

**STEREOLOŠKA I HISTOLOŠKA ISPITIVANJA JEDNOGODIŠNJIH I  
DVOGODIŠNJIH ČETINA *Cedrus atlantica* (Endl.) Carriere  
U PROLEĆNOM I JESENJEM PERIODU U INDUSTRIJSKOJ  
SREDINI PANČEVA**

**Marija Vecko<sup>1</sup>, Vesna Koko<sup>2</sup>, Branimir Petković<sup>1</sup>, Petar D. Marin<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Institut za Botaniku, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd,

<sup>2</sup> Institut za Zoologiju, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd

*In this work was examined the effects of air pollution of the needles of *Cedrus atlantica* (Endl.) Carriere in industrial polluted environments of Pančevo; Proceeding of 6<sup>th</sup> Symposium on Flora of the Southeastern Serbia, Sokobanja, 2000: 77-83.*

Research was made on one-year and two-years old needles of *Cedrus atlantica* in polluted and unpolluted environment of Pančevo during spring and autumn. Stereological method was used for quantitative examination of change of different structures of needles.

It was determined number of healthy and damaged mesophyll cells and their profile area. Histological investigation was used to identify the injured mesophyll cells type I, II and III of needles by the appearance of tannin inclusion in central vacuole, and their distribution in the needles.

The results showed that the volume density of damaged mesophyll cells was statistically significantly increased, while the volume density of healthy mesophyll cells was decreased in polluted environments. Number and area of damaged mesophyll cells statistically significantly increased. The results of histological research showed that the damaged mesophyll cells type I, II and III were differently located in the needles.

## **UVOD**

Poslednjih godina započeta je primena stereoloških metoda na biljnom materijalu i to naročito pri praćenju promena u strukturi četina, pod dejstvom zagadenja (Back, Huttunen, 1992), (Soikkeli, 1981).

Prvi put u našoj zemlji istraživanja su izvršena na *Picea omorica* (Panč.) Purkyne u zagadenoj sredini Pančeva (Ilijin - Jug, 1995).

*Cedrus atlantica* je često gajena vrsta u gradovima, pa ovim radom želimo da pokažemo primenom stereoloških metoda kolika je njena otpornost na aerozagadenost.

## MATERIJAL I METODE

Ispitivanja su izvršena na jednogodišnjim i dvogodišnjim četinama *Cedrus atlantica* u zagađenoj HIP (Hemijska industrija Pančeva) i nezagađenoj (kontrola) oblasti, u prolećnom i jesenjem periodu vegetacije.

Uzorci četine veličine 1cm potapani su u 2% glutaraldehid, zatim su ispirani u 0.1 M fosfatnom puferu, PH=7. Postfiksacija je izvršena 1% rastvorom OsO<sub>4</sub>. Uzorci su kasnije podvrgnuti dehidrataciji kroz seriju alkohola od 25% -50% - 70% - 95% do 100% etanola. U tkivo četine je zatim uveden propilen oksid a potom je tkivo prožimano smolama Araldita.

Materijal je kalupljen u modlicama koje su prethodno bile nalivene čistom smolama i ostavljene u termostatu. Zatim je sečen LKB III ultramikrotomom. Preseci debljine 1 cm nanošeni su na predmetne pločice i bojeni toluidinskim plavim.

**Stereološka** ispitivanja sprovedena su Weibel-ovom višenamenskom testnom mrežicom (Weibel-ovom, 1966) i pri tom je određivana:

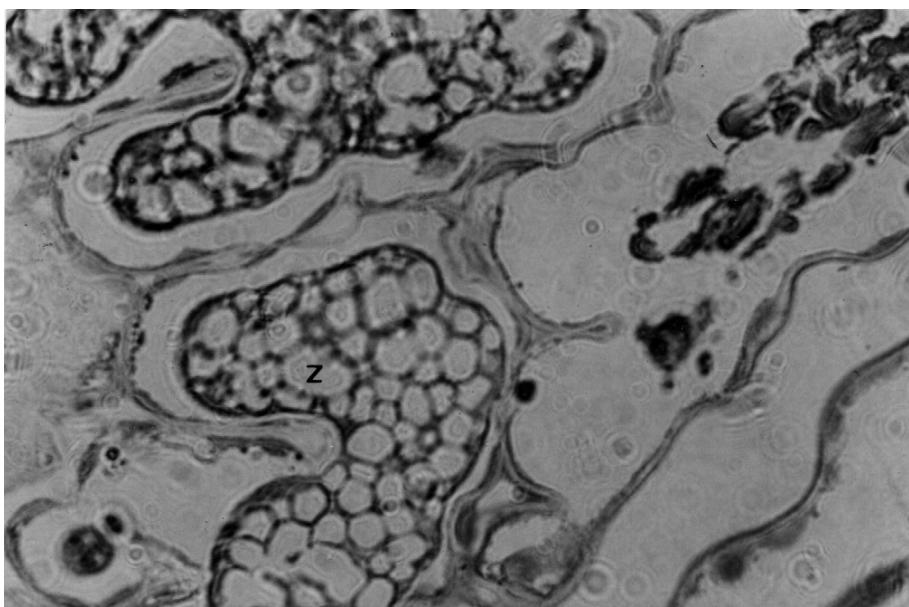
**Volumenska gustina** - ćelija epidermisa, mezofila, smonih kanala, centralnog cilindra i intercelulara;

**Broj oštećenih ćelija** - mezofila tip I, II i III (ćelije su kategorisane kao tip I, II i III na osnovu izgleda tanina u citoplazmi)

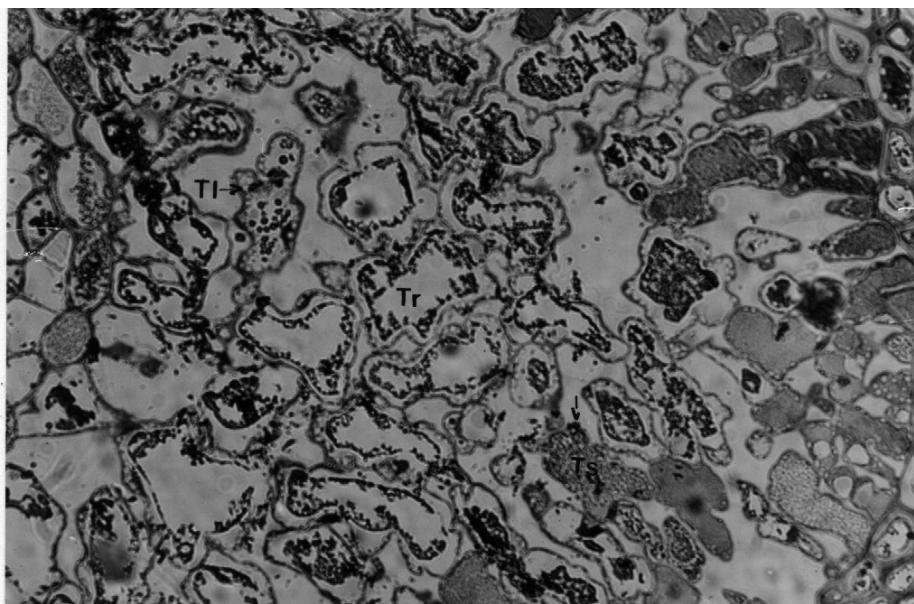
**Prosečna površina** - zdravih i oštećenih ćelija mezofila.

**Histološkim** ispitivanjima određivan je raspored ozleđenih ćelija, a na osnovu oblika tanina u ćelijskoj vakuoli ozledene ćelije kategorisane su kao tip I, II i III (Soikkeli, 1981).

Zdrave ćelije mezofila imale su fino granulirani tanin (Sl.1.). Kod oštećenih ćelija mezofila tipa I tanin je bio u obliku razbacanih partikula u centralnoj vakuoli. Oštećene ćelije mezofila tipa II imale su tanin koji je formirao krupne grudve i uske trake na margini centralne vakuole. A kod trećeg stepena oštećenja ćelija tipa III tanin je formirao traku, citoplazma je bila redukovana i teško se uočavala (Sl.2).



Slika 1.



Slika 2.

## REZULTATI I DISKUSIJA

U aprilu mesecu posle smanjene metaboličke aktivnosti kod jednogodišnjih četina rezultati pokazuju da je Vv mezofila povećana u zagađenoj sredini i to na račun oštećenih ćelija tipa II, čija je i prosečna površina uvećana. Volumenska gustina epidermisa sa hipodermom i intercelulara je smanjena. U zagađenoj sredini značajno je uvećan i broj oštećenih ćelija. Kod dvogodišnjih četina zapažene su slične promene, ali oštećenje je pojačano zbog dužine izloženosti aeropolutantima.

Posle pojačane metaboličke aktivnosti u novembru mesecu kod jednogodišnjih uzoraka rezultati pokazuju da je volumenska gustina epidermisa sa hipodermom i centralnog cilindra smanjena kao i volumenska gustina zdravih ćelija mezofila. Dok je volumenska gustina ukupnog mezofila uvećana na račun uvećanja oštećenih ćelija. Uvećanje prosečne površine oštećenih ćelija imalo je visoku statističku značajnost.

Kod dvogodišnjih četina rezultati su pokazali da je volumenska gustina epidermisa sa hipodermom, smonih kanala kao i centralnog cilindra smanjena dok je volumenska gustina mezofila povećana na račun povećanja oštećenih ćelija tipa I i II, čije su i prosečne površine uvećane.

Rezultati histoloških ispitivanja su pokazala da su oštećene ćelije mezofila ćelija tipa I, II i III različito raspoređene u četini. Ispod i između zdravih ćelija mezofila raspoređene su oštećene ćelije tipa I. Ćelije tipa II nalazile su se u srednjem delu četine, dok su oštećene ćelije tipa III bile pojedinačno raspoređene oko stoma kod aprilske četina i oko centralnog cilindra kod novembarskih četina.

**Tabela 1. Volumenska gustina elemenata poprečnog preseka četine kedra (aprili-jednogodišnje)**

Vv (mm <sup>3</sup> )	kontrola	HIP	P
epidermis	0.17 " 0.0056	0.15" 0.0026	n.s.
mezofil	0.57 " 0.0093	0.60 " 0.0065	n.s.
intercelulari	0.21 " 0.0100	0.16 " 0.0054	<0.001
smoni kanali	0.01 " 0.0022	0	n.s.
centralni cilindar	0.09 " 0.0051	0.08 " 0.0037	n.s.

**Tabela 2. Broj neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

April	Ukupan broj ćelija	Zdravih	Ozledenih	Tip I	Tip II	Tip III
KA1	178"13.9	152"18	26 " 4	5 " 2.6	21"1.8	0
EA1	128 "11.7	91 " 6.8	37 " 15	8 " 8	13 " 5.7	16"9

**Tabela 3. Površina neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila (cm<sup>2</sup>)**

	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
neoštećene	1818.5 " 63	1532 " 92	<0.05
oštećene tip I	2219.5 " 92	1857 " 108	<0.05
oštećene tip II	1747.7"781	2547 " 342	n.s.
oštećene tip III	0	2896.8 " 372	n.s.

**Tabela 4. Volumenska gustina elemenata poprečnog preseka četine kedra (april-dvogodišnje)**

<b>Vv (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
epidermis	0.21 " 0.0088	0.19" 0.0080	n.s.
mezofil	0.43 " 0.0155	0.48 " 0.0119	<0.05
intercelulari	0.20 " 0.0142	0.16 " 0.0084	<0.05
smoni kanali	0.01 " 0.0014	0.02 " 0.0027	<0.01
centralni cilindar	0.15 " 0.0079	0.15 " 0.0070	<n.s.

**Tabela 5. Broj neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

<b>April</b>	<b>Ukupan broj ćelija</b>	<b>Zdravih</b>	<b>Ozleđenih</b>	<b>Tip I</b>	<b>Tip II</b>	<b>Tip III</b>
KA2	131 "23	98 " 6	33 " 4.9	13 " 2	20 " 3	0.9"0.4
EA2	109"2.6	59"2.8	50 "1.6	9 " 0.8	41" 0.9	0

**Tabela 6. Površina neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
neoštećene	1554.6 " 67.6	1486.2 " 68.6	n.s.
oštećene tip I	1948.9 " 124.5	1548 " 77.7	<0.05
oštećene tip II	1546.6 " 297	1974.3 " 101.7	n.s.
oštećene tip III	0	0	n.s.

**Tabela 7. Volumenska gustina elemenata poprečnog preseka četine kedra (novembar-jednogodišnje)**

<b>Vv (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
epidermis	0.23 " 0.0068	0.16" 0.0034	<0.001
mezofil	0.45 " 0.0091	0.55 " 0.0069	<0.001
intercelulari	0.18 " 0.0047	0.14 " 0.0062	<0.001
smoni kanali	0.01 " 0.0010	0.02 " 0	<0.001
centralni cilindar	0.16 " 0.0068	0.08 " 0.0021	<0.001

**Tabela 8. Broj neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

<b>Novembar</b>	<b>Ukupan broj ćelija</b>	<b>Zdravih</b>	<b>Ozleđenih</b>	<b>Tip I</b>	<b>Tip II</b>	<b>Tip III</b>
KN1	145 " 4.3	107"2.8	38 " 2	21 " 1.2	17" 1.6	0.3 " 0.2
EN1	134 "4.6	82 "3.1	52 " 2.5	12 " 2.5	31 " 3.6	9 " 3.4

**Tabela 9. Površina neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
neoštećene	1051 " 48	1840 " 48	<0.001
oštećene tip I	1621" 113	2550 " 79	<0.001
oštećene tip II	2195"73	2970 " 207	<0.01
oštećene tip III	556.8"425	3002 " 863	<0.05

**Tabela 10. Volumenska gustina elemenata poprečnog preseka četine kedra (novembar-dvogodišnje)**

<b>Vv (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
epidermis	0.21 " 0.0036	0.17" 0.0034	<0.001
mezofil	0.48 " 0.0073	0.54 " 0.0066	<0.001
intercelulari	0.12 " 0.0043	0.15 " 0.0054	<0.001
smoni kanali	0.03 " 0.0012	0.01"0.0016	<0.001
centralni cilindar	0.14 " 0.0047	0.11 " 0.0120	<0.05

**Tabela 11. Broj neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

<b>Novembar</b>	<b>Ukupan broj ćelija</b>	<b>Zdravih</b>	<b>Ozleđenih</b>	<b>Tip I</b>	<b>Tip II</b>	<b>Tip III</b>
KN2	182 "6.9	142"6.8	40 " 0.6	40 " 0.6	0	0
EN2	114 "2.8	63 " 4	51 " 2.7	24 "2.7	26 " 2.4	1 "0.6

**Tabela 12. Površina neoštećenih i oštećenih ćelija mezofila**

	<b>kontrola</b>	<b>HIP</b>	<b>P</b>
neoštećene	1761.7 " 47	1735.2 " 54	n.s
oštećene tip I	2027 " 340.5	2060.3 " 138	n.s.
oštećene tip II	0	2817 " 214	n.s.
oštećene tip III	0	1115 " 475	n.s.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su pronadena znatna oštećenja ćelija mezofila u četinama *Cedrus atlantica*. Stereološka ispitivanja su pokazala da je u zagađenoj sredini došlo do uvećanja broja, površine i volumenske gustina ozleđenih ćelija. Histološka ispitivanja pokazuju da je zagađenje izazvalo oštećenje ćelija što se ogledalo promenom u formi tanina. Najjače ozleđene ćelije tipa III nalazile su se na mestu direktnog uticaja aerozagađenja tj oko stoma i centralnog cilindra, do su dublje u mezofilu bile smeštene ozleđene ćelije tipa I i II.

Znatna oštećenja ćelija mezofila kod dvogodišnjih četina nastala su zbog akumulacije toksina što je dovelo do smanjene otpornosti četina.

## LITERATURA

23. Back, J. & Huttunen, S., 1992: Structural responses of needles of conifer seedlings to acid rain treatment. *New Phytol.*, 120 : 77-88.
24. Ilijin - Jug, M. 1995: Histološko-citološke i morfološke promene kod vrste *Picea omorika* (Pančić) Purkyne, na području Pančeva u hortikulturi, izazvane aerozagadjenjem. *Doktorska disertacija*, Biološki fakultet, Beograd.
25. Soikkeli, S. 1981: Comparison of citological injuries in conifer needles from several polluted industrial environments in Finland. *Ann. Bot Fennici.*, 18: 47- 61.
26. Weibel E.R., Kistler, G.S., Scherle, W.A., 1966: Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell. Biol.*, 30: 23-38.