

UNIVERZITET CRNE GORE

Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta

PREDMET: Izvještaj komisije o ocjeni master rada „**Bioakumulacija teških metala i njihov uticaj na biohemijske karakteristike vrste *Urtica dioica* L. na području Crne Gore**” kandidatkinje **Marijane Vukčević**, BSc biologija.

Na CXXV sjednici Vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta održanoj 09.07.2024. godine imenovana je Komisija za ocjenu magistarskog rada pod nazivom „**Bioakumulacija teških metala i njihov uticaj na biohemijske karakteristike vrste *Urtica dioica* L. na području Crne Gore**”, kandidatkinje Marijane Vukčević, u sastavu: doc.dr Dragana Petrović (mentor), prof. dr Milijan Bigović (član) i prof. dr Slađana Krivokapić (član). Nakon pregleda master rada, Komisija podnosi sljedeći

IZVJEŠTAJ

Struktura master rada:

Master rad pod nazivom „**Bioakumulacija teških metala i njihov uticaj na biohemijske karakteristike vrste *Urtica dioica* L. na području Crne Gore**” napisan je na ukupno 105 stranica. Poglavlja rada su: *Izvod (Abstract)*, *Uvod*, *Ciljevi istraživanja*, *Pregled literature*, *Materijali i metode*, *Rezultati i diskusija*, *Zaključak i Literatura*. U radu je predstavljeno: 6 tabela, 17 grafika i 8 slika. Poglavlje Literatura sadrži 127 referenci.

Predmet istraživanja i ciljevi rada:

Predmet ovog istraživanja je kopriva (*Urtica dioica* L.) uzorkovana sa šest lokaliteta iz tri regiona na području Crne Gore (sjeverni, južni i centralni region). Istraživanja sprovedena u okviru ovog rada imala su za cilj određivanje sadržaja i raspodjele teških metala (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn, Mn, Co i Hg) u različitim biljnim organima koprive (korijen, stablo i list), kao i utvrđivanje stepena eventualne kontaminacije zemljišta na svim ispitivanim lokalitetima. Analizirana je i

bioakumulaciona i translokaciona sposobnost ispitivane vrste u cilju procijene potencijala vrste *Urtica dioica* L. kao bioindikatora zagađenja i njene primjene u fitosanaciji i remedijaciji kontaminiranih staništa. Pored toga, istraživanje je obuhvatilo i ispitivanje uticaja teških metala na biokemijske parametre ispitivane vrste, uključujući aktivnosti enzima antioksidativne zaštite (gvajakol – peroksidaze – GPx), sadržaj aminokiseline prolin (Pro) kao i sadržaja fotosintetskih pigmenata (hlorofila i karotenoida). Takodje je jedan od ciljeva bio i utvrđivanje eventualnog uticaja ispitivanih teških metala na antioksidativni potencijal koprive, s obzirom na upotrebu date vrste i u ljekovite svrhe.

Materijali i metode rada:

Za potrebe ovog istraživanja uzorci biljnog materijala koprive (korijen, stablo i list) sakupljeni su sa šest lokaliteta iz tri regiona na području Crne Gore: sjevernog, južnog i centralnog regiona. Lokaliteti Botun i Plavnica su odabrani lokaliteti u okviru centralnog regiona, Virpazar i Herceg Novi u primorskom regionu, Kolašin i Pljevlja lokaliteti iz sjevernog regiona. Uzorkovanje biljnog materijala obavljeno je u junu 2023. godine. Prilikom sakupljanja biljnog materijala koprive izabrana su mjesta sa najrazvijenim populacijama, i uzorkovane su cijele biljke, 5 do 10 jedinki po lokalitetu. Pored biljnih uzoraka, sakupljeni su i uzorci zemljišta sa svakog lokaliteta. Uzroci zemljišta očišćeni su od krupnih primjesa, i sušeni na vazduhu, a potom i u sušnici. Osušeni uzorci zemljišta usitnjeni su uz pomoć ahatnog avana sa tučkom i prosijani su kroz sito promjera 1.5 mm. Uzroci biljnog materijala za potrebe određivanja sadržaja teških metala su sušeni u sušnici. Biljni materijal nakon sušenja, pretvoren je u fini prah korišćenjem električnog blendera. Sadržaj teških metala u zemljištu i biljnim organima koprive određen je primjenom Optičke emisije spektrofotometrije sa induktivno spregnutom plazmom (ICP–OES) na aparatu proizvođača Spectro Arcos. Pored sadržaja ispitivanih teških metala u zemljištu određene su i vrijednosti: Faktora kontaminacije (CF) prema Muller (1981) i Indeksa opterećenja zagađenjem (Pollution Load Index, PLI) prema Tomlinson (1980). Biokoncentracioni (BCF) i translokacioni faktor (TF) određeni su prema Stolz & Grger (2002). Određivanje biokemijskih parametara u uzorcima koprive obuhvatilo je: spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti gvajakol – peroksidaze (GPx) prema Zhang *et al.* (2005), određivanje sadržaja slobodnog prolina (Pro) prema Bates *et al.* (1973) Antioksidativna aktivnost lista koprive procijenjena je primjenom

DPPH testa, metodom po Iliev *et al.* (2013). Statističku obradu dobijenih podataka izvršena je upotrebom programa Statistica 10 i Origin.

Rezultati rada:

Rezultati istraživanja ukazuju na značajnu kontaminaciju zemljišta ispitivanim teškim metalima, pri čemu su maksimalne koncentracije gotovo svih ispitivanih metala u zemljištu registrovane na lokalitetima L6 (Pljevlja) i L1 (Botun), gdje koncentracije prelaze granice maksimalno dozvoljenih vrijednosti (MDK). Sa druge strane, minimalne koncentracije svih ispitivanih metala registrovane su na lokalitetu L3 (Virpazar), što potvrđuju i vrijednosti faktora kontaminacije (CF). Vrlo visoka kontaminacija zemljišta zabilježena je na svim ispitivanim lokalitetima kada je koncentracija Cd u pitanju. Indeks opterećenja zagađenjem (PLI) kreće se u rasponu od 1.8 na lokalitetu L3 (Virpazar) do 5.7 na lokalitetu L6 (Pljevlja). Dobijeni rezultati ukazuju na trend progresivnog narušavanja kvaliteta zemljišta na svim ispitivanim lokalitetima.

Koncentracije ispitivanih metala u pojedinačnim biljnim organima koprive se razlikuju od njihove koncentracije u zemljištu, i prate sledeći niz: zemljište > korijen > list > stablo. Najmanje vrijednosti ispitivanih metala u biljnim organima koprive registrovane su za Pb, Cd i Hg, dok su najveće vrijednosti zabilježene za Fe, Mn i Zn. Maksimalne koncentracije za većinu metala u biljnim organima koprive zabilježene su na lokalitetu L5 (Kolašin), dok su minimalne koncentracije registrovane na lokalitetu L3 (Virpazar).

Vrijednosti BCF (biokoncentracionog faktora) ukazuju da je Cd najviše akumuliran metal iz zemljišta, a za njim slijede Cu i Pb. Takođe, veliku bioakumulacionu sposobnost kopriva pokazuje i prema Zn.

Vrijednosti TF (translokacionog faktora) u sistemu korijen/nadzemni su veće od 1, što ukazuje na slabu mobilnost metala između podzemnih i nadzemnih organa. Vrijednosti TF manje od 1, javljaju se između nadzemnih organa (stablo/list) i ukazuju na veći stepen mobilnosti metala između nadzemnih biljnih organa. Visoke vrijednosti TF zabilježene su za: Ni, Fe i Cr i ukazuju na slabu mobilnost ovih elemenata od korijena ka nadzemnim organima. Od svih ispitivanih metala, kobalt pokazuje najveću mobilnost između ispitivanih biljnih djelova, što potvrđuju i niske vrijednosti TF.

Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (gvajakol – peroksidaze – GPx) na svim ispitivanim lokalitetima bilježi veće vrijednosti u korijenu ispitivane vrste. Maksimalna aktivnost enzima gvajakol – peroksidaze (GPx) zabilježena je u korijenu ispitivane vrste na lokalitetu L3 (Virpazar) ($60 \Delta OD 470 \text{ nm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{FW}$), minimalna aktivnost enzima gvajakol – peroksidaze zabilježena je u listu ispitivane vrste na lokalitetu L1 (Botun) ($GPx = 1.7 \Delta OD 470 \text{ nm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{FW}$). Dobijeni rezultati ukazuju da aktivnost enzima GPx ne prati trend rasta koncentracije ispitivanih teških metala. Izuzetak je Pb, za koga je registrovano postojanje visoke pozitivne korelacije između njegovog sadržaja u zemljištu i aktivnosti enzima gvajakol – peroksidaze u korijenu i listu ispitivane vrste.

Veće vrijednosti sadržaja aminokiseline prolin (Pro) zabilježene su u listu koprive. Maksimalan sadržaj prolina u listu i korijenu ispitivane vrste zabilježena je na lokalitetu L4 (Herceg Novi), dok je najmanji sadržaj prolina registrovan na lokalitetu L6 (Pljevlja). Utvrđeno je postojanje pozitivne korelacije između sadržaja aminokiseline prolin (Pro) i povećanja koncentracija teških metala na određenim lokalitetima. Analiza dobijenih podataka ukazala je i na postojanje srednje pozitivne korelacije između koncentracije Cu i aminokiseline prolin u korijenu ispitivane vrste.

Minimalne koncentracije svih fotosintetskih pogmenata zabilježene su na lokalitetu L3 (Virpazar), dok su maksimalne koncentracije zabilježene na lokalitetima L4 (Herceg Novi) i L5 (Kolašin).

Na lokalitetima L5 (Kolašin) i L2 (Plavnica) zabilježene su minimalne vrijednosti IC_{50} , koje ukazuju na najveću antioksidativnu aktivnost u okviru ispitivanih uzoraka. Visoke vrijednosti IC_{50} zabilježene su na lokalitetu L6 (Pljevlja) i ukazuju na smanjenu antioksidativnu aktivnost. Analiza dobijenih rezultata, ukazuje da je najmanja antioksidativna aktivnost, odnosno najveća vrijednost IC_{50} , zabilježena na lokalitetima koji se odlikuju minimalnim koncentracijama ispitivanih metala.

Dobijeni rezultati su pokazali da je korijen biljke *Urtica dioica* L. organ sa najvećom akumulacijom ispitivanih metala. Najveći afinitet za usvajanje metala iz zemljišta kopriva je pokazala prema: Cd, Pb i Cu. Niske vrijednosti BCF, koje su manje od 1, ukazuju na nizak potencijal ove vrste u fitoekstrakciji teških metala. Biohemijski paramteri, enzim gvajakol –

peroksidaza i aminokiselina prolin, potencijalno mogu biti značajni biohemijski indikatori stepena kontaminacije zemljišta koje je izloženo uticaju teških metala.

Rezultati ovog istraživanja predstavljaju značajan doprinos za buduća ekofiziološka istraživanja u pogledu korišćenja date vrste kao indikatora kvaliteta stanja odredjenih kontaminiranih površina. Takodje data istraživanja značajna su i u pogledu potencijalne upotebe ove vrste u fitoremedijacione svrhe i mogu biti korisna i za istraživanja koja se odnose na unapredjenje mehanizama sanacije kontaminiranih zemljišta. U cilju što detaljnije ekofiziološke karakterizacije date vrste fokus daljih istraživanja trebalo bi usmjeriti na ispitivanje uticaja različitih doziranih koncentracija pojedinačnih metala na aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, kao i na anatomske i morfološke parametara ispitivane vrste u kontrolisanim laboratorijskim uslovima.

Zaključak i predlog komisije

Nakon pregledanog master rada i analize predstavljenih rezultata, Komisija konstatuje da master rad Marijane Vukčević pod naslovom „**Bioakumulacija teških metala i njihov uticaj na biohemijske karakteristike vrste *Urtica dioica* L. na području Crne Gore**” zadovoljava sve kriterijume naučno-istraživačkog rada. Master rad je dobro struktuiran, tema rada je naučno zasnovana i aktuelna, a ciljevi su jasno definisani.

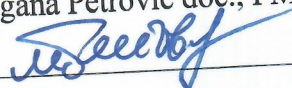
Na osnovu gore navedenog, Komisija predlaže Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta da master rad kandidatkinje Marijane Vukčević pod naslovom „**Bioakumulacija teških metala i njihov uticaj na biohemijske karakteristike vrste *Urtica dioica* L. na području Crne Gore**” prihvati i omogući dalju proceduru, odnosno javnu usmenu odbranu.

Podgorica, 2024.

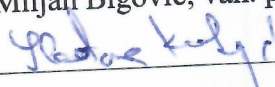
KOMISIJA



Dr Dragana Petrović doc., PMF - mentor



Dr Miljan Bigović, van. prof., PMF - član



Dr Slađana Krivikapić, red. prof. PMF - član