

Jelena V. Petrović¹, Slađana Č. Alagić^{2*}, Snežana B. Tošić³,
Mirjana M. Šteharnik¹, Mile M. Bugarin¹, Zoran O. Stevanović¹

¹Institut za rudarstvo i metalurgiju u Boru, Bor, Srbija

²Univerzitet u Beogradu, Tehnički fakultet Bor, Bor, Srbija

³Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Niš, Srbija

Short Communication
ISSN 0351-9465, E-ISSN 2466-2585
UDC:631.427.3:504.75.064
doi:10.5937/zasmat19011105P



Zastita Materijala 60 (1)
105 - 111 (2019)

Sadržaj teških metala u nadzemnim delovima koprive i mlečike iz Oštrelja (opština Bor): prilog ispitivanjima biljnih biomonitoring i fitoremedijacionih potencijala

IZVOD

U ovom radu, ispitivan je sadržaj teških metala: Cu, Cd, Zn, Ni, Pb i As u nadzemnim delovima koprive i mlečike sa područja seoskog naselja Oštrelj (4-5 km udaljeno od rudarsko-topioničarskog kompleksa u Boru, Srbija), u cilju preliminarne procene njihovih biomonitoring i fitoremedijacionih potencijala. Najobiljniji detektovani metal kod obe biljne vrste bio je Cu, uz napomenu da su njegove koncentracije čak dostizale fitotoksične nivoje. Slično je bilo nađeno i u slučaju As i Ni kod mlečike koja se generalno pokazala mnogo efikasnijom u akumulaciji metala u odnosu na koprivu. Kako su se obe ispitivane biljke pokazale kao tolerantne prema određenim metalima (odražavajući istovremeno i postojanje kontaminiranosti u tim slučajevima), može se zaključiti da je njihova primena u biomonitoringu zagađenih oblasti moguća, dok, kada je u pitanju primena u fitoekstrakciji (kao jednoj od najefektnijih fitoremedijacijskih metoda), može se reći da je jedino mlečika pokazala izvestan potencijal u ovom pogledu i to naročito u slučaju Cu.

Ključne reči: biomonitoring; fitoekstrakcija; kopriva; mlečika; teški metali.

1. UVOD

Upotreba biljaka u različitim postupcima biomonitoringa i fitoremedijacije, sve više zaokuplja pažnju naučne i stručne javnosti, pre svega zbog opšte prihvaćene činjenice da obe metode predstavljaju ekološki prijateljske postupke za kontrolu zagađenja i to uz minimalne novčane izdatke. Obe metode su posebno interesantne za primenu na velikim površinama zagađenim teškim metalima, tj. u slučajevima kada bi primena tradicionalnih metoda iziskivala previše ulaganja, kako tehnike i tehnologije, tako i novca [1,2].

Poslednjih decenija ispitani je veliki broj biljnih vrsta u smislu njihove moguće upotrebe u biomonitoringu i fitoremedijaciji [3-5], pri čemu je posebno bilo važno uočiti njihovu sposobnost opstanka na teško zagađenim terenima, a pre svega - nivo akumulacije metala u njihovim nadzemnim delovima.

*Autor za korespondenciju: Slađana Alagić
E-mail: sladjaal@yahoo.com, salagic@tf.bor.ac.rs
Rad primljen: 09. 09. 2018.
Rad korigovan: 04. 10. 2018.
Rad prihvaćen: 12. 10. 2018.
Rad je dostupan na sajtu: www.idk.org.rs/casopis

Naime, nadzemni delovi biljaka su se pokazali ne samo kao lako upotreblivi u praćenju porasta metalnih koncentracija na određenom zagađenom području [6-9], već u nekim posebnim slučajevima i kao odlična mesta sekvestracije i akumulacije zemljjišnih metala. Preciznije rečeno, bilo je uočeno da pojedine biljne vrste poseduju izvanrednu sposobnost ekstrakcije metala iz zemljišta, putem korena, uz istovremenu efikasnu translokaciju i akumulaciju u nadzemnoj biomasi (takozvani hiperakumulatori metala) [10-14], što je kasnije krajnje svrsishodno i uspešno bilo upotrebljeno u jednoj od tehnika fitoremedijacije poznatoj kao fitoekstrakcija [2,15-18]. Da bi se jedna biljna vrsta mogla smatrati efikasnim hiperakumulatorom, primenjivim u fitoekstrakciji, ona u svojim nadzemnim delovima mora pokazati određene nivoje koncentracija za svaki pojedini metal. Tako na primer, Verbruggen i sar. [19] navode sledeće vrednosti za hiperakumulatore, izražene u miligramima (mg) metala/metaloida po kilogramu (kg) biljne mase: za cink (Zn) – preko 10000 mg/kg, za bakar (Cu), nikal (Ni), olovo (Pb) i arsen (As) – preko 1000 mg/kg i za kadmijum (Cd) – preko 100 mg/kg. Ovde treba napomenuti da osim odlične ekstrakcije metala iz zagađenog zemljišta i kasnije obilne akumulacije u nadzemnim delovima, fitoekstrakcija uvek podrazu-

meva i laku dostupnost ovih delova za izvođenje žetve, kao i za lako podvrgavanje daljim postupcima luženja metala. Svakako, poželjno je da hiperakumulatori produkuju i visoku biomasu, kako bi uklanjanje metala iz zemljišta bilo što uspešnije [20-22].

U ovom radu, ispitivan je sadržaj teških metala u nadzemnim delovima dve zeljaste biljne vrste sa područja Oštrelja, kao jednog od najzagedenijih terena u opštini Bor, tradicionalno poznatoj po rudarenju i preradi bakarne rude. Seosko naselje Oštrelj nalazi se na pravcu jednog od dominantnih vetrova u ovoj oblasti, tako da je godinama izloženo značajnom zagađenju atmosferskog porekla koje stiže iz pravca rudarsko-topioničarskog kompleksa u Boru, praktično, sa otpadnim gasovima emitovanim iz ovog kompleksa. Brojne studije o sadržaju metala u uzorcima zemljišta i biljaka iz regionala Bora, pokazale su da je u Oštrelju uobičajeno uvek prisutno mnogostruko uvećanje koncentracija bakra, a često i kadmijuma [23-26]. Odabранe biljke u ovom radu bile su kopriva (*Urtica dioica*) i mlečika (*Euphorbia helioscopia*), kao široko rasprostranjene vrste u samom naselju, što je u samom startu ujedno ukazalo na njihove dobre potencijale za opstanak u jednom krajnje neprijateljskom okruženju (a što predstavlja odličnu polaznu osnovu za dalje procene njihovih praktičnih biomonitoring i fitoremedijacionih potencijala), dok su ispitivani metali bili: Cu, Cd, Zn, Ni i Pb, kao i metaloid As.

2. MATERIJAL I METODE

2.1. Uzorkovanje, priprema i hemijska analiza materijala

Uzorkovanje nadzemnih delova koprive i mlečike obavljeno je krajem maja meseca 2017. godine na nekoliko tačaka u blizini jalovišta u naselju Oštrelj (Slika 1.). Sa svake tačke odabrano je po pet biljaka svake vrste, a zatim je za svaku vrstu, spajanjem, napravljen po jedan kompozitni uzorak. Ova dva reprezentativna uzorka bila su oprana destilovanom vodom, a zatim sušena na vazduhu tokom nekoliko nedelja. Osušeni uzorci bili su samleveni u laboratorijskom mlinu, a zatim rastvoreni pomoću 65% HNO₃ i 30% H₂O₂ (koristeći po 0.5 g od svakog homogenizovanog uzorka). Potpuno rastvaranje obavljeno je u mikrotalasnem sistemu Milestone ETHOS 1 (Bergamo, Italy) podižući temperaturu do 200°C u toku 15 min, a zatim je ista zadržana 30 min. Dobijeni rastvorovi bili su kasnije nivелисани do konačne zapremine od 50 mL koristeći ultra-čistu vodu i zatim analizirani metodom masene spektrometrije sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP-MS), na aparatu Agilent 7700 ICP-MS (Agilent Company, USA). Kvantifikacioni joni (m/z) za ispitivane metale bili su: 63 za Cu, 60 za Ni, 66 za Zn, 111 za Cd, 75 za As i 208 za Pb. Dobijeni rezultati bili su obračunati na bazi suve materije, SM (dry mater, DW) i izraženi kao mg/kg. Kombinacija ICP-MS metode i mikrotalasnog rastvaranja uzorka odabrana je za analizu u konkretnom slučaju kao jedna od najsavremenijih metoda za pouzdano detektovanje makro-, mikro- i elemenata u tragovima u biljnim uzorcima, koja ne samo da omogućava najtačniju identifikaciju i kvantifikaciju odabranih elemenata, već obezbeđuje i njihovu pouzdanu ekstrakciju iz materijala, bez neželjenih gubitaka.



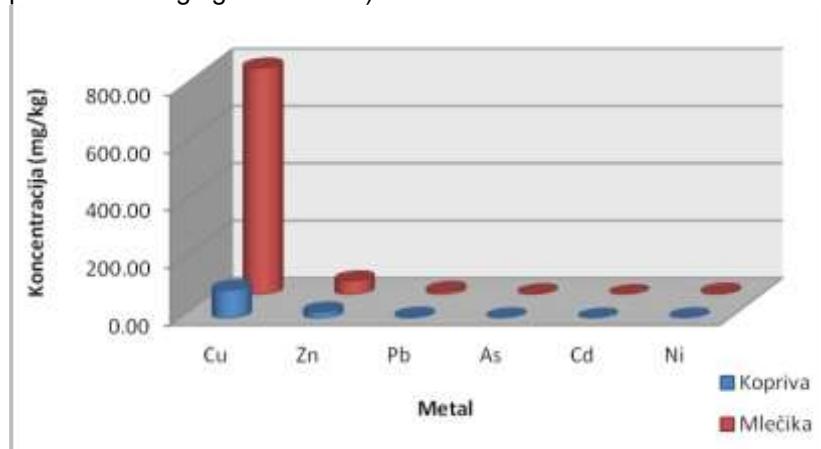
Slika 1. Pozicija seoskog naselja Oštrelj u odnosu na industrijski kompleks u Boru

Figure 1. The position of the rural settlement Oštrelj in relation to the industrial complex in Bor

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati izvedene ICP-MS analize pokazali su da je najobilniji metal u ispitivanim biljnim uzorcima bio Cu sa 98.42 mg/kg u slučaju koprive i čak 790.30 mg/kg kod mlečike. Sledеći metal na listi obilnosti bio je Zn: 21.59 mg/kg kod koprive i 48.32 mg/kg kod mlečike, a zatim su sledili ostali metali po sledećem opadajućem redosledu: Pb > (3.93 mg/kg za koprivu i 11.34 mg/kg za mlečiku) Ni (1.52 mg/kg za koprivu i 5.41 mg/kg za mlečiku) >

As (0.87 mg/kg za koprivu i 2.90 mg/kg za mlečiku) > Cd (0.05 mg/kg za koprivu i 0.23 mg/kg za mlečiku). Ovi rezultati ukazali su da je mlečika pokazala mnogo veću moć akumulacije metala u odnosu na koprivu i to u svim ispitivanim slučajevima (Slika 2.). Šta više, očigledno je da je ova biljka koncentrovala elemente kao što su Cu, As i Ni u iznosima koji su bili mnogo veći od onih koji se smatraju normalnim za većinu biljaka (Tabela 1).



Slika 2. Uporedni prikaz koncentracija ispitivanih teških metala kod koprive i mlečike iz Oštrelja

Figure 2. Comparative presentation of concentrations of the investigated heavy metals in the common nettle and sun spurge from Oštrelj

Tabela 1. Literaturni podaci za teške metale u biljkama (mg/kg, SM)

Table 1. Literature data for heavy metals in plants (mg/kg, DW)

Metal	Cu	Zn	Pb	As	Cd	Ni
Normalni opsezi*	4-15 ^[1, 13] 1-X0 ^[4]	8-100 ^[14] 27-150 ^[4, 5]	0.1-10 ^[4] 5-10 ^[4, 5] 1-13 ^[14]	0.009-1.5 ^[1, 4] 1-1.7 ^[4, 5]	0.05-0.2 ^[4, 5] 0.1-2.4 ^[14]	0.05-10 ^[1] 1 ^[14] 0.1-5 ^[4, 5]
Fitotoksične koncentracije*	15-20** ^[13] 5-40 ^[1] 20-100 ^[4]	100-400 ^[1, 5] 150-200** ^[5]	30-300 ^[4, 5]	>~20 ^[13] 1-20 ^[4] 5-20 ^[4, 5]	5-10** ^[4, 13] 5-30 ^[4, 5]	40-246 ^[4] 20-30** ^[5, 13] >10** ^[1]

*Podaci obeleženi malim slovima: b, c, e i f odnose se na koncentracije u lisnom tkivu

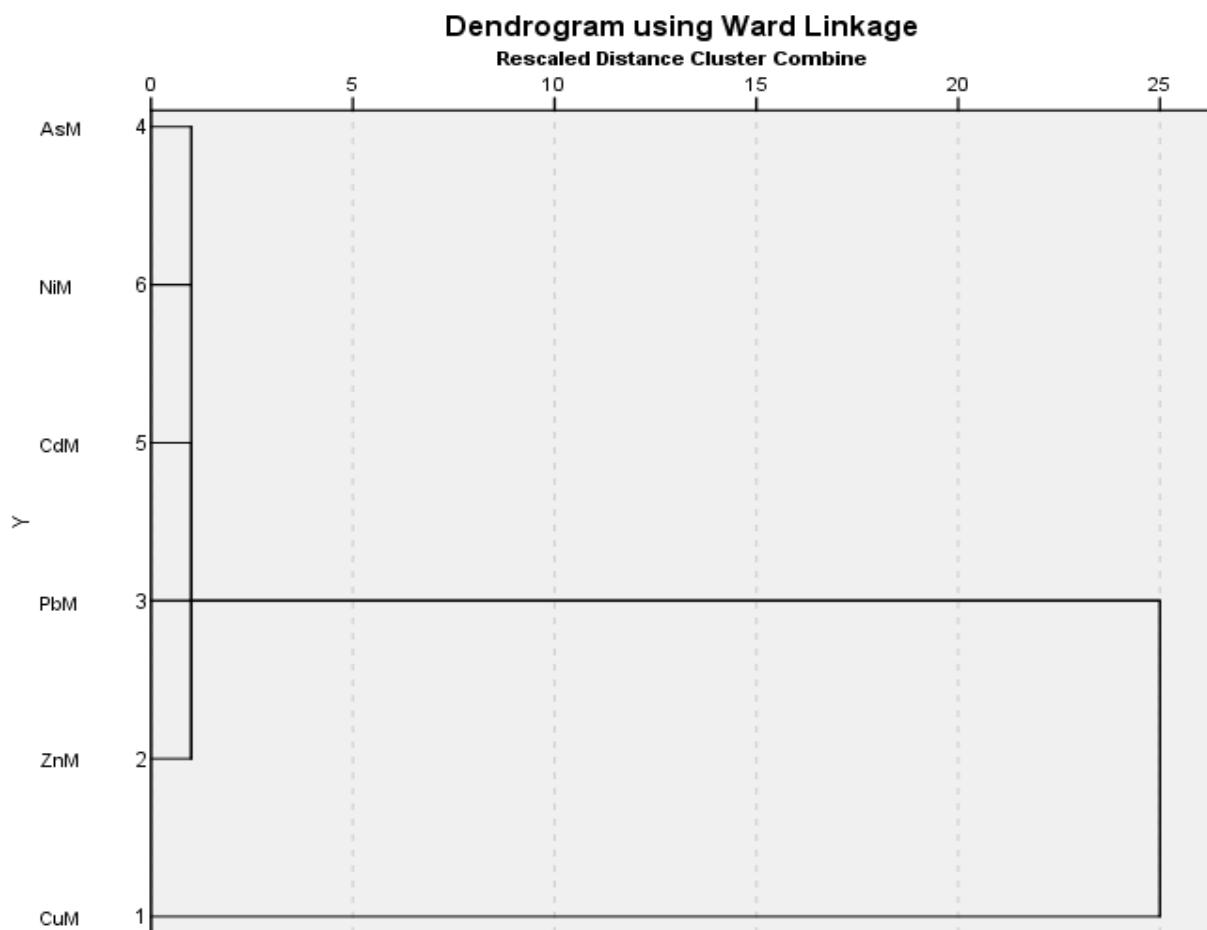
**Za osetljive biljke

Naime, može se reći da su detektovane koncentracije pomenutih metala (Cu, As i Ni) kod mlečike bile na nivou fitotoksičnih pragova (Tabela 1.) za koje su nađeni dokazi da kod većine biljaka izazivaju toksične efekte poput lisne hloroze, uvrtaњa i sušenja listova i slično [4,5,14,15]. Međutim, treba istaknuti da, tokom uzorkovanja, nije bilo primenjeno prisustvo bilo kakvog simptoma toksičnosti kod sakupljenih biljaka mlečike. Isto je zapaženo i kod koprive, mada je činjenica da su u slučaju ove vrste, sve detektovane koncentracije metala, osim Cu, bile na normalnom nivou (Tabela 1).

Ovi nalazi indikuju da obe biljke, a pre svega mlečika, mogu tolerisati značajne koncentracije teških metala u svojim nadzemnim tkivima, a posebno Cu, As i Ni, što može biti korisno upotrebljeno za praćenje zagađenja u oblasti regiona Bora, tj. u svrhe biomonitoringa. Kada je u pitanju procena upotrebljivosti u fitoekstrakciji, visoki iznosi tri pomenuta metala u tkivima mlečike mogu favorizovati ovu biljku kao bolje rešenje u odnosu na koprivu, ali je činjenica da sve detektovane koncentracije nisu bile na nivou onih

koje se mogu naći u biljkama hiperakumulatorima [19]. Jedina detektovana koncentracija za koju se može reći da se približila nivou navedenom od strane Verbruggen i sar. [19], bila je zabeležena u slučaju Cu kod mlečike, tj. 790.30 mg/kg (u odnosu na 1000 mg/kg kod tipičnih hiperakumulatora). Ovaj podatak predstavlja prvi signal da je mlečika posebno efikasna u pogledu ekstrakcije Cu iz zemljišta i njegove dalje akumulacije u nadzemnim delovima, pa će mu se, u daljim planiranim istraživanjima posvetiti posebna pažnja.

Izraziti afinitet mlečike prema Cu (posmatrano u odnosu na ostale ispitivane metale), može se jasno uočiti na slici 3., tj. na hijerarhijskom dendrogramu dobijenom primenom hijerarhijske klaster analize, uz korišćenje IBM SPSS statističkog programa (verzija 20, U.S.). Naime, na ovom dendrogramu, uočljiva je distribucija metala ostvarena kroz sledeće klastere: jedan izolovani, ali dominantni klaster upravo za sadržaj Cu i drugi osnovni klaster sastavljen od brojnih sub-klastera za ostale elemente, u kombinaciji kao što sledi, Zn-Pb-Cd-Ni-As.



Slika 3. Distribucija metala kod mlečike

Figure 3. Distribution of metals in sun spurge

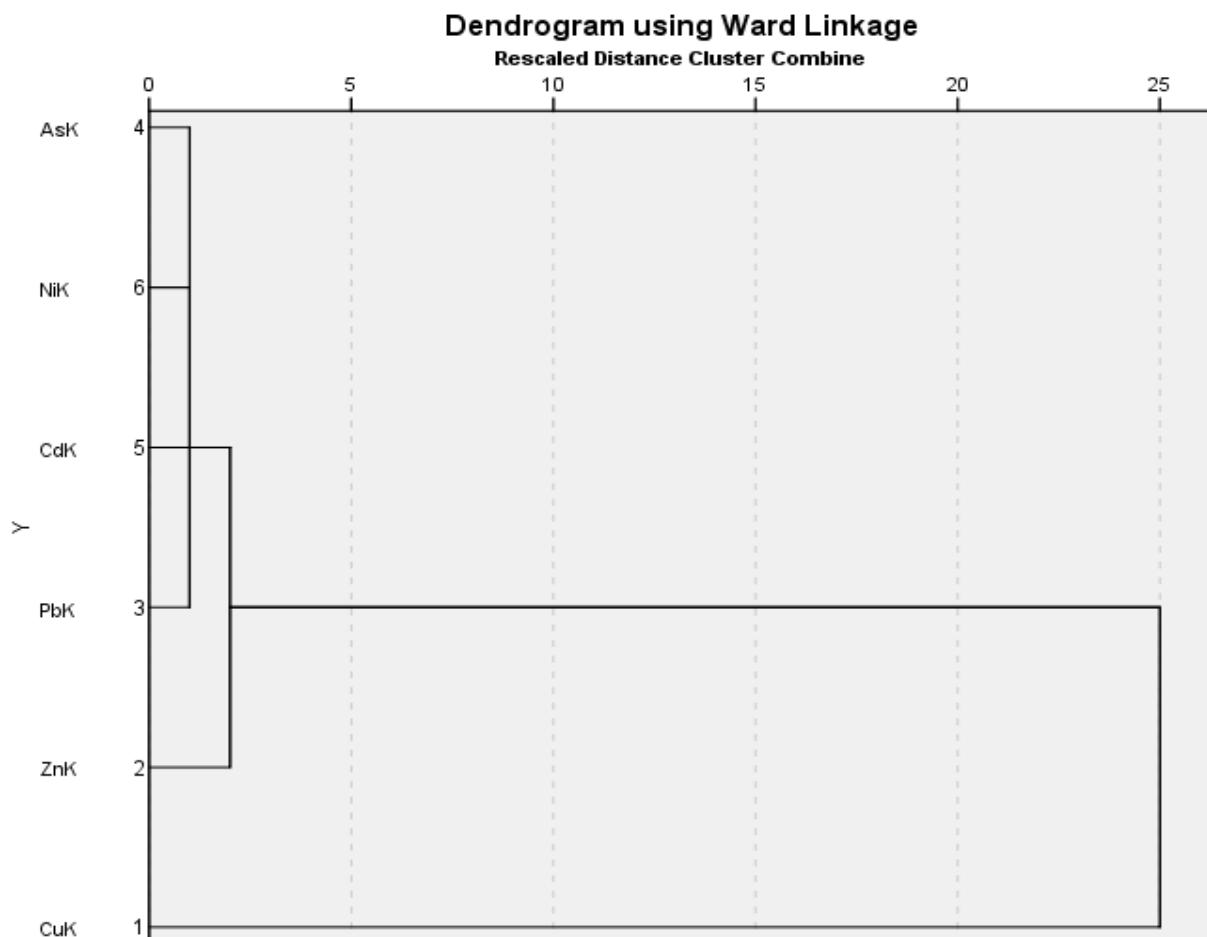
Slična distribucija metala primetna je i na hijerarhijskom dendrogramu dobijenom (na analogan način) za slučaj koprive (Slika 4.), osim što je ovde uočena nešto bolja diferencijacija među posmatranim elementima. Praktično, i ovde se uočava prisustvo dva glavna klastera: jedan izolovani, dominantni klaster za sadržaj Cu i drugi sastavljen od sub-klastera za ostale elemente, ali u nešto izmenjenom grupisanju, gde se Zn unekoliko

izdvojio od ostalih elemenata kao zaseban sub-klaster, Zn/Pb-Cd-Ni-As.

Međutim, bez obzira na postojeće sličnosti u distribuciji metal(oid)a kod obe ispitivane biljke, rezultati hemijske analize jasno signaliziraju da bolji bioakumulacioni potencijali ipak postoje u slučaju mlečike. Može se prepostaviti da ova biljna vrsta verovatno poseduje neke poboljšane mehanizme u odnosu na koprivu koji joj omogućavaju ne samo

bolje usvajanje metala iz zemljišta, već i njihovu efikasniju translokaciju i konačnu akumulaciju u nadzemnim delovima; međutim ovde bi, za jednu definitivnu potvrdu, bilo neophodno uključiti dodatna istraživanja iz oblasti biohemije i fiziologije

biljaka, a koja bi pratila tokove biohemijskih, praktično, metaboličkih procesa kod obe biljne vrste i to u datim, agresivnim uslovima njihovog neposrednog okruženja.



Slika 4. Distribucija metala kod koprive

Figure 4. Distribution of metals in common nettle

4. ZAKLJUČAK

Kao evidentno tolerantne prema povećanim koncentracijama određenih metala, odražavajući istovremeno i postojanje kontaminiranosti u tim slučajevima, obe ispitivane biljne vrste mogu se preporučiti za primenu u svrhe biomonitoringa, dok, kada je u pitanju primena u fitoekstrakciji, može se zaključiti da jedino mlečika pokazuje izvesne potencijale u ovom pogledu i to naročito u slučaju bakra. Kako bi se dobole što pouzdanije smernice, u narednim istraživanjima biće sprovedeno i uzorkovanje sa drugih zagađenih lokacija u Boru i okolini i to uz dodatno uzorkovanje zemljišta iz neposredne korenske zone.

Zahvalnica

Autori su zahvalni Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Srbije za finansijsku podršku, Projekti br. 33038, 46010 i 172047, kao i Projektu „Research on the integration system of spatial environment analyses and advanced metal recovery to ensure sustainable resource development“ e-cube.

5. REFERENCE

- [1] B.J. Alloway (2013) Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. Environmental Pollution (22), third edition. Springer New York. doi: 10.1007/978-94-007-4470-7.

- [2] S.Č.Alagić (2017) Various roles of plants in heavy metal phytoremediation from polluted soils. XII International Symposium "Recycling technologies and sustainable development", Bor Lake, Serbia, 13–15. September 2017., *Proceedings*, 33-40.
- [3] J.Mertens, S.Luyssaert, K.Verheyen (2005) Use and abuse of trace metal concentrations in plant tissue for biomonitoring and phytoextraction. *Environmental Pollution*, 138, 1-4.
- [4] A.Kabata-Pendias, H.Pendias (2001) Trace elements in soils and plants. Third Edition. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA.
- [5] A.Kabata-Pendias (2011) Trace elements in soils and plants, Fourth edition, CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, London, New York.
- [6] M.D.Mingorance, B.Valdés, R.S.Oliva (2007) Strategies of heavy metal uptake by plants growing under industrial emissions. *Environment International*, 33, 514–520.
- [7] S.R.Oliva, M.D.Mingorance (2006) Assessment of airborne heavy metal pollution by aboveground plant parts. *Chemosphere*, 65, 177–82.
- [8] M.I.Rucandio, M.D.Petit-Domínguez, C.Fidalgo-Hijano, R.García-Giménez (2011) Biomonitoring of chemical elements in an urban environment using arboreal and bush plant species. *Environmental Science and Pollution Research*, 18, 51–63.
- [9] R.Unterbrunner, M.Puschenreiter, P.Sommer, G.Wieshammer, P.Tlustos, M.Zupan, W.W.Wenzel (2007) Heavy metal accumulation in trees growing on contaminated sites in Central Europe. *Environmental Pollution*, 148, 107-114.
- [10] Y.-F.Lin, M.G.M.Aarts (2012) The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69, 3187–3206.
- [11] N.Rascio, F.Navarri-Izzo (2011) Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180, 169-181.
- [12] H.Sarma (2011) Metal Hyperaccumulation in Plants: A Review Focusing on Phytoremediation Technology. *Journal of Environmental Science and Technology*, 4(2), 118-138.
- [13] T.Vamerali, M.Bandiera, G.Mosca (2010) Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 1-17.
- [14] P.C.Nagajyoti, K.D.Lee, T.V.M.Sreekanth (2010) Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review, *Environmental Chemistry Letters*, 8, 199–216.
- [15] S.Č.Alagić (2014) Strategije biljaka u borbi protiv fitotoksičnih koncentracija metala kao ključni preduslov uspešne fitoremedijacije: Čelijski mehanizmi, deo I / Plants strategies against metal phytotoxicity as a key prerequisite for an effective phytoremediation: Cellular mechanisms, part I, *Zaštita materijala*, 55(3), 313-322.
- [16] S.Č.Alagić, M.M.Nujkić, M.D.Dimitrijević (2014) Strategije biljaka u borbi protiv fitotoksičnih koncentracija metala kao ključni preduslov uspešne fitoremedijacije: Ekskluderi i hiperakumulatori, deo II / Plants strategies against metal phytotoxicity as a key prerequisite for an effective phytoremediation: Excluders and hyperaccumulators, part II, *Zaštita materijala*, 55(4), 435-440.
- [17] A.P.G.C.Marques, A.O.S.S.Rangel, P.M.L.Castro (2009) Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up Technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39, 622–654.
- [18] M.N.V.Prasad, H.M.O.Freitas (2003) Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronical Journal of Biotechnology*. 6(3), 285-321.
- [19] N.Verbruggen, C.Hermans, H.Schat, (2009) Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, 181, 759-776.
- [20] S.Č. Alagić, S.S. Šerbula, S.B.Tošić, A.N. Pavlović, J.V. Petrović (2013) Bioaccumulation of Arsenic and Cadmium in Birch and Lime from the Bor Region. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(4), 671-682.
- [21] A.Bhargava, F.F.Carmona, M.Bhargava, S.Srivastava (2012) Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Review, Journal of Environmental Management*, 105, 103-120.
- [22] M.Maric, M.Antonijevic, S.Alagic (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.
- [23] S.Č.Alagić, S.B.Tošić, M.D.Dimitrijević, M.M. Antonijević, M.M. Nujkić (2015) Assessment of the quality of polluted areas based on the content of heavy metals in different organs of the grapevine (*Vitis vinifera*) cv Tamjanika, *Environmental Science and Pollution Research*, 22(9), 7155-7175.
- [24] M.Dimitrijevic, M.Nujkic, S.Alagic, S.Milic, S.Totic (2016) Heavy metal contamination of topsoil and parts of peach-tree growing at different distances from a smelting complex. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13, 615–630.
- [25] M.Nujkić, M.Dimitrijević, S.Alagić, S.Tošić, J.Petrović (2016) Impact of metallurgical activities on the content of trace elements in the spatial soil and plant parts of *Rubus fruticosus* L. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 18, 350-360.
- [26] S.Tošić, S.Alagić, M.Dimitrijević, A.Pavlović, M.Nujkić (2016) Plant parts of the apple tree (*Malus spp.*) as possible indicators of heavy metal pollution. *AMBIO: a journal of the human environment*, 45(4), 501-512.

ABSTRACT

THE CONTENT OF HEAVY METALS IN THE AERIAL PARTS OF THE COMMON NETTLE AND SUN SPURGE FROM OŠTRELJ (MUNICIPALITY OF BOR): A CONTRIBUTION TO THE EXAMINATIONS OF PLANT BIOMONITORING AND PHYTOREMEDIATION POTENTIALS

Abstract: In this paper, the content of heavy metals Cu, Cd, Zn, Ni, Pb, and As in the aerial parts of the common nettle and sun spurge from the territory of rural settlement Oštrelj (4-5 km far from the mining metallurgical complex in Bor, Serbia) was investigated in terms of preliminary estimation of their biomonitoring and phytoremediation potentials. The most abundant detected metal in both plant species was Cu, with the notification that its concentrations reached even phytotoxic levels. Similar situation was found also in the case of As, and Ni in the sun spurge, which showed to be much efficient in metal accumulation than common nettle. Since both investigated plants showed as tolerant species regarding certain metals (reflecting at the same time the existence of contamination in these cases), it can be concluded that their application in biomonitoring of polluted areas is possible, whereas, when the application in phytoextraction (as one of the most effective phytoremediation methods) is the matter of interest, it can be said that only sun spurge showed some potential in this regard, especially in the case of Cu.

Keywords: biomonitoring; phytoextraction; common nettle; sun spurge; heavy metals

Short Communication

Paper received: 09. 09. 2018.

Paper corrected: 04. 10. 2018.

Paper accepted: 12. 10. 2018.

Paper is available on the website: www.idk.org.rs/journal