

VERA RAIČEVIĆ¹, LJUBINKO JOVANOVIĆ²,
DRAGAN KIKOVIĆ³, MIOMIR NIKŠIĆ¹,
BLAŽO LALEVIĆ¹, SVETLANA ANTIĆ-MLADENOVIĆ¹

Originalni naučni rad
UDC:633.11.15.31:631.547.1

Uticaj MTBE-a na klijavost semena i biomasu kod kukuruza (*Zea mays* L.), pšenice (*Triticum aestivum* L.) i lucerke (*Medicago sativa* L.)

MTBE je uveden u proizvodnju 70-ih godina XX veka u cilju redukcije aerozagađenja i zamene toksičnih komponenti iz benzina. Posle svega nekoliko godina upotrebe, MTBE je definisan kao značajan kontaminant zemljišta i voda. Cilj ovog rada bio je ispitivanje klijavosti semena i biomase kukuruza, pšenice i lucerke u prisustvu različitih koncentracija MTBE-a. Rezultati istraživanja pokazuju da (i) ispitivane biljne vrste različito reaguju na povećane koncentracije MTBE-a, (ii) biljke su klijale samo pri najnižim koncentracijama MTBE-a (10 ppm), (iii) biomasa je kod kukuruza bila drastično smanjena pri koncentraciji od 10 ppm dok je kod ostale dve biljne vrste smanjenje biomase bilo mnogo manje izraženo.

Svi ovi rezultati ukazuju da se MTBE, zbog svoje perzistentnosti, mobilnosti i rastvorljivosti u vodi, aktivno uključuje u metabolizam biljaka u ranim fazama porasta.

Ključne reči: MTBE, toksičnost, klijavost semena, metanol, biomasa

UVOD

MTBE (metil tercijerni butil eter) je uveden je u proizvodnju 70-ih godina XX veka u cilju redukcije aerozagađenja [1] i zamene tetraetil olova i drugih toksičnih komponenti iz benzina [2]. Od uvođenja u proizvodnju do početka XXI veka proizvodnja MTBE-a i njegovo korišćenje kao aditiva u benzinu, na svetskom nivou, konstantno raste. Međutim, zbog svoje mobilnosti, perzistentnosti, toksičnosti i rastvorljivosti u vodi [3], EPA je svrstala ovo jedinjenje u grupu značajnih kontaminanata zemljišta i voda, kao i u grupu potencijalno kancerogenih materija opasnih za čoveka [4]. Na alarmantnost situacije ukazuje i monitoring površinskih voda na 700 lokacija u SAD-u, gde je utvrđeno prisustvo MTBE-a na 74-80% ispitivanih lokacija [5]. Zbog toga je USEPA limitirala sadržaj MTBE-a u vodi za piće na 20-40 µg/l [6].

Istraživanja su pokazala da ovo jedinjenje nepovoljno deluje i na životinje [7], alge [8] i beskičmenjake [9]. Međutim, o uticaju MTBE-a na poljoprivredne kulture objavljen je veoma mali broj radova [10, 11].

Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja različitih koncentracija MTBE-a na stepen klijavosti semena i porast biomase kukuruza (*Zea mays* L.), pšenice (*Triticum aestivum* L.) i lucerke (*Medicago sativa* L.) u prisustvu različitih koncentracija MTBE-a.

MATERIJAL I METODE

Za ova istraživanja korišćen je MTBE iz Rafinerije nafte Pančevo. Rastvor MTBE-a je prethodno rastvoren u metanolu (0,27%, vol/vol) a za zalivanje supstrata su korišćeni 0,005%-, 0,05%-, 0,1%-, 0,13%- i 0,3%-ni (vol/vol) rastvori MTBE-a.

U cilju ispitivanja toksičnosti MTBE-a, ispitani su i uticaj metanola na klijanje semena (metanol se dodaje radi lakšeg mešanja visokih koncentracija MTBE-a sa vodom). Metanol je pripremljen mešanjem sa vodom a za zalivanje supstrata korišćeni su 0,007%-, 0,07%-, 0,14%-, 0,18%- i 0,41%-tni (vol/vol) rastvori metanola. Kontrolnu varijantu predstavljala je destilovana voda.

Klijavost semena i težina ukupne biomase praćeni su u epruvetama sa filter papirom i zemljištem.

Na dno epruveta postavljen je filter papir natopljen sa 1 ml odgovarajućeg rastvora, nakon čega je u epruvete stavljeno seme biljaka. U epruvete je stavljeno po jedno seme kukuruza, tri semena pšenice ili tri semena lucerke. Ogljed je izveden u tri ponavljanja.

U drugoj varijanti ogljeda je na dno epruveta stavljen sloj baštenske zemlje (prethodno osušene, usitnjene i prosejane kroz sito sa prečnikom pora od 2 mm) ukupne težine 5 g. Prethodno je obavljena agrohemijska analiza zemljišta ispitivanjem sadržaja azota (ukupnog i pristupačnog), fosfora, kalijuma, humusa, karbonata i pH vrednosti. Nakon toga je u svaki sud, ispod površine unetog zemljišta, stavljeno po jedno seme kukuruza, 3 semena pšenice ili 3 semena lucerke. Ogljed je izveden u dva ponavljanja. Zalivanje

Adresa autora: ¹Poljoprivredni fakultet, Zemun,
²Institut za multidisciplinarna istraživanja, Beograd,
³Prirodno-matematički fakultet, Kosovska Mitrovica

pomenutim rastvorima obavljeno je do 75% maksimalnog vodnog kapaciteta zemljišta.

U cilju smanjenja isparavanja destilovane vode, MTBE-a i metanola, epruvete su zatvorene zapušačima oblepljenih višestrukim slojem parafilma.

Klijavost semena u svim varijantama ogleđa prućena je šest dana na temperaturi od 27°C. Nakon šestog dana, izrasle biljke su vađene iz epruveta, odstranjena su semena (osim za lucerku), izmerena je sveža težina, a zatim su biljke sušene na 50°C tokom 24 časa i ponove je merena težina (suva biomasa biljaka).

REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA

Prema utvrđenim agrohemijским karakteristikama, zemljište na kome je klijalo seme poseduje visoku produktivnu sposobnost. Ovo zemljište je neutralne reakcije, slabo karbonatno, dobro obezbeđeno organskom materijom, sa povoljnim C/N odnosom za mineralizaciju. Pristupačni sadržaji makrohranljivih elemenata (N,P,K) su visoki (tabela 1 i 2).

Tabela 1 - Agrohemijske karakteristike zemljišta (pH, sadržaj karbonata, humusa, ukupnog azota i odnos C/N)

pH		CaCO ₃	humus	ukupni	C/N
H ₂ O	KCl	(%)	(%)	N (%)	
7,84	7,07	5,6	3,13	0,224	8,1:1

Tabela 2 - Agrohemijske karakteristike zemljišta (pristupačni sadržaji azota, fosfora i kalijuma)

NH ₄ ⁺	NO ₃	AL-P ₂ O ₅	AL-K ₂ O
(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/100 g)	(mg/100 g)
7,4	168	139	46,6

U kontrolnoj varijanti sa destilovanom vodom, klijavost semena kukuruza bila je maksimalna bez obzira na supstrat, dok je klijavost semena pšenice i lucerke bila znatno manja i kretala se u intervalu između 33 i 67% (tabela 3 i 4).

Koncentracije MTBE-a u ovim istraživanjima bile su 10, 128, 516, 1093 i 3300 ppm a metanola 57, 592, 1056, 1383 i 1470 ppm.

Dobijeni rezultati pokazuju da MTBE značajno utiče na stepen klijavosti semena biljaka. Koncentracija MTBE-a od 10 ppm značajno smanjuje stepen klijavosti semena kukuruza naklijavanog na filter papiru, dok ostale koncentracije u potpunosti inhibitorno deluju na klijanje. Kod semena pšenice MTBE takođe deluje inhibitorno, ali je klijanje zabeleženo i pri koncentraciji MTBE-a od 128 ppm uz veoma nizak stepen klijavosti. Kod semena lucerke pri koncentraciji MTBE-a od 10 ppm stepen klijavosti bio je

veći nego u kontrolnoj varijanti, dok pri većim koncentracijama klijanje nije zabeleženo (tabela 3).

Stepen klijavosti semena kukuruza i lucerke naklijavanih na zemljištu pri koncentraciji MTBE-a od 10 ppm se ne razlikuje od kontrolne varijante, dok kod semena pšenice postoje izvesna odstupanja. Bez obzira na vrstu semena, više koncentracije MTBE-a u potpunosti su inhibirale klijanje, što je u korelaciji sa rezultatima drugih autora koji takođe ukazuju na inhibitorno dejstvo visokih koncentracija MTBE-a na klijavost semena [10].

Tabela 3 - Stepem klijavosti semena biljaka naklijavanih na filter papiru i zemljištu u prisustvu MTBE-a

biljka	koncentracija MTBE-a (ppm)	stepen klijavosti (%)	
		filter papir	zemlja
Kontrola	0	100	100
kukuruz	10	67	100
	128	0	0
	516	0	0
	1093	0	0
	3300	0	0
Kontrola	0	33	67
pšenica	10	22	33
	128	11	0
	516	0	0
	1093	0	0
	3300	0	0
Kontrola	0	67	50
lucerka	10	100	50
	128	0	0
	516	0	0
	1093	0	0
	3300	0	0

Toksično delovanje MTBE-a na klijanje semena biljaka potvrđuju i rezultati delovanja metanola na klijanje semena. I pored većih koncentracija metanola koje su korišćene u ovim istraživanjima (za bolju rastvorljivost visokih koncentracija MTBE-a u vodi), klijanje semena je zabeleženo u svim varijantama ogleđa, što je pouzdan znak i potvrda inhibitornog delovanja MTBE-a na klijanje semena biljaka. Rezultati ukazuju da vlaženje metanolom ili destilovanom vodom ne utiče na klijanje semena kukuruza. Sa druge strane, povećanje koncentracije metanola inhibitorno je delovalo na klijanje semena pšenice i lucerke (tabela 4). Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima drugih autora, koji ukazuju da niske koncentracije metanola nemaju inhibitorno delovanje na porast biljaka ili da čak stimulatивно deluju na porast pove-

ćanjem intenziteta fotosinteze [12], dok visoke koncentracije ovog jedinjenja deluju inhibitoryno, pre svega zbog nefotohemijskog rasipanja energije [13].

S obzirom da je klijanje semena biljaka konstatovano samo u kontrolnoj i varijanti sa 10 ppm MTBE-a (rast klijanca pšenice u varijanti sa 128 ppm bio je zanemarljiv, tab), biomasa svežih i suvih klijanaca je merena samo za navedene varijante (tabela 5).

Merenje biomase svežih i suvih klijanaca kukuruza potvrdilo je da MTBE nepovoljno deluje na produkciju biomase ove kulture. Kod semena pšenice gajenog u zemljištu, posle inkubacije, biomasa svežih i suvih klijanaca bila je znatno veća u varijanti sa 10 ppm MTBE-a nego u kontrolnoj varijanti. Istu tendenciju ispoljava i seme lucerke gajeno na filter papiru kao supstratu za naklijavanje. Ovi rezultati su u korelaciji sa istraživanjima drugih autora [11], koji konstatuje da prisustvo niskih koncentracija MTBE-a stimulatивно utiče na produkciju fotosintetskog pigmenta hlorofila u listovima pasulja.

Tabela 4 - Stepen klijavosti semena biljaka naklijavanih na filter papiru i zemljištu u prisustvu metanola

Biljka	koncentracija metanola (ppm)	stepen klijavosti (%)	
		Filter papir	Zemlja
Kontrola	0	100	100
Kukuruz	57	100	100
	592	100	100
	1056	100	100
	1383	100	100
	1470	100	100
Kontrola	0	33	67
Pšenica	57	67	67
	592	56	50
	1056	56	50
	1383	44	16
	1470	44	16
Kontrola	0	67	50
Lucerka	57	88	83
	592	56	50
	1056	67	50
	1383	78	33
	1470	33	33

Tabela 5 - Biomasa svežih i suvih klijanaca nakon 6 dana inkubacije

biljka	sadržaj MTBE-a (ppm)	biomasa svežih klijanaca (g)		biomasa suvih klijanaca (g)	
		filter papir	zemlja	filter papir	zemlja
kukuruz	0	1,94	0,59	1,13	0,52
	10	0,19	0,25	0,14	0,22
pšenica	0	0,21	0,05	0,16	0,04
	10	0,11	0,18	0,09	0,14
lucerka	0	0,16	0,05	0,15	0,04
	10	0,17	0,04	0,16	0,03

Istraživanja drugih autora, međutim, ukazuju na značajan uticaj MTBE-a na sadržaj vode u listu i fotosintetsku efikasnost nekih biljnih vrsta [14]. Posle kratkog inkubacionog perioda od 120 sati, detektovano je smanjenje transpiracije za oko 35% kod žalosne vrbe (*Salix babylonica* L.), ali pri dužem izlaganju biljaka dejstvu MTBE-a nisu konstatovani simptomi hloroze listova [15]. Sa druge strane, autori ukazuju da duže izlaganje biljaka delovanju MTBE-a može da izazove višestruke inhibitorne efekte [10], od kojih su najznačajniji uništavanje epidermalnih i sub-epidermalnih tkiva biljaka pasulja [11], frakcionacija proteinskih veza i kvantitativne promene proteina [16].

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

- Seme kukuruza, pšenice i lucerke ispoljilo je relativno visok stepen klijavosti.
- MTBE je inhibitorno delovao na stepen klijavosti semena biljaka. Klijanje je, osim u kontrolnoj varijanti, konstatovano još samo pri niskoj koncentraciji MTBE-a. Veće koncentracije su letalno delovale na klijanje semena.
- Klijanje je zabeleženo u svim varijantama gde je seme vlaženo metanolom, što je pouzdan znak i potvrda toksičnog delovanja MTBE-a.
- MTBE se, zbog svoje mobilnosti i rastvorljivosti, nakon dospevanja u zemljište, aktivno uključuje u metabolizam biljaka, ispoljavajući inhibitoran efekat na klijanje semena poljoprivrednih kultura.

LITERATURA

- [1] Bonjar, G. H. S., *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(1): p. 140-142, 2004.
- [2] Steffan, R. J., McClay, K., Vainberg, S., Condee, C. W., Zhang, D., *Applied and environmental microbiology*, 63(11), p. 4216-4222, 1997.

- [3] Mo, K., Lora, C. O., Wanken, A. E., Javanmardian, M., Yang, X., Kulpa, C. F., **Applied microbiology and biotechnology**, 47, p. 69-72, 1997.
- [4] U.S. Environmental Protection Agency, **Office of Solid Waste and Emergency Response**, Washington, DC, 1998.
- [5] Buscheck, T. E., Gallagher, D. J., Peargin, T. R., Kuehne, D. L., Zuspan, C. R., **Proceedings of the National Ground Water Association Southwest Focused Ground Water Conference**, Anaheim, Calif., 1998.
- [6] U. S. Environmental Protection Agency, **U. S. Environmental Protection Agency**, Washington, D.C, 1997.
- [7] Mennear, J. H., **Risk Analysis**, 17, p. 673-681, 1997.
- [8] Rousch, J. M., Sommerfeld, M. R., **Arch Environ Contam Toxicol**, 34, p. 6-11, 1998.
- [9] Gupta, G., Lin, Y. J., **Bull Environ Contam Toxicol**, 55, p. 618-620, 1995.
- [10] An, Y. J., Kampbell, D. H., McGill, M. E., **Environmental Toxicology and Chemistry**, 21(8), p. 1679-1682, 2002.
- [11] Beltagi, M. S., **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, 3(4): p. 214-219, 2007.
- [12] Panella, L., Nishio, J. N., Martin, S. S., **Journal of sugar beet research**, 37(2), p. 55-72, 2000.
- [13] Dewez, D., Dautremepuits, C., Jeandet, P., Vernet, G., Popovic, R., **Photochemistry and Photobiology**, 78(4), p. 420-424, 2003.
- [14] Cape, J. N., Leith, I. D., Binnie, J., Content, J., Donkin, M., Skewes, M., Price, D. N., Brown, A. R., Sharpe, A. D., **Environ. Pollut.**, 124, p. 341-353, 2003.
- [15] Yu, Xiao-Zhang, Gu, Ji-Dong, **J. Hazard. Materials**, 137, p. 1417-1423, 2006.
- [16] Shehata, M. M., Habib, A. A., Khalifa, N. S., Salama, M. S., **Egypt. J. Biotech.**, 7, p. 218-233, 2000.

SUMMARY

EFFECTS OF DIFFERENT MTBE CONCENTRATION ON SEED GERMINATION AND BIOMASS OF CORN (*Zea mays*), WHEAT (*Triticum aestivum*) AND ALFALFA (*Medicago sativa*)

MTBE was introduced in production in 1970's in order to reduction of air pollution and replacing of toxic compounds from gasoline. After only a few years of its using, it becomes a one of important soil and water contaminant. The aim of this paper was investigation of seed germination and biomass of corn, wheat and alfalfa in presence of different MTBE concentration. The results of investigation showed the inhibitory MTBE effect on plant germination at all used concentration higher from 10 ppm. The decrease in plant biomass was more expressed in maize compared to other two species. It was concluded that MTBE due its mobility, solubility and persistence, had toxic effects on metabolic processes in seeds and changed biomass production in early stage of plant development.

Key words: MTBE, toxicity, seed germination, methanol, biomass