

Određivanje teških metala u uskolisnom dvoredcu (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.)

Ercegović, Matej

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:511351>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-24**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U USKOLISNOM DVOREDCU
(*DIPLOTAXIS TENUIFOLIA* L. DC.)

ZAVRŠNI RAD

MATEJ ERCEGOVIĆ

Matični broj: 1256

Split, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
KEMIJSKO INŽENJERSTVO

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U USKOLISNOM DVOREDCU
(*DIPLLOTAXIS TENUIFOLIA* L. DC.)

ZAVRŠNI RAD

MATEJ ERCEGOVIĆ

Matični broj: 1256

Split, rujan 2018.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
CHEMICAL ENGINEERING

DISTRIBUTION OF HEAVY METALS IN PERENNIAL WALL-ROCKET
(*DIPLLOTAXIS TENUIFOLIA* L. DC.)

BACHELOR THESIS

MATEJ ERCEGOVIĆ

Parent number: 1256

Split, September 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemijske tehnologije, smjer: Kemijsko inženjerstvo

Znanstveno područje: Tehničke znanosti
Znanstveno polje: Kemijsko inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na 3. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek
Pomoć pri izradi:

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U USKOLISNOM DVOREDUCU (*DIPLOTAXIS TENUIFOLIA* L. DC.)

Matej Ercegović, 1256

Sažetak: U ovom završnom radu određene su koncentracije odabranih teških metala (cink, željezo, mangan, nikal, bakar, kadmij, olovo i aluminij) u uskolisnom dvoredcu (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.) koji je sabran u rujnu 2017., na polju iza zgrade Kemijsko-tehnološkog fakulteta. Uskolisni dvoredac je podijeljen na dva dijela: podzemni (korijen) i nadzemni (listovi, cvijet, stabljika). Koncentracije teških metala u otopinama uskolisnog dvoredca su određene pomoću spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). Na temelju izmjerenih vrijednosti može se uočiti da su koncentracije kadmija, nikla, aluminija, željeza i mangana više u podzemnim dijelovima biljke, dok cink, olovo i bakar pokazuju više koncentracije u nadzemnim dijelovima biljke što je posljedica translokacije iz korijena. Toksični kadmij pokazuje najnižu izmjerenu koncentraciju ($0,053 \mu\text{g g}^{-1}$) u nadzemnom i dvostruko višu koncentraciju ($0,112 \mu\text{g g}^{-1}$) u podzemnom dijelu biljke i nalazi se u okviru dopuštenih koncentracija. Najveću koncentraciju u uskolisnom dvoredcu pokazuje aluminij u podzemnom dijelu $245,521 \mu\text{g g}^{-1}$, a s obzirom da biljka nije pokazala nikakve znakove fitotoksičnosti moglo bi se zaključiti kako se radi o hipertolerantnoj biljci, ako ne i o hiperakumulatoru, što je potrebno dodatno istražiti.

Ključne riječi: *Diplotaxis tenuifolia* L. DC., uskolisni dvoredac, teški metali

Rad sadrži: 30 stranica, 16 slika, 4 tablice, 18 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Miće Jakić	predsjednik
2. Doc. dr. sc. Franko Burčul	član
3. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek	član-mentor

Datum obrane: 28. rujna 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split

Faculty of Chemistry and Technology Split

Undergraduate study of Chemical Technology, Orientation: Chemical engineering

Scientific area: Technical sciences

Scientific field: Chemical engineering

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 3.

Mentor: Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor

Technical assistance:

DISTRIBUTION OF HEAVY METALS IN PERENNIAL WALL-ROCKET (*DIPLLOTAXIS TENUIFOLIA* L. DC.)

Matej Ercegović, 1256

Abstract: In this bachelor thesis, concentrations of selected heavy metals (zinc, iron, manganese, nickel, copper, cadmium, lead and aluminum) were determined in perennial wall-rocket (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.) which was collected in September 2017, on the field behind the Faculty of Chemistry and Technology building. The perennial wall-rocket was divided into two parts: the underground part (root) and aerial part (leaves, flower, stem). Concentrations of heavy metals in solutions of the perennial wall-rocket were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Based on the values obtained it can be noticed that concentrations of cadmium, nickel, aluminum, iron and manganese were higher in the underground part, while zinc, lead and copper showed higher concentrations in the aerial parts of the plant resulting from root translocation. Toxic cadmium showed the lowest measured concentration in the aerial part ($0.053 \mu\text{g g}^{-1}$) and twice the higher concentration in the underground part of the plant ($0.112 \mu\text{g g}^{-1}$) and is within the permissible concentrations. The highest concentration of $245.521 \mu\text{g g}^{-1}$ was measured for aluminum in the underground part of the perennial wall-rocket, and given that the plant did not show any signs of phytotoxicity it could be concluded that it may be a hypertolerant plant, if not the hyperaccumulator, which should be further investigated.

Keywords: *Diplotaxis tenuifolia* L. DC., perennial wall-rocket, heavy metals

Thesis contains: 30 pages, 16 pictures, 4 tables, 18 literary references

Original in: Croatian

Defence Committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. Miće Jakić, PhD, assistant prof. | chair person |
| 2. Franko Burčul, PhD, assistant prof. | member |
| 3. Mario Nikola Mužek, PhD, assistant prof. | supervisor |

Defence date: September 28th, 2018.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju
Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maria Nikole
Mužeka u razdoblju od listopada 2017. do rujna 2018. godine.*

**Rad je financiran od Hrvatske zaklade za znanost projektom BioSMe
(IP-2016-06-1316).**

Zahvala

Zahvaljujem se dr. sc. Dariu Omanoviću, znanstvenom savjetniku, na stručnoj pomoći i savjetima.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Sabrati uskolisni dvoredac (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.).
- Podijeliti uskolisni dvoredac na dva dijela: nadzemni i podzemni dio.
- Pripremiti otopine za određivanje koncentracije odabranih teških metala.
- Usporediti sadržaj metala u nadzemnom i podzemnom dijelu biljke.

SAŽETAK

U ovom završnom radu određene su koncentracije odabranih teških metala (cink, željezo, mangan, nikal, bakar, kadmij, olovo i aluminij) u uskolisnom dvoredcu (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.) koji je sabran u rujnu 2017., na polju iza zgrade Kemijsko-tehnološkog fakulteta. Uskolisni dvoredac je podijeljen na dva dijela: podzemni (korijen) i nadzemni (listovi, cvijet, stabljika). Koncentracije teških metala u otopinama uskolisnog dvoredca su određene pomoću spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). Na temelju izmjerenih vrijednosti može se uočiti da su koncentracije kadmija, nikla, aluminija, željeza i mangana više u podzemnim dijelovima biljke, dok cink, olovo i bakar pokazuju više koncentracije u nadzemnim dijelovima biljke što je posljedica translokacije iz korijena. Toksični kadmij pokazuje najnižu izmjerenu koncentraciju ($0,053 \mu\text{g g}^{-1}$) u nadzemnom i dvostruko višu koncentraciju ($0,112 \mu\text{g g}^{-1}$) u podzemnom dijelu biljke i nalazi se u okviru dopuštenih koncentracija. Najveću koncentraciju u uskolisnom dvoredcu pokazuje aluminij u podzemnom dijelu $245,521 \mu\text{g g}^{-1}$, a s obzirom da biljka nije pokazala nikakve znakove fitotoksičnosti moglo bi se zaključiti kako se radi o hipertolerantnoj biljci, ako ne i o hiperakumulatoru, što je potrebno dodatno istražiti.

Ključne riječi: *Diplotaxis tenuifolia* L. DC., uskolisni dvoredac, teški metali

SUMMARY

In this bachelor thesis, concentrations of selected heavy metals (zinc, iron, manganese, nickel, copper, cadmium, lead and aluminum) were determined in perennial wall-rocket (*Diploaxis tenuifolia* L. DC.) which was collected in September 2017, on the field behind the Faculty of Chemistry and Technology building. The perennial wall-rocket was divided into two parts: the underground part (root) and aerial part (leaves, flower, stem). Concentrations of heavy metals in solutions of the perennial wall-rocket were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Based on the values obtained it can be noticed that concentrations of cadmium, nickel, aluminum, iron and manganese were higher in the underground part, while zinc, lead and copper showed higher concentrations in the aerial parts of the plant resulting from root translocation. Toxic cadmium showed the lowest measured concentration in the aerial part ($0.053 \mu\text{g g}^{-1}$) and twice the higher concentration in the underground part of the plant ($0.112 \mu\text{g g}^{-1}$) and is within the permissible concentrations. The highest concentration of $245.521 \mu\text{g g}^{-1}$ was measured for aluminum in the underground part of the perennial wall-rocket, and given that the plant did not show any signs of phytotoxicity it could be concluded that it may be a hypertolerant plant, if not the hyperaccumulator, which should be further investigated.

Keywords: *Diploaxis tenuifolia* L. DC., perennial wall-rocket, heavy metals

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	3
1.1. TEŠKI METALI.....	4
1.1.1. UTJECAJ TEŠKIH METALA NA OKOLIŠ	4
1.2. HIPERAKUMULATORske BILJKE	5
1.2.1. BIOAKTIVACIJA METALA U TRAGOVIMA U RIZOSFERI.....	8
1.2.2. USVAJANJE I TRANSPORT TEŠKIH METALA KROZ BILJKU	8
1.2.3. DETOKSIKACIJA HIPERAKUMULATORA OD TEŠKIH METALA.....	10
1.2.4. ODVAJANJE METALA U VAKUOLAMA	12
1.3. OBRAMBENI MEHANIZMI HIPERAKUMULATORSKIH BILJAKA ..	13
1.4. USKOLISNI DVOREDAC (<i>DIPLLOTAXIS TENUIFOLIA</i> L. DC.).....	14
2. EKSPERIMENTALNI DIO	16
2.1. BILJNI MATERIJAL	17
2.2. INSTRUMENTI.....	19
2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA.....	20
3. REZULTATI I RASPRAVA	22
4. ZAKLJUČAK	26
5. LITERATURA.....	29

UVOD

Ljudske potrebe i djelatnosti kao što su industrija, poljoprivreda, urbanizacija imaju velikog utjecaja na okoliš kroz duži vremenski period. Iskorištavanjem prirodnih resursa i gospodarskim djelovanjem čovjek generira velike količine štetnih tvari (miješani otpad, teški metali, pesticidi, naftni ugljikovodici, freoni, policiklički aromatski ugljikovodici, itd.) nekontrolirano ih ispuštajući u prirodne recipijente (voda, tlo, zrak). Priroda se može braniti dok se ne prekorači kapacitet određenog ekosustava nakon čega nema povratka na početno stanje. Jedne od najštetnijih tvari za okoliš su teški metali. Teški metali su definirani kao metali s gustoćom većom od 5 g cm^{-3} koji izazivaju ozbiljne toksikološke simptome i pri manjim koncentracijama. Neki metali i metaloidi su neophodni za rast i razvoj živih organizama, a nazivaju se esencijalnim elementima (selen, cink, željezo, kalcij) dok se neesencijalnim elementima smatraju oni elementi koji djeluju štetno na živa bića pri relativno manjim koncentracijama (kadmij, arsen, olovo, živa). Određene teške metale (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn) biljke koriste za normalan rast i metabolizam. Ukoliko koncentracija tih metala prijeđe najvišu dopuštenu koncentraciju tada dolazi do toksičnog djelovanja teškog metala na biljku kao i na tlo oko biljke (smanjenje ploda, skraćivanje korijena, smanjen prinos i kvaliteta proizvoda, smanjenje poljoprivredno obradive površine). Tla koja su kontaminirana teškim metalima mogu se povratiti na početno stanje podvrgavanjem različitim kemijskim, fizičkim i biološkim operacijama. Fizički i kemijski tretmani tla uzrokuju ireverzibilne promjene tla vraćajući sve potrebne funkcije tla osim poljoprivredne svrhe. Zbog visokih troškova tih tretmana javila se ideja za razvojem novih ekonomičnijih i učinkovitijih tehnika sanacije bez utjecaja na plodnost tla. Fitoremedijacija se pokazala pogodnom metodom za uklanjanje teških metala iz tla preko biljaka. Fitoremedijacija uključuje upotrebu biljaka u uklanjanju (fitoekstrakcija i fitovolatizacija), prijenosu, stabilizaciji i/ili degradaciji (fitoimobilizacija i fitostabilizacija) kontaminanata u tlu, sedimentu ili vodi. Fitoekstrakcija je metoda kojom se kontaminirajući metali iz tla korijenskim sustavom biljke prenose iz tla u biljku, a od tuda translociraju u površinske dijelove biljke. Takve biljke se nazivaju hiperakumulatorima jer imaju sposobnost hiperakumulacije teških metala pri relativno visokim koncentracijama bez primjetnih toksičnih simptoma netolerancije. Fitoekstrakcija nudi niz pozitivnih učinaka kao što su otpornost biljaka na bolesti, pesticide kao i "ometanje" prirodnih neprijatelja.^{1,2}

1. OPĆI DIO

1.1. TEŠKI METALI

Teški metali su glavna skupina anorganskih onečišćivača. Znatno velike površine zemljišta su kontaminirane teškim metalima zbog korištenja mulja ili općinskog komposta, pesticida, gnojiva, emisija od spalionica komunalnog otpada, ispušnih plinova automobila, metalurške industrije. Iako se teški metali nalaze u zemljinoj kori oni mogu biti izuzetno toksični ako prijeđu maksimalno dopuštenu koncentraciji ili prijeđu u toksičan oblik. Trovanje tla teškim metalima može rezultirati degradacijom kakvoće tla, smanjivanjem prinosa usjeva, lošom kakvoćom poljoprivrednih proizvoda kao i opasnosti za zdravlje čovjeka i ekosustav. U prirodi postoje biljke koje imaju sposobnost akumuliranja teških metala unutar svoje strukture. Relativno mala grupa hiperakumulatorskih biljki je sposobna izolirati teške metale u vlastitom tkivu pri većim koncentracijama. Zadnjih godina većina znanstvenih istraživanja je usmjerena prema shvaćanju fizioloških mehanizama unosa i transporta teških metala u biljku.¹

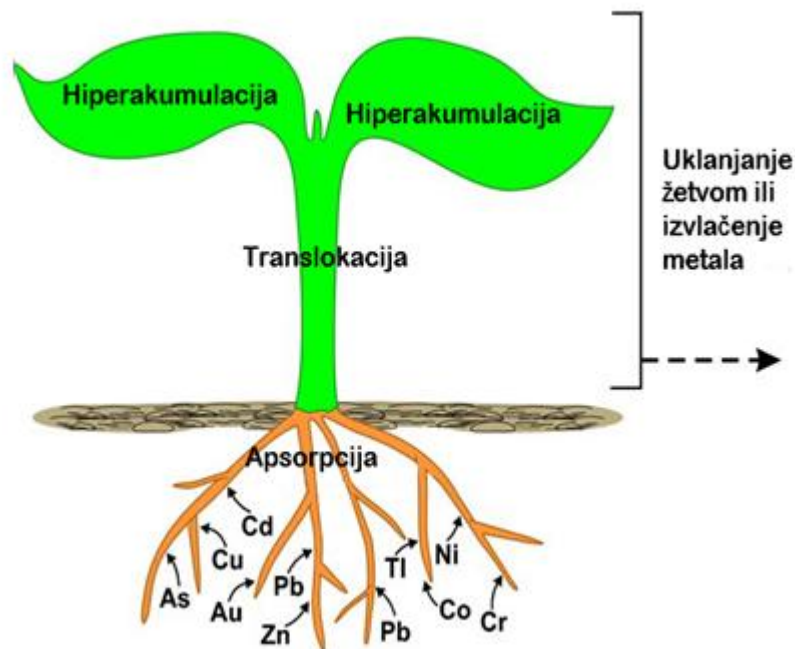
1.1.1. UTJECAJ TEŠKIH METALA NA OKOLIŠ

Iako određena tla zbog prirodnih utjecaja imaju povećanu količinu teških metala ipak najveći štetni utjecaj na okoliš ima čovjek sa svojim djelovanjem. Teški metali se u okoliš unose kroz duži vremenski period stoga njihov utjecaj na okoliš ima dugoročne posljedice. Najčešći metali i metaloidi koji se nalaze u zagađenom tlu su: arsen (As), kadmij (Cd), krom (Cr), bakar (Cu), olovo (Pb), živa (Hg), selenij (Se), srebro (Ag), cink (Zn) i nikal (Ni). Ostali malo manje češći zagađivači su stroncij (Sr), mangan (Mn), kobalt (Co), cezij (Cs) i uran (U). Procjenjuje se da zadržavanje teških metala u tlu traje od 150 do 5000 godina i zabilježeno je da visoka koncentracija zagađivača može opstati i do 150 godina od primjene.² Teški metali su toksični za čovjeka i ekosustav. Mogu se akumulirati u tijelu životinje koja ulazi u hranidbeni lanac te konačno doći do čovjeka. Akumuliranjem teških metala u tijelu dolazi do oštećenja DNK što stvara mutagene efekte koji mogu izazvati različite vrste kancerogenih i drugih teških oboljenja. Neki se metali u prirodi mogu pojaviti kao radioaktivni izotopi (²³⁸U, ¹³⁷Cs, ²³⁹Pt, ⁹⁰Sr) što može uvelike povećati zdravstveni rizik.²

1.2. HIPERAKUMULATORNE BILJKE

Hiperakumulacija podrazumijeva sposobnost biljnih vrsta da rastu na metalurškom tlu i da akumuliraju iznenađujuće velike količine teških metala u svoje organe bez pojave fitotoksičnosti.

U 19. st. Baumann je identificirao biljke koje mogu usvojiti izuzetno velike količine cinka. Minguzzi i Vergnano su identificirali biljke koje imaju sposobnost hiperakumulacije do 1% u izdanku biljke. Nakon tih otkrića provedeno je mnogo istraživanja zbog razjašnjavanja fiziologije i biokemije teških metala prilikom akumulacije u biljkama. Konačni cilj je bio pronaći tehnologiju koja će se koristiti za saniranje kontaminiranih voda i zemljišta. Današnji najekonomičniji i najučinkovitiji način za uklanjanje teških metala je fitoremedijacija. Fitoremedijacija (slika 1.1.) je metoda remedijacije, sanacije, čišćenja tla (vode, odnosno zraka) pomoću biljaka. Takve biljke imaju sposobnost akumuliranja štetnih tvari (teških metala) unutar svojih tkiva pri čemu uklanjaju zagađivače iz tla. Sakupljanjem stabljika biljki dolazi do odlaganja ogromnih količina toksičnih teških metala uklonjenih iz tla (saniranje tla) ili se metali izdvajaju iz stabljika kao vrijedne sirovine.³



Slika 1.1. Fitoremedijacija teških metala putem hiperakumulatora¹

Tehnologije fitoremedijacije mogu se koristiti za pohranjivanje (fitoimobilizacija i fitostabilizacija) ili uklanjanje (fitoekstrakcija i fitovolatizacija) štetne tvari. Svaka od četiri navedene metode ukazuje na različit mehanizam saniranja onečišćenog tla teškim metalima:³

- Fitostabilizacija – metoda u kojoj se biljkama stabilizira onečišćivač na način da se korijenskim sustavom metal zadrži na lokaliziranom području.
- Fitofiltracija – metoda kojom se biljkama vrši pročišćavanje u vodenom okolišu.
- Fitovolatizacija – korištenje biljaka za ekstrakciju metala iz tla i oslobađanje u atmosferu u hlapivoj fazi.
- Fitoekstrakcija – biljke apsorbiraju metale iz tla te ih translociraju u nadzemne organe gdje se metal pohranjuje do žetve.

Biljke za fitoremedijaciju trebaju zadovoljiti nekoliko kriterija:²

- trebaju biti brzo rastuće,
- imati veliku biomasu,
- imati složen sustav korijenja,
- trebaju biti jednostavne za žetvu,
- imati mogućnost akumuliranja i/ili toleriranja teških metala u dijelovima koji se mogu sakupljati.

Hiperakumulatorske biljke imaju sposobnost akumuliranja teških metala u svojim organima. Za razliku od hiperakumulatorskih biljki, nehiperakumulatorske biljke zadržavaju većinu teških metala iz tla u stanicama korijena. Takve biljke uklanjaju metale detoksikacijom u citoplazmi na način da tvore metalne komplekse ili ih pohranjuju u vakuole. Teški metali kod akumulatorskog bilja se ne zadržavaju u korijenju već se translociraju na izdanke biljke i akumuliraju u nadzemnim organima. Takve biljke imaju kapacitet akumulacije 100-1000 puta veći nego neakumulatorske biljke. Neke biljke imaju sposobnost hipertolerancije što označava izbjegavanje trovanja biljke teškim metalima. Hiperakumulatori teških metala se pojavljuju u tlima tropske i umjerene zone. Nalaze se u vegetacijama regija Južne Afrike, Nove Kaledonije, Južne Amerike, Sjeverne Amerike i Europe. U početku se pojam "hiperakumulator" koristio za biljke koje imaju sposobnost akumulacije više od 1 mg g⁻¹ nikla u izdanku. Prema

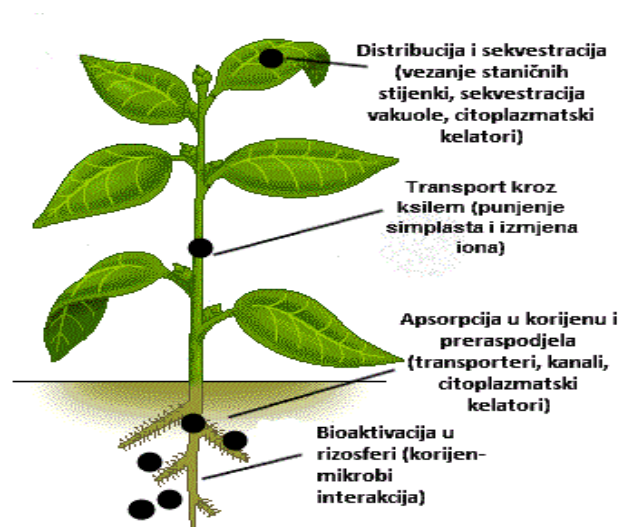
kriteriju specifične fitotoksičnosti hiperakumulatori su biljke koje su posađene na prirodnom tlu i koncentriraju:¹

- $>10 \text{ mg g}^{-1}$ (1 %) Mn ili Zn,
- $>1 \text{ mg g}^{-1}$ (0,1 %) As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se ili Tl,
- $>0,1 \text{ mg g}^{-1}$ (0,01 %) Cd,

u organima izdanka bez fitotoksičnog oštećenja. Najveći broj hiperakumulatora je pronađeno za Ni (više od 75 %), a mali broj hiperakumulatora (samo 5 vrsta do danas) je pronađeno za Cd koji je jedan od najotrovnijih teških metala. Hiperakumulacija se sastoji od nekoliko koraka kao što su:¹

- transport metala preko plazmatske membrane stanica korijena,
- punjenje ksilema (transportno tkivo biljke) i translokacija,
- detoksikacija i raspoređivanje metala po cijeloj biljci i svim stanicama.

Do sada je otkriveno oko 400 vrsta biljki sa sposobnošću hiperakumulacije metala. Značajan broj biljki može akumulirati i više elemenata. Većina biljnih vrsta ima sposobnost akumuliranja nikla, a neke od njih također akumuliraju kobalt, bakar, cink te mangan. Sposobnost akumulacije u najvećoj mjeri određuje kapacitet unosa elementa i unutarstanični transport biljke. Glavni procesi za koje se smatra da utječu na akumulaciju metala u biljci prikazani su na slici 1.2.²



Slika 1.2. Glavni procesi uključeni u hiperakumulaciju metala u biljci⁴

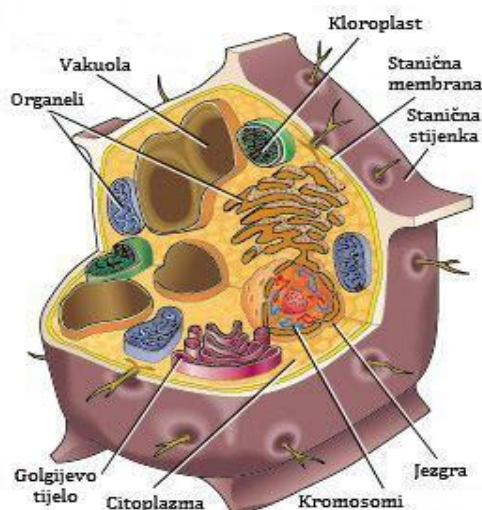
1.2.1. BIOAKTIVACIJA METALA U TRAGOVIMA U RIZOSFERI

Većina teških metala ima slabu pokretljivost u tlu i ne apsorbiraju se lako u korijenu. Unos teških metala u biljku ovisi o pH vrijednosti tla, sadržaju vode i organskih tvari, mikroorganizmima kao i o stupnju rasutosti tla. Interakcija tla, mikroba i biljnog korijena može poboljšati biodostupnost metala u rizosferi (biološki najaktivniji dio tla koji se nalazi uz korijen) putem lučenja protona, organskih kiselina, aminokiselina, enzima i fitokelatina. Dokazano je da izlučivanje organskih kiselina može metabolizirati teške metale i poboljšati usvajanje korijena. Rizosfera je područje koje je bogato sojevima mikroorganizama (bakterije i mikorizne gljive). Takvi mikroorganizmi uvelike pridonose poboljšanom usvajanju teških metala u korijenju. Neki od mikroorganizama kataliziraju reakcije redukcije koje uvelike utječu na obradivost tla. Npr. soj *Xanthomonas maltophyla* katalizira reakciju redukcije i precipitacije Cr^{6+} u Cr^{3+} koji tvore manje štetne spojeve te je bolje ekološko rješenje. Također navedeni soj može transformirati i druge otrovne teške metale u manje opasne spojeve uključujući (Pb^{2+} , Hg^{2+} , Au^{3+} , Te^{4+} , Ag^{+}) kao i anione SeO^{4-} . Gljivične simbiotičke asocijacije pokazuju potencijal za poboljšanje apsorpcije korijena i stimuliranje prinosa hranjivih tvari i metalnih iona u biljku.¹

1.2.2. USVAJANJE I TRANSPORT TEŠKIH METALA KROZ BILJKU

Razumijevanje procesa transporta metala kroz biljku je neophodno za formuliranje učinkovitih strategija za genetski razvoj biljke koja će moći akumulirati određene teške metale. U transportu metala sudjeluju proteini i intracelularna mjesta visokog afiniteta vezanja. Unos metala se vrši preko plazmatske membrane. Transport uključuje metal-ATP-aze (adenozintrifosfataza) koje su uključene u potpunu homeostazu biljke i toleranciju na teški metal. Prijenosnici metala u ovom slučaju imaju naziv ATP-aze tipa CPx i nalaze se u velikom broju organizama i uključeni su u transport esencijalnih kao i potencijalno toksičnih metala kao što su Cd, Cu, Zn, Pb preko membranskih stanica. Mogu biti prisutne u plazmatskim membranama i funkcionirati kao eflux pumpe koje uklanjaju potencijalno toksične metale iz citoplazme te su odgovorne za odijeljivanje teških metala, npr. sekvestracijom u vakuolama, golgijevom tijelu ili endoplazmatskom retikulumu u biljnoj stanici (slika 1.3.). Odgovarajući geni (tablica 1.1.) u biljci kodiraju

proteine, prijenosnike metala. Npr. CDF proteini (engl. *cation diffusion facilitator*) su prvenstveno uključeni u prijenos Co, Cd, Zn u bakterijama i nekim eukariotima. U genomu *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. 12 nukleotida ima namjenu dekodiranja odgovarajuće skupine metal-ion transportera.²

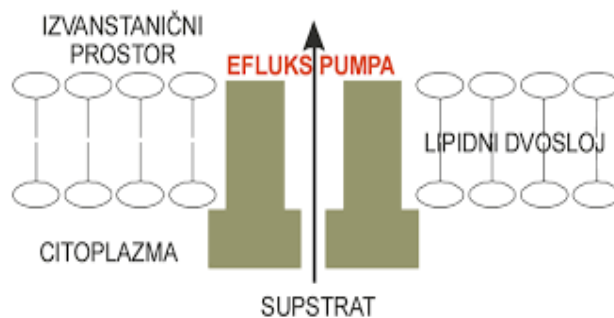


Slika 1.3. Građa biljne stanice⁵

Tablica 1.1. Izolirani geni iz biljke uključeni u prijenos metala²

Gen	Biljka	Elementi
OsNramp1	Riža	Mn
OsNramp2	-	-
Cpx-tip ATP-aze	<i>Arabidopsis</i>	Cu, Zn, Cd, Pb
Nramp	<i>Arabidopsis</i> , riža	Cd, dvovalentni metali
CDF skupina proteina	<i>Arabidopsis</i>	Co, Cd, Zn
ZIP skupina (ZAT 1, ZAT 2, ZAT3)	<i>Arabidopsis</i> <i>Thlaspi caerulescens</i>	Cd, Mn, Zn

Smatra ih se općenito kationskim efluks prijenosnicima (slika 1.4.) jer proteini općenito sudjeluju u istjecanju kationa iz citoplazmatskog dijela, bilo preko plazmatske membrane pa izvan stanice ili preko endomembrane u unutrašnje dijelove stanice, poput vakuola.²



Slika 1.4. Shematski prikaz djelovanja kationskog fluksa⁶

Da bi se povećao unos metala u biljku nužno je:²

- povećati broj mjesta za vezanje metala,
- omogućiti promjenu specifičnih svojstava proteina koji sudjeluju u usvajanju metala,
- kapacitet odvajanja bi se mogao poboljšati povećanjem broja unutarstaničnih veznih mjesta visokog afiniteta ili povećanjem prijenosa preko organela.

1.2.3. DETOKSIKACIJA HIPERAKUMULATORA OD TEŠKIH METALA

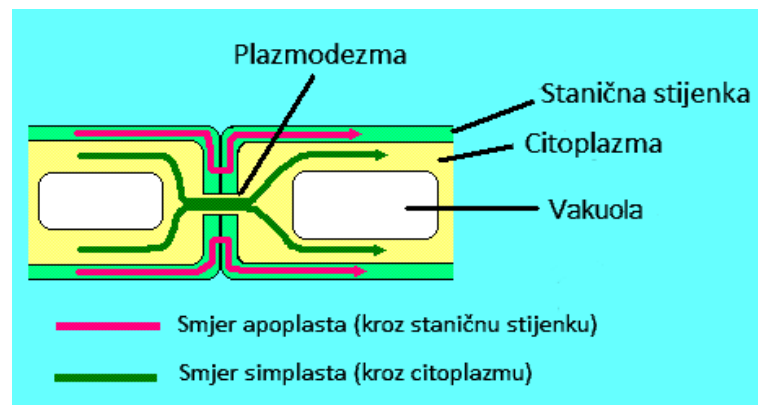
Hiperakumulatorske biljke detoksiciraju na način da tvore različite metalne komplekse u citoplazmi ili ih pohranjuju u vakuolama. Hiperakumulatori brzo i učinkovito translociraju i prenose elemente preko ksilema.

Opći mehanizam za detoksikaciju sastoji se od:¹

- distribucije metala za apoplastna tkiva kao što su trihomi i stanične stijenke,
- kelatiranje metala ligandima,
- odvajanja kompleksa metal-ligand u vakuoli.

Unutar korijena hiperakumulatora nalaze se velike količine malih organskih molekula koje su dostupne za kompleksiranje iona metala (ligandi). Uloga kelatora odnosno kompleksirajućeg sredstva još nije potpuno istražena. Stanične stijenke imaju važnu

ulogu u detoksikaciji metala u biljkama jer je primjerice oko 60-70% akumuliranog nikla ili cinka distribuirano u staničnim stijenka apoplasta (prostor izvan plazmatske membrane kroz koji difundira materijal, za razliku od simplasta kod kojeg materijal difundira unutar plazmatske membrane, slika 1.5.). Kompleksiranje s ligandima može biti izvanstanično (mehanizam tolerancije Al efluksom organskih kiselina poput maleata i citrata iz korijena) i unutarstanično (kompleksiranje uključuje peptidne ligande poput metalotioneina i fitokelatina). Maleati i citrati tvore komplekse samo u kiselom mediju. Metalotioneini su bogati cisteinom, u tijelu sisavaca su identificirani kao Cd-vezajući peptidi. Nekoliko gena metalotioneina identificirano je i u biljkama. Metalotioneini su genetski kodirani, fitokelatini su enzimski sintetizirani. Fitokelatini su pronađeni u širokom rasponu vrsta uključujući jednosupnice, dvosupnice, golosjemenjače i alge.²



Slika 1.5. Prikaz razlike između apoplasta i simplasta⁷

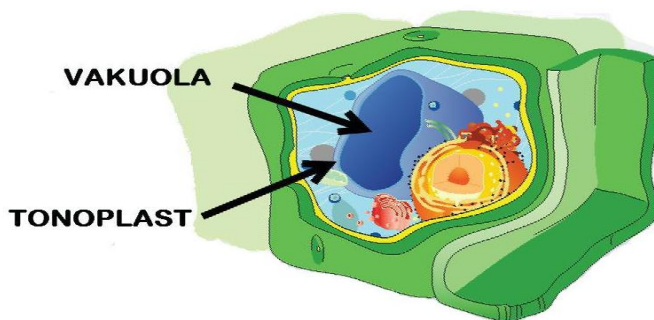
Većina dosadašnjih znanja o fitokelatinima su rezultat molekularno-genetičkih istraživanja kvasca i *Arabidopsis*. Fitokelatini se brzo induciraju u stanicama i tkivima (tablica 1.2.) izloženim širokom rasponu metalnih iona, kao što su Cd, Ni, Cu, Zn, Ag, Hg i Pb, i aniona, kao što su arsenat i selenit. Sastoje se od samo tri aminokiseline, glutamina (Glu), cistina (Cys) i glicina (Gly).²

Tablica 1.2. Distribucija teških metala na razini tkiva i stanice hiperakumulatora²

Tkivo/organ	Element	Vrsta biljke
trihome	Zn, Cd Cd Ni	<i>Arabidopsis halleri</i> L. <i>Brassica juncea</i> L. <i>Alyssum lesbiacum</i> (Candargy) Rech. f.
epidermalno tkivo	Zn Zn Ni	<i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl <i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl <i>Alyssum</i>
mezofil	Zn Cd	<i>Arabidopsis halleri</i> L. <i>Sedum alfredii</i> H.
stanična stijenka	Ni Cu Zn Pb	<i>Thlaspi goesingense</i> Halácsy <i>Elsholtzia splendens</i> Nakai ex F. Maek <i>Sedum alfredii</i> H. <i>Sedum alfredii</i> H.
vakuola	Zn Zn Cd Zn	<i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl <i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl <i>Sedum alfredii</i> H. <i>Sedum alfredii</i> H.

1.2.4. ODVAJANJE METALA U VAKUOLAMA

Vakuole se smatraju mjestima u kojima se skladište metali. Metali su unutar stanice vezani u kompleksu (npr. fitokelatin-metal) odakle se prenose u vakuole putem tonoplastnih proteinskih transportera (slika 1.6.). Općenito najčešća kompleksirajuća sredstva za metalne ione u vakuolama su organske kiseline, međutim sposobnost vezivanja za metalne ione su pokazali i antocijanini za koje se smatra da sudjeluju u sekvestraciji metala.²

**Slika 1.6.** Prikaz vakuole i vakuoline membrane (tonoplast)⁸

1.3. OBRAMBENI MEHANIZMI HIPERAKUMULATORSKIH BILJAKA

Općenito se smatra da hiperakumulatori usvajaju teške metale u velikim koncentracijama da bi se zaštitili od prirodnih neprijatelja kao što su patogeni organizmi i biljojedi. Međutim, prilikom eksperimentiranja s navedenim organizmima došlo je do različitih rezultata. Dobiveni podatci ovisili su o različitoj koncentraciji metala i eksperimentalnim uvjetima. Na temelju dobivenih rezultata znanstvenici su pokušali objasniti obrambene mehanizme hiperakumulatora. Prvi mehanizam objašnjava hipotezu da se biljojedi hrane selektivno odnosno samo biljnim tkivima s malom količinom metala (elementarna zaštita). Drugi mehanizam označava "toleranciju" prema kojoj fiziološke prilagodbe biljojeda omogućavaju hranjenje s tkivima visokog sadržaja teških metala. Stoga hiperakumulatorske biljke mogu kroz svoju toksičnost djelovati protiv prirodnih neprijatelja što im ne jamči apsolutnu sigurnost. Hiperakumulatorske biljke osim elementarne zaštite mogu posjedovati i organsku zaštitu preko sekundarnih metabolita. Za razliku od elementarne (metalne) zaštite koja apsorbira metale iz tla, organska obrana metabolizira sekundarne metabolite što zahtjeva veću potrošnju energije biljke. Zajednički obrambeni efekt postoji između elementarnih i organskih biljnih spojeva, koji mogu međusobno djelovati i poboljšati ukupnu biljnu obranu. Primjerice teški metal i određeni organski metaboliti tvore zaštitu od biljojeda kod Ni-hiperakumulatora *Streptanthus polygaloides* A. Gray. Nužno je u budućnosti istražiti utjecaj više različitih metala i organskih spojeva na zajednički obrambeni učinak.¹

1.4. USKOLISNI DVOREDAC (*DIPLLOTAXIS TENUIFOLIA* L. DC.)

Hrvatski naziv ove biljke je uskolisni dvoredac (slika 1.7.). Uskolisni dvoredac je trajna zeljasta biljka iz porodice kupusnjača (Brassicaceae). Rasprostranjena je u srednjoj i južnoj Europi, zapadnoj Aziji i sjevernoj Africi (mediteranska biljka). Raste na kamenitim, šljunkovitim ili pješčanim područjima uz prometne putove, obale rijeka, uz more. Može se pronaći od nizinskog područja do 1000 m nadmorske visine. Može rasti na kiselom, neutralnom i lužnatom tlu pri svim pH područjima. Vrsta je dvospolca (ima ženske i muške organe) koju oprašuju insekti.⁹ U tablici 1.3. prikazana je taksonomija biljke.

Tablica 1.3. Taksonomija uskolisnog dvoredca¹⁰

Taksonomija	Naziv
Red	Brassicales
Porodica	Brassicaceae
Rod	Diplotaxis
Vrsta	<i>Diplotaxis tenuifolia</i> L. DC.



Slika 1.7. Uskolisni dvoredac, autor fotografije: Semir Maslo¹⁰

Stabljika uskolisnog dvoredca može narasti do 60 cm visine. Korijen je jako razgranat i snažan. Listovi su duguljasti, plavkasto-zeleni, kada se protrljaju razvijaju jak miris. Cvjetovi su mirisni i skupljeni u grozdaste cvatove na vrhovima stabljika, žute su boje i široki 1,5-3 cm. Cvatu od lipnja do listopada. Plod je do 3 cm duga komuška u kojoj se nalazi mnogo sitnih sjemenki koje su smještene u dva reda. Listovi su jestivi, beru se u proljeće i u rano ljeto. Okusom i mirisom su slični rukoli. Bogati su vitaminom C i karotenom.¹¹

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. BILJNI MATERIJAL

U eksperimentalnom dijelu rada korišten je uskolisni dvoredac (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.) (slika 2.1.) koji je podijeljen na dvije frakcije: podzemni dio (korijen) i nadzemni dio (list, stabljika i cvijet), slike 2.2. i 2.3. Biljka je sabrana u rujnu 2017., u polju iza zgrade Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.



Slika 2.1. Uskolisni dvoredac



Slika 2.2. Podzemni dio (korijen)



Slika 2.3. Nadzemni dio (stabljika, listovi, cvijet)

2.2. INSTRUMENTI

U radu su korišteni sljedeći instrumenti:

- Peć Demiterm Easy (slika 2.4.),



Slika 2.4. Peć

- Maseni spektrometar visoke rezolucije s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS) Element 2, Thermo Finnigan, Bremen, Germany (slika 2.5.)



Slika 2.5. HR ICP-MS¹²

2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA

Uskolisni dvoredac se najprije podijeli na nadzemni dio (stabljika, listovi, cvijet) te podzemni dio (korijen). Dobivene frakcije se isperu u destiliranoj vodi te ostave sušiti nekoliko dana na sobnoj temperaturi. Nakon što se dobila odgovarajuća suhoća uzoraka, što je utvrđeno promjenom boje i opipom uzorka biljke, uskolisni dvoredac se usitni te se od svake frakcije uzme po 1 gram uzorka i premjesti u lončiće za žarenje (slika 2.6.) i prenese u peć za žarenje (slika 2.7.).

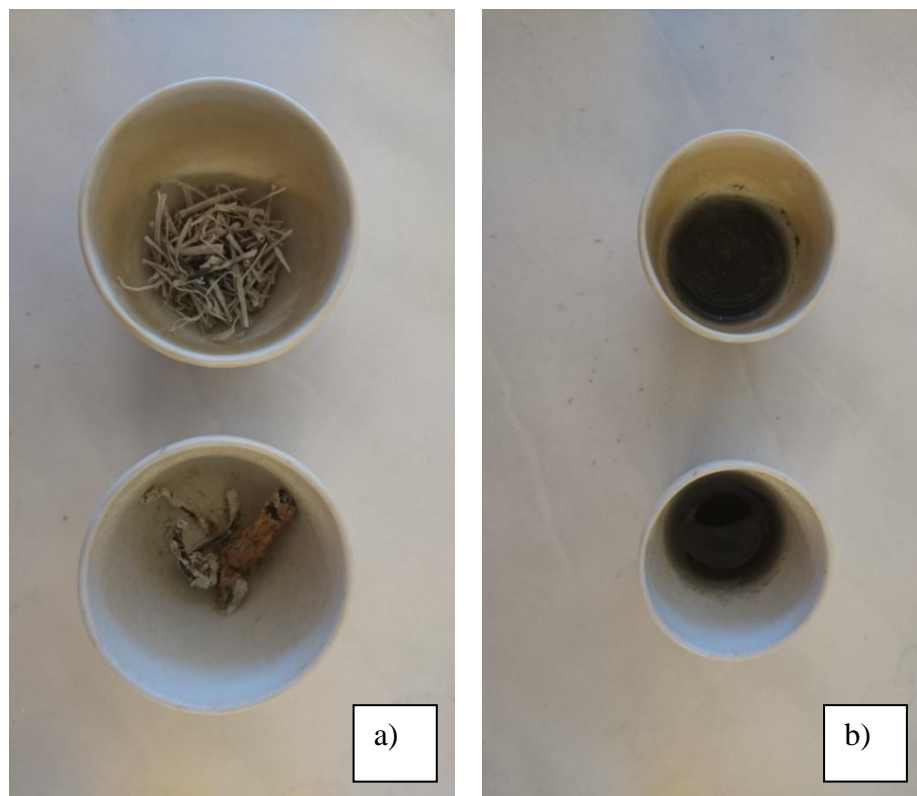


Slika 2.6. Pripremljeni uzorci



Slika 2.7. Uzorci pripremljeni za žarenje u peći na 500°C

Uzorci se spaljuju preko noći na temperaturi od 500 °C. Nakon što se izvade iz peći i ohlade uzorke je potrebno otopiti u 5 mL 20 % HCl (slika 2.8.). Otopinu zagrijati po potrebi kako bi se sav ostatak otopio.



Slika 2.8. Uzorci nakon žarenja: a) uzorci odmah nakon žarenja,
b) uzorci otopljeni u 20% HCl

Dobivena otopina se profiltrira (slika 2.9.), a dobiveni filtrat je potrebno dopuniti do oznake ultračistom vodom te dobro promiješati. Ovakvo pripremljene otopine uzoraka su spremne za daljnju analizu.



Slika 2.9. Filtriranje uzoraka

Koncentracije teških metala (cink, željezo, mangan, nikal, bakar, kadmij, olovo i aluminij) u otopinama uskolisnog dvoredca su određene pomoću masenog spektrometra visoke rezolucije s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS). Analiza je izvršena na Institutu Ruđer Bošković.

3. REZULTATI I RASPRAVA

U okviru ovog završnog rada izmjerene su koncentracije nekih od osnovnih metala koji su bitni za rast i razvoj biljaka, a to su: cink, željezo, mangan, nikal, bakar te metali koji mogu štetno djelovati na rast i razvoj biljaka, a to su kadmij, olovo i aluminij u različitim frakcijama uskolisnog dvoredca. Uskolisni dvoredac je podijeljen na nadzemni dio (stabljika, listovi, cvijet) te podzemni dio (korijen). U tablici 3.1. su prikazani eksperimentalni podatci dobiveni nakon analize otopina uskolisnog dvoredca spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS).

Tablica 3.1. Koncentracije teških metala u otopinama uskolisnog dvoredca

Frakcija	Koncentracija teškog metala ($\mu\text{g g}^{-1}$)							
	Zn	Fe	Mn	Ni	Cu	Cd	Pb	Al
Nadzemni dio	26,545	70,966	18,463	0,720	4,298	0,053	1,892	37,533
Podzemni dio	25,797	192,338	38,437	1,174	3,055	0,112	0,696	245,521

Na temelju dobivenih eksperimentalnih podataka uočava se približna sličnost koncentracija cinka u nadzemnom i podzemnom dijelu biljke. Cink je važan makrohranjivi element biljke i njegova se koncentracija u literaturi kreće od 20 do 50 $\mu\text{g g}^{-1}$.¹³ Izmjerena vrijednost podzemnog i nadzemnog dijela biljke iznosi 25,797 $\mu\text{g g}^{-1}$ odnosno 26,545 $\mu\text{g g}^{-1}$ što označava približno podjednaku apsorpciju u podzemnom i nadzemnom dijelu biljke. Cink je jako bitan za razvoj biljke, a izmjerene vrijednosti ukazuju da je koncentracija cinka u dozvoljenim granicama u uskolisnom dvoredcu (nedostatak cinka može izazvati velike promjene u morfološkoj i anatomskoj građi biljke). Mala koncentracija cinka u tlu uzrokuje njegovu slabu pokretljivost kroz biljku. U slučaju visoke koncentracije cinka u tlu većinom se taloži u korijenu biljaka. Po svojoj prirodi, izaziva manji stupanj toksičnosti od bakra.¹⁴

Izmjerena koncentracija željeza u podzemnom dijelu biljke iznosi 192,338 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u nadzemnom dijelu biljke 70,966 $\mu\text{g g}^{-1}$. Koncentracija željeza odgovara prosječnoj koncentraciji za željezo u biljkama 50-300 $\mu\text{g g}^{-1}$ (može biti i do 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$).¹⁵

Koncentracija mangana u nadzemnom dijelu biljke iznosi 18,463 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u podzemnom 38,437 $\mu\text{g g}^{-1}$. Kod mangana je kao i kod željeza primijećeno bolje usvajanje u korijenu u odnosu na nadzemni dio. Biljke ga prosječno sadrže od 50 do 200 $\mu\text{g g}^{-1}$.¹⁶ Kod uskolisnog dvoredca uočava se malo odstupanje od prosječnih

koncentracija za mangan što se može pripisati ovisnosti sadržaja mangana o biljnoj vrsti kao i o biljnom organu (mjerjenja su provedena za nadzemni i podzemni dio biljke, ali ne za svaki organ pojedinačno; stabljika, listovi, cvijet). Mangan uz željezo sudjeluje u stvaranju klorofila stoga manjak mangana može dovesti do kloroze. Uskolisni dvoredac vizualno ne pokazuje nikakve simptome kloroze (žučkasto-zelenkasta boja listova uzrokovana manjkom mangana i željeza).¹⁷

Izmjerena koncentracija nikla u podzemnom dijelu biljke iznosi 1,174 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u nadzemnom dijelu biljke 0,720 $\mu\text{g g}^{-1}$ što odgovara graničnim vrijednostima koncentracije za nikal (0,1-5 $\mu\text{g g}^{-1}$).¹⁵ Iako nikal ima bolju pokretljivost kroz ksilem i floem od olova, ne pokazuje primjetna svojstva hiperakumulacije kod uskolisnog dvoredca.

Bakar pokazuje odstupanje od odgovarajućih koncentracija potrebnih za normalan rast i razvoj biljke (5 do 30 $\mu\text{g g}^{-1}$).¹⁵ Iako je koncentracija bakra u nadzemnom dijelu relativno mala 4,298 $\mu\text{g g}^{-1}$ (ukoliko je koncentracija bakra u listu manja od 4 $\mu\text{g g}^{-1}$ biljka ima manjak tog esencijalnog elementa što može uzrokovati uvenuće, smanjenje prinosa, uvijanje i odumiranje mladih listova) biljka ne pokazuje nikakve fitotoksične učinke.

Iznimno toksičan kadmij ima najnižu izmjerenu koncentraciju u nadzemnom dijelu 0,053 $\mu\text{g g}^{-1}$ i dvostruko veću koncentraciju u podzemnom dijelu biljke 0,112 $\mu\text{g g}^{-1}$ što ukazuje da je najveći dio kadmija ostao apsorbiran u korijenu. Koncentracija kadmija je prihvatljiva, kao kod većine biljnih vrsta ne prelazi koncentraciju od 1 $\mu\text{g g}^{-1}$.¹⁵

Olovo je iznimno toksičan element koji se akumulira u tijelu čovjeka kroz hranidbeni lanac. Izmjerena koncentracija olova u nadzemnom dijelu biljke iznosi 1,892 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u podzemnom 0,696 $\mu\text{g g}^{-1}$. Olovo je najvećim dijelom translocirano na listove i stabljiku što je u suprotnosti s očekivanim jer većina biljaka olovo akumulira u korijenu što vjerojatno predstavlja organske spojeve olova koji se lakše premještaju u nadzemne organe biljke. Prema fizionomiji uskolisnog dvoredca može se zaključiti da nema nikakvih primjetnih fitotoksičnih simptoma trovanja olovom (smanjen rast korijena i listova).

Aluminij pokazuje najveću koncentraciju od svih elemenata u podzemnom dijelu biljke 245,521 $\mu\text{g g}^{-1}$ vjerojatno zbog velike prisutnosti u tlu, a značajno manja količina 37,533 $\mu\text{g g}^{-1}$ se translocirala u nadzemne dijelove biljke (stabljika, listovi, cvijet). Aluminij najlakše toksično djeluje na korijen biljke što rezultira inhibiranjem rasta korijena blokirajući procese diobe stanica. Korijen postaje zakržljao i krhak, razvoj

korijenovih dlačica je slab, a korijenova kapa postane otečena i oštećena što u konačnici dovodi do lošijeg usvajanja iona i upijanja vode iz tla.¹⁸

4. ZAKLJUČAK

Spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) izmjerene su koncentracije određenih teških metala u uskolisnom dvoredcu (*Diplotaxis tenuifolia* L. DC.) sabranom u rujnu 2017., u polju iza zgrade Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu. S obzirom na rezultate može se zaključiti sljedeće:

- Najnižu koncentraciju u nadzemnom dijelu uskolisnog dvoredca pokazuju kadmij ($0,053 \mu\text{g g}^{-1}$) i nikal ($0,720 \mu\text{g g}^{-1}$).
- Najvišu koncentraciju u nadzemnom dijelu uskolisnog dvoredca pokazuju željezo ($70,966 \mu\text{g g}^{-1}$) i aluminij ($37,533 \mu\text{g g}^{-1}$).
- Najnižu koncentraciju u podzemnom dijelu biljke pokazuju vrlo toksični kadmij ($0,112 \mu\text{g g}^{-1}$) i olovo ($0,696 \mu\text{g g}^{-1}$) te se nalaze u dopuštenim koncentracijama toksičnog djelovanja.
- Najvišu koncentraciju u podzemnom dijelu biljke (korijenu) pokazuju aluminij ($245,521 \mu\text{g g}^{-1}$) i željezo ($192,338 \mu\text{g g}^{-1}$). S obzirom na toliko visoku izmjerenu koncentraciju aluminijsa, a koja nije ostavila nikakve znakove fitotoksičnosti na uskolisnom dvoredcu može se zaključiti kako se ova biljka u najmanju ruku može smatrati hipertolerantnom, ako ne i hiperakumulatorom.
- Olovo je najvećim dijelom translocirano u nadzemne dijelove ($1,892 \mu\text{g g}^{-1}$) uskolisnog dvoredca što je u suprotnosti s očekivanjem veće akumulacije u korijenu.
- Bakar i cink pokazuju relativno niske koncentracije iako su hranjivi elementi što može značiti da su slabije prisutni u tlu na kojem je rasla biljka, ali bez obzira na to uskolisni dvoredac vizualno ne pokazuje nikakve zamjetne promjene u morfologiji i strukturi.

- Mangan je jedini element koji pokazuje koncentracije u nadzemnom $18,463 \mu\text{g g}^{-1}$ i u podzemnom $38,437 \mu\text{g g}^{-1}$ dijelu uskolisnog dvoredca manju od prosječnih vrijednosti za biljke ($50\text{-}200 \mu\text{g g}^{-1}$), ali ne pokazuje nikakve vizualne fitotoksične simptome, kao što je pojava kloroze.
- Svi detektirani elementi osim mangana se nalaze unutar dopuštenih koncentracijskih granica za normalan rast i razvoj biljke.

5. LITERATURA

1. *N. Rasico, F. Navari-Izzo*, Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting?, *Plant Sci.* **180** (2011) 169-181.
2. *O. V. Sing, S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja, R. K. Jain*, Phytoremediation: an overview of metallion decontamination from soil, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **61** (2003) 405-412.
3. URL:https://bib.irb.hr/datoteka/582661.Hiperakumulatori_tekih_metala.pdf (13.9.2018.)
4. URL: <http://bebecorn.blogspot.com/2012/04/young-plant.html> (12.9.2018.)
5. URL:http://www.medioteka.hr/portal/ss_biologija2.php?ktg=11&pktg=&mid=18 (12.09.2018.)
6. URL:<http://biologija.unios.hr/webbio/wpcontent/uploads/2012/labs/poster08112012.pdf> (12.09.2018.)
7. URL:<http://www.futura-sciences.us/dico/d/botany-apoplast-50002223/> (11.09.2018.)
8. URL:<https://study.com/academy/lesson/tonoplast-definition-function.html> (13.09.2018.)
9. URL:<https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Diplotaxis+tenuifolia> (12.09.2018.)
10. URL:[https://hirc.botanic.hr/fcd/DetaljiFrame.aspx?IdVrste=3641&taxon=Diplotaxis+tenuifolia+\(L.\)+DC.](https://hirc.botanic.hr/fcd/DetaljiFrame.aspx?IdVrste=3641&taxon=Diplotaxis+tenuifolia+(L.)+DC.) (12.09.2018.)
11. URL:<https://www.plantea.com.hr/uskolisni-dvoredac/> (12.09.2018.)
12. URL:<https://www.irb.hr/Istrazivanja/Kapitalna-oprema/HR-ICPMS-maseni-spektrometar-visoke-rezolucije-s-induktivno-spregnutom-plazmom-Element-2-Thermo> (18.09.2018.)
13. URL: <http://www.buildmagazin.com/index2.aspx?fld=tekstovi&ime=bm1434.htm> (10.09.2018.)
14. *V. Vukadinović, Z. Lončarić*, Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 1998.
15. *T. Sofilić*, Ekotoksikologija, Sveučilište u Zagrebu, Metalurški fakultet, Sisak 2014.
16. URL:http://ishranabilja.com.hr/literatura/osnove_agroekologije/Biljna%20hraniva%20i%20toksichni%20elementi_AGEKO.pdf (12.9.2018.)
17. URL: <http://customers.hbci.com/~wenonah/min-def/index.html> (12.9.2018.)
18. *S. K. Panda, F. Baluska, H. Matsumoto*, Aluminum stress signaling in plants, *Plant Signal Behav.* **4** (2009) 592-597.