43.231)  
1996-2000 Angažovanje u projektu „Agrobiološka, biohemijska i ekofiziološka istraživanja u ratarstvu, povrtarstvu, voćarstvu i vinogradarstvu” (12E05)  
1998-2000 Angažovanje u projektu „Integralna izučavanja problema suše u cilju ublažavanja posledica na biljnu proizvodnju” (S.4.26.47.0016)  
2002-2004 Angažovanje u projektu „Multifunkcionalna valorizacija i unapređenje antropogeno degradiranih prostora” (BTR.5.06.0537)

2002-2004	Angažovanje u projektu „Ublažavanje i prevazilaženje posledica suše na biljnu proizvodnju” (BTR.5.06.0503)
2005-2006	Angažovanje u projektu „Kontrola i smanjenje rizika u proizvodnji zdravstveno-bezbedne hrane na zemljištima Centralne Srbije” (NPBTN. 311002)
2005-2007	Angažovanje u projektu „Oplemenjivanje i povećanje genetičke raznovrsnosti i razvoj novih tehnologija zaštite i gajenja povrća” (6876)
2006-2008	GRM International BC, proces fasilikator u projektu “Integralni razvoj mlekarstva na području jugoistočne Srbije”
2008 do danas	Fakultet za menadžment u Zaječaru, Megatrend Univerzitet u Beogradu

## **8. Spisak naučnih radova proisteklih iz doktorske disertacije**

Maric Miroslava, Antonijevic Milan, Alagic Sladjana (2013) The investigation of the possibility for using some wild and cultivated plants as hyperaccumulators of heavy metals from contaminated soil. Environmental Science and Pollution Research 20 (2): 1181–1188. (2012 Impact Factor 2.849)

## **9. PRILOZI**

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA .....	3
2.1. DEGRADACIJA ZEMLJIŠTA PIRITOM.....	3
2.1.1. Literatura.....	10
2.2. TEŠKI METALI U ZEMLJIŠTU .....	15
2.2.1. Biodostupnost teških metala .....	18
2.2.2. Uticaj svojstava zemljišta na biodostupnost metala .....	21
2.2.3. Literatura.....	24
2.3. FITOREMEDIJACIJA I ODRŽIVI RAZVOJ .....	28
2.3.1. Mehanizami fitoremedijacije i vrste fitoremedijacionih tehnika .....	30
2.3.2. Literatura.....	37
2.4. PREDNOSTI I NEDOSTACI FITOREMEDIJACIJE .....	40
2.4.1. Literatura.....	43
2.5. BILJKE FITOREMEDIJATORI .....	44
2.5.1. Biljke metalofite .....	45
2.5.2. Biljke hiperakumulatori .....	46
2.5.3. Usvajanje toksičnih metala .....	49
2.5.4. Hiperakumulatorske vrste .....	50
2.5.5. Tolerantnost biljaka na visoke koncentracije metala u zemljištu.....	54
2.5.6. Literatura.....	54
3. CILJ RADA .....	59
4. MATERIJAL I METODE RADA .....	61
4.1. POSTAVLJANJE OGLEDA.....	61
4.2. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA.....	64

4.2.1. Metode ispitivanja zemljišta .....	64
4.2.2. Metode ispitivanja biljnog materijala .....	70
4.3. Literatura.....	72
5. REZULTATI I DISKUSIJA.....	73
5.1. TEORIJSKA RAZMATRANJA.....	73
5.1.1. Literatura.....	80
5.2. REZULTATI ISTRAŽIVANJA .....	83
5.2.1. Kontrola plodnosti zemljišta .....	83
5.2.2. Teški metali u zemljištu .....	87
5.2.3. Teški metali u biljkama.....	92
5.2.4. Literatura.....	108
5.3. EKONOMSKA OPRAVDANOST KORIŠĆENJA METODE FITOREMEDIJACIJE .....	112
5.3.1. Analiza dobijenih rezultata sa aspekta ekonomske isplativosti .....	124
5.3.2. Literatura.....	125
6. ZAKLJUČAK.....	129
7. BIOGRAFIJA .....	131
8. Spisak naučnih radova proisteklih iz doktorske disertacije.....	132
9. PRILOZI.....	133

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Мирослава Марић \_\_\_\_\_

број уписа \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Могућности коришћења неких дивљих и култивисаних биљака за ремедијацију земљишта

- 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 докторанта**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Мирослава Марић

Број уписа \_\_\_\_\_

Студијски програм Технолошко инжењерство

Наслов рада Могућности коришћења неких дивљих и култивисаних биљака за ремедијацију земљишта

Ментор др Милан Антонијевић, редовни професор

Потписани Мирослава Марић

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 докторанта**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

—



**Прилог 3.**

## **Изјава о коришћењу**

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

Могућности коришћења неких дивљих и култивисаних биљака за ремедијацију земљишта

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

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

**Потпис докторанта**

У Београду, \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_

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

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

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

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

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

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