

# UTICAJ AEROZAGAĐENJA NA KARAKTERISTIKE STOMINOG I FOTOSINTETIČKOG APARATA VRSTA *Tilia cordata* Mill. I *Tilia platyphyllos* Scop. NA PODRUČJU GRADA BANJE LUKE

AN IMPACT OF AIR POLLUTION ON CHARACTERISTICS OF STOMA AND PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF *Tilia cordata* Mill. AND *Tilia platyphyllos* Scop. ON BANJA LUKA AREA

Nina Janjić<sup>1</sup>, Tanja Maksimović<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Banjoj Luci, Prirodno-matematički fakultet, Mladena Stojanovića 2, 78000 Banja Luka

\*e-mail: tanja.maksimovic@pmf.unibl.org

## Izvod

U ovom radu praćen je uticaj pojedinih polutanata na sadržaj fotosintetičkih pigmenata i broj i veličinu stominih ćelija kod *Tilia cordata* Mill. i *Tilia platyphyllos* Scop. na tri lokaliteta na području grada Banje Luke (Borik, Obilicevo i Paprikovac). Dobijeni rezultati u ovom radu pokazali su da je broj stoma u prosjeku bio veći kod *Tilia platyphyllos* u odnosu na *Tilia cordata* i to na listovima koji su uzorkovani iz spoljašnjeg dijela krošnje u odnosu na unutrašnji dio. Dimenzije stoma su u prosjeku bile veće kod *Tilia cordata* u odnosu na *Tilia platyphyllos*, što je genetički uslovljeno. Sadržaj ukupnog hlorofila je varirao od 1,656 do 5,616 mg/g, s tim da je veći sadržaj tokom sezone utvrđen kod *Tilia cordata* u odnosu na *Tilia platyphyllos*. Najveće smanjenje broja stoma i fotosintetičkih pigmenata je utvrđeno na lokalitetu Borik, gdje je i zabilježena najveća koncentracija aeropolutanata. Dobijeni rezultati ukazuju da promjene u broju i veličini stominih ćelija i sadržaju fotosintetičkih pigmenata mogu da posluže kao indikativni pokazatelj otpornosti odabranih biljnih vrsta prema aerozagađenju.

**Ključne riječi:** aerozagađenje, fotosintetički pigmenti, stome, *Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop.

## 1. UVOD / INTRODUCTION

Biljke u urbanim sredinama i industrijskim zonama veoma često su izložene negativnom uticaju različitih aeropolutanata, koji ovisno o jačini i dužini izloženosti, te hemijskom sastavu dovode do različitih morfoloških i fizioloških promjena (Braun et al., 2007; Glibovytska, 2017; Rostunov et al., 2017). U takvim sredinama brojne drvenaste vrste djeluju kao akumulatori zagađujućih supstanci taložeći i apsorbujući ih na površini listova, te tako značajno mogu poboljšati kvalitet vazduha smanjujući njihovu koncentraciju u vazduhu (Prajpapati & Tripathi, 2008; Rostunov

et al., 2017; Glibovytska, 2017; Petrova et al., 2017). Brojne studije (Chauhan, 2010; Giri et al., 2013; Rostunov et al., 2017; Glibovytska, 2017) su pokazale da visoke koncentracije aeropolutanata inhibiraju proces fotosinteze narušavajući strukturu hloroplasta i hlorofila dovodeći do smanjenja rasta biljaka. Isto tako zapaženo je da stomin aparat reaguje na aerozagađenje što zavisi ne samo od koncentracije i vrste aeropolutanta, već i od biljne vrste (Abeyratne & Illeperuma, 2006; Xu & Zhou 2008, Zhang et al., 2012). Istraživanja (Camaro & Marengo, 2011) su poka-

zala da na promjene u broju i veličini stominih ćelija s jedne strane velik uticaj imaju različiti abiotički faktori a s druge različiti polutanti. U posljednjih nekoliko decenija mnogi naučnici u svojim istraživanjima su se bavili proučavanjem štetnog uticaja različitih aeropolutanata na biljni svijet, s posebnim akcentom na dejstvo sumpornih i azotnih oksida i ozona (Chauhan, 2010; Giri et al., 2013; Rostunov et al., 2017; Glibovytska, 2017). Tako se veoma toksičnim polutantom za biljke smatra trofosferski ozon tzv. „fotosmog“ sa najvećom koncentracijom u popodnevnim satima zbog velikih saobraćajnih gužvi i veće osunčanosti (Kley, 1997). Povišena koncentracija ozona uzrokuje brojna oksidativna oštećenja biomolekula koja su najizraženija u epidermalnim ćelijama (Musselman & Massman, 1999; Jaffe et al., 2008). Moldau et al. (2011) kao primarnu reakciju na štetne efekte povišene koncentracije ozona ističu zatvaranje stoma. Zatvaranje stoma izazivaju i povišene

koncentracije sumpornih oksida (Majernik & Mansfield, 1972). Izloženost aeropolutantima posebno SO<sub>2</sub>, uzrokuje zatvaranje stoma, što štiti listove od daljeg ulaska zagađivača, ali i ograničava proces fotosinteze (Georghe & Ion, 2011). Automobili su glavni izvor zagađujućih materija u urbanom području Banje Luke. Ranija istraživanja na području Banje Luke (Oljača et al., 2008; 2009; Janjić et al., 2016; Janjić et al., 2017) su pokazala da povećano prisustvo zagađujućih supstanci naročito azotnih oksida, ozona, čađi i lebdećih čestica značajno remeti funkcionisanje fotosintetičkog i stominog aparata. Stoga je i cilj ovog rada bio da se napravi terenska procjena tolerancije vrste *Tillia cordata* Mill. na zagađenost vazduha koja se smatra otpornom (Kosiba et al., 2007) i *Tillia platyphyllos* L. koja se smatra više osjetljivom na aeropolutante (Dariusz et al., 2015), te da se ustanove promjene koje nastaju u osobinama stominog aparata i sadržaju fotosintetičkih pigmenta.

## 2. MATERIJAL I METOD / MATERIAL AND METHODS

Biljni materijal (*Tilia cordata* Mill. i *Tillia platyphyllos* Scop.) sakupljan je na tri lokaliteta na području Banje Luke (Borik, Obilićevo i Paprikovac), tokom maja, jula i septembra 2013 godine. Sva stabla su birana neposredno uz ulicu, tako da ih ne zaklanjaju drugi objekti ili drveće. Listovi odabranih biljnih vrsta su uzimani sa spoljašnjih dijelova krošnje-listovi svjetlosti i sa unutrašnjih dijelova krošnje-listovi sjenke. Otisci stoma urađeni su po standardnoj Kolodijum metodi (Petrović & Štrbac, 1996). Otisci stoma su uzimani sa tri dijela; sa vršnog, srednjeg i baznog dijela liske. Istovremeno smo pratili broj stoma po mm<sup>2</sup> lisne površine, te dužina i širina stominih ćelija

(ćelija zatvaračice). Preparati su obrađeni na mikroskopu Leica DM 500 sa uvećanjem 10×40, fotografisani pomoću kamere Leica DFC 295, a rezultati su analizirani u pratećem softverskom paketu. Rezultati prikazani u tabelama 2 i 3 predstavljaju prosječne vrijednosti od četiri ponavljanja i to po tri mjerenja za svaki preparat (bazni, srednji i vršni dio lista). Sadržaj fotosintetičkih pigmenta (Chl *a*, Chl *b* i karotenoida) u listovima istraživanih vrsta određivan je spektrofotometrijski u acetonskom ekstraktu korištenjem standardnih metoda (Maksimović i Pajević, 2002) a očitavanje je izvršeno pomoću spektrofotometra UV-VIS Shimadzu UV-160, Kyoto, Japan.

## 3. REZULTATI I DISKUSIJA / RESULTS AND DISCUSSION

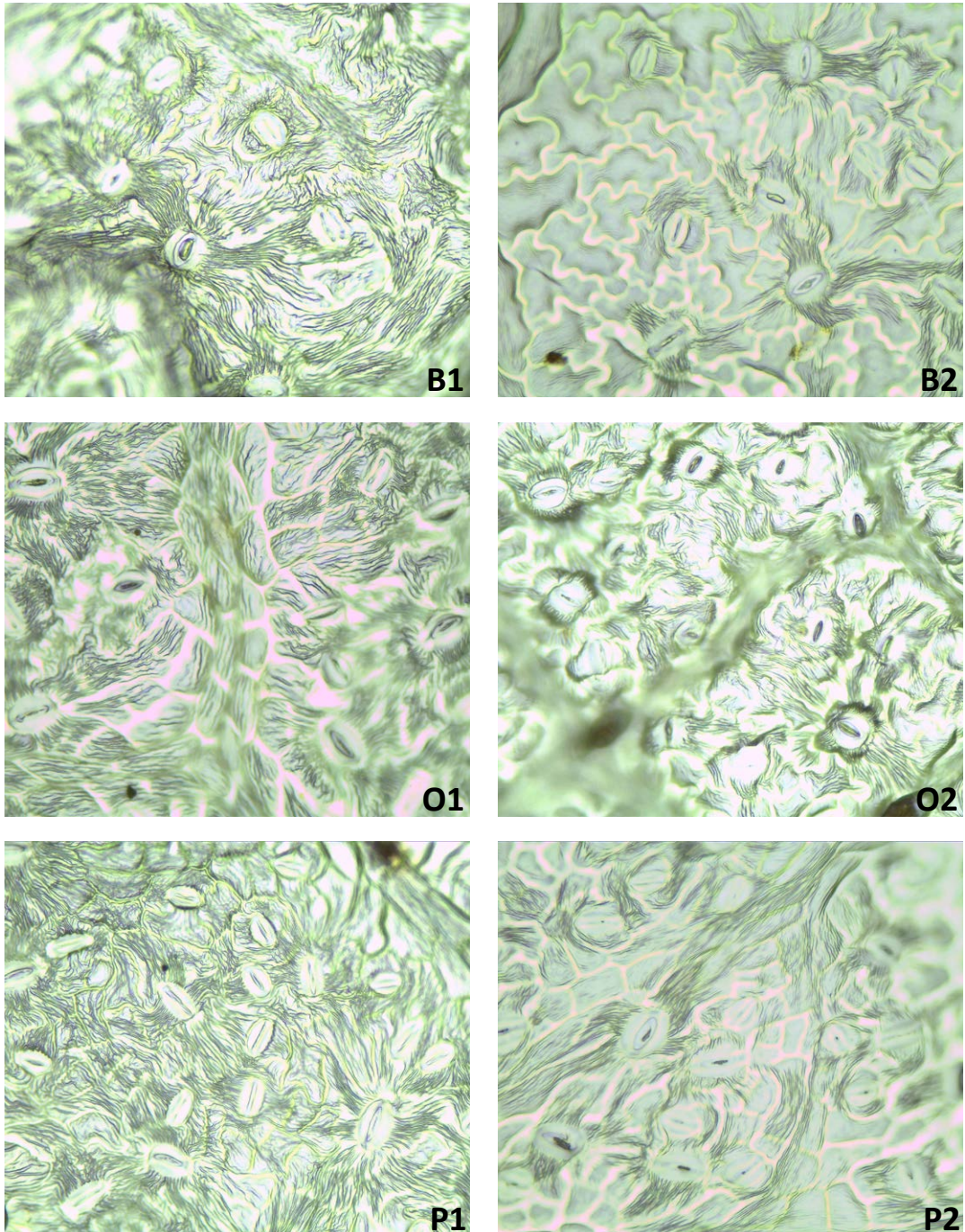
Stome imaju nezamjenjivu ulogu u razmjeni gasova u procesu fotosinteze, kao i procesu transpiracije. Zato je veoma važno praćenje uticaja zagađujućih materija na biljke jer je evidentno da povećana zagađenost vazduha

značajno utiče na promjene u broju i veličini stoma (Shweta, 2012). Dimenzije i broj stoma mogu da variraju unutar jednog lista (baza, sredina i vrh liske), ali i u zavisnosti od položaja listova na krošnji, kao i između genotipova

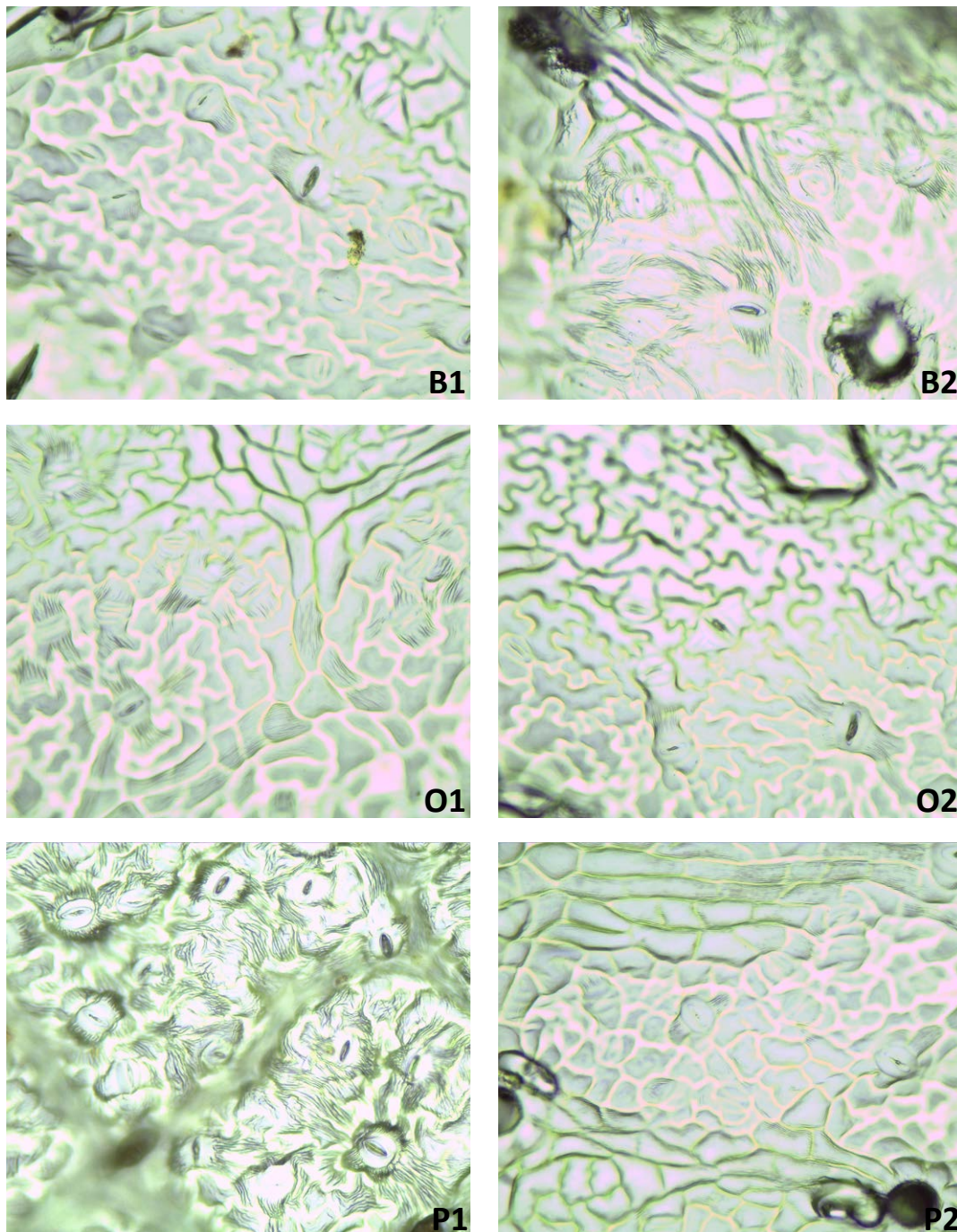
jedne vrste. Na variranja osobina stoma velik uticaj imaju i različiti faktori životne sredine (svjetlost, temperatura, vlažnost, koncentracija polutanata) (Musselman & Massman, 1999; Jaffe et al., 2008; Holland & Richardson, 2009). U Tabeli 1 su prikazani podaci koji su preuzeti iz Hidrometeorološkog zavoda Republike Srbije o emisiji polutanata u periodu maja, jula i septembra 2013. godine. Povećanje nivoa zagađenja vazduha značajno utiče na promjene u broju i veličini stoma (Shweta, 2012), što je konstatovano i u ovom radu. Dobijeni rezultati prikazani u Tabelama 2 i 3 su pokazali da je broj stoma na jedinici lisne površine ( $\text{mm}^2$ ) zavisio kako od vrste, položaja listova, lokaliteta i perioda uzorkovanja, tako i od uticaja aeropolutanata. Najmanji broj stoma utvrđen je na lokalitetu Borik kod obje ispitivane vrste (*Tilia cordata* - listovi svjetlosti -  $171,00 \text{ mm}^2$  i listovi sjene  $140,33 \text{ mm}^2$ ; *Tilia platyphyllos* listovi svjetlosti  $210,68 \text{ mm}^2$  i listovi sjene  $165,33 \text{ mm}^2$ ) (Tabela 2 i 3 i Slike 1 i 2). Na ovom lokalitetu je zabilježena i najveća koncentracija polutanata (srednje vrijednosti: CO-0,296; SO<sub>2</sub>-18,541; NO-11,25; NO<sub>2</sub>-28,676; NO<sub>x</sub>-40,143; čađ-13,037, LČ10-25,243). Brojna istraživanja su pokazala da sa porastom koncentracije aeropolutanata dolazi do opadanja broja stoma (Beerling & Chaloner 1993; Woodward, 1995; Lake & Woodward, 2008). Na lokalitetu Borik koncentracija CO je bila veća nego na ostalim lokalitetima što je uticalo na redukciju broja stoma. Kod brojnih vrsta (*Allocladus helei*, *Nothofagus cunninghamii*, *Quercus robur*) je utvrđeno da porast CO<sub>2</sub> dovodi do smanjenja gustine stoma (McElwain & Chaloner, 1995; Herington & Woodward, 2003, Batos, 2010), što smo i mi zabilježili u ovom radu. Istraživanja Wagner et al. (2005) na listovima *Quercus nigra* L., *Acer rubrum* L., *Myrica cerifera* L., *Ilex cassine* L. i *Osmunda regalis* L., uzetih iz depozita treseta herbarskog materijala sa sjeverne Floride pokazala su da gustina stoma u proteklih 60 godina značajno opada sa porastom koncentracije CO<sub>2</sub>. Slična zapažanja u smanjenju broja stoma kada se koncentracija atmosferskog CO<sub>2</sub> poveća za 29% su ustanovili Miller-Rushing et al. (2009) kod 74 herbarizovane vrste iz rodova *Acer*, *Quercus* i *Carpinus*. U istraživanju Janjić

et al. (2017) na području Banja Luke kod *Tilia cordata* i *Betula pendula* su pokazala da dolazi do redukcije broja stoma kod uzoraka uzetih iz gradske zone u poređenju s onima u prigradskom području. Isti trend smanjenja broja stoma sa povećanjem koncentracije polutanata kod *Tilia cordata* i *Betula pendula* zabilježili su Janjić & Hasanagić (2017) u urbanom gradskom području Banje Luke. Na lokalitetu Paprikovac, gdje je izmjerena najmanja koncentracija polutanata, konstatovana je veća gustina stoma (*Tilia cordata* - listovi svjetlosti  $216,33 \text{ mm}^2$  i listovi sjene  $190,33 \text{ mm}^2$ ; *Tilia platyphyllos* - listovi svjetlosti  $225,00 \text{ mm}^2$  i listovi sjene  $180,33 \text{ mm}^2$ ). Broj stoma je takođe varirao u odnosu na poziciju listova. Kod obje istraživane vrste dužina stoma je bila veća na listovima iz unutrašnjeg dijela krošnje na svim lokalitetima, dok je širina stoma bila veća na listovima iz spoljašnjeg dijela krošnje (Tabela 2 i 3). Poznato je da su listovi sunca i biljke prilagođene povećanoj osvjetljenosti imaju male stome, ali veću gustoću u usporedbi sa listovima sjene (Kastori & Pertović, 1972; Givnish, 1988; Richardson et al., 2000; Lake et al., 2001; Barrois & Hernandez, 2003; Herrick et al. 2004; Hovenden & Vanden Schoor, 2004; 2006; Lichtenhaler et al., 2007; Oljača et al., 2008; 2009) što smo i mi konstatovali u ovom radu. S druge strane, Eensalu (2008) u svojim istraživanjima došao je do drugačijeg zaključka, odn. da se gustina stoma smanjuje a dimenzije povećavaju sa smanjenjem intenziteta svjetlosti što je rezultat prilagođenosti stoma date vrste na dostupnu svjetlost. Takođe, smatra se da je dužina stoma u negativnoj korelaciji sa gustinom (Hetherington & Woodward, 2003, Dillene et al., 2008; Franks i Beerling 2009; Zhang et al., 2012) i da je osnovni kriterijum na osnovu koga se stiče uvid o krupnoći stoma (Batos, 2010), što smo i mi potvrdili u svojim istraživanjima.

Potrebno je istaći da na promjene u veličini i gustini stoma utiče i paleta kompleksnih uslova staništa, što se povezuje sa genotipskom varijabilnošću i sposobnošću adaptacije na promjene uslova sredine, tako da se dobijene razlike mogu sagledati i tumačiti u kontekstu i drugih ekoloških uslova (Batos, 2010).



**Slika 1.** Izgled stoma na abaksijalnom epidermisu listova *Tilia cordata* Mill. sa gradskih stabala uzorkovanih tokom sezone: B-Borik, O-Obilićevo, P-Paprikovac; 1-spoljašnji dio krošnje-listovi svjetlosti, 2-unutrašnja strana krošnje-listovi sjene / **Figure 1.** Morphology of stomata on the abaxial epidermis of the leaves of *Tilia cordata* Mill. from the city trees sampled during the season: B-Borik, O-Obilićevo, P-Paprikovac; 1-External side of the crown-leaves of light, 2-inside of the crown-leaves of the shadow



**Slika 2.** Izgled stoma na abaksijalnom epidermisu listova *Tilia platyphyllos* Scop. sa gradskih stabala uzorkovanih tokom sezone: B-Borik, O-Obilicevo, P-Paprikovac; 1-spoljašnji dio krošnje-listovi svjetlosti, 2-unutrašnja strana krošnje-listovi sjene / **Figure 2.** Morphology of stomata on the abaxial epidermis of the leaves of *Tilia platyphyllos* Scop. from the city trees sampled during the season: B-Borik, O-Obilicevo, P-Paprikovac; 1-External side of the crown-leaves of light, 2-inside of the crown-leaves of the shadow

**Tabela 1.** Koncentracija aeropolutanata na istraživanom području u periodu uzorkovanja (podaci preuzeti iz Hidrometeorološkog zavoda Republike Srpske) / **Table 1.** Concentration of air pollutants in the investigated area during the sampling period (data taken from the Hydrometeorological Institute of the Republic of Srpska)

Lokalitet	POLUTANTI							
	CO mg/m <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> μg/m <sup>3</sup>	O <sub>3</sub> μg/m <sup>3</sup>	NO μg/m <sup>3</sup>	NO <sub>2</sub> μg/m <sup>3</sup>	NO <sub>x</sub> μg/m <sup>3</sup>	Čađ μg/m <sup>3</sup>	LČ10 μg/m <sup>3</sup>
<b>Borik</b>								
Maj	0,307	21,746	44,952	9,243	25,067	34,310	11,897	23,342
Jun	0,270	16,252	45,185	10,865	29,530	41,040	11,486	22,631
Septembar	0,311	17,626	45,853	13,642	31,433	45,079	15,697	29,755
Arit.sredina	0,296	18,541	45,333	11,250	28,677	40,143	13,027	25,243
<b>Obilićevo</b>								
Maj	0,193	21,467	43,446	9,562	26,258	35,819	11,639	22,871
Jun	0,245	15,576	48,037	10,742	28,903	39,654	9,749	18,856
Septembar	0,261	16,163	46,182	12,254	29,367	41,621	15,522	30,369
Arit.sredina	0,233	17,735	45,888	10,856	28,176	39,031	12,326	24,002
<b>Paprikovac</b>								
Maj	0,202	21,773	45,246	9,056	24,647	33,703	11,856	22,274
Jun	0,285	13,791	43,833	9,632	28,689	38,321	10,191	19,587
Septembar	0,315	15,300	47,147	12,669	29,215	41,884	14,579	28,675
Arit.sredina	0,267	16,955	45,409	10,452	27,517	37,969	12,208	23,512

**Tabela 2.** Prosječne vrijednosti broja stoma po mm<sup>2</sup> lisne površine i dimenzije stoma (μm) kod *Tilia cordata* Mill. na istraživanim lokalitetima / **Table 2.** Average stomata number per mm<sup>2</sup> of the leaf surface and stoma size (μm) at *Tilia cordata* Mill. in the investigated area

Mjesec	Broj stoma		Dužina stoma		Širina stoma	
	Sp.krošnja	Un.krošnja	Sp.krošnja	Un.krošnja	Sp.krošnja	Un.krošnja
<b>Borik</b>						
Maj	168	126	24,64	30,88	23,88	21,52
Jun	170	137	26,1	37,29	21,80	19,80
Septembar	175	158	23,63	26,12	19,04	18,61
Arit.sredina	171,00	140,33	24,80	28,10	21,57	19,98
<b>Obilićevo</b>						
Maj	170	135	26,53	27,19	22,61	19,90
Jun	176	152	24,90	25,60	18,89	18,40
Septembar	181	163	23,35	24,15	18,29	17,82
Arit.sredina	175,67	150,00	24,94	25,65	19,93	18,71
<b>Paprikovac</b>						
Maj	185	143	27,95	30,96	23,12	19,50
Jun	211	209	27,85	30,15	17,97	17,72
Septembar	253	219	24,99	27,22	16,65	16,15
Arit.sredina	216,33	190,33	26,94	29,44	19,25	17,71

**Napomena / Note:** Sp - spoljašnja; Un - unutrašnja; Arit - aritmerička

**Tabela 3.** Prosječne vrijednosti broja stoma po mm<sup>2</sup> lisne površine i dimenzije stoma (μm) kod *Tilia platyphyllos* na istraživanim lokalitetima / **Table 3.** Average stomata number per mm<sup>2</sup> of the leaf surface and stoma size (μm) at *Tilia platyphyllos* Scop. in the investigated area

Mjesec	Broj stoma		Dužina stoma		Širina stoma	
	Sp.krošnja	Un.krošnja	Sp.krošnja	Un.krošnja	Sp.krošnja	Un.krošnja
<b>Borik</b>						
Maj	214	159	20,18	23,01	16,95	13,81
Jun	196	181	22,18	20,92	17,61	15,09
Septembar	222	172	21,63	23,51	19,24	14,69
Arit.sredina	210,68	170,66	21,33	22,48	17,93	14,53
<b>Obilićevo</b>						
Maj	210	171	19,86	23,21	17,17	15,81
Jun	219	181	23,16	24,92	16,82	16,12
Septembar	229	187	22,70	24,89	17,51	15,57
Arit.sredina	219,33	179,67	21,91	24,34	17,17	15,83
<b>Paprikovac</b>						
Maj	216	172	23,82	22,22	14,69	13,82
Jun	215	182	24,96	22,62	16,02	14,56
Septembar	234	188	24,93	23,12	15,49	14,08
Arit.sredina	225,00	180,33	24,57	23,32	15,40	14,15

**Napomena / Note:** Sp - spoljašnja; Un - unutrašnja; Arit - aritmerička

U ovom radu je praćena tolerancija *Tilia cordata* i *Tilia platyphyllos* na zagađenost vazduha određivanjem sadržaja fotosintetičkih pigmenta (hlorofila *a* i *b* i karotenoida). Toksični gasovi prodiru u listove, akumuliraju se u hloroplastima, oštećuju ih, što dovodi do vidnog smanjenja sadržaja fotosintetičkih pigmenta (Petrova et al., 2017; Rostunov et al., 2017), što je potvrđeno i u ovom radu. Sadržaj ukupnog hlorofila u listovima *Tilia cordata* se kretao od 1,656 do 5,616 mg/g svježe materije (Tabela 4), pri čemu su tokom sezone zabilježene promjene koje su varirale u odnosu na vrstu, poziciju listova, lokalitet i koncentraciju zagađujućih supstanci. Za razliku od *Tilia cordata* sadržaj ukupnog hlorofila u listovima *Tilia platyphyllos* je bio značajno niži, a dobijene vrijednosti su varirale tokom sezone od 1,433–4,724 mg/g (Tabela 5). U odnosu na lokalitet veći sadržaj ukupnog hlorofila je utvrđen na lokalitetu Paprikovac i Obilićevo, a značajno niži do 50% je utvrđen na lokalitetu Borik, gdje su zabilježene i najveće koncentracije aeropolutanata (Tabela 1). Smanjenje sadržaja ukupnog hlorofila sa povećanjem

koncentracije aeropolutanata su zabilježili i drugi istraživači u svojim studijama (Chauhan, 2010; Giri et al., 2013; Rostunov et al., 2017; Glibovytska, 2017). Rostunov et al. (2017) u svojim istraživanjima na nekoliko drvenastih vrsta (*Tilia cordata*, *Salix alba*, *Populus tremula*) zabilježili su smanjenje sadržaja fotosintetičkih pigmenta sa povećanjem koncentracije aeropolutanata u urbanom području pri čemu su se lipa i biljela vrba pokazale kao najosjetljivije. Udio hlorofila *a* kod *Tilia cordata* je varirao od 1,193 do 2,841 mg/g a hlorofila *b* od 0,533 do 2,646 mg/g s tim da su vrijednosti hlorofila *a* tokom sezone bile 2-3 puta veće u odnosu na hlorofil *b* (Tabela 4). U listovima *Tilia cordata* sadržaj ukupnog hlorofila je bio niži tokom septembra na lokalitetu Borik, dok je na lokalitetu Paprikovac i Obilićevo u istom periodu zabilježena maksimalna koncentracija. Ove promjene mogu se dovesti u vezu sa povećanom koncentracijom štetnih gasova u vazduhu (Borik), kao i sa razvojnom fazom listova i sa drugim faktorima sredine. U listovima *Tilia platyphyllos* sadržaj hlorofila *a* se kretao od 0,688–3,046 mg/g, a hlorofila *b* od 0,352–1,066

**Tabela 4.** Sezonska varijacija u sadržaju fotosintetičkih pigmenata (mg/g) u listovima *Tilia cordata* Mill. / **Table 4.** Seasonal variation in the content of photosynthetic pigments (mg/g) in the leaves of *Tilia cordata* Mill.

Mjesec	Hlorofil a		Hlorofil b		Ukupan hlorofil		Karotenoidi	
	Sk	Uk	Sk	Uk	Sk	Uk	Sk	Uk
<b>Borik</b>								
Maj	1,193	1,787	0,462	0,795	1,656	2,583	0,391	0,554
Jun	1,913	2,055	0,826	0,912	2,740	2,967	0,641	0,696
Septembar	1,399	2,034	0,564	1,184	1,963	3,219	0,522	0,596
Arit.sredina	1,501	1,958	0,617	0,963	2,119	2,923	0,518	0,615
<b>Obilićevo</b>								
Maj	1,902	2,761	0,831	1,467	2,734	4,229	0,613	0,726
Jun	1,257	1,845	0,533	0,805	1,791	2,652	0,440	0,528
Septembar	2,841	2,046	1,401	0,990	4,243	3,036	0,989	0,715
Arit. sredina	2,00	2,217	0,921	1,087	2,922	3,305	0,680	0,656
<b>Paprikovac</b>								
Maj	1,739	2,051	0,706	0,855	2,445	2,906	0,604	0,697
Jun	1,747	1,840	0,828	0,934	2,576	2,774	0,573	0,633
Septembar	2,970	2,455	2,646	1,298	5,616	3,754	0,578	0,761
Arit. sredina	2,152	2,115	1,393	1,029	3,545	3,144	0,585	0,697

**Napomena / Note:** Sk - spoljašnja krošnja; Un - unutrašnja krošnja; Arit. - aritmerička

**Tabela 5.** Sezonska varijacija u sadržaju fotosintetičkih pigmenata (mg/g) u listovima *Tilia platyphyllos* Scop. / **Table 5.** Seasonal variation in the content of photosynthetic pigments (mg/g) in the leaves of *Tilia platyphyllos* Scop.

Mjesec	Hlorofil a		Hlorofil b		Ukupan hlorofil		Karotenoidi	
	Sk	Uk	Sk	Uk	Sk	Uk	Sk	Uk
<b>Borik</b>								
Maj	1,628	1,655	0,661	0,718	2,289	2,374	0,556	0,521
Jun	1,417	1,398	0,737	0,589	2,154	1,987	0,437	0,480
Septembar	1,055	1,051	0,556	0,513	1,612	1,564	0,412	0,397
Arit.sredina	1,366	1,368	0,651	0,606	2,018	1,975	0,468	0,466
<b>Obilićevo</b>								
Maj	1,028	1,608	0,824	0,695	1,853	2,304	0,387	0,558
Jun	1,733	2,163	0,723	0,983	2,456	3,146	0,568	0,720
Septembar	1,391	0,688	0,641	0,688	2,032	2,084	0,465	0,452
Arit. sredina	1,384	1,486	0,729	0,788	2,113	2,511	0,473	0,576
<b>Paprikovac</b>								
Maj	1,658	2,093	1,066	0,971	2,725	3,065	0,479	0,668
Jun	1,081	2,588	0,352	1,231	1,433	3,820	0,518	0,800
Septembar	2,865	3,046	1,498	1,677	4,363	4,724	0,935	0,898
Arit. sredina	1,868	2,575	0,972	1,293	2,840	3,869	0,644	0,788

**Napomena / Note:** Sk - spoljašnja krošnja; Un - unutrašnja krošnja; Arit. - aritmerička



pri čemu su maksimalne vrijednosti utvrđene na lokalitetu Paprikovac a minimalne na lokalitetu Borik (Tabela 5). Vidnije smanjenje sadržaja hlorofila *b* u odnosu na hlorofil *a* ukazuje na njegovu povećanu osjetljivost prema aeropolutantima, što je bilo u saglasnosti sa istraživanjima (Giri et al., 2013; Pavlović et al., 2017). Sličan trend su utvrdili Petrova et al. (2017) u gradu Plovdiv kod *Acer heldreichii* Boiss., *Tilia tomentosa* Moench, *Fraxinus excelsior* L. i *Pinus nigra* L. gdje se hlorofil *b* takođe pokazao kao osjetljiviji na zagađenost. U odnosu na vrstu veći sadržaj ukupnog hlorofila zabilježen je kod *Tilia cordata* u odnosu na *Tilia platyphyllos* što se može objasniti povećanom otpornošću odn. smanjenom osjetljivošću na aeropolutantne, a što je bilo u saglasnosti sa istraživanjima i drugih autora (Kosiba et al., 2007). Janjić & Hasanagić (2017) su ispitali uticaj aeropolutanata iz urbane i prigradske zone Banje Luke na *Tilia cordata* i *Betula pendula*, pri čemu su ustanovili smanjenje koncentracije ukupnog hlorofila sa povećanjem koncentracije zagađenosti, što se može povezati i sa rezultatima koji su zabilježeni u ovom radu. Na osnovu dobijenih rezultata (Tabele 4 i 5) zabilježene su velike razlike u sadržaju hlorofila kod listova koji su uzeti iz spoljašnjeg u odnosu na unutrašnji dio krošnje, s tim što treba istaći da su dobijene vrijednosti u velikoj mjeri zavisile i od uticaja aeropolutanata. Lichtenhaler et al. (2007) u svojoj studiji na nekoliko drvenastih vrsta (*Acer pseudoplatanus*, *Fagus sylvatica*, *Tilia cordata* i *Abies alba*) zabilježili

su veće koncentracije hlorofila i karotenoida kod listova sunca u odnosu na listove hlada, što je bilo suprotno rezultatima koji su dobijeni u ovom radu.

Koncentracija karotenoida je varirala u zavisnosti od vrste biljke, perioda uzorkovanja, pozicije listova, nivoa zagađenosti i drugih abiotičkih faktora. Prosječne vrijednosti karotenoida kod istraživanih vrsta su varirale od 0,391 do 0,989 mg/g, pri čemu su veće vrijednosti dobijene tokom septembra sa povećanjem zagađujućih materija. Janjić & Hasanagić (2017) u svojim istraživanjima na *Tilia cordata* su takođe zabilježili povećanje sadržaja karotenoida u urbanoj zoni u odnosu na kontrolu (nezagađena lokacija). Kod obje istraživane vrste sadržaj karotenoida je bio za 4-5 puta niži u odnosu na sadržaj ukupnog hlorofila, sa maksimumom tokom septembra. Karotenoidi štite hlorofil od fotoksidativne destrukcije (Siefertmann-Harms, 1987). U nekim radovima (Cauhan, 2010) je utvrđeno da se niži sadržaj karotenoida javlja kao odgovor na povećanu koncentraciju  $SO_2$ , i da su karotenoidi osjetljiviji nego hlorofil, a što je potvrđeno i u ovoj studiji. Veći sadržaj karotenoida je utvrđen krajem u odnosu na početak sezone što ukazuje na zaštitnu ulogu ovih pigmentata tokom procesa starenja i sa povećanjem koncentracije aeropolutanata (azotnih oksida), a što je bilo najviše vidljivo na lokalitetu Borik i Obilićevo a u manjoj mjeri na lokalitetu Paprikovac.

#### 4. ZAKLJUČAK / CONCLUSION

Rezultati dobijeni u ovom radu su pokazali da istraživane vrste *Tilia cordata* Mill. i *Tilia platyphyllos* Scop. su različito reagovala na aeropolutante, te da je broj stoma na jedinici površine lista varirao u odnosu na vrstu, lokaciju, položaj listova i koncentraciju zagađujućih supstanci. Veći broj stoma manjih dimenzija je utvrđen kod *Tilia platyphyllos*, dok je kod *Tilia cordata* zabilježena obrnuta distribucija. Sadržaj ukupnog hlorofila je u prosjeku bio veći kod *Tilia cordata* u odnosu na *Tilia platyphyllos*, i to kod listova uzetih iz unutrašnjeg dijela krošnje. U odnosu

na lokalitet obje vrste su reagovala slično odn. broj stoma i sadržaj fotosintetičkih pigmentata je bio niži na lokalitetu Borik gdje je i zabilježena najveća koncentracija aeropolutanata. Smanjen broj stoma a povećan sadržaj ukupnog hlorofila kod *Tilia cordata* u odnosu na *Tilia platyphyllos* ukazuje na povećanu otpornost odn. povećanu osjetljivost vrste na aeropolutante. Dobijeni rezultati ukazuju i na to da je potrebno uspostaviti stalni monitoring uključujući veći broj vrsta i lokacija, radi utvrđivanja onih biljnih vrsta koje su tolerantnije na zagađujuće supstance.

## Literatura / References

- Asasama K., Sober A., Rahi M. (2001). Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 765–774.
- Abeyratne V. D. K., Ileperuma O. A. (2006). Impact of ambient air pollutants on the stomatal aperture of *Argyrea polulifolia*. *Ceylon Journal of Science* 35: 9–15.
- Barrios E. P., Hernández B. C. R. (2003). Phenology, growth and response to light of Ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L., Anacardiaceae). *Economic Botany* 57(4): 481–490.
- Batos B. (2010). *Populaciona i individualna varijabilnost hemijskih markera – flavoida i morfoanatomskih karakteristika hrasta lužnjaka (Quercus robur L.)*. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu.
- Beerling D., Chaloner W. (1993). The impact of atmospheric CO<sub>2</sub> and temperature change on stomatal density: Observations from *Quercus robur* lamas leaves. *Annals of Botany* 71: 231–235.
- Braun M., Margitai Z., Tóth A., Leermakers M. (2007). Environmental monitoring using linden tree leaves as natural traps of atmospheric deposition: a pilot study in Transilvania, Romania. *AGD Landscape & Environment* 1(1): 24–35.
- Camargo M. A. B., Marengo R. A. (2011). Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. *Acta Amazonica* 41(2): 205–212.
- Chauhan A. (2010): Photosynthetic pigment changes in some selected trees induced by automobile exhaust in Dehradun, Uttarakhand. *New York Science Journal* 3(2): 45–51.
- Dariusz C., Micha K. A., Miosz T. W., Piotr U. (2015). Assessment of the effect of environmental variables on health status of *Tilia cordata* Mill. in parks. *Ecological Chemistry and Engineering* 22(3): 351–361.
- Dillen S., Marron N., Koch B., Ceulemans R. (2008). Genetic variations of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* 'S9-2' × *P.nigra* 'Ghoy' and *P.deltoides* 'S9-2' × *P.trichocarpa* 'V24'). *Annals of Botany* 102: 399–407.
- Eensalu E. (2008). *Acclimation of stomatal structure and function in tree canopy: effect of light and CO<sub>2</sub> concentration*. Doctoral dissertation, Department of Botany, Institute of Ecology and Earth Science, University of Tartu, Estonia.
- Franks P., Beerling D. (2009). Maximum leaf conductance driven by CO<sub>2</sub> effects on stomatal size and density over geological time. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(25): 10343–10347.
- Gheorghe I. F., Ion B. (2011). The effects of air pollutants on vegetation and the role of vegetation in reducing atmospheric pollution. U: Khallaf M. (Ur.), *The impact of air pollution on health, economy, environment and agricultural sources*. InTechOpen: 241–280.
- Giri S., Shrivastava D., Deshmukh K., Dubey P. (2013). Effect of air pollution on chlorophyll content of leaves. *Current Agriculture Research Journal* 1(2): 93–98.
- Givnish T. J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 15: 63–92.
- Glibovytska N. (2017). Environmental sustainability and phytomelioration suitability of woody plants in urban ecosystems. *Botany and Plant Ecology* 28: 12–21.
- Herrick J.D., Maherali H., Thomas R. B. (2004). Reduced stomatal conductance in sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) sustained over long-term CO<sub>2</sub> enrichment. *New Phytologist* 162: 387–396.
- Hetherington A., Woodward F. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424(21): 901–908.
- Holland N., Richardson A. D. (2009). Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *Journal of Sustainable Forestry* 28: 63–73.
- Hovenden M. J., Vander Schoor J. K. (2006). The response of leaf morphology to irradiance depends on altitude of origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytologist* 169: 291–297.
- Jaffe D.A., Chand D., Hafner W., Westerling A., Spracklen D. (2008). Influence of fires on O<sub>3</sub> concentrations in the western U.S. *Environmental Science & Technology* 42: 5885–5891.
- Janjić N., Hasanagić D. (2017): Fiziološki odgovor biljaka. U: Kukavica B., Topali-Trivunović Lj., Hasanagić D., Kukrić Z., Janjić N., Savić A., Samelak I, *Metabolički odgovor drvenastih biljaka na ekološke uslove u urbanim sredinama*. Univerzitet u Banjoj Luci, Prirodno-matematički fakultet: 73–153.

- Janjić N., Maksimović T., Boltić D. (2016). Uticaj nekih aeropolutanata na stomin aparat divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum* L.) na području Banja Luke. *SKUP* 7(1): 219–225.
- Janjić N., Hasanagić D., Maksimović T. (2017). Stomatal apparatus response of *Tilia cordata* (Mill.) and *Betula pendula* (Roth.) to air quality conditions in Banjaluka (Bosnia and Herzegovina). *Biologia Serbica* 39(2): 9–16.
- Kastori R., Petrović M. (1972). Uticaj osvjetljenosti na broj i veličinu stominog aparata i na intenzitet transpiracije kod mladih biljaka kukuruza. *Matica Srpska* 43: 149–157.
- Kley D. (1997). Tropospheric chemistry and transport. *Science* 276: 1043–1045.
- Kosiba P. (2008): Variability of morphometric leaf traits in small-leaved linden (*Tilia cordata* Mill.) under the influence of air pollution. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 77(2):125–137.
- Lake J. A., Quick W. P., Beerling D. J., Woodward F. I. (2001). Plant development: signals from mature to new leaves. *Nature* 411: 154–155.
- Lake J. A., Woodward F. I. (2008). Response of stomatal numbers to CO<sub>2</sub> and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytologist* 179: 397–404.
- Lichtenthaler H. K., Ač A., Marek M. V., Kalina J., Urban O. (2007). Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 577–588.
- Majernik O., Mansfield T. A. (1972). Stomatal response to raised atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations during exposure of plants to SO<sub>2</sub> pollution. *Environmental Pollution* 3: 1–7.
- Maksimović I., Pajević S. (2002) *Praktikum iz fiziologije biljaka*. Univerzitet u Novom Sadu. Novi Sad.
- McElwain J., Chaloner W. (1995). Stomatal density and index of fossil plants track Atmospheric carbon dioxide in the Palaeozoic. *Annals of Botany* 76: 389–395.
- Miller–Rushing A., Primark R., Templer P., Rathbone S., Mukunda S. (2009). Long–term relationship among atmospheric CO<sub>2</sub>, stomata, and intrinsic water use efficiency in individual trees. *American Journal of Botany* 96(10):1779–1786.
- Moldau H., Vahisalu T., Kollist H. (2011): Rapid stomatal closure triggered by a short ozone pulse is followed by reopening to overshooting values. *Plant Signaling and Behaviour* 6: 311–313.
- Musselman, R.C., Massman, W. J. (1999). Ozone flux to vegetation and its relationship to plant response and ambient air quality standards. *Atmospheric Environment* 33: 65–73.
- Oljača R., Govedar Z., Hrkić Z. (2008). Efekti aerozagađenja na učešće stoma na listovima ispitivanih vrsta divljeg kestena i breze u uslovima Banja Luke. *Glasnik šumarskog fakulteta, Beograd* 98: 155–166.
- Oljača R., Hrkić Z., Lukić D. (2009). Uticaj aerozagađenja na gustinu stoma ispitivanih vrsta divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum* L.) i pajasena (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) u uslovima Banja Luke. *Glasnik šumarskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci* 10: 15–24.
- Pavlović D., Pavlović M., Marković M., Karadžić B., Kostić O., Jarić S., Mitrović M., Gržetić I., Pavlović P. (2017). Possibilities of assessing tracemetal pollution using *Betula pendula* Roth. leaf and bark – Experience in Serbia. *Journal of the Serbia Chemical Society* 82: 1–15.
- Petrova S., Todorova K., Dakova M., Mehmed E., Nikolov B., Denev I., Stratiev M., Georgiev G., Delchev A., Stamenov S., Firkova L., Gesheva N., Kadirova D., Velcheva I. (2017). Photosynthetic pigments as parameters/indicators of tree tolerance to urban environment (Plovdiv, Bulgaria). *Ecologica Balkanica* 9(1): 53–62.
- Petrović M., Štrbac D. (1996). *Fiziologija biljaka – praktikum*. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjaluci.
- Prajapati S. K., Tripathi B. D. (2008). Seasonal variation of leaf dust accumulation and pigment content in plant species exposed to urban particulates Pollution. *Journal of Environmental Quality* 37: 865–870.
- Richardson A. D., Berlyn G. P., Ashton P. M. S., Thadani R., Cameron I. R. (2000). Foliar plasticity of hybrid spruce in relation to crown position and stand age. *Canadian Journal of Botany* 78(3): 305–317.
- Rostunov A., Konchina T., Zhestkova E., Gusev D., Kharitono S. (2017). The dependence of morphological and physiological indicators of the leaves of woody plants on the degree of technogenic pollution. U: *Environment. Technology. Resources. Proceedings of the 11th International Scientific and Practical Conference une 15-17, 2017*. Rezekne Academy of Technologies, Rezekne, Latvia 1: 235–239.
- Shweta T. (2012). Air pollution induced changes in foliar morphology of two shrub species at Indore city, India. *Research Journal of Recent Sciences* 2: 95–199.

- Sifermann-Harms D. (1987). The light harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiologia Plantarum* 69: 561–568.
- Wagner F., Dilcher D. L., Visscher H. (2005). Stomatal frequency responses in hardwood swamp vegetation from Florida during a 60-year continuous CO<sub>2</sub> increase. *American Journal of Botany* 92(4): 690–695.
- Woodward F. I., Kelly C. K. (1995). The influence of CO<sub>2</sub> concentration on stomatal density. *New Phytologist* 131: 311–327.
- Xu Z. Z., Zhou G. S. (2008). Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* 59(12): 3317–3325.
- Zhang L., Niu H., Wang S., Zhu X., Luo C., Li Y., Zhao X. (2012). Gene or environment? Species-specific control of stomatal density and length. *Ecology and Evolution* 2(5): 1065–1070.

## Summary

In this paper, we investigate the impact of air pollution on the content of photosynthetic pigments, and the number, and the sizes of stomata's cells for *Tilia cordata* Mill. and *Tilia platyphyllos* Scop., on three localities in the area of Banja Luka (Borik, Obilićevo i Paprikovac). The obtained results show that the number of stomata of *Tilia platyphyllos* in average is greater than that of *Tilia cordata*, particularly in leaves taken from the outer part of treetop comparing to that of the inner part. The dimensions of stomata are greater, in average, of *Tilia cordata* than that of *Tilia platyphyllos*, due to the genetic conditions. Total content of the chlorophyll was varied from 1.656 to 5.616 mg/g, and the greater content during the season is established for *Tilia cordata* than for *Tilia platyphyllos*. The largest reduction of the number of stomata and photosynthetic pigments is established on the locality of Borik, where the highest concentration of air pollution is noted. Our results show that changes in the number, the sizes of cells of stomata, and the content of photosynthetic pigments may serve as indicators of the resistance of the chosen species by air pollution.

**Key words:** air pollution, stomata, photosynthetic pigments, *Tilia cordata*, *Tilia platyphyllos*