



YU ISSN 0352-1788  
УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

---

ЗБОРНИК РАДОВА  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ  
ФАКУЛТЕТА

27-28

СЕРИЈА ЗА БИОЛОГИЈУ

Главни и одговорни уредник  
Проф. др Душан Стевановић

Уредник  
Проф. др Живојин Гавриловић

Редакција  
Проф. др Радмила Ковачевић  
Проф. др Љиљана Вапа  
Проф. др Славка Гајин  
Проф. др Боровој Крстић  
Проф. др Верица Божић-Крстић  
Доц. др Зорица Свирчев

Нови Сад  
1999.

uđc 7755

UNIVERISTU OF NOVI SAD  
INSTITUTE OD BIOLOGY

---

REVIEW OF RESEARCH  
FACULTY OF SCIENCES

27-28

Инд. бр. 3788



BIOLOGY SERIES

Editor-in-Chief  
Prof. dr Dušan Stevanović

Editor  
Prof. dr Živojin Gavrilović

Redaction  
Prof. dr Radmila Kovačević  
Prof. dr Ljiljana Vapa  
Prof. dr Slavka Gajin  
Prof. dr Borivoj Krstić  
Prof. dr Verica Božić-Krstić  
Doc. dr Zorica Svirčev

Издаје: Природно-математички факултет, Институт за биологију  
Нови Сад, Трг Доситеја Обрадовића 2

Штампа: АД „Просвета“ Нови Сад, Стевана Сремца 13

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| Vučković M., Strajin D. i Radulović S.: Biljni pokrivač Novog Sada, – značajna komponenta kvaliteta životne sredine -----   | 5  |
| Krstić B., Boža P. Merkulov Lj., Krstić L. i Pajević S.: Morfo-anatomske i fiziološke karakteristike vrste <i>Vicia Villosa</i> Roth. (Fabales, Fabaceae) _ _                                     | 17 |
| Vapa Lj. i Županski V.: Varijabilnost Glu-1 lokusa pšenice ( <i>Triticum aestivum</i> L.) -----   | 26 |
| Svirčev Z. Davidović M.: Uticaj povišene temperature i UV zračenja na filamentozne azotofiksirajuće cianobakterije -----  | 31 |
| Boža P. Adamović D. Knežević A. i Verešbaranji I.: Upporedna mikromorfološka i biohemijska analiza semena četiri vrste roda <i>Oenothera</i> L. 1753 (Myrtales, Oenotheraceae) -----              | 40 |
| Andrić S., Kostić T., Lažetić B., Pekarić-Nad Kovačević R.: Efekat produženog izladanja mužjaka pacova 50 Hz magnetnom polju na steroidogeni kapacitet testisa i Leydigovih ćelija in vitro ----- | 46 |
| Simonović I., Matavulj M. i Šovljanski R.: Uticaj različitih doza pesticida karbarila na reproduktivne procese kod ženki pacova -----   | 51 |
| Kostić T., Andrić S., Kovačević R. Marić D.: Efekat kratkotrajne imobilizacije pacova na steroidogenezu Lajdigovih ćelija -----   | 58 |
| Pavlica T., Božić-Krstić V., Rakić R. i Savić M.: Bioantropološke karakteristike stanovništva Srema prema regionalno geografskoj povezanosti -----  | 64 |
| Igić R., Butorac B., Zlatković B., Vukov D. i Anačkov G.: Novi podaci za floru Titelskog brega -----  | 74 |



## CONTENT

|   |    |
|---|----|
| Vučković M., Strajin D. i Radulović S.: Plant cover of Novi Sad, – a significant element of its enviromental quality -----  | 5  |
| Krstić B., Boža P., Merkulov Lj. Krstić L. and Pajević S.: Morpho-anatomical and physiological characteristics of <i>Vicia villosa</i> Roth. (Fabales, Fabaceae) -----  | 17 |
| Vapa Lj. and Župunski V.: Variability at Glu-1 Loci in Wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.) -----   | 26 |
| Svirčev Z. and Davidović M.: Filamentous nitrogen - fixing cyanobacteria influenced by high temperature and Uv radiation -----  | 31 |
| Boža P., Adamović D., Knežević A. Verešbaranji I.: Comparative micromorphological and biochemical analyses of seed of four species of genus ( <i>Oenothera</i> L. 1753 (Myrtales, Oenotheraceae) -----                  | 40 |
| Andrić S., Kostić T., Lažetić B., Pekarić-Nad N. and Kovačević R.: The effects of prolonged exposure of male rats to 50 Hz magnetic field on the steroidogenic capacity of whole testes and Leydig cells in vitre ----- | 46 |
| Simonović I., Matavulj M. and Sovljansi R.: Influence if different doses of pesticide carbaryl on the reproductive processes of female rats -----   | 51 |
| Kostić T. Andrić S. Kovačević R. and Marić D.: Effect of short term immobilization stress on tar Leydig cell steroidogenesis -----  | 58 |
| Pavlica T., Božić-Krstić V., Rakić R. and Savić M.: Bioanthropological characteristics of the population of Srem according to the regional and geographical relationship -----  | 64 |
| Igić R., Butorac B., Zlatković B., Vukov D. and Anačkov G.: New data on the flora of Titelski breg -----  | 74 |

UDK: 581.91

Naučni rad

## BILJNI POKRIVAČ NOVOG SADA – ZNAČAJNA KOMPONENTA KVALITETA ŽIVOTNE SREDINE

Vučković Mirjana, Strajin Dragana, Radulović Snežana  
Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju, Novi Sad

Primljeno 12. XI 1999.

### SAŽETAK

U radu su izneti rezultati istraživanja fizičkog i hemijskog zagađenja vazduha u Novom Sadu u periodu od 1990. do 1995. godine. Ukazano je na uzajamnu zavisnost kvaliteta vazduha od sastava i površine biljnog pokrivača grada. Novi Sad je grad sa relativno velikim površinama pod zelenilom koje predstavljaju značajna biopolja za fitosanaciju vazduha. Neophodno je održavati i dalje obogaćivati biljni pokrivač grada naročito vrstama otpornim na aerozagađenja.

**Ključne reči:** biljni pokrivač, fizičko i hemijsko zagađenje vazduha, Novi Sad.

### UVOD

U Novom Sadu, centralnom i visokourbanizovanom delu Vojvodine, različiti vidovi antropogenog uticaja neminovno dovode do manjeg ili većeg stepena degradacije svih komponenta životne sredine. To se naročito odnosi na sastav vazduha. U većim koncentracijama se javljaju sumpor (IV) – oksid, ugljenik (II) – oksid, azotovi oksidi, olovo, čad i dr., čije je prisustvo štetno za celokupni živi svet.

U takvim uslovima biljni pokrivač, odnosno delovi prirodnih ili veštački podignutih zelenih gradskih površina (parkovi, skverovi, drvoredi, travnjaci, bašte i dr.) pored estetskog, imaju značajan fitosanacioni uticaj u smislu poboljšanja kvaliteta vazduha, mezo i makroklimе i dr. Drveće, žbunje i trave zadržavaju talog iz zagađenog vazduha, koriste ugljenik koji je u sastavu CO<sub>2</sub> i oslobađaju kiseonik procesom fotosinteze. Na biljnom pokrivaču taloži se oko 72% lebdećih čestica prašine i do 60% sumpor (IV) – oksida.

Rad prezentira rezultate istraživanja relevantnih ekoloških parametara koji ilustruju uzajamnu zavisnost kvaliteta vazduha i biljnog pokrivača u Novom Sadu.

### MATERIJAL I METODE

U periodu od 1990–1995 godine praćen je kvalitet vazduha u centralnom delu Novog Sada. Određivana je koncentracija aerosedimenata, čadi, sumpor (IV) – oksida, azor (IV) –

oksida, azotnih oksida, ugljenik (II) – oksida, olova kao lebdećih čestica, količine padavina i njihova pH vrednost. Merenje ovih parametara vršeno je na više punktova, metodologijom koju propisuje Pravilnik o graničnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima za uspostavljanje mernih mesta i evidenciji podataka (Službeni glasnik RS br. 54/92).

Rezultati istraživanja ostvareni su u saradnji sa Zavodom za zdravstvenu zaštitu, Odeljenje za hidijenu, Odsek za komunalnu higijenu u Novom Sadu.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati rada prezentiraju fizičko i hemijsko aerozagadenje u Novom Sadu kao i uzajamnu zavisnost kvaliteta vazduha od sastava i površine biljnog pokrivača grada. Fizičko zagadenje potiče od aerosedimenata. Taložne materije čine čestice čvrstog goriva, pepela, ulične prašine i drugih materija, relativno grubih dimenzija (većih od 20 mikrona) koje se zbog svoje težine talože na površinu zemljišta i biljaka. Glavni izvori hemijskog zagadenja vazduha su čad, sumpor (IV) – oksid i štetni sastojci koje motorna vozila ostave za sobom. Najzastupljeniji su  $\text{NO}_2$  i drugi azotni oksidi, CO i olovo. Najškodljiviji gasovi u uslovima komunalne atmosfere su CO,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ , HCl, Cl, F,  $\text{H}_2\text{S}$ , zatim svi ugljovodonici, organske kiseline, fenoli, goriva iz vozila i razni gasovi i aerosol iz energetskih industrijskih postrojenja, domaćih ložišta i dr.

Istraživanja aerozagadenja vršena su u strogom centru grada koji obuhvata površinu od oko 2  $\text{km}^2$ . Ovo područje odlikuje se najvećom frekvencijom saobraćaja, a kao jedan od najstarijih delova grada ima veliki broj prizemnih kuća sa individualnim ložištima koja koriste fosilna goriva. Istovremeno to je stecište centralnih kulturnih, zabavnih i drugih manifestacija, što svakako utiče i na stepen aerozagadenja u odnosu na druge delove grada.

U gradskim uslovima, odnosno u urbanoj sredini, biljni pokrivač (parkovi, skverovi, drvoredi, travnjaci, bašte i dr.) predstavljaju značajna biopolja u smislu fitosancije vazduha. Ispitivano područje obuhvata površinu od 218.808  $\text{m}^2$  pod zelenilom od čega je 184.255  $\text{m}^2$  prekriveno travom. Ukrasno šiblje (zimzeleno i listopadno) zahvata 23.247  $\text{m}^2$ . Živu ogradu čini ukupno 5.422  $\text{m}^2$ . U pogledu dendrološkog sastava, lišćari su zastupljeni sa 4.058 stabala a četinari sa 559 stabala (Katastar zelenih površina JKP „Gradsko zelenilo”).

Najzastupljenije lišćarske vrste su iz rodova *Tilia*, *Acer*, *Betula*, *Populus*, *Celtis*, *Sorbus* i dr.

Od četinara najčešće su sadene vrste koje pripadaju rodovima *Taxus*, *Pinus*, *Picea*, *Abies* i dr.

Navedeni podaci ilustruju da je Novi Sad grad sa relativno velikom površinom pod zelenilom. Kvalitetu vazduha doprinose i drugi faktori: geografski položaj grada, blizina reke Dunav, istočni i severni vetrovi koji smanjuju zagadenost, smeštaj dominantne industrijske zone izvan grada i dr. No i pored toga u cilju poboljšanja kvaliteta vazduha, treba neprekidno održavati i obogaćivati zelene površine. Naročito treba još više ozeleniti najfrekventnije saobraćajnice gde je i vazduh najzagadeniji. U tom smislu treba saditi one predstavnike koji se odlikuju brzim rastom, biološkim svojstvom dugovečnosti i otpornošću prema nepovoljnim uslovima gradske sredine. Takve vrste su *Ulmus* sp., *Taxus* sp., *Tilia* sp., *Abies* sp., *Populus* sp., *Fraxinus* sp. i druge.

Pri komentaranju rezultata rada, akcenat je bio na maksimalnim vrednostima koncentracije praćenih parametara jer se na taj način dobija jasnija slika o prekoračenju dozvoljenih koncentracija aerozagadenja. Ocena stanja kvaliteta vazduha vršena je primenom granične vrednosti imisije – GVI, koja predstavlja najviši nivo koncentracije aerosedimenata (Tab. 1.).

Rezultati rada prikazani su grafički, na grafikonima od 1 do 8.

**Tabela 1. Standardi kvaliteta vazduha**

(„Službeni glasnik RS”, br. 54/92, Pravilnik o граниčnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima za uspostavljanje mernih mesta i evidencije podataka)

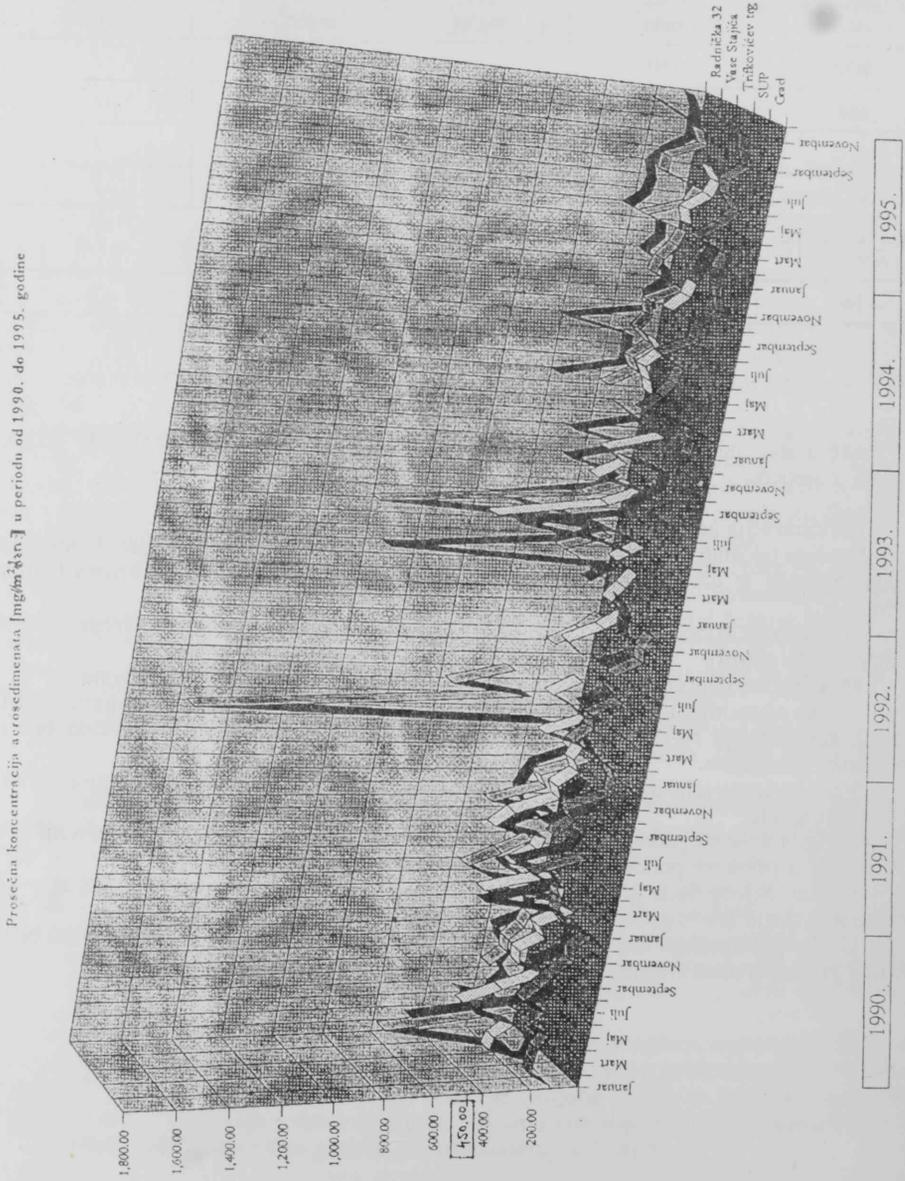
| Zagađujuće materije     | GVI<br>$\mu\text{m}/\text{m}^3$ | GVI<br>$\text{mg}/\text{m}^3$ | GVI<br>$\text{mg}/\text{m}^2/\text{dan}$ | GVI<br>$\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dan}$ |
|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--|--|
| SO <sub>2</sub>         | 150                             | /                             | /  | /  |
| čad                     | 50                              | /                             | /  | /  |
| NO <sub>2</sub>         | 85                              | /                             | /  | /  |
| CO                      | /                               | 5                             | /  | /  |
| Ukupne taložne materije | /                               | /                             | 450                                      | /  |
| Pb                      | /                               | /                             | /  | 1  |

### ZAKLJUČAK

Analiza stepena aerozagadenja u centru Novog Sada u periodu 1990-1995 godine pokazala je sledeće:

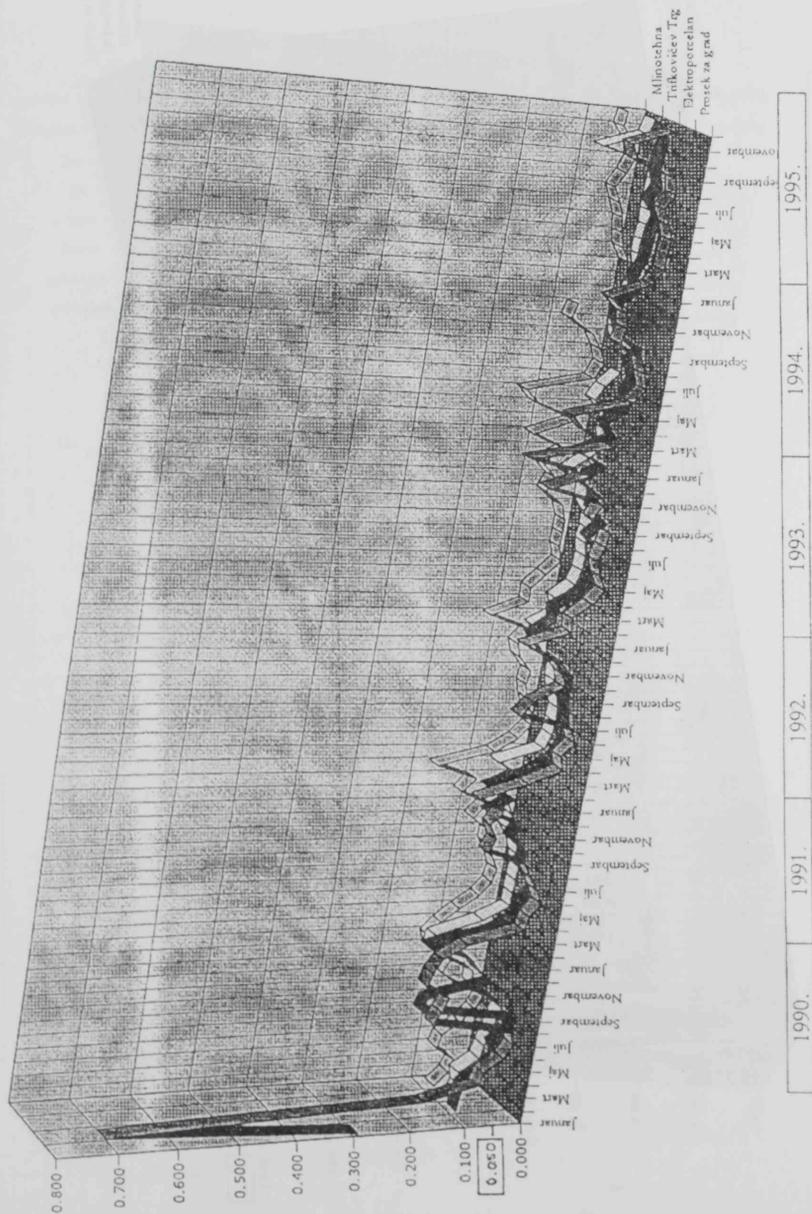
- Koncentracija aerosedimenata je uglavnom u granicama dozvoljenog.
- Količina taložnih materija raste od marta do juna a zatim postepeno opada do jesenjeg perioda. Najveća je tokom zime što je uslovljeno grejnom sezonom i odsustvom biljnog pokrivača.
- Makismalna koncentracija čadi raste iznad dozvoljenog nivoa za vreme grejne sezone (od oktobra do marta).
- Maksimalne koncentracije SO<sub>2</sub> su takode iznad GVI za vreme grejne sezone.
- Velika ekonomska kriza je imala uticaja na poboljšanje kvaliteta vazduha u centru grada tj. koncentracija NO<sub>2</sub> i drugih azotnih oksida, CO i olova su u tom periodu bile u dozvoljenim granicama.
- Veće koncentracije azotnih oksida konstatovane su na najfrekventnijim saobraćajnicama u centru grada.
- Najveća količina padavina zabeležena je u periodu od 1991 do 1995 godine, a njihova pH vrednost u zimskom periodu je nešto ispod 7,00.
- Centar Novog Sada je pod relativno velikom površinom (218.808 m<sup>2</sup>) što utiče na smanjenje aerozagadenja.
- U cilju poboljšanja kvaliteta vazduha neophodno je održavati i dalje obogaćivati biljni pokrivač grada naročito vrstama optornim na nepovoljne uslove gradske sredine.

GRAFIK 1:



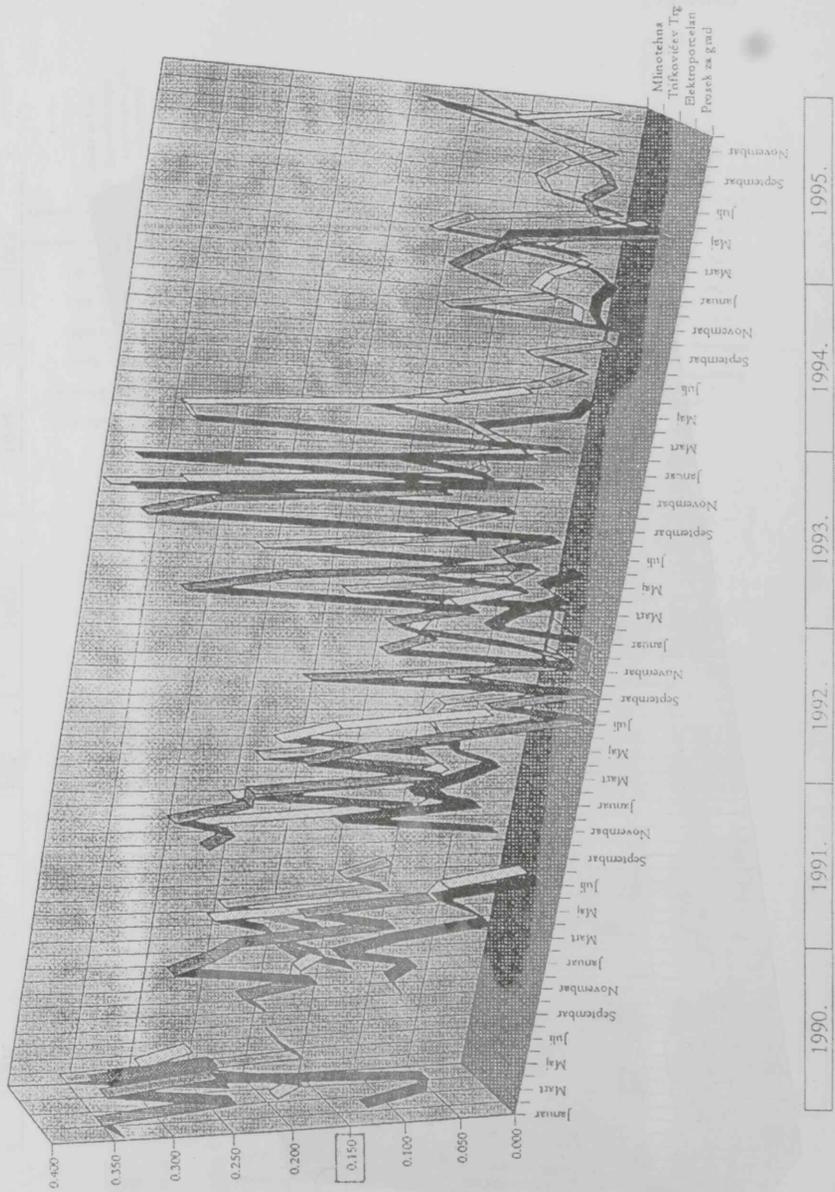
GRAFIK 2:

Maksimalna koncentracija čađi [mg/m<sup>3</sup>/dan] u periodu od 1990. do 1995. godine



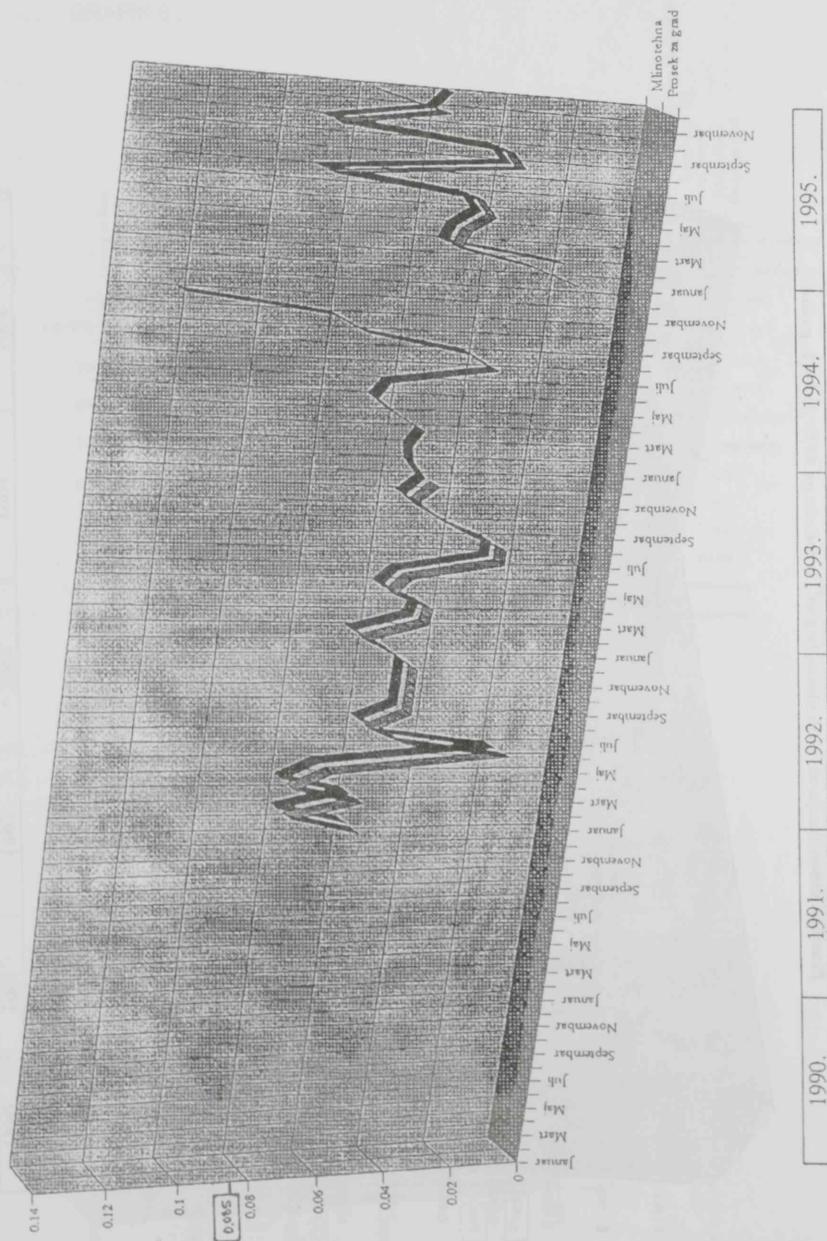
GRAFIK 3:

Maksimalna koncentracija sumpor (IV) - oksida [ $\text{mg}/\text{m}^3$ /dan] u periodu od 1990. do 1995. godine

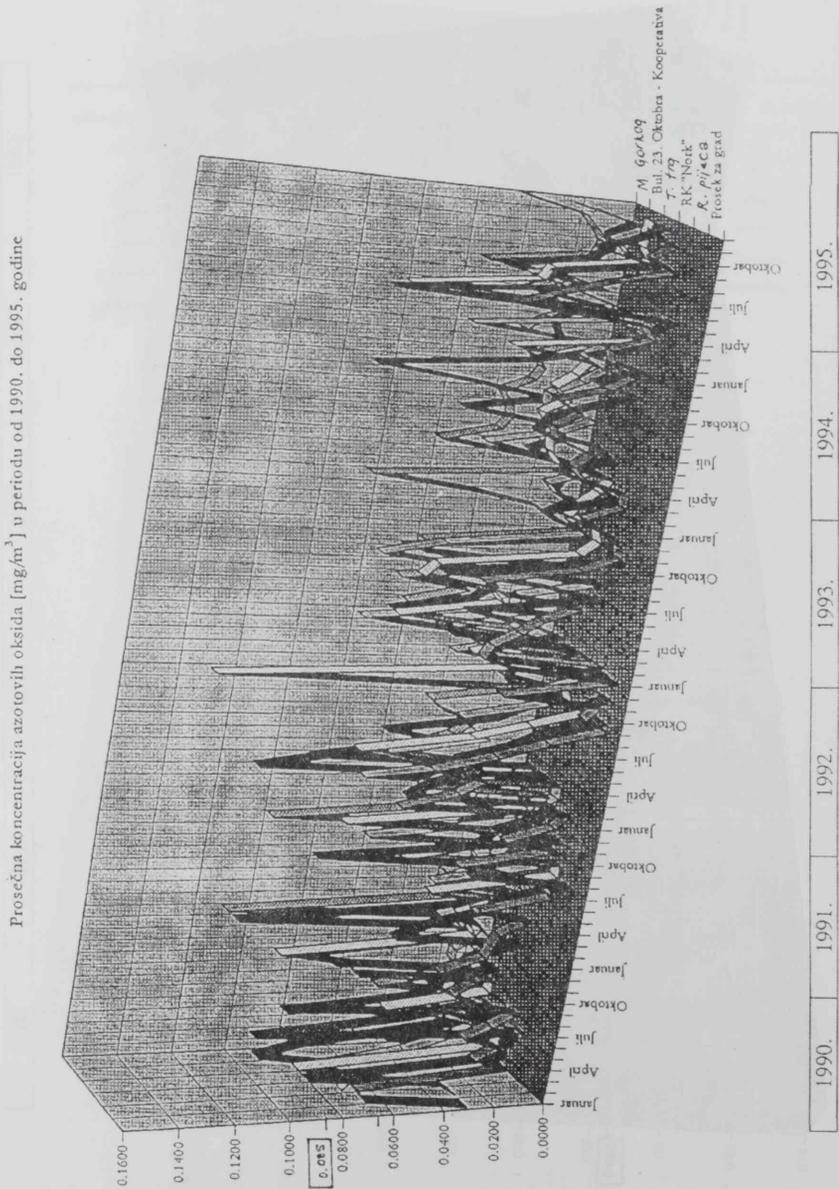


GRAFIK 4:

Maksimalna koncentracija azot (IV) - oksida [ $\text{mg}/\text{m}^3/\text{dan}$ ] u periodu od 1990. do 1995. godine



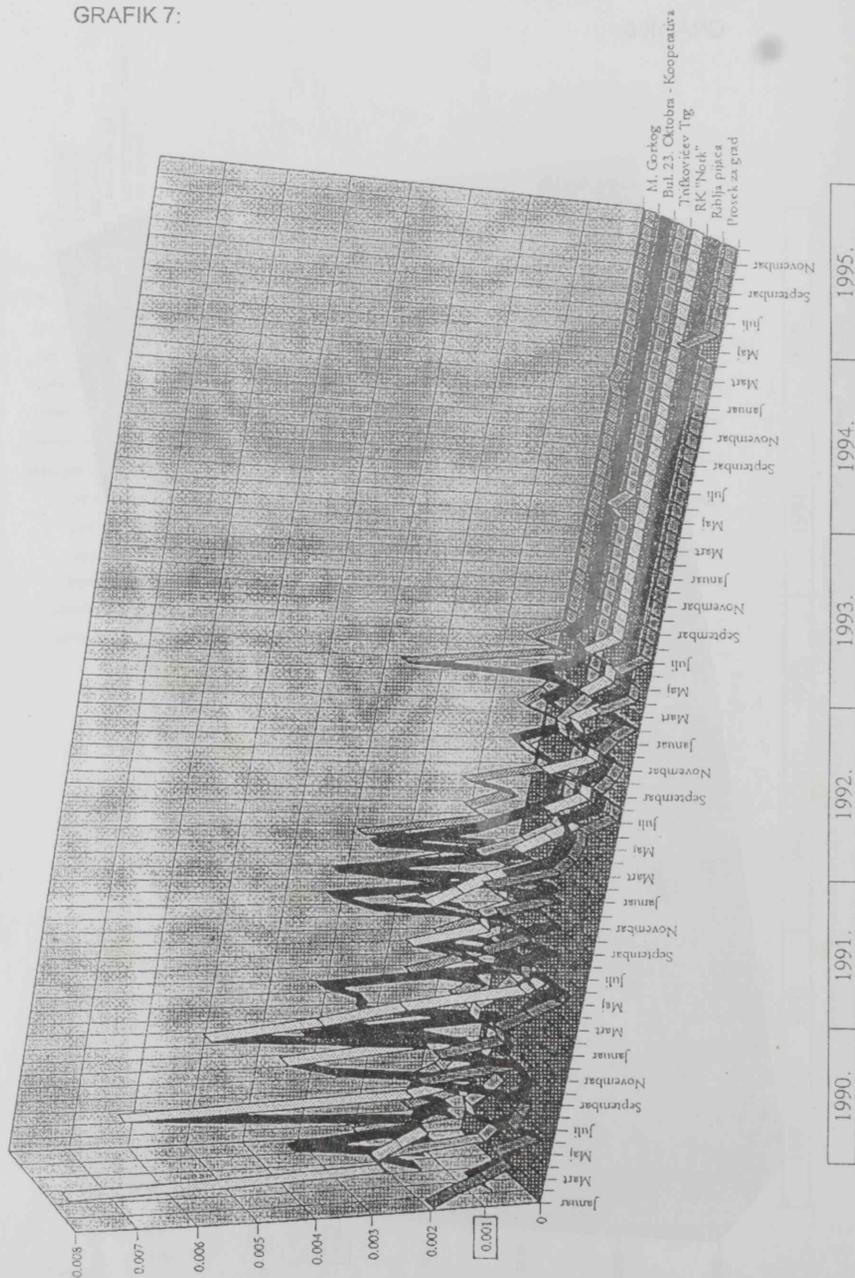
GRAFIK 5:





GRAFIK 7:

Prosečna koncentracija olova kao lebdede čestice [ $\text{mg}/\text{m}^3$ ] u periodu od 1990. do 1995. godine





#### LITERATURA

- CRNOJAČKI, Z. 1985. Zelenilo u uređenju kvaliteta urbane sredine (Stambeno naselje Liman III/3 Novi Sad). Magistarski rad. Centar za multidisciplinarne studije. Univerzitet u Beogradu.
- Ekološki atlas Novog Sada, Novi Sad 1994., Zavod za Urbanizam Novi Sad.
- Godišnji izveštaj o aerozagadenju u Novom Sadu januar-decembar 1991. do 1995. god.
- Katastar zelenih površina JKP „Gradsko zelenilo” od 31. 12. 1994. god.
- Katastar zelenila u gradu Novom Sadu, I deo. br: 473-7/89.
- Katastar zelenila u gradu Novom Sadu, II deo. br: 389-1.3.6./90.
- ROŽAJA, D., JABLANOVIĆ, M. Zagadenje i zaštita životne sredine. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva Socijalističke autonomne pokrajine Kosovo, Priština. 1980.
- Službeni glasnik RS br. 54/92, Pravilnik o graničnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima za uspostavljanje mernih mesta i evidenciji podataka.

#### PLANT COVER OF NOVI SAD – A SIGNIFICANT ELEMENT OF ITS ENVIROMENTAL QUALITY

Vučković Mirjana, Strajin Dragana, Radulović Snežana  
Institute of Biology, Faculty of Sciences  
University of Novi Sad, Trg D. Obradovića 2  
21000 Novi Sad, Yugoslavia

#### SUMMARY

The results of the investigations into the physical and chemical air pollution of the Novi Sad city area in the period 1990–1995 are presented. The interrelationships between the urban air quality and composition and area size of plant cover are shown. The green area of Novi Sad represents an important factor in its environmental health. Therefore, maintenance of the plant cover of the city and the introduction of air pollution-resistant plant species is needed.

UDK: 582.739

Naučni rad

MORFO-ANATOMSKE I FIZIOLOŠKE KARAKTERISTIKE VRSTE *VICIA*  
*VILLOSA* Roth. (FABALES, FABACEAE)

Krstić Borivoj, Boža Pal, Merkulov Ljiljana, Krstić Lana, Pajević Slobodanka  
Institut za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad

Primljeno 12. XI 1999.

SAŽETAK

*Vicia villosa* Roth. spada u podrod *Cracca*, sekciju *Cracca*. Neke vrste iz roda *Vicia* su gajene biljke i koriste se za stočnu ishranu. Proučavanje vrste *V. villosa* kao divljeg srodnika gajenih vrsta, vršeno je u cilju utvrđivanja pozitivnih osobina, koje mogu biti od značaja u oplemenjivanju.

Analizom morfoloških karaktera utvrđeno je da su visina biljke i širina listića nešto veće u odnosu na literaturne podatke. Dužina cvasti i dužina drške cvasti su vrednosti koje predstavljaju nove podatke i dopunjuju poznavanje morfoloških karaktera vrste. Anatomska ispitivanja su pokazala da su listići amfistomatični, sa stomama paracitnog tipa. One su brojnije i sitnije na adaksijalnom epidermisu. Obične dlake su prisutne na oba epidermisa, a žlezdane samo na abaksijalnom. Mezofil je relativno tanak, izgrađen iz malog broja slojeva sitnih ćelija. Odnos palisadnog i sunderastog tkiva iznosi 1:1. Stablo malog prečnika se odlikuje prisustvom brojnih provodnih snopića. Po građi vegetativnih organa ova vrsta pokazuje sličnost sa vrstom *V. cracca*. *Vicia villosa* se izdvaja po visokim koncentracijama kalijuma u listu, stablu i cvetu, kalcijuma u cvetu stablu i fosfora u cvetu i mahuni.

Ključne reči: *Vicia villosa*, morfologija, anatomija, fotosinteza, disanje, hemijski sastav.

UVOD

Oplemenjivanjem gajenih biljaka može se uticati na njihov kvalitet i otpornost prema niskim i visokim temperaturama, suši, bolestima i sl. Poznavanje karakteristika njihovih autohtonih srodnika je od velikog značaja, jer oni mogu biti izvor pozitivnih osobina koje je procesom oplemenjivanja moguće uneti u genotipove gajenih biljaka. Gajene vrste iz roda *Vicia* L. se koriste za stočnu ishranu te je od praktičnog značaja ispitivanje mogućnosti za povećanje prinosa, poboljšanje organske produkcije, kao i otpornosti biljaka prema bolestima. Stoga se ukazuje potreba za proučavanjem morfoloških, anatomskih, fizioloških, biohemijskih i genetičkih osobina vrsta koje se ne gaje, a pripadaju ovom rodu. (Burduja et al., 1970, 1971; Boža et al., 1993, 1996; Krstić et al., 1995).

*Vicia villosa* Roth. 1879 spada u podrod *Cracca*, sekciju *Cracca*. U Srbiji je dosta česta i rasprostranjena (Diklić, 1972). Raste pored puteva, u šikarama, na suvim travnim mestima, na ivici hrastovih šuma, a kao korov na oranicama i u okopavinama (Diklić, 1972).

*V. villosa* je veoma varijabilna vrsta. Izdvojeno je više infraspecijskih oblika na osnovu dlakavosti stabla i listića, oblika i veličine listića, izgleda čašice i boje cvetova (Soó, 1996).

## MATERIJAL I METODE

Biljni materijal sakupljen je sa travne, peskovite podloge u fazi cvetanja, dok su mahune sakupljene u punoj zrelosti, na lokalitetu Liman 4 u Novom Sadu.

Za morfološka ispitivanja deo materijala je herbarizovan. Vršena su merenja visine biljke, dužine i širine listića, dužine zalistaka, dužine cvasti, drške cvasti i cveta, dužine i širine mahune, veličine semena, a utvrđen je i broj pari listića, broj cvetova u cvasti, broj zrna u mahuni i masa hiljadu zrna. Dobijene vrednosti su upoređivane sa podacima iz literature.

Za anatomsku analizu odvajan je lateralni listić perasto složenog lista i internodija srednjeg dela stabla sa 10 biljaka. Analiza građe pokoričnog tkiva, merenje dimenzija stoma i određivanje njihovog broja vršeni su na otiscima epidermisa listića dobijenim po metodi Wolf-a (1954). Poprečni preseći organa pravljeni su mikrotomom na zamrzavanje i na njima su mikroskopskim merenjima obuhvaćeni: debljina listića, prečnik stabla, debljina tkiva i veličina ćelija.

U okviru fizioloških ispitivanja određivana je koncentracija mineralnih elemenata u listu, stablu, cvetu i mahuni. Biljni materijal je prethodno osušen i samleven. Koncentracija azota određivana je primenom standardne mikro-Kjeldahl metode, a fosfora spektrofotometrijski amonijum-vanadat-molibdat metodom. Plamenofotometrijski, iz matičnog rastvora određena je koncentracija kalijuma, kalcijuma i natrijuma (Sarić et al., 1990).

Metodom Wetsteina određena je koncentracija fotosintetičkih pigmenata (Sarić et al., 1990). Intenzitet fotosinteze i disanja određivan je polarografski, korišćenjem Clark-ovog tipa elektrode, pri čemu je merena količina izdvojenog kiseonika, odnosno usvojenog kiseonika u mraku (Walker, 1990).

## REZULTATI ISPITIVANJA

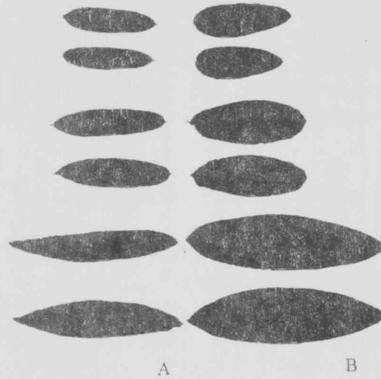
### Morfološka analiza

Morfološkim ispitivanjima ustanovljeno je da je visina biljke 75–132 cm (Tab. 1). Ove vrednosti su nešto više od vrednosti zabeleženih u literaturi. Broj pari listića je 7–9. Ova vrednost varira u manjem opsegu na našem materijalu u poređenju sa podacima iz literature. Dužina listića se kreće između 15 i 20 mm, a širina od 4 do 7 mm, što je nešto viša vrednost u odnosu na literaturne podatke. Izračunat je indeks listića koji iznosi 3–6,2 (srednja vrednost je 4,1). Podaci za dužinu cvasti i dužinu drške cvasti nisu pronađeni u korišćenoj literaturi i prema našim merenjima iznose 6–11,5 cm, odnosno 3,8–6,8 cm. Vrednosti za dužinu zalistaka (7–12 mm), dužinu cveta (12–16 mm) i dužinu i širinu mahune (21–30 mm i 5–9 mm) odgovaraju literaturnim podacima. Mahune su sadržale 1–6 zrna čija veličina na našem materijalu iznosi 2–3 mm u prečniku, što je nešto manje u odnosu na literaturu. Prosečna masa 1000 zrna je 19,8 g, što je približno masi koju navodi Schermann (1967).

Obzirom da je *V. villosa* veoma varijabilna vrsta, izvršena je taksonomska analiza sakupljenog materijala. Ustanovljeno je prisustvo forme *latifolia* Form 1896, za koju je karakteristično da su listići eliptičnog, a ne linearno-lancetastog oblika (Sl. 1). Dužina ovih listića kreće se od 11 do 28 mm, a širina od 5 do 8 mm. Indeks listića je 3.

Tab. 1. Morfološke karakteristike  
 Tab. 1. Morphological characteristics

|   | Dobijene vrednosti Measured values | Prosečna vrednost Average value | Gams (1924) | Komarov (1948) | Schermann (1976) | Dikić (1972) | Kuzmanov (1976) | Aarssen (1986) |
|---|------------------------------------|---------------------------------|-------------|----------------|------------------|--------------|-----------------|----------------|
| Visina biljke (cm)<br>Plant height (cm)                       | 75-132                             | 100                             | 30-150      | 30-70          | -                | 30-100       | 30-80           | <100           |
| Broj pari listića<br>Leaflet pair number                      | 7-9                                | 8                               | 5-10        | 6-8            | -                | 8-10         | 6-12            | 5-10           |
| Dužina listića (mm)<br>Leaflet length (mm)                    | 15-20                              | 19                              | 15-25       | 12-30          | -                | 12-30        | (8)10-25(35)    | 10-25          |
| Širina listića (mm)<br>Leaflet width (mm)                     | 4-7                                | 5                               | 2-6         | 1-3            | -                | 2-6          | 2-6 (8)         | -              |
| Indeks listića<br>Leaflet index                               | 3-6,2                              | 4,1                             | -           | -              | -                | -            | -               | -              |
| Dužina zalistaka (mm)<br>Stipule length (mm)                  | 7-12                               | 9                               | -           | -              | -                | 5-8          | 10-12           | -              |
| Dužina cvasti (cm)<br>Inflorescence length (cm)               | 6-11,5                             | 9,7                             | -           | -              | -                | -            | -               | -              |
| Dužina drške cvasti (cm)<br>Inflorescence pedicel length (cm) | 3,8-6,8                            | 5,1                             | -           | -              | -                | -            | -               | -              |
| Dužina cveta (mm)<br>Flower length (mm)                       | 12-16                              | 14                              | 12-20       | 15-18          | -                | 15           | -               | 15-18          |
| Broj cvetova<br>Flower number                                 | 12-22                              | 17                              | 3-30        | 15-30          | -                | -            | (10)15-25(30)   | 10-30          |
| Dužina mahune (mm)<br>Pod length (mm)                         | 21-30                              | 26                              | 20-40       | 25-30          | 20-40            | 20           | 20-30 (40)      | 20-30          |
| Širina mahune (mm)<br>Pod width (mm)                          | 5-9                                | 7,2                             | 5-8         | 7-9            | -                | 7-8          | (4)6-10(12)     | -              |
| Broj zrna u mahuni<br>Grains per pod number                   | 1-6                                | 4                               | 2-8         | 2-5            | 4-7              | 2-8          | (1)2-8          | -              |
| Veličina zrna (mm)<br>Grains size (mm)                        | 2-3                                | 2,5                             | 3,5-4       | -              | 3,5-4            | 3-4          | 3-4             | 5              |
| Masa 1000 zrna (g)<br>1000 grains weight (g)                  | 18,6-20,7                          | 19,8                            | -           | -              | 20-25            | -            | -               | -              |
| Broj bromozoma<br>Chromosome number                           | -                                  | -                               | -           | -              | -                | -            | -               | 2n=14          |



Slika 1. A – *Vicia villosa* f. *villosa*; B – *Vicia villosa* f. *latifolia*  
 Figure 1. A – *Vicia villosa* f. *villosa*; B – *Vicia villosa* f. *latifolia*

*Anatomska analiza*

Analiza pokoričnog tkiva listića pokazuje da ćelije epidermisa imaju izuvijane antiklinalne zidove. U epidermisu su prisutne obične i žlezdane dlake. Obične dlake javljaju se na oba epidermisa i izgrađene su iz krupne bazalne ćelije, sitnije ćelije iznad nje i duge, uske terminalne ćelije. Žlezdane dlake se sastoje od kratke jednoćelijske drške i višćelijske glavice ovalnog oblika i prisutne su samo na abaksijalnoj strani. Listići su amfistomatični, a stome su paracitnog tipa (Metcalf, Chalk, 1950). Stome su nešto ispod nivoa epidermisa i njihov broj je znatno veći na adaksijalnoj strani ( $308/\text{mm}^2$ ) u odnosu na abaksijalnu ( $182/\text{mm}^2$ ) (Tab. 2).

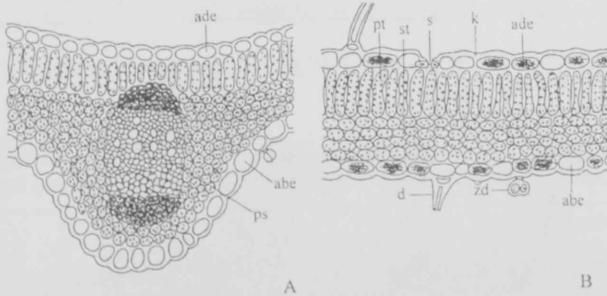
Tab. 2. Karakteristike epidermisa listića  
 Tab. 2. Characteristics of leaflet epidermis

| Broj stoma ( $\text{mm}^2$ )<br>Stomata number ( $\text{mm}^2$ ) |  | Veličina stoma ( $\mu\text{m}$ )<br>Stomata size ( $\mu\text{m}$ ) |                 |  |                 |
|--|--|--|-----------------|--|-----------------|
| Adaksijalni epidermis<br>Adaxial epidermis                       | Abaksijalni epidermis<br>Abaxial epidermis | Adaksijalni epidermis<br>Adaxial epidermis                         |                 | Abaksijalni epidermis<br>Abaxial epidermis |                 |
|  |  | Dužina<br>Length   | Širina<br>Width | Dužina<br>Length                           | Širina<br>Width |
| 308  | 182  | 18,4   | 10,7            | 25,4                                       | 15,6            |

Stome adaksijalnog epidermisa su sitnije (dužine 18,4 i širine 10,7  $\mu\text{m}$ ), dok su stome na abaksijalnom epidermisu dužine 25,4, a širine 15,6  $\mu\text{m}$  (Tab. 2). Listić *V. villosa* je dorziventralne građe (Sl. 2). Ćelije epidermisa na abaksijalnoj strani su krupnije i sa debljom kutikulom u odnosu na adaksijalnu stranu (Tab. 3). U ćelijama epidermisa uočavaju se sferične nakupine kristala igličastog oblika. Mezofil listića čine palisadno tkivo građeno iz jednog sloja ćelija, debljine 56  $\mu\text{m}$  i 3–4 sloja ćelija sunderastog tkiva, debljine 53  $\mu\text{m}$ . U mezofilu liške nalaze se provodni snopići kolateralnog tipa. Glavni nerv je ispupčen na abaksijalnoj strani i u njemu se nalazi jedan provodni snopić kolateralnog tipa. Glavni nerv je ispupčen na abaksijalnoj strani i u njemu se nalazi jedan provodni snopić visine 146  $\mu\text{m}$  i širine 97  $\mu\text{m}$  (Tab. 3). Uz floem i ksilem snopića nalaze se grupe sklerenhimskih vlakana.

Tab. 3. Anatomske karakteristike listića ( $\mu\text{m}$ )  
 Tab. 3. Leaflet anatomical characteristics ( $\mu\text{m}$ )

|  |      |  |      |
|--|------|--|------|
| Visina glavnog nerva<br>Main vein height                                   | 242  | Visina ćelija adaksijalnog epidermisa<br>Adaxial epidermis cell height           | 17,8 |
| Širina glavnog nerva<br>Main vein width                                    | 199  | Širina ćelija adaksijalnog epidermisa<br>Adaxial epidermis cell width            | 22,5 |
| Visina provodnog snopića glavnog nerva<br>Main vein vascular bundle height | 146  | Debljina kutikule adaksijalnog epidermisa<br>Adaxial epidermis cuticle thickness | 1,9  |
| Širina provodnog snopića glavnog nerva<br>Main vein vascular bundle width  | 97   | Visina ćelija palisadnog tkiva<br>Palisade tissue cell height                    | 46,1 |
| Visina traheja<br>Vessel height  | 11,3 | Širina ćelija palisadnog tkiva<br>Palisade tissue cell width                     | 9,7  |
| Širina traheja<br>Vessel width   | 11,1 | Visina ćelija sunderastog tkiva<br>Spongy tissue cell height                     | 10,6 |
| Debljina liske<br>Leaflet thickness  | 151  | Širina ćelija sunderastog tkiva<br>Spongy tissue cell width                      | 14,0 |
| Debljina palisadnog tkiva<br>Palisade tissue thickness                     | 56   | Visina ćelija abaksijalnog epidermisa<br>Abaxial epidermis cell height           | 24,1 |
| Debljina sunderastog tkiva<br>Spongy tissue thickness                      | 53   | Širina ćelija abaksijalnog epidermisa<br>Abaxial epidermis cell width            | 29,8 |
|  |      | Debljina kutikule abaksijalnog epidermisa<br>Abaxial epidermis cuticle thickness | 2,3  |



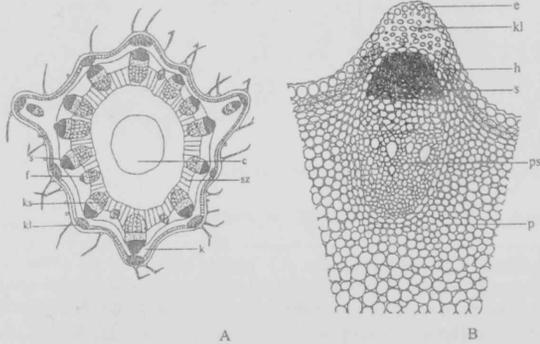
Slika 2. Poporečni presek listića: A – glavni nerv; B – 1/4 širine listića  
 ps – provodni snopić; k – kutikula; ade – adaksijalni epidermis; abaksijalni epidermis; s – stoma;  
 pt – palisadno tkivo; st – sunderasto tkivo; d – obična dlaka; zd – žlezdana dlaka  
 Figure 2. Leaflet cross section: A – main vein; B – 1/4 leaflet width  
 ps – vascular bundle; k – cuticle; ade – adaxial epidermis; abe – abaxial epidermis; s – stoma;  
 pt – palisade tissue; st – spongy tissue; d – non-glandular hair; zd – glandular hair

Stablo je na poprečnom preseku okruglo do ovalno, sa dva bočna krilasta izraštaja (Sl. 3). Na stablu je uočljivo šest rebara, od kojih su četiri slabije, a dva jače izražena i naspramno postavljena. U krupnijim rebrima nalazi se kolenhim. Prečnik stabla iznosi  $2641 \mu\text{m}$  (Tab. 4). Epidermis je građen od jednog sloja ćelija, pri čemu su ćelije koje se nalaze na površini rebara sitnije od ostalih (Sl. 3b). Na epidermisu su prisutne brojne obične i žlezdane dlake. Debljina kutikule je varijabilna i iznosi od  $2.7$  do  $5.9 \mu\text{m}$  (srednja vrednost je  $4.0 \mu\text{m}$ ). Primarna kora se sastoji od nekoliko slojeva ćelija, od kojih su periferne sitnije i sadrže hloroplaste. Skrobna

sara je uočljiva samo iznad provodnih snopića. U centralnom cilindru nalaze se tipične parenhimske ćelije, čije se dimenzije povećavaju ka središnjem delu stabla, gde se najkрупnije raskidaju i formira se manja ili veća centralna šupljina. Provodni snopići kolateralnog tipa raspoređeni su u jednom krugu u perifernom delu cilindra. Broj snopića se kreće od 12 do 16, od kojih su 2–5 snopića znatno sitniji. Po jedan manji provodni snopić nalazi se i u svakom krilastom izraštaju. Iznad floemskog dela snopića nalaze se grupe pericikličnih sklerenhimskih vlakana, čija veličina varira zavisno od veličine snopića. Čelije sržnih zraka i perimedularne zone su zadebljalih i lignifikovanih zidova.

Tab. 4. Anatomske karakteristike stabla ( $\mu\text{m}$ )  
Tab. 4. Stem anatomical characteristics ( $\mu\text{m}$ )

|  |      |   |      |
|--|------|---|------|
| Prečnik<br>Diameter                                | 2641 | Visina sklerenhima<br>Sclerenchyma height         | 134  |
| Broj provodnih snopića<br>Vascular bundle number   | 14   | Širina sklerenhima<br>Sclerenchyma width          | 190  |
| Visina provodnih snopića<br>Vascular bundle height | 353  | Visina ćelija epidermisa<br>Epidermal cell height | 28,1 |
| Širina provodnih snopića<br>Vascular bundle width  | 256  | Širina ćelija epidermisa<br>Epidermal cell width  | 28,0 |
| Visina traheja<br>Vessel height                    | 38,2 | Debljina kutikule<br>Cuticle thickness            | 4,0  |
| Širina traheja<br>Vessel width                     | 31,9 | Visina ćelija parenhima<br>Parenchyma cell height | 69,9 |
|  |      | Širina ćelija parenhima<br>Parenchyma cell width  | 58,6 |



Slika 3. Poprečni presek dela stabla: A – šematski prikaz; B – detalj građe  
e – epidermis; kl – kolenhim; h – hlorenhim; s – sklerenhim; ps – provodni snopić;  
p – parenhim; k – kora; f – floem; ks – ksilem; sz – sržni zraci; c – šupljina  
Figure 3. Stem cross section: A – schematic review; B – structure detail  
e – epidermis; kl – colenchyma; h – chlorenchyma; s – sclerenchyma; ps – vascular bundle;  
p – parenchyma; k – cortex; f – phloem; ks – xylem; sx – pith rays; c – cavity

#### Fiziološka analiza

Utvrđen je ukupan sadržaj pepela i sadržaj N, P, K, Ca i Na u listu, stablu, cvetu i mahuni *V. villosa*, a dobijene vrednosti su prikazane u tabeli 5.

Tab. 5. Koncentracija elemenata mineralne ishrane i sadržaj pepela u ogranima  
 Tab. 5. Element concentration and ash content in organs

| Biljni organ<br>Plant organ | Koncentracija elemenata (mg%)<br>Element concentration (mg%) |                  |                   |                   |                  | Pepeo (%)<br>Ash (%) |                   |                      |
|-----------------------------|--|------------------|-------------------|-------------------|------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
|                             | N  | P                | K                 | Ca                | Na               | Ukupni<br>Total      | Rastv.<br>Soluble | Nerastv.<br>Insolubl |
| List<br>Leaf                | 3928 <sup>a</sup>  | 275 <sup>b</sup> | 1983 <sup>b</sup> | 1667 <sup>a</sup> | 77 <sup>a</sup>  | 8,88 <sup>b</sup>    | 7,67 <sup>b</sup> | 1,21 <sup>a</sup>    |
| Stablo<br>Stem              | 1601 <sup>d</sup>  | 175 <sup>c</sup> | 2300 <sup>b</sup> | 1200 <sup>b</sup> | 70 <sup>ab</sup> | 8,87 <sup>b</sup>    | 7,86 <sup>b</sup> | 1,01 <sup>a</sup>    |
| Cvet<br>Flower              | 4462 <sup>a</sup>  | 456 <sup>a</sup> | 2800 <sup>a</sup> | 1267 <sup>b</sup> | 53 <sup>b</sup>  | 9,98 <sup>a</sup>    | 9,08 <sup>a</sup> | 0,91 <sup>ab</sup>   |
| Mahunama<br>Pod             | 2503 <sup>c</sup>  | 297 <sup>b</sup> | 1167 <sup>c</sup> | 1067 <sup>b</sup> | 80 <sup>a</sup>  | 5,14 <sup>c</sup>    | 4,56 <sup>c</sup> | 0,57 <sup>b</sup>    |
| Srednja vrednost<br>Average | 3123   | 301              | 2062              | 1300              | 70               | 8,22                 | 7,29              | 0,92                 |

Najveći sadržaj pepela (9.98%) prisutan je u cvetovima, a najmanji u mahunama, dok je u listu i stablu podjednak. Analizom koncentracije elemenata po organima ustanovljeno je da je najveća količina azota prisutna u cvetovima i listovima, zatim u zelenim mahunama, a najmanja u stablu. Sadržaj fosfora je najveći u cvetovima, skoro podjednak u listu i mahunama, a u stablu najmanji. Kalijum je najviše zastupljen u cvetovima, a kalcijum u listovima, dok je njihova koncentracija najniža u mahunama. Koncentracija natrijuma je niska u svim biljnim organima, a najniža u cvetovima.

Intenzitet fotosinteze je 44.25  $\mu\text{mol O}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ , a intenzitet disanja 12.39  $\mu\text{mol O}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$  (Tab. 6).

Tab. 6. Intenzitet fotosinteze i disanja i koncentracija pigmenta hloroplasta u organima  
 Tab. 6. Rate of net photosynthesis, dark respiration and concentration of chloroplast pigments

| Biljni organ<br>Plant organ | Koncentracija pigmenta hloroplasta (mg/g suve materije)<br>Content of chloroplast pigments (mg/g dry matter) |                   |                   |                   |                   |                                | Intenzitet neto fotosinteze<br>( $\mu\text{mol O}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )<br>Rate of net photosynthesis<br>( $\mu\text{mol O}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) | Intenzitet disanja<br>( $\mu\text{mol O}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )<br>Rate of dark respiration<br>( $\mu\text{mol O}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) |
|-----------------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|---|--|
|                             | hl a<br>chl a  | hl b<br>chl b     | hl a+b<br>chl a+b | hl a/b<br>chl a/b | karot.<br>carot.  | hl a+b/karot<br>chl a+b/carot. |   |  |
| List<br>Leaf                | 5,17 <sup>a</sup>  | 1,49 <sup>a</sup> | 6,67 <sup>a</sup> | 3,46 <sup>a</sup> | 4,63 <sup>a</sup> | 1,44 <sup>a</sup>              | 44,25   | 12,39  |
| Stablo<br>Stem              | 0,97 <sup>b</sup>  | 0,52 <sup>b</sup> | 1,49 <sup>b</sup> | 1,88 <sup>b</sup> | 0,91 <sup>b</sup> | 1,74 <sup>b</sup>              |   |  |
| Cvet<br>Flower              | 0,98 <sup>b</sup>  | 0,54 <sup>b</sup> | 1,52 <sup>b</sup> | 1,81 <sup>b</sup> | 1,33 <sup>b</sup> | 1,16 <sup>a</sup>              |   |  |
| Srednja vrednost<br>Average | 2,37   | 0,85              | 3,20              | 2,38              | 2,29              | 1,45                           |   |  |

Analizom sadržaja pigmentata ustanovljeno je da je u najvećoj meri zastupljen hlorofil a, zatim karotenoidi i hlorofil b (Tab. 6). Koncentracija pigmentata je najveća u listovima, a znatno niža i gotovo podjednaka u stablu i cvetovima.

#### DISKUSIJA

Na osnovu rezultata dobijenih morfološkim analizama koji su upoređeni sa podacima iz literature konstatujemo da broj pari listića na ispitivanom materijalu mnogo manje varira i da je veličina semena manja, a visina biljke nešto veća u odnosu na literaturne podatke (Gams, 1924; Komarov, 1948; Schermann, 1967; Diklić, 1972; Kuzmanov, 1976; Arssen, 1986). Podaci za dužinu cvasti i dužinu drške cvasti, kao i za indeks listića, koji nisu pronadeni u korišćenoj literaturi, predstavljaju prilog poznavanju morfoloških karakteristika ove vrste. Konstatovana je jedna forma *f. latifolia*, koja se karakteriše širim listićima u odnosu na tipičnu formu.

Rezultati ispitivanja anatomske građe vegetativnih organa ove vrste u poređenju sa rezultatima sličnih ispitivanja u okviru roda *Vicia* (Merkulov et al., 1996) ukazuju na isti tip unutrašnje organizacije, karakterističan za predstavnike ovog roda, ali na znatne kvantitativne razlike između vrsta. U anatomskom pogledu listići ispitivane vrste se odlikuju prisustvom brojnih, dugih običnih dlaka kao i žlezdanih koje su raspoređene samo na abaksijalnom epidermisu. Stome su znatno brojnije i sitnije na adaksijalnom epidermisu. Čelije pokoričnog tkiva su relativno krupne, posebno na abaksijalnoj strani, sa prisutnim nakupinama kristala. Mezofil je relativno tanak, izgrađen iz malog broja slojeva sitnih ćelija kako palisadnog tako i sunderastog tkiva, tako da je vrlo uočljiva razlika u veličini ćelija mezofila i pokoričnog tkiva. Odnos palisadnog i sunderastog tkiva je 1:1. Stablo je malog prečnika, sa jasno naglašenim rebrima. Odlikuje se prisustvom brojnih običnih i žlezdanih dlaka i brojem snopića koji je veći u odnosu na ostale ispitivane vrste roda *Vicia*. Po osobinama građe vegetativnih organa ova vrsta ispoljava sličnost sa vrstom *V. cracca*.

Grahorice se koriste za stočnu ishranu, te je veoma važno poznavati njihove fiziološke karakteristike, sadržaj mineralnih elemenata u pojedinim biljnim organima, kao i karakteristike fotosintetičkog aparata. Prema sadržaju azota u svim biljnim organima ova vrsta ne odudara od ostalih analiziranih vrsta roda *Vicia* (Krstić et al., 1995). Izdvaja se po izrazito većim koncentracijama kalijuma u listu, stablu i cvetu, najvišoj koncentraciji kalcijuma u cvetu i visokim koncentracijama kalcijuma u stablu i fosfora u listu i stablu. U odnosu na ostale taksone, ova vrsta sadrži najviše fosfora u cvetu i mahuni. Svi ispitivani podaci mogu biti korisni u radu na selekciji i oplemenjivanju gajenih grahorica.

#### LITERATURA

1. Aarssen, L. W., Hall, I. V., Jansek, K. I. N. (1986): The biology of Canadian weeds 76. *V. angustifolia* L., *V. cracca* L., *V. sativa* L., *V. tetrasperma* L., *V. villosa* Roth. Can. J. Plant Sci. 66: 711-737.
2. Boža, P., Krstić, B., Merkulov, Lj., Sarić, M., Pajević, S., Savić, D. (1993): Morphological variability of certain relatives of cultivated vetch *Vicia sativa* L. (*Fabales, Fabaceae*). Journal of Sci. Agric. Research 54: 193-196.
3. Boža, P., Krstić, B., Merkulov, Lj., Zlokolica, M., Vapa, Lj. (1996): Biološka sličnost grahorice (*Vicia sativa* L.) i njenih divljih srodnika. Zbornik radova, sveska 26, VIII jugoslovenski simpozijum o krmnom bilju, 111-120.
4. Burduja, C., Toma, C., Rugina, R. (1970): Cercetari de histo-anatomie comparata la specii ale genului *Vicia* L. (II). An. st. Univ. Iasi, Sect. II-a, t. XVI, fasc. 1: 73-80.
5. Burduja, C., Toma, C., Rugina, R. (1971): Cercetari de histo-anatomie comparata la specii ale genului *Vicia* L. (III). An. st. Univ. Iasi, Sect. II-a, t. XVII, fasc. 2: 331-340.
6. Diklić, N. (1972): Rod *Vicia* L. U: Josifović, M. (ed.) Flora SR Srbije 4, SANU, Beograd, 315-355.
7. Gams, H. (1924): Leguminosae In: Hegi, G. (ed.) Illustrierte Flora Mittel-Europa 4/3, Carl Hanser Verlag, Munchen, pp 1113-1644.

8. Komarov, V. L. (1948): Flora SSSR, Tom 13, ANSSR, Moskva-Lenjingrad, 450–451.
9. Krstić, B., Sarić, M., Pajević, S., Boža, P., Merkulov, Lj. (1995): Diversity of ion concentration in wild *Vicia* species. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke 88: 19–26.
10. Kuzmanov, B. (1976): Rod *Vicia* L. In: Jordanov, D. (ed.) Flora na narodna republika Blgarija 6. Izdatelstvo na blgarskata akademija na naukite, Sofija, 442–498.
11. Merkulov, Lj. Boža, P., Krstić, B., Ivezić, J., Pajević, S. (1996): A comparative anatomical investigations of the genus *Vicia* L. (*Fabales*, *Fabaceae*). Zbornik Matice srpske za prirodne nauke 90: 59–69.
12. Metcalfe, C. R., Chalk, L. (1950): Anatomy of the Dicotyledons I. Clarendon Press, Oxford, 504–516.
13. Sarić, M., Petrović, M., Krstić, B., Kastori, R., Stanković, Ž., Petrović, N. (1990): Praktikum iz fiziologije biljaka, Naučna knjiga, Beograd.
14. Schermann, Sz. (1967): Magismeret 1. Mezőgazdasági kiadó, Budapest.
15. Soó, R. (1966): A magyar florá és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve 2. Akadémiai kiadó, Budapest.
16. Walker, D. A. (1990): Leaf disc. The use of oxygen electrode and fluorescence probes in simple measurements of photosynthesis. Oxygraphics Ltd. University of Scheffild, Scheffild, 164–196.
17. Wolf, L. (1954): Mikroskopická technika. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, pp. 656.

#### MORPHO-ANATOMICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *VICIA VILLOSA* ROTH. (*FABALES*, *FABACEAE*)

Krstić Borivoj, Boža Pal, Merkulov Ljiljana, Krstić Lana, Pajević Slobodanka  
Faculty of Sciences, Institute of Biology, Novi Sad

#### SUMMARY

*Vicia villosa* Roth belongs to subgen. *Cracca*, sect. *Cracca*. Some species from genus *Vicia* are cultivated and can be used as fooder crop. Investigation of *V. villosa* as a wild relative of cultivated plants, was done in order to discover its positive characteristics, which could be of interest in the process of breeding. Morphological characteristics of stem, leaves, inflorescences and fruits, leaf epidermal tissue and the anatomical structure of stem and leaflets were analysed. The concentrations of mineral elements and photosynthetic pigments in different plant organs, as well as the net photosynthesis rate and dark respiration rate were also examined.

In the scope of morphological analysis, values of inflorescence length, inflorescence pedicel length and leaf index, which had not been found in the literature data, were determined. Anatomical analyses showed that the leaflets were amphistomatal, with paracytic type of stomata. Non-glandular hairs were found on both epidermis, while glandular hairs were found only on the abaxial epidermis. There was higher number of smaller stomata on the adaxial epidermis. Mesophyll was relatively thin, composed of rayer and small dimension cells, with palisade and spongy tissue ratio 1:1. This species was characterized by a small stem diameter with distinct ribs and a lot of vascular bundles. In relation to anatomical structure of vegetative organs *V. villosa* showed significant similarity with *V. cracca*. *V. villosa* stands out from the other investigated *Vicia* species by its high concentrations of K in leaf, stem and flower, Ca in stem and flower and P in flower and pod.

UDK: 575.17

Naučni rad

## VARIJABILNOST *GLU-1* LOKUSA PŠENICE (*Triticum aestivum* L.)

Ljiljana Vapa i Vesna Župunski  
Institut za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad

Primljeno 12. XII 1999.

### SAŽETAK

U radu je analizirana alelna varijabilnost *Glu-1* lokusa kod šest sorti i tri linije pšenice. Rezultati su pokazali da u lokusu *Glu-A1* postoje tri alela: a, b, i c, koji kodiraju subjedinice 1,2\* i N. U lokusu *Glu-B1* nađena su dva alela: b i c odnosno njihove subjedinice 7+8 i 7+9. U lokusu *Glu-D1* bila su prisutna dva alela: a i d koji su odgovorni za sintezu subjedinica 2+12 i 5+10. Najčešće su se javljale kombinacije glutenina velike molekulske mase 2\* 7+9 5+10. Heterogena je bila linija NS 0.1085 sa četiri biotipa, a translokaciju 1BL/1RS su posedovale samo sorte Anastazija i Sara.

Ključne reči: alelna varijabilnost, glutenini, pšenica, SDS-PAG elektroforeza, translokacija

### UVOD

U današnje vreme, pogotovo u razvijenim zemljama, puno se pažnje pridaje kvalitetu namirnica. Konkretno, hlebno žito mora zadovoljiti zahteve o minimalnom sadržaju i kvalitetu proteina koje sadrži. Faktori spoljašnje sredine i prihranjivanje imaju velik uticaj na sadržaj proteina, dok je sastav rezervnih proteina sorte genetički uslovljen i ogleda se u kombinacijama glutenina i glijadina.

Geni koji kontrolišu sintezu glutenina velike molekulske mase nalaze se na dugačkim kracima hromozoma 1A, 1B i 1D, u lokusima *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1*. Svaki lokus sadrži po dva gena koji utiču na sintezu x-tipa i y-tipa subjedinica glutenina velike molekulske mase (Harberd i sar., 1986).

Iako glutenini velike molekulske mase predstavljaju 10% rezervnih proteina pšeničnog brašna ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija između prisustva pojedinačnih alela tj. subjedinica glutenina i komponenti kvaliteta hleba (Payne i sar., 1988). Glutenini i glijadini utiču na svojstva testa, rastegljivost zavisi od glijadina a visokoelastičnost od glutenina.

Prema Carillo i sar. (1990), Kolster i sar. (1991) i Vapa i sar. (1995) kvalitet sorte ne zavisi toliko od prisustva pojedinačnih alela nego mnogo više od njihove kombinacije tj. od aditivnog i epistatičkog efekta.

Uvođenjem metode natrijum dodecilsulfat poliakrilamid gel (SDS PAGE) elektroforeze u genetička istraživanja, stečeni su uslovi da se sagleda veza između alelne varijabilnosti glutenina velike molekulske mase i komponenti kvaliteta hleba.

Cilj ovog rada je bio da se izvrši analiza alelne varijabilnosti *Glu-1* lokusa metodom SDS Pag elektroforeze, kod sorti i linija pšenice selekcioniranih u Novom Sadu, kao i da se odredi prisustvo 1BL/1RS translokacija.

### MATERIJAL I METODIKA

U radu je analizirano 6 sorti pšenice koje su selekcionirane u Naučnom institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, a priznate tokom 1998. godine, kao i tri linije. Kao standardi korištene su sorte sa već poznatim gluteninskim alelima: Baranjka, Jugoslavija i Kozara.

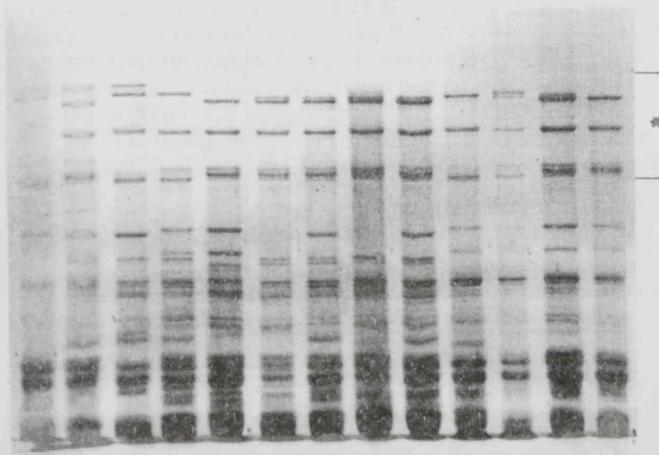
Za analizu glutenina primenjena je metoda natrijum dodecil sulfat poliakrilamid gel elektroforeze (SDS-PAGE) prema Vapa (1989). Da bi se utvrdila kompozicija subjedinica glutenina velike molekulske mase bilo je neophodno izvršiti redukciju proteina (merkaptotetanom), kako bi se raskinuli disulfidni mostovi između proteinskih subjedinica, a za utvrđivanje prisustva 1BL/1RS translokacije koristili su se neredukovani proteini.

Elektroforeza je radena u aparatu za vertikalnu elektroforezu „Hofer”, pri jačini struje od 20 mA po gelu, kroz koncentrujući gel, a 40 mA kroz gel za razdvajanje, u trajanju od 5-6 časova. Gelovi su bojeni u 0,02% Commassie Brilliant Blue R 250.

Obeležavanje gluteninskih lokusa i alela izvršeno je prema Payne i Lawrence (1983).

### REZULTATI I DISKUSIJA

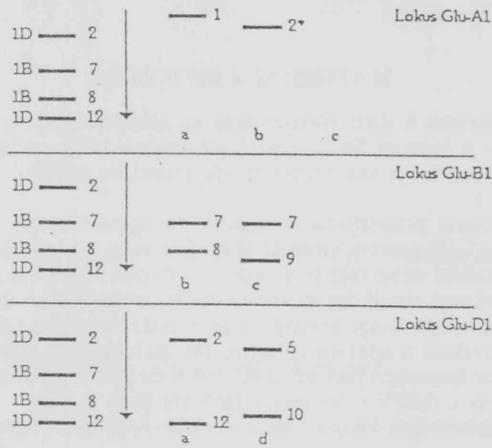
Posle elektroforetskog razdvajanja na gornjem delu gela uočeno je prisustvo 3 do 5 subjedinica glutenina velike molekulske mase (Sl. 1) koje kontrolišu aleli lokusa *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1*. Jedna ili nijedna subjedinica je kodirana genima u lokusu *Glu-A1* jedna ili dve subjedinice su kodirane genima u lokusu *Glu-B1*, dok geni u lokusu *Glu-D1* kodiraju sintezu dve subjedinice glutenina velike molekulske mase (Sl. 2).



Sl. 1. Elektroforegram glutenina velike molekulske mase sorti i linija pšenice

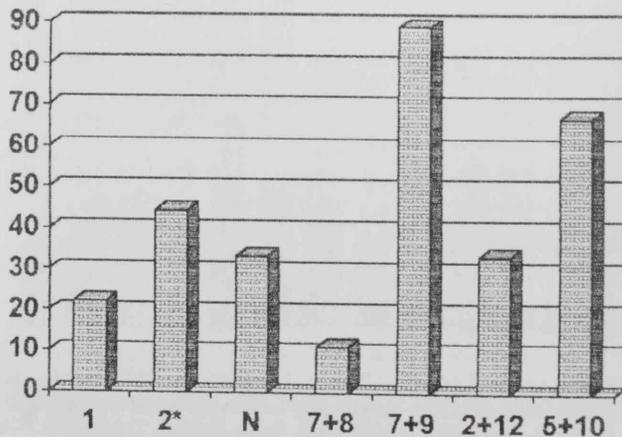
Electrophoregram of high Mr glutenin subunits in wheat cultivars and lines  
1. Baranjka, 2. Ivanka, 3. Anastazija, 4. Kremna, 5. Sofija, 6. Sara, 7. Stamera, 7. Jugoslavija, 9. NS  
17/91, 10. NS 45A/93, 11. NS. 0.1085, 12. NS 0.1085 13. NS 0.1085

\* subjedinice glutenina velike molekulske mase  
high Mr glutenin subunits



Sl. 2. Shematski prikaz alelne varijabilnosti u lokusima *Glu-1* sorti i linija pšenice  
Schematic presentation of allelic variation at *Glu-1* loci in wheat cultivars and lines

U lokusu *Glu-A1* pronađena su tri alela, aleli a i b koji kontroliraju sintezu subjedinića 1 i 2\*, dok je alel c tzv. nulti alel jer ne daje obojenu traku na gelu. Učestalost subjedinića 1 bila je 22,2%, subjedinića 2\* 44,4% dok je nulti alel bio zastupljen 33,3%. U lokusu *Glu-B1* zabeleženo je prisustvo dva alela, alel b kodira sintezu subjedinića 7+8 (11,1%) a, alel c odgovoran je za sintezu subjedinića 7+9 (88,9 %). U lokusu *Glu-D1* uočeno je prisustvo dva alela a i d, koji utiču na sintezu subjedinića 2+2 i 5+10, koje su zastupljene sa 33,3% i 66,7% (Graf. 1)



Graf. 1. Učestalost alela *Glu-1* lokusa sorti i linija pšenice  
Allelic frequency at *Glu-1* loci

Najčešća kompozicija subjedinića glutenina bila je 2\*, 7+9, 5+10, (44,4%) dok su se ostale kombinacije subjedinića *Glu-I* lokusa javljale mnogo ređe. Među ispitivanim sortama i linijama jedino je linija NS 0,1085 bila heterogena i posedovala četiri elektroforetske putanje. Translokacija 1BL/1RS je pronađena samo kod 22,2% ispitivanih sorti i linija, tj. kod sorti Anastazija i Sara (Tab. 1).

Tab. 1. Kombinacija subjedinića glutenina velike molekulske mase pšenice  
Composition of high Mr glutenin subunits in wheat

| SORTA/CULTIVAR                                   | <i>Glu-A1</i> | <i>Glu-B1</i> | <i>GLu-D1</i> | %    |
|--|---------------|---------------|---------------|------|
| ANASTAZIJA                                       | 1             | 7+9           | 2+12          | 11,1 |
| IVANKA   | 1             | 7+8           | 5+10          | 11,1 |
| KREMNA<br>NS 45A/93                              |               | 7+9           | 2+12          | 22,2 |
| SOFIJA   |               | 7+9           | 5+10          | 11,1 |
| SARA<br>STAMENA<br>NS 17/91<br>NS 0.1085 A 35,3% | 2*            | 7+9           | 5+10          | 44,4 |
| B 29,4%  | 7+9, 2+12     |               |               |      |
| C 29,4%  | 7+9, 5+10     |               |               |      |
| D 5,9%   | 1,7+9, 2+12   |               |               |      |

Prema Vapa i sar. (1995) sorte pšenice selekcionirane prethodnih godina u Novom Sadu, imale su najveću učestalost nultog alela u *Glu-A1* lokusu, alela *c*, tj. subjediniće 7+9 u lokusu *Glu-B1*, i alela *d*, odnosno subjedinića 5+10 u lokusu *Glu-D1*. Prema Pogna i sar. (1989) i Morgunov i sar. (1993) kod sorti različitih zemalja lokus *Glu-B1* pokazuje najveću varijabilnost, a subjediniće koje se najčešće javljaju su: 7+9, 7+8, 6+8. U ovom lokusu, kod novosadskih sorti, naden je manji broj različitih alela što je rezultat manje varijabilnosti sorti upotrebljenih u oplemenjivačkim programima. U ovom radu, u lokusu *Glu-A1*, najveću učestalost imala je subjedinića 2\*, a kao i prethodnih godina subjediniće 7+9 i 5+10, lokusa *Glu-B1* i *Glu-D1*, pokazale su najveću zastupljenost.

Prema Payne (1989) i Pogna i sar. (1987), u „dobre” alele, odnosno alele koji pokazuju korelaciju sa komponentama kvaliteta spadaju: *Glu-D1d* (subjediniće 5+10), *Glu-A1a* (subjedinića 1), *Glu-A1b* (subjedinića 2\*) i *Glu-B1c* (subjediniće 7+9). Među ispitivanim sortama i linijama samo je linija NS 0.1085 bila heterogena. Heterogenost se može pojaviti kao posledica mešavine zrna (prilikom setve i žetve), stranooplodnje, mutacije ili se radi o biotipovima (Vapa, 1989; Vapa, 1991; Pogna i sar., 1989) Heterogenost sorte može imati značaj za oplemenjivače jer omogućuje odabir sorti sa subjedinićama glutenina veće kvalitetne vrednosti.

### ZAKLJUČAK

U radu je analizirana alelna varijabilnost *Glu-I* lokuša čest sorti i tri linije pšenice proizvedenih u Naučnom institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Dobijeni rezultati pokazuju sledeće:

- u lokusu *Glu-A1* pronađena su tri alela: *a*, *b* i *c* tj. subjediniće 1, 2\*, N, pri čemu je subjedinića 2\* imala najveću učestalost od 44%;
- u lokusu *Glu-B1* zabeležena su dva alela: *b* i *c* odnosno njihove subjediniće 7+8 i 7+9. Najveću zastupljenost imale su subjediniće 7+9 (89%);
- u lokusu *Glu-D1* bila su prisutna dva alela: *a* i *d* koji su odgovorni za sintezu subjedinića 2+12 i 5+10. Dominantne subjediniće bile su 5+10 učestalosti (67%);

- najučestalija kombinacija glutenina velike molekulske mase bila je 2\*, 7+9, 5+10 (44%) koja je značajna za dobar tehnološki kvalitet sorte;
- heterogena je bila samo linija NS 0.1085 sa četiri elektroforetske putanje.
- 1BL/1RS translokaciju su posedovale sorte Anastazija i Sara.

## LITERATURA

Carillo, J. M., Rousset, M., Qualset, C. O., Kasarda, D. D. 1990. Use of recombinant inbred lines of wheat for study of associations of high-molecular-weight glutenin subunit alleles to quantitative traits. 1. Grain yield and quality prediction test Theor. Appl. Genet. 79: 321-330.

Harberd, N. P., Bartels, D., Thompson, R. D. 1986. DNA restriction fragment variation in the gene family encoding HMW glutenin subunits of wheat. Biochem. Genet. 24: 579-596.

Kolster, P., van Eeuwijk, F. A., van Gelder, W. M. J. 1991. Additive epistatic effects of allelic variation at the high molecular weight subunit loci in determining the bread-making quality of breeding lines of wheat. Euphytica 55: 277-285.

Morgunov A. I., Pena, R. J., Ceossa J., Rajaram S. 1993. Worldwide distribution of *Glu-1* alleles in bread wheat. J. Genet & Breed, 47: 53-60.

Payne, P. I., Holt, L. M., Krattiger, A. F., Carrillo, J. M. 1988. Relationship between seed quality characteristics and HMW glutenin subunit composition determined using wheats grown in Spain. J. Cereal Sci. 7: 229-235.

Payne P. I., Lawrence, G. J. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. Cereal Res. Commun. 11:29-35.

Payne, P. I., Nightingale, N. A., Krattiger, A. F., Holt, L. M. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. J. Sci. Food. Agric. 40: 51-65.

Pogna, N. E., Mellini, F., Beretta, A., Dal Belin Peruffo, A. 1989. The HMW glutenin of common wheat cultivars grown in Italy. J. Genet. & Breed. 43: 17–24.

Pogna, N. E., Mellini F., Dal Belin Peruffo, A. 1987. Glutenin subunits of Italian common wheats of good bread-making quality and comparative effects of high molecular weight glutenin subunits 2 and 5, 10 and 12 of flour quality. pp 53–69. In: B. Borghi (Ed) Proc. of EEC Sump. on Hard Wheat: Agronomic, Technological, Biochemical and Genetical Aspects, EEC publ. No Eur 11172, Luxembourg.

Vapa 1989. Genetic variability of HMW glutenins in Yugoslav winter wheat cultivars. pp. 31–44. In: M. Jost, (Ed) Handbook of Yugoslav Winter Wheat Cultivars. Podravka 7.

Vapa, Lj., Denčić, S., Šoltes-Rak, E., Kevrešan, S. 1995. Genetic variation in *Glu-1* loci and bread-making quality in wheat. Cereal Res. Commun. 23: 161-166.

Vapa, Lj., 1991. Allelic variation of *Glu-1* loci in Yugoslav wheat cultivars. pp 646–657. In: Bushuk W. and Thachuk R (Eds) Gluten proteins. AACC, Winnipeg, Canada.

## SUMMARY

### VARIABILITY AT *Glu-1* LOCI IN WHEAT *Triticum aestivum* L.)

Vapa Ljiljana and Vesna Županski

Institute of Biology, Faculty of Sciences, 21000 Novi Sad

Allelic variability at *Glu-1* loci of wheat cultivars released in 1998 was studied, by the method of sodium dodecyl sulphate gel electrophoresis (SDS-PAGE). At the *Glu-A1* locus three alleles coding for glutenin subunits 1, 2\* and N were determined; at the *Glu-B1* two alleles for subunits 7+8 and 7+9; and at the *Glu-D1* locus two alleles for 2+12 and 5+10. At the *Glu-A1* locus the highest allelic frequency was obtained with subunits 2\* (44%), at the *Glu-B1* with subunits 7+9 (89%), and at the *Glu-D1* locus with subunits 5+10 (67%). The most frequent was glutenin composition 2\* 7+9, 5+10 indicating good bread-making quality. Heterogeneity of glutenin composition was detected only in line NS 0.1085.

UDK: 582.26

Naučni rad

## FILAMENTOUS NITROGEN-FIXING CYANOBACTERIA INFLUENCED BY HIGH TEMPERATURE AND UV RADIATION

Zorica Svirčev and Mihajla Davidović

Primljeno 12. XI 1999.

### ABSTRACT

It is well known that filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacteria* are being used on rice fields as a microbiological fertilizer, and in past 20 years a significant effort has been made to introduce these microorganisms as a conventional microbiological fertilizer of wide use. Up till now a lots of experiments have showed a real possibility of their application in agriculture, but significant number of problems that could appear during their application have not been solved yet. The greatest number of these problems consider irrisistance of some strains to water deficit, low and high temperature and bad influence of UV radiation. Early changes caused by influence od these factors will be reflected on morphology and physiology of vegetative cells, heterocysts and akinetes. The aim this work was to determine and exam the possibility of surviving and morphological changes of soil isolates of filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacteria* influenced by high temperature and UV radiation. Besides that, the potential application of UV resistant strains could be recognized in pharmaceutical industry in human protection from UV radiation. According to our results, some cultures showed morphological changes caused by investigated factors. Although, there are some cultures, manage to resist, kiping their morphological characteristics unchanged. The domination of genus *Phormidium* was noticed in some cultures influenced by high temperature (2S4, 2S7, S9B). The influence of UV radiation on filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacteria* resulted by surviving of all cultures, but with specific morphological changes in most of the strains. Cyanobacteria strains 2S6B and 2S9 showed the extreme resistance to high temperature and UV radiation followed by weak morphological changes. These strains should be under the special attention in the case of cyanobacterial selection for different biotechnological application.

Key words: *Cyanobacteria*, high temperature, UV radiation

### INTRODUCTION

*Cyanobacteria* are the oldest group of photosynthetic microorganisms (Blaženčić, 1998). *Cyanobacteria* trace their origin to simple prokaryotic organisms, which had chlorophyll, and they represent the evolutive connection between bacteria and algae, e. g. plants. The witnesses of their evolutive oldness are paleological fossils which are believed to be old over three billion years (Stanier, 1971).

Some of old fossils, similar to *Cyanobacteria* point out that these organisms are among first on the planet and it was presumed that the first forms of *Cyanobacteria* are ancestors of today's chloroplasts in eucariotic cells (Giovanonni et al., 1988).

*Cyanobacteria* can be found in environment significantly different by temperature, pH, intensity and quality of light and also some other factors. They can be found in water, soil, thermal springs, caves and it is well known that these organisms are well adapted on the unconvinient condition of environment.

Filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacteria* are being used on rice fields as a microbiological fertilizer (Roger et al., 1986), and in past 20 years a significant effort has been made to introduce these microorganisms as a conventional microbiological fertilizer of wide use (Obrecht, 1992). A lot of experiments have showed a real possibility of their application in agriculture, but significant number of problems that could appear during their application have not be solved yet. The greatest number of these problems consider irrsistance of some cultures to water deficit, low and high temperature and bad influence of UV radiation. In case of wider inoculation of soil with these microorganisms a bad effect of different factors could change effect, importance and biotechnological application of these microorganisms. The earliest changes caused by these factors would be shown as morphological and physiological changes of vegetative cells, heterocysts and akinetes.

Considering their morphology, one group of *Cyanobacteria* was classified as filamentous heterocyst microorganisms. They have specialized cells, heterocysts and akinetes, which are different from vegetative cells in morphology, physiology and ecology importance (Mollenhauer, 1988).

It is known that UV rays have biological influence and that many processes in organism depend on energy of UV rays. On the other hand, rays with lower length have destructive effect on living cells. It was interesting to exam if there were some cultures among *Cyanobacteria* resistant to UV radiation. In past few decades „thanks to” activity of man ionosphere was damaged and higher concentration od UV rays manage to reach earth surface. Consider unprinted data from Congress of electromagnetic radiation in Oxford in 1998, American scientist showed that number of persons with skin cancer is 30% higher than during thirties. This was explained by using the sunscreens, which penetrate the skin transforming the energy in free radicals, which could damage DNA and cause cancer. The greatest number of sunscreens is on the basis of oil and they could easily penetrate the skin and be potentially dangerous. Because of these and similar data the great effort was made all around the world to find the new technology for developing the man protection from UV radiation, and one of the ways is to exam physiological adaptation and genetic mechanisms of cyanobacterial cultures resistant to UV radiation.

In order to determine cyanobacterial resistance in unconvinient condition, morphological features of cyanobacterial strains have been analized after their exposure to UV radiation and high temperature. Consider this, application of *Cyanobacteria* as biofertilizers could be limited by significant morphological and psysiological changes. Resistant cultures of *Cyanobacteria* are important base for further examination of adaptional and resistance mechanisms. Examination of these characteristics could also be used in creation of new sunscreen substances.

## MATERIAL AND METHODS

Ten isolates of *Cyanobacteria* were used and they are part of algological collection in Institute of Biology, Faculty of Natural Sciences, Novi Sad. These cultures were isolated from different soil type (solonjec) in Voivodina (Gantar et al., 1991): S1, S2, S3, 2S4, 2S6B, 2S7, S8, S9B, 2S9 and 2S10. The cultures were maintained on medium BG-11 without combined nitrogen (Rippka, 1979).

Cultures of *Cyanobacteria* in exponential phase were poured in petri dishes. Plates were exposed to UV radiation (TUV 30W/G30T8, UV-C long life) for 120 minutes. Irradiated cultures were inoculated in medium BG-11 and cultivated in tubes at 25°C and light intensity of 1500 lux. After three weeks the presence of cell growth, color, presence of mucinous, type of life cycle and complete morphological analysis has been determinated.

Cyanobacterial isolates were exposed to temperature of 55°C for seven days. After six weeks morphological analysis have been done.

Morphological analysis included:

- Determination of shape, size and number of vegetative cells
- Determination of shape, size and percent of heterocysts
- Determination of shape, size and number of cysts

Size of vegetative cells, heterocysts and akinetes was determined by measuring of 50 different cells. The percent of heterocysts was determinate after counting heterocysts per thousand vegetative cells. The star (\*) point to the statistical significance of tested parameters compared to the control without NO<sub>3</sub> at the confidential level  $p < 0,05$ . The significant differences were determined by standard statistics methods,

The analysis of control cultivated in optimal conditions have been done.

## RESULTS AND DISCUSSION

The influence od high temperature and UV radiation as stress factors on morphological characteristics of terrestrial filamentous heterocysts *Cyanobacteria* has been investigated. According to our results, some cultures showed more or less certain morphological changes caused by examined factors. Although, there were some cultures which entirely kept their morphological characteristics.

### *The influence of high temperature on morphology of filamentous heterocysts Cyanobacteria*

The presence and in some cases domination of strains the most similar to genus *Phormidium*, had been noticed in cultures exposed to the high temperature condition. It is possible that *Phormidium* like strains could not be registered earlier because of the great presence of original culture cells and filaments in medium. High temperature condition caused mass death of original culture, and provided good condition for growth and development of *Phormidium*, which is usually dominate genus in thermal springs (Blaženčić, 1998). In that way development and growth of some cultures of *Cyanobacteria* (2S4, 2S7 and S9B) were stopped.

Table 1. The influence of high temperature on shape and size of vegetative cells

| Strain | Control     |                    | 55°C        |                    |
|--------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|
|        | Shape       | Size $\mu\text{m}$ | Shape       | Size $\mu\text{m}$ |
| S1     | cylindrical | 3.5x5.75           | cylindrical | 2.85x1.85*         |
| S2     | cylindrical | 4.86               | cylindrical | 3.46               |
| S3     | round       | 4.78               | round       | 5.31*              |
| 2S4    | cylindrical | 5.9                | round       | 3.83               |
| 2S6B   | cylindrical | 3.19               | cylindrical | 3.05               |
| 2S7    | cylindrical | 4.47               | cylindrical | 5.1                |
| S8     | cylindrical | 4.47               | cylindrical | 4.9                |
| S9B    | round       | 4.2                | round       | 3.93               |
| 2S9    | culindrical | 3.86               | cylindrical | 3.64               |
| 2S10   | cylindrical | 3.43               | cylindrical | 3.06               |

Legend: \* - statistical significance of tested parameters compared to the control (-NO<sub>3</sub>) at the confidential level  $p < 0.05$

The cell size was one of the examined parameters (Table 1.). Strain S3 was the only one showing statistically significant tendency of cell size increasing. In the case of S1, the opposite process, decreasing of cell size was performed. In all other cultures (S2, 2S4, 2S6B, 2S7, S8, S9B, 2S9, 2S10) reduction of vegetative cell size occurred or the vegetative cells remained statistically unchanged, e.g. in cultures 2S6B and 2S9. The influence of temperature did not induce changes of cell shape, except in the case of strain 2S7. In this culture vegetative cells were recognized very similar to the cells changed by dehydration processes.

The reduction of number or total lost of heterocysts (Table 2.) was noticed, with the exception of 2S6B and 2S9 strains. It is consumed that high temperature badly and often lethally had influenced present bacteria provoking organic matter release from bacterial cells. There were no bacteria that could use organic compounds, the content of nitrogen compounds increased and there were no needs for heterocysts differentiation. During the cultivation at the high temperature, *Phormidium* like strains have overgrow the strains 2S4, 2S7 and S9B.

Table 2. The influence of high temperature on shape, size and percent of heterocysts

| Strain | Control  |                    |      | 55°C                            |                    |       |
|--------|----------|--------------------|------|---------------------------------|--------------------|-------|
|        | Shape    | Size $\mu\text{m}$ | %    | Shape                           | Size $\mu\text{m}$ | %     |
| S1     | elliptic | 5.3x5.7            | 6.73 | elliptic                        | 4.5x5.1            | 4.13* |
| S2     | elliptic | 7.06x5.31          | 13.8 | elliptic                        | 4.4x3.6*           | 3.22* |
| S3     | round    | 5.93               | 7.9  | round                           | 5.87               | 2.15* |
| 2S4    | round    | 7.6                | 5.15 | domination of <i>Phormidium</i> |                    |       |
| 2S6B   | round    | 4.96               | 3.44 | round                           | 4.72               | 3.12  |
| 2S7    | elliptic | 7.33x4.92          | 2.20 | domination of <i>Phormidium</i> |                    |       |
| S8     | round    | 5.51               | 3.92 | round                           | 4.87               | 3.18  |
| S9B    | round    | 5.4                | 4.12 | domination of <i>Phormidium</i> |                    |       |
| 2S9    | round    | 5.25               | 8.89 | round                           | 6.72               | 7.56  |
| 2S10   | elliptic | 5.92x4.37          | 6.14 | round                           | 5.4*               | 1.75* |

Legend: \* - statistical significance of tested parameters compared to the control (-NO<sub>3</sub>) at the confidential level  $p < 0.05$

Considering results showed in Table 3., it is not possible to define certain rule in akinetes size changes. Some cultures showed increasing and some performed reducing of cell size. It was determined that cultures S2 and 2S10 did form cysts during the high temperature exposure and that is certainly one of surviving mechanisms.

Although, in cultures 2S4, 2S7 and S9B, with the domination of genus *Phormidium*, no cysts were found in high temperature influenced cultures (Table 3.). According to our results, changes of akinetes shape were not noticed.

#### *The influence of UV radiation on morphology of filamentous heterocysts Cyanobacteria*

The effect of UV radiation resulted in surviving of all filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacteria* cultures, but with certain changes in morphology of the greatest number of cultures. Vegetative cell size of S1, S3 and S8 cultures has been statistically significant increased after the exposing to UV rays. Reduction of vegetative cell size have been found in all other cultures.

Table 3. The influence of high temperature on shape and size of akinetes

| Strain | Control |                    | 55°C  |                    |
|--------|---------|--------------------|-------|--------------------|
|        | Shape   | Size $\mu\text{m}$ | Shape | Size $\mu\text{m}$ |
| S1     | round   | 8.28               | round | 5.44*              |
| S2     | /       | /                  | round | 5.12               |
| S3     | round   | 7.75               | round | 10.0*              |
| 2S4    | round   | 8.58               | /     | /                  |
| 2S6B   | round   | 6.37               | round | 8.13               |
| 2S7    | round   | 8.31               | /     | /                  |
| S8     | round   | 7.5                | round | 6.45               |
| S9B    | round   | 10.44              | /     | /                  |
| 2S9    | round   | 10.2               | round | 6.16*              |
| 2S10   | /       | /                  | round | 7.69               |

Legend: \* - statistical significance of tested parameters compared to the control (-NO<sub>3</sub>) at the confidential level  $p < 0.05$   
 / - akinetes were not produced

The shape change from round to cylindrical was registered in cultures S3 and S9B, and change from cylindrical to round shape was noticed in culture S8. Examined cultures S3, S8 and S1 performed the increasing of vegetative cell size. Those changes were registered in cultures with small quantity of mucinous. That could be explained by the fact that mucinous naturally protect cells from bad influence of UV radiation.

Table 4. The influence of UV radiation on the shape and size of vegetative cells

| Strain | Control     |                    | UV radiation     |                    |
|--------|-------------|--------------------|------------------|--------------------|
|        | Shape       | Size $\mu\text{m}$ | Shape            | Size $\mu\text{m}$ |
| S1     | cylindrical | 3.5x5.75           | cylindrical      | 4.3x5.7*           |
| S2     | cylindrical | 4.86               | cylindrical      | 3.87               |
| S3     | round       | 4.78               | cylindrical      | 5.2*               |
| 2S4    | cylindrical | 5.9                | did not survived | did not survived   |
| 2S6B   | cylindrical | 3.19               | cylindrical      | 2.5x3.85           |
| 2S7    | cylindrical | 4.47               | cylindrical      | 3.63               |
| S8     | cylindrical | 4.47               | cylindrical      | 5.04*              |
| S9B    | round       | 4.2                | cylindrical      | 3.93               |
| 2S9    | cylindrical | 3.86               | cylindrical      | 3.5                |
| 2S10   | cylindrical | 3.43               | cylindrical      | 3.35               |

Legend: \* - statistical significance of tested parameters compared to the control (-NO<sub>3</sub>) at the confidential level  $p < 0.05$

The significant changes of heterocysts size were not registered after influence of UV radiation (Table 5.). The most important effect of UV radiation was reduction of heterocysts percent. The percent of heterocysts was significantly reduced in all cultures except 2S6B and 2S9 (Table 5.). 2S4 and S9B cultures did not form heterocysts after exposing to UV radiation.

Table 5. The influence of UV radiation on the shape, size and percent of heterocysts

| Strain | Control  |           |      | UV radiation |           |      |
|--------|----------|-----------|------|--------------|-----------|------|
|        | Shape    | Size mm   | %    | Shape        | Size mm   | %    |
| S1     | elliptic | 5.3x5.7   | 6.73 | elliptic     | 5.62x5.72 | 2.84 |
| S2     | elliptic | 7.06x5.31 | 13.8 | elliptic     | 5.6x4.8   | 2.18 |
| S3     | elliptic | 4.43x3.12 | 7.04 | elliptic     | 4.89x3.45 | 3.06 |
| 2S4    | round    | 7.6       | 5.15 | /            | /         | /    |
| 2S6B   | round    | 4.96      | 2.44 | round        | 4.94      | 1.88 |
| 2S7    | elliptic | 7.33x4.92 | 2.20 | elliptic     | 6.08x4.83 | 1.61 |
| S8     | round    | 5.51      | 3.92 | round        | 6.61      | 2.74 |
| S9B    | round    | 5.4       | 3.98 | /            | /         | /    |
| 2S9    | round    | 5.25      | 5.49 | round        | 5.21      | 5.13 |
| 2S10   | elliptic | 5.92x4.37 | 5.13 | elliptic     | 5.5x3.81  | 3.49 |

Legend: \* - statistical significance of tested parameters compared to the control (-NO<sub>3</sub>) at the confidential level  $p < 0.05$

/ - heterocysts were not produced

Table 6. The influence of UV radiation on shape and size of akinetes

| Strain | Control |         | UV radiation |          |
|--------|---------|---------|--------------|----------|
|        | Shape   | Size mm | Shape        | Size mm  |
| S1     | round   | 8.28    | round        | 9.06     |
| S2     | /       | /       | elliptic     | 5.5x4.93 |
| S3     | round   | 7.75    | /            | /        |
| 2S4    | round   | 8.58    | /            | /        |
| 2S6B   | round   | 6.37    | round        | 6.83     |
| * 2S7  | round   | 8.31    | round        | 5.25*    |
| S8     | round   | 7.5     | round        | 7.25     |
| S9B    | round   | 10.44   | round        | 8.0*     |
| 2S9    | round   | 10.2    | round        | 5.96*    |
| 2S10   | /       | /       | round        | 4.98     |

Legend: \* - statistical significance of tested parameters compared to the control (-NO<sub>3</sub>) at the confidential level  $p < 0.005$

/ - akinetes were not produced

The results in table 6. perform the changes in size and shape of akinetes, which could not make sense in order to create any rule. The decrease of akinetes size was registered in cultured 2S7, S9B and 2S9, and in cultures S1 and 2S6B increase of akinetes size. In cultures which did not form cysts in control medium (S2 and S10), cysts were noticed after the influence of UV radiation. Filaments in S3 and 2S4 cultures lost the capability of forming cysts after UV radiation (Table 6.). During this experiment the presence of pseudoaserial stadium has always been followed by great number of cysts.

Concerning the life cycle, no changes were registered in the most cultures except S1, S2 and 2S10. Registered changes were in direction from filamentous to pseudoaserial(2S10), from aserial to filamentous (S1) and from aserial to pseudoaserial stages (S2). The culture 2S9 was found as exemption because of the presence of specific microcolonies like *Eudorina*, which could be connected to aserial stadium. It could be the result of stronger connections between cells that build smaller packages and formed described shape.

Very long cells of irregular shape, located at the ends of filaments were registered in 2S7 culture in medium without nitrogen. Those cells have granulose structure and significantly bigger dimensions. This change could be explained by neediness of organisms to increase their genetic material in order to most efficient reparation and surviving. Although, it is possible that UV radiation caused spreading the plasmodesms between two neighbor cells which resulted in fusion of these cells. Third possibility could be the accumulation of glycerol as the factor of defense.

The most important observation that should be point out after the influence of UV radiation is that all cultures survived, with more or less changes. Moreover, the cultures which showed the fastest reparation, also showed the significant change of color. It is well known that UV radiation damage genetic material, firstly mRNA, and after that photosynthetic mechanism and other physiological processes (Sarić et al., 1991.). Considering that, *Cyanobacteria* have three major basic mechanisms of protection from UV radiation. Presence of mucineous sheath, protection of genetic material as the presence of a few genomes copies within one cyanobacterial cell (Fush, 1996.) and protection of photosynthetic mechanism of the chlorophyll as the first donor of photosynthetic electron transport.

Change of color was registered in the cultures where also were registered the least significant changes of shape, size and number of vegetative cells, heterocysts and cysts. Haxo and Norris (1958.) informed about primary role of biliproteins in conversion of light energy. It is also confirmed that, enormous percent increase of biliproteins per dry mass of cell (about 24% per dry mass, and the normal value is 1-10%) under certain circumstances could happen (Mayers and Kratz, 1955.). *Cyanobacteria* have great content of carotenoids which protect chlorophyll from harmful effects. Up till now 17 different carotenoids have been identified, and few more unidentified have been registered in small concentration (Healey, 1968.). Our results could be in concordance with the fact that the protecting mechanisms for synthesis of pigments could take a part in defense of photosynthesis after influence of UV radiation. Certain role in protection of cells from absorption of light intensity have also gas vacuoles (Waaland et al., 1980.) that were registered in cultures 2S7, S2 and 2S10.

The results of this work also could open the way to examination of mutations in survived and changed cultures as sign of effect of UV radiation and high temperature.

## CONCLUSION

Considering our results, some cultures showed certain morphological changes caused by investigated factors. Although, there are some cultures which manage to resist and they kept their morphological characteristics unchanged. The domination of genus *Phormidium* was noticed after effect of high temperature in some cultures. High temperature treatment has not caused the changes only in two strains. Influence of UV radiation on filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacteria* resulted by surviving of all cultures, but with specific morpholo-

gical changes in most of the cultures. The 2S6B and 2S9 cultures with the minor morphological changes have been found as the strains with the extreme resistance on high temperature and UV radiation. Special attention should be paid on these cultures during the selection of material for different biotechnological application.

## UTICAJ POVIŠENE TEMPERATURE I UV ZRAČENJA NA FILAMENTOZNE AZOTOFIKSIRAJUĆE CIJANOBakterIJE

Zorica Svirčev, Mihajla Davidović

### SAŽETAK

Poznato je još od davnina da se filamentozne azotofiksirajuće cijanobakterije koriste u pirinčanim poljima kao mikrobiološko đubrivo, a u poslednjih 20 godina čine se značajni napori da se ovi mikroorganizmi uvedu kao konvencionalno mikrobiološko đubrivo široke upotrebe. Do sada su urađeni mnogi eksperimenti koji ukazuju na realne mogućnosti njihove upotrebe u poljoprivredi, ali još uvek nije rešen veliki broj problema koji se mogu javiti tokom njihove aplikacije. Najveći broj tih problema se odnosi na neotpornost nekih sojeva prema isušivanju, niskim i visokim temperaturama i štetnom delovanju UV zraka. Nepovoljnim delovanjem ovih faktora na filamente, prvi znaci problema bi se odrazili na morfologiju i fiziologiju vegetativnih ćelija, heterocista i akineta. Cilj našeg rada bio je da utvrdimo i ispitamo mogućnost preživljavanja i morfološke promene zemljišnih izolata filamentoznih azotofiksirajućih cijanobakterija u odnosu na dejstvo UV zračenja i povišene temperature. Prema našim rezultatima kod nekih sojeva je došlo manje ili više do određenih morfoloških promena koje su izazvane navedenih faktorima. Međutim, postoje i oni sojevi koji su u potpunosti sačuvali svoje morfološke osobine. U slučaju delovanja povišene temperature to su sojevi 2S6B i 2S9. Uticaj UV zračenja na filamente azotofiksirajućih cijanobakterija rezultirao je preživljavanjem svih sojeva, ali uz određene promene u morfologiji kod većine sojeva. Najmanje promene su pretrpeli sojevi koji su pokazali otpornost i na povišenu temperaturu, a to su 2S6B i 2S9 na koje bi svakako trebalo obratiti pažnju pri odabiru sojeva za mikrobiološko đubrivo, ali i prilikom selekcije materijala za različitu biotehnošku primenu.

Ključne reči: *Cyanobacteria*, UV zračenje, temperatura

### REFERENCES

1. Blaženčić, J. (1998): Sistematika algi. Naučna knjiga, Beograd.
2. Fush, G.W. (1996): The nuclear structures of procaryotic organisms (bacteria and Cyanophyceae). *Protoplasmatologia* 5(4):1–186.
3. Gantar, M., Obreht, Z., Fojkar, O. (1991): Occurrence and characterization of nitrogen-fixing Cyanobacteria in different temperate soils. *Mikrobiologija* 28(1):33–44.
4. Giovanonni, S. J., Turner, S., Olsen, G. J., Barms, S., Lane, D. J., Dace, N. R. (1988): Evolutionary relationships among Cyanobacteria and green chloroplasts. *J. Bacteriology* 170: 3584–3592.
5. Haxo, F. T., Norris, P. S. (1953): Photosynthetic activity of phycobilins in some red and blue-green algae. *Biol. Bull.* 105, 374.
6. Healey, F. P. (1968): The carotenoids of four blue-green algae. *J. Phycol.* 4: 126–129.
7. Mollenhauer, D. (1988): Nostoc species in the field. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 80 (1–4):315–326.
8. Mayers, J., Kratz, W. A. (1955): Relation between pigment content and photosynthetic characteristics in a blue green alga. *J. gen. Physiol.* 39, 11–22.
9. Obreht, Z. (1992): Morfološka i ekofiziološka svojstva azotofiksirajućih zemljišnih cijanobakterija i mogućnost njihove primene kao biofertilizatora. Doktorska disertacija, PMF Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.

10. Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., Stanier, R. Y. (1979): Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria, *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.
11. Roger, P.A., Santiago-Ardelas, S., Watanabe, I. (1986): Nitrogen-fixing blue-green algae in rice soils of northern Luzon (Philippines). *Phil. Agri.* 69 589-598.
12. Sarić, M., Krstić, B., Stanković, Ž. (1991): *Fiziologija biljaka*. Naučna knjiga, Beograd.
13. Stanier, R. J. (1971): The position of Cyanobacteria in the world of phototrops. *Carlsberg Res. Commun.* 42 77-98.
14. Waaland, J. R., Waaland, S. D. and Branton, D. (1970): Gas vacuoles. Light shielding in blue-green algae. *J. Cell Biol.* 48: 212-215.

UDK: 582.86

Naučni rad

COMPARATIVE MICROMORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSES OF  
SEED OF FOUR SPECIES OF GENUS *Oenothera* L. 1753  
(Myrtales, Oenotheraceae)

Pal Boža\*, Dušan Adamović\*\*, Aleksa Knežević\*\*\*, Ištvan Verešbaranji\*\*

\*University of Novi Sad, Faculty of Natural Sciences, Institute of Biology, 21000 Novi Sad, Trg D. Obradovića 2, Yugoslavia

\*\*Institute of Field and Vegetable Crops, 21000 Novi Sad, Maksima Gorkog 30, Yugoslavia

\*\*\*University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, 21000 Novi Sad, Trg D. Obradovića 8, Yugoslavia

Primljeno 12. XII 1999.

ABSTRACT

The four *Oenothera* species from different sections, i. e. *Oe. biennis* L. 1753, *Oe. glazioviana* Micheli in Martius 1882, *Oe. salicifolia* Desf. 1815, and *Oe. oakesiana* (A. Gray) Robbins ex S. Wats et Coult in A., Gray 1890 were investigated. Plant material collected from natural habitats of Serbia was analyzed in 1994-1995 period. Seed coat ornamentation micromorphology was SEM analyzed (43 x, 200 x, 800 x). Differences in papillae size and shape and significant differences in protein and fatty oil content (between 24 and 28%) were recorder. In addition, differences in fatty oil composition and significant differences in volume mass and a 1,000 grain mass (between 404 and 541 mg) were found.

Keywords: seed coat, papilla, a 1,000 grain mass, volume mass, protein, fatty oil, fatty acid

INTRODUCTION

In Serbia, only four *Oenothera* species have been korwm: *Oe. bennis* L. 1753 Sp. Pl. 346 and *Oe. glazioviana* Micheli in Martius 1882 Fl. Brasil. 13/2: 178, series *Oenothera* Rostanski 1985 Fedd. Rep. 96, 1-2:7 (Rostanski 1985, 1995), *Oe. salicifolia* Desf. 1815 Tabl. Ecole. Bot. ed. 2, 271, series *Derriesia* Rostanski 1985 Fedd. Rep. 96, 1-2:5 (Rostanski, 1985), and *Oe. oakesiana* (A. Gray) Robbins ex S. Wats. et Coult in A. Gray 1890 Man. ed. 6,190, series *Rugglesia* Rostanski 1985 Fedd. Rep. 96, 1-2:10 (Rostanski, 1985). The most abundant and widespread *Oe. biennis* was for the first time quoted by Pančić (1874). Only the two localities of *Oe. glazioviana* subnom. *Oe. erythrosepala* Borbás 1903 recorded for the first time by Boža et al. (1991) were reported. Ivkovie (1975) was the first to describe *Oe. salicifolia*. The fourth species *Oe. oakesiana* found in one locality only was for the first time described by Boža and Knežević (1988).

The present paper analyzes the seed coat ornamentation, a 1,000 grain mass, volume mass, protein percentage, the percentage of fatty oil, and the fatty oil composition in seed of the four *Oenothera* species.

## MATERIAL AND METHOD

The seed material was collected at full maturity in October during 1994 and 1995. *Oe. biennis*, *Oe. salicifolia* and *Oe. oakesiana* were found in the same ruderal habitat in the vicinity of Novi Sad while *Oe. glazioviana* in a ruderal habitat near Subotica. Seed coat ornamentation was SEM - investigated. The seed samples were mounted and affixed on aluminium stubs and coated with gold-paladium (85:15) in JOEL JEE 4B vacuum evaporator and analyzed by a JOEL JSM T. 35 scanning electron microscope (SEM) with 43 x, 200 x, and 800 x magnification. A 1,000 grain mass and volume mass were measured. Protein percentage was determined by a micro-Kjeldahl method, fatty oil by a Soxhlet while its composition by GC. The obtained results were processed statistically by a variance analysis.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Seed coat micromorphology

*Oenothera* seed develops in dry dehiscent pod splitting along four lines. Pod elongated, cylindric, or slightly tetragonal. A great number of contracted seed is found in a pod (Schermann, 1967).

Seed irregularly polygonal (Fig. 1 D.), cuneate (Fig. 1 A.), hemispheric (Fig 1 B.), or column-like (Fig. 1 C.). Different seed size, even in the same pod, is worth of notice. Seed smaller apically and basally while somewhat larger in the middle.

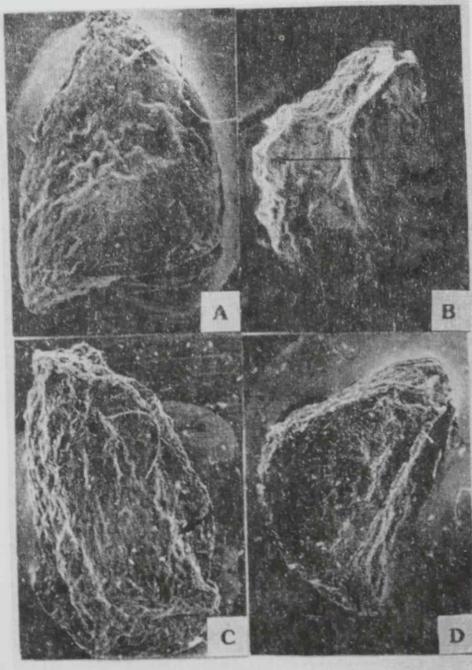


Fig. 1 Seed of *Oe. biennis* (A.), *Oe. glazioviana* (B.), *Oe. salicifolia* (C.), and *Oe. oakesiana* (D.) (43 x)  
Seme *Oe. biennis* (A.), *Oe. glazioviana* (B.), *Oe. salicifolia* (C.) i *Oe. oakesiana* (D.) (x 43)

Irrespective of series characteristics (Figs 2 and 3), papillose seed coat ornamentation is evident (Boža, Adamović, 1995). Papillae form rows extending along the longest seed axis. Rows somewhat more conspicuous in *Oe. salicifolia* (Ser. *Derriesia*) (Fig. 2 C.) and *Oe. oakesiana* (Ser. *Rugglesia*) (Fig. 2 D.) than in the remaining two species, *Oe. biennis* and *Oe. glazioviana* (Ser. *Oenothera*). *Oe. glazioviana* and *Oe. salicifolia* seed with more or less conspicuous winglike extensions angularly (Fig. 1 B., C., D.). Variable size of seed coat papillae with rugose (*Oe. biennis* and *Oe. glazioviana*, Ser. *Oenothera*, Fig. 3 A., B.) or granular surface (*Oe. salicifolia*, Ser. *Derriesia*, Fig. 3 C. and *Oe. oakesiana*, Ser. *Rugglesia*, Fig. 3 D.) is recorded. Papillae more conspicuous in *Oe. salicifolia* and *Oe. oakesiana* while their size do not correlate with the size of seed.

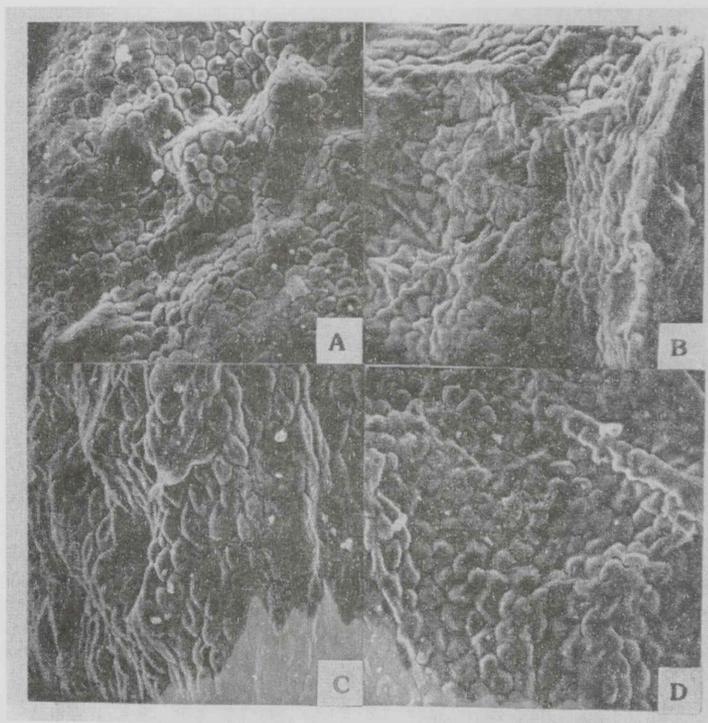


Fig. 2 Seed coat ornamentation in *Oe. biennis* (A.), *Oe. glazioviana* (B.), *Oe. salicifolia* (C.), and *Oe. oakesiana* (D.) (200 x)  
Ornamentika semenjače *Oe. biennis* (A.), *Oe. glazioviana* (B.), *Oe. salicifolia* (C.) i *Oe. oakesiana* (D.) (x 200)

In *Oe. biennis*, remote papillae cut at apex, plane polygonal with mostly acute angles are observed (Fig. 3 A.). In *Oe. glazioviana* papillae compressed, mainly convex apically, rotund, polygonal (Fig. 3 B.). *Oe. salicifolia* has remote concave apically, acute or rotund polygonal papillae (Fig. 3 C.) while compressed, convex apically, rotund polygonal papillae are found in *Oe. oakesiana* (Fig. 3 D.).

Seed coat micrography shows the same, granular type in all the four analyzed species while differences are recorded in papillae shape and size.

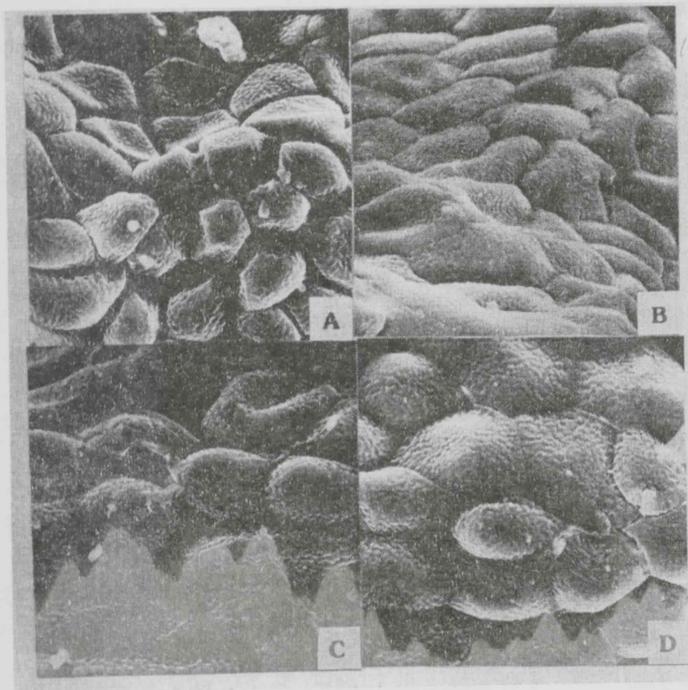


Fig. 3 Seed coat ornamentation in *Oe. biennis* (A.), *Oe. glazioviana* (B.), *Oe. salicifolia* (C.), and *Oe. oakesiana* (D.) (800 x)  
Ornamentika semenjače *Oe. biennis* (A.), *Oe. glazioviana* (B.), *Oe. salicifolia* (C.) i *Oe. oakesiana* (D.) (x 800)

See mass and its biochemical properties

Highly significant higher a 1,000 seed mass in *Oe. biennis* and highly significant higher volume mass in *Oe. glazioviana* when compared with the other two *Oenothera* species were found (Tab. 1).

Tab. 1 Seed properties  
Osobine semena

| Species<br>vrsta       | 1,000 grain mass, mg<br>masa 1000 zrna. mg | Volume mass, g<br>zapreminska masa, g | Fatty oil, %<br>masno ulje, % | Protein, %<br>proteini, % |
|------------------------|--|---------------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| <i>Oe. biennis</i>     | 541  | 397                                   | 25.7                          | 16.8                      |
| <i>Oe. glazioviana</i> | 424  | 492                                   | 24.2                          | 19.3                      |
| <i>Oe. salicifolia</i> | 478  | 396                                   | 24.6                          | 17.3                      |
| <i>Oe. oakesiana</i>   | 404  | 434                                   | 28.2                          | 19.7                      |
| LSD 5%                 | 24   | 8                                     | 3.3                           | 1.1                       |
| 1%                     | 30   | 11                                    | 4.6                           | 1.5                       |

A highly significant higher fatty oil content in *Oe. oakesiana* when compared with *Oe. glazioviana* and *Oe. salicifolia* was recorded. Palmitic-, stearic-, oleic-, linolenic-, and gammalinolenic fatty acid dominated in all the four *Oenothera* species. This is in agreement with data reported for certain other *Oenothera* species (Sniežko et al., 1995; Mol, 1995). Higher oleic and lower linolenic acid contents were found in *Oe. oakesiana* and *Oe. glazioviana* than in *Oe. biennis* and *Oe. salicifolia* (Tab. 2). The highest percentage of gamma-linolenic acid was recorded in *Oe. glazioviana* (8.6), whereas the lowest in *Oe. oakesiana* (7.5) (Tab. 2). According to Sniežko et al. (1995), the highest gamma-linolenic acid was found in *Oe. suaveolens* while Mol (1995) reported on its highest percentages in *Oe. subterminalis* and the lowest in *Oe. biennis*.

The highest protein content was found in both *Oe. oakesiana* and *Oe. glazioviana* (Tab. 1). Similar values were presented in our previous paper (Boža, Adamović, 1995) while differences in the individual characters of *Oe. biennis* as related to year of investigation were reported by Lukić and Savin (1996).

Tab. 2 Fatty acid percentage in oil  
Procenat masnih kiselina u ulju

| Species<br>Vrsta       | 16:0 | 18:0 | 18:1 | 18:2  | 18:3 |
|------------------------|------|------|------|-------|------|
| <i>Oe. biennis</i>     | 7.30 | 1.35 | 6.19 | 76.41 | 8.26 |
| <i>Oe. glazioviana</i> | 5.39 | 1.66 | 9.25 | 74.53 | 8.66 |
| <i>Oe. salicifolia</i> | 6.43 | 1.41 | 6.48 | 77.41 | 7.79 |
| <i>Oe. oakesiana</i>   | 6.10 | 1.99 | 9.64 | 74.13 | 7.56 |

## CONCLUSIONS

- In view of the above seed results of *Oe. biennis*, *Oe. glazioviana*, *Oe. salicifolia*, and *Oe. oakesiana*, we made several conclusions:
  - Papillary type of seed coat ornamentation is evident.
  - Smaller rugose papillae are found in *Oe. biennis* and *Oe. glazioviana* (Ser. *Oenothera*) while more conspicuous granular in *Oe. salicifolia* (Ser. *Derriesia*) and *Oe. oakesiana* (Ser. *Rugglesia*).
  - Seed of *Oe. glazioviana*, *Oe. salicifolia*, and *Oe. oakesiana* low-inged angularly.
  - The same papillar type of seed coat is recorded in all the four investigated *Oenothera* species while differences are found in papillae shape and size.
  - The greatest 1,000 grain mass was found in *Oe. biennis* (541 mg), whereas the smallest in *Oe. oakesiana* (404 mg).
  - Volume mass ranged from 396 g (*Oe. salicifolia*) to 492 g (*Oe. glazioviana*).
  - The highest fatty oil percentage was found in *Oe. oakesiana* (28.2), whereas the lowest in *Oe. glazioviana* (24.2).
  - Oil gamma-linolenic acid ranged from 7.5% (*Oe. oakesiana*) to 8.6% (*Oe. glazioviana*).
  - Protein percentages ranged from 16.8 (*Oe. biennis*) to 19.7 (*Oe. oakesiana*).

## REFERENCES

- Boža, P., Knežević, A (1988): O vrstama rodova *Suaeda* Forsk. 1775 i *Oenothera* L. 1753 u Vojvodini. Biosistematika 4, 17–22.
- Boža, P., Adamović, D. (1995): Analiza semena nekih vrsta roda *Oenothera* L. 1753 u Vojvodini. Medicinal Plant Report, 2, 2, 34–38.
- Ivković, O. (1975): Prilog adventivnoj flori okoline Novog Sada. Zbornik za prirodne nauke Matice srpske, 49, 197–202.
- Lukić, P., Savin, K. (1996): Semen et oleum seminis *Oenothera biennis* Československe farmacie, 15, 499–500.
- Mol. J. (1995): Badania wstępne nad zroźnicowaniem składu kwasow tłuszczowych w oleju wybranych gatunkow wiesiolka *Oenothera* L.). Zbiór prak II Sympozjum n. k. Olej z nasion wiesiolika w profilaktyce i terapii, 128–130.
- Pančić, J. (1874): Flora Kneževine Srbije. Drčavna štamparija, Beograd.
- Rostanski, K. (1985): Zur Gliederung der Subsektion *Oenothera* (Sektion *Oenothera*, *Oenothera* L., *Onagraceae*). Feddes Repertorium, 96, 1–2, 3–14.
- Rostanski, K. (1995): Rodzaj *Oenothera* L. (wiesiolek) w Europie. Zbiór Prak II Sympozjum n. k. Olej z nasion wiesiolika w profilaktyce i terapii, 6–12.
- Schermann, Sz. (1967): Magismeret, 1. Akadémiai kiadó, Budapest.
- Sniežko, R., Krzacek, T., Bogucka – Kocka, A. (1995): Tanowisko genetyczne czterech gatunkow *Oenothera* L. *hookeri*, *suaveolens*, *biennis* i *lamarckiana*) a zawartosc kwasow tłuszczowych i fenolowych w ich nasionach. Zbiór Prak II Sympozjum n. k. Olej z nasion wiesiolika w profilaktyce i terapii, 84–90.
- Zlatković, B., Anačkov, G., Boža, P., Adamović, D. (1998): Distribution of species of the genus *Oenothera* L. (Myrtales, Oenotheraceae) in Serbia. Thaiszia – J. Bot., 8: 43–51.

## UPOREDNA MIKROMORFOLOŠKA I BIOHEMIJSKA ANALIZA SEMENA ČETIRI VRSTE RODA *Oenothera* L. 1753 (*Myrtales*, *Oenotheraceae*)

Pal Boža\*, Dušan Adamović\*\*, Aleksa Knežević\*\*\*, Ištvan Verešbaranji\*\*

\* Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju, Novi Sad

\*\* Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

\*\*\* Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

## REZIME

Istraživane su četiri vrste roda *Oenothera* L. 1753, koje se spontano javljaju u Srbiji, *Oe. biennis* L. 1753, *Oe. glazioviana* Micheli in Martius 1882, *Oe. salicifolia* Desf. 1815 i *Oe. oakesiana* (O. Gray) Robbins ex S. Wats. et Coult in A. Gray 1890, koje pripadaju različitim serijama. Biljni materijal je sakupljan sa prirodnih staništa tokom dve godine.

Ispitivana je ornamentika semenjače pomoću SEM (43 x, 200 x, 800 x). Dobijene su razlike u veličini i obliku papila. Zabeležene su značajne razlike u sadržaju proteina i masnog ulja (24–28%), dok su razlike u sadržaju masnih kiselina bile manje izražene. Takođe, dobijene su značajne razlike između vrsta u pogledu zapreminske mase i mase 1000 zrna (404–541 mg).

UDK: 538.2

Naučni rad

THE EFFECTS OF PROLONGED EXPOSURE OF MALE RATS TO 50 HZ  
MAGNETIC FIELD ON THE STEROIDOGENIC CAPACITY OF WHOLE TESTES  
AND LEYDIG CELLS *IN VITRO*

Primljeno 12. XI 1999.

Silvana Andrić, Tatjana Kostić, Bogoslav Lažetić<sup>1</sup>, Neda Pekarić-Nad<sup>2</sup> and Radmila Kovačević

Institute of Biology, Faculty of Natural Sciences, Department of Physiology

<sup>1</sup> Medical Faculty and <sup>2</sup> Faculty of Technical Sciences

University of Novi Sad, 21000 Novi Sad, Yugoslavia

To whom correspondence should be addressed:

Silvana Andrić

Faculty of Science

Institute of Biology

University of Novi Sad

Dositeja Obradovića Square 2

21000 Novi Sad

YUGOSLAVIA

Tel. 381 21 350 122 ext 586

FAX 381-21-59955

e-mail: silvana@unsim.im.ns.ac.yu

Running Title: Magnetic field effects on Leydig cells

ABSTRACT

The effect of 50 Hz magnetic field (MF) of moderate intensity (50-500  $\mu$ T) applied from birth to 65 (postpubertal) or 144-149 days of age (adult) (7 hours a day, 5 days a week) to male rats, was examined by measuring steroidogenic capacity of decapsulated testes and isolated Leydi cells *in vitro*. The testes from exposed (E) rats did not have statistically different response to hCG stimulation *in vitro*, comparing to the sham-exposed (S) rats, but in adult rats the number of Leydig cells per testis was for 42.6% less than in controls. However, in postpubertal rats the sensitivity and steroidogenic capacity of Leydig cells were decreased comparing to corresponding S group. On the other hand, Leydig cells from adult E rats expressed higher responsiveness to hCG stimulation. It can be supposed that prolonged exposure to MF induced the increase of Leydig cell responsiveness to hCG stimulation as a compensatory effect due to the decrease of Leydig cell number in adult testis.

KEY WORDS: magnetic field, steroidogenic capacity, Leydig cells.

## INTRODUCTION

It has been shown that prolonged exposure of male and female rats (from birth to adulthood) to 50 Hz magnetic field (MF) decreased their ability to bring offspring (1). According to Dumansky and Chegriness (2) exposure of male rats to 50 Hz MF of 10, 50 and 250 mT 20h per day during 8 weeks induced certain changes in spermatogenesis. However, other authors have shown that prolonged exposure of male rats to 50 Hz electromagnetic field (8h/day at 25-kC/m and 100-kV/m 50 Hz electric field for 280, 440 and 1-240h did not impair the reproductive function of the exposed males (3). Also, the same authors (4) have shown that prolonged exposure (32 weeks; 22h/day to a 50 Hz magnetic field of 5mT) of adult rats (initial age 12 weeks) to ELF electromagnetic fields, did not cause significant changes in growth rate and morphology and histology of the testes. In the present study the effect of 50 Hz MF of moderate intensity (less than 500 mT; applied from birth to adulthood) on steroidogenic capacity of decapsulated testes and isolated Leydig cells in vitro was investigated in two aged groups (postpubertal: 65 days old and adults: 144-149 days old).

## MATERIALS AND METHODS

**Chemicals.** Antistosterone serum No. 250 was kindly donated by Dr. G. D. Niswender (Colorado State University, USA). Medium 199 (M199), bovine serum albumin (BSA, Fraction V), collagenase (Type I) and testosterone were purchased from Sigma, hCG (Pregnyl, 3000 IU/mg) was obtained from Organom Inc., and [1,2,6,7-<sup>3</sup>H(N)] testosterone was obtained from New England Nuclear. All other reagents were of analytical grade.

**Animals and exposure to magnetic field.** The experiment was performed on male Mill Hill Hood rats. The animals, random bred in our laboratory, were raised under controlled environmental conditions with food and water ad libitum. 24 hours after the animals were born two groups of animals (control and experimental) were formed. The experimental group was exposed to 50 Hz MF 7 hours a day, 5 days a week. The field was generated by a single water cooled coil supplied by electricity from grid, via auto transformer. The intensity of the field decayed along the cages from 500  $\mu$ T to 50  $\mu$ T (Fig. 1.). During exposure, animals were kept in plastic cages (25 x 35 30 cm) between coils. Control group were kept in the same condition except the exposure to magnetic field. Animals were sacrificed at 65 and 144-149 days of age, three days after the end of the exposure to MF. Exposed (E) rats and sham-exposed (S) of corresponding ages were sacrificed by decapitation, and testes quickly removed for Leydig cell isolation and testes incubation.

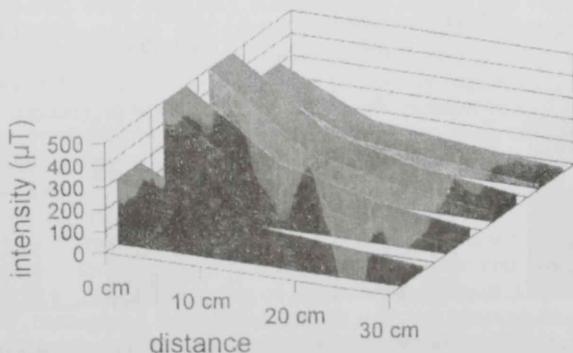


Fig. 1 Intensity of MF of cage

**Decapsulated testis production.** The steroidogenic capacity of the testes was examined *in vitro* by stimulation with hCG. The testes were removed immediately after the animals were sacrificed, decapsulated and placed in 5 ml medium 199 contained 0.1% bovine serum albumin (BSA, Fraction V) (M199-BSA). Maximal gonadotrophin-stimulated testosterone production was measured by the addition of 100 ng hCG (Pregnil, 300 IU/mg, Organon Inc.). The contents of the incubation vials were gassed with 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>, and the incubations were carried out at 34°C for 3h. The medium was then decanted into glass tubes and centrifuged at 1000g for 10 min and the supernatant was aspirated and stored at -20°C until assayed for testosterone content.

**Cell dispersion and testosterone production.** The right testes were removed immediately after the animals were sacrificed (testes from S and testes from E group), decapsulated and enzymatically dispersed with collagenase as previously described (5). Trypan blue exclusion test was used to determine total cell counts and viable cell number. Aliquots (10<sup>6</sup> cells/0.3 ml) of crude cell suspension of Leydig cells were added to 12 x 75 ml plastic tubes containing 0.1 ml of different concentration of hCG (0.125, 0.25 0.5 and 10 ng) and 0.1 ml of M199-BSA so that final volume was 0.5 ml. Additional tubes without hCG was also incubated for determination of basal testosterone production. All tubes were incubated for 2h in a shaking water bath oscillating at 100 cycles/min under an atmosphere of 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>. The tubes were centrifuged 5 min at 400g at 4°C and supernatant was stored at -20°C prior to measurement of testosterone by RIA. Since the antitestosterone - 11 BSA serum No. 250 (from G. D. Niswender) shows high cross-reactivity with dihydrotestosterone (and not with other steroids), assay values for androgen production are referred to as „T+DHT” concentrations. Serum testosterone levels were also measured by RIA using the same antiserum.

## RESULTS

The result shown in Fig. 2. demonstrated that prolonged exposure of rats to MF induced no statistically significant changes in the capacity of the testes to respond to hCG stimulation *in vitro* (Fig. 2., A and B), but in adult E rats the number of Leydig cells per testes was for 42.6% less than in corresponding A rats (Fig. 2., B). In postpubertal E rats basal as well hCG-stimulated testosterone production were decreased comparing to S rats (Fig. 3., A), while in adults exposure to MF had opposite effect. Basal as well hCG-stimulated testosterone production were higher in E rats then in S rats (Fig. 3., B). Serum testosterone levels in both group of E animals did not differ comparing to corresponding S controls (postpubertal: 6.79 ± 0.71 in E rats vs. 6.64. ±0.88 in S rats; adults: 2.60 ± 0.54 ng/ml in E rats vs. 3.29 ± 0.96 ng/ml in S rats).

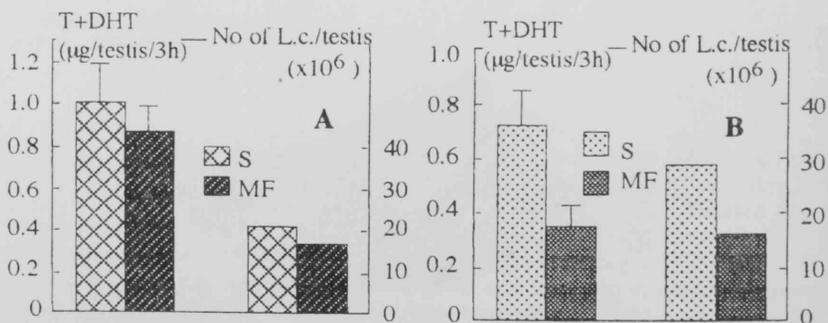


Fig 2. Effect of MF on hCG-stimulated T+DHT production by decapsulated testes and number of Leydig cells per testis in post pubertal (A) and adult (B) rats. Decapsulated testes were incubated for 3h in the presence of 100 ng hCG/testis. Columns represent mean ± SEM of 5 animals

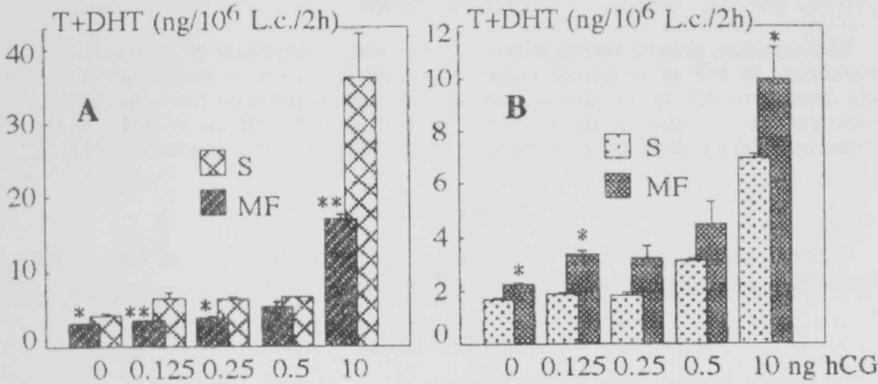


Fig. 3 Effect of MF on basal and hCG-stimulated production of T+DHT by suspension of Leydig cells from post pubertal (A) and adult (B) rats.

Leydig cells (10<sup>6</sup>) were incubated for 2h in the presence of different doses of hCG. Columns represent mean ± SEM of 5–6 replicates. Statistical significance for Mann-Whitney U test: \*p < 0.01 vs. corresponding sham-exposed rats (S).

#### DISCUSSION

Studies on the effects of magnetic fields on adult rat testes are not conclusive. According to Navakatikyan *et al.* (6) the exposure of adult rats to 0.01–0.25 mT at 50 Hz induced the increase of serum testosterone levels in a dose- and time-dependent manner. On the other hand, Margonato *et al.* (4) found no effects of prolonged exposure of male rats (initial age 12 weeks, for 32 weeks) to MG (50 Hz, 5mT) at the level of testes weights and histological alterations. Picazo *et al.* (7) have shown that the exposure of male OF1 mice (mother from age of 6 weeks and their offspring which were sacrificed at the age of 10 weeks) to a MF (50 Hz, 15 mT) induced a significant increase in the size and weight of the testes, interstitial tissue in the testis and serum testosterone levels. In our experiments, the rats were exposed to MF of moderate intensity, from birth to adulthood i.e., throughout the pubertal period also, and different effects were observed in postpubertal (65 days old) and adult (144–149 days old) when sensitivity, steroidogenic capacity and number of Leydig cells per testis are concerned. At the end of the pubertal period E rats demonstrated lower response of Leydig cell to subsaturating (measure sensitivity) and saturating (measure of steroidogenic capacity) dose of hCG *in vitro*, while number of Leydig cell per testis was similar to control. On the contrary, in adult E rats an increased responsiveness of Leydig cells to hCG stimulation was observed, together with severe decrease of number of Leydig cells per testis. It could be supposed that exposure to environmental injuries during pubertal period which is critical for normal development of reproductive function could be responsible for the obtained effects in adults. The shift in responsiveness of Leydig cells to hCG, lower responsiveness in postpubertal to higher responsiveness in adults could be explained as compensatory effect due to the decreased number of Leydig cells per testis in adult E rats comparing to S control. It should be mentioned that, in the paper of Picazo *et al.* (7) male OF1 mice were exposed continuously to MF, throughout the pubertal period also, but histological analysis demonstrated the increase of the interstitial tissue in the testis and serum testosterone levels. However, species differences could not be neglected, as well as lower intensity of MF in their experiments.

## CONCLUSIONS

In conclusion, present results indicate that prolonged exposure of male rats, from birth to adulthood, to MF of moderate intensity induced alteration in steroidogenic activity of Leydig cells. However, taking into account present results and data from the literature it is obvious that further studies are necessary to elucidate the effects of MF on the male reproductive function depending on the time of exposure as well as intensity of MF.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Dr. G.D. Niswender for the supply of antiserum. This research was partly supported by a joint grant from Serbia Research Association.

## REFERENCES

1. Lažetić B. and Pekarić-Nad N. (1944): The influence of 50 Hz magnetic field on reproductive ability of rats. *Abst Bioelectromagnetics Soc* 16:83.
2. Dumansky Y. D. and Chegrinets S.E. (1994): Mutagenic effects of 50 Hz magnetic field on animal generative cells. *Abst Bioelectromagnetic Soc* 16: 127.
3. Margonato V., Veicsteinas A., Conti R., Nicolini P. and Cerretelli P. (1993): Biologic effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic-fields in rats. I. 50 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 14: 479–493.
4. Margonato V., Nicollini P., Conti R., Zecca L., Veicsteinas A. and Cerretelli P. (1995): Biological effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats. II. 50 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 16: 343-355.
5. Kovačević R. and Sarač M. (1993): Bromocriptine-induced inhibition of hydroxylase/lyase activity of adult rat Leydig cells. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol* 46: 841–845.
6. Navakatikyan M. A., Artinch V., Andreychuk L. and Slinsavenko A. (1994): Endocrine effects of alternating magnetic fields 50 Hz. *Abst Bioelectromagnetics Soc* 16: 147.
7. Picazo M. L., de Miguel M. P., Leyton V., Franco P., Varela L., Paniagua R. and Burdasano J. L. (1995): Long-term effect of ELF magnetic fields on the mouse testis and serum testosterone levels. *Electro- and Magnetobiology* 14 (2): 127–134.

## EFEKAT PRODUŽENOG IZLAGANJA MUŽJAKA PACOVA 50 Hz MAGNETNOM POLJU NA STEROIDOGENI KAPACITET TESTISA I LEYDIGOVIH ČELIJA *IN VITRO*

Silvana Andrić, Tatjana Kostić, Bogoslav Lažetić<sup>1</sup>, Neda Pekarić-Nad<sup>2</sup> and Radmila Kovačević  
Institut za Biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Medicinski fakultet i Fakultet tehničkih nauka, Univerzitet u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Jugoslavia

## SAŽETAK

Efekat magnetnog polja (50 Hz) umerenog intenziteta (50–500 $\mu$ T) primenjenog (7 časova dnevno, 5 dana u nedelji) od rođenja do 65 (postpubertalni) ili 144–149 dana starosti (adultni) na mužjake pacova, ispitan je određivanjem steroidogenog kapaciteta dekapuliranih testisa i izolovanih Leydigovih ćelija u *in vitro* uslovima. Testisi pacova izlaganih magnetnom polju (E) nisu pokazali statistički značajnu razliku u odgovoru na hCG-stimulaciju *in vitro*, u poređenju sa kontrolnim (S) pacovima, ali je broj Leydigovih ćelija po testisu kod adultnih pacova bio za 42.6% manji nego kod kontrolnih. Međutim, kod postpubertalnih pacova izlaganih magnetnom polju, osetljivost i steroidogeni kapacitet Leydigovih ćelija su smanjeni u poređenju sa odgovarajućom kontrolnom grupom. S druge strane, Leydigove ćelije adultnih E pacova pokazale su veći odgovor na hCG stimulaciju. Na osnovu dobijenih rezultata može se pretpostaviti da produženo izlaganje magnetnom polju prouzrokuju povećanje odgovora Leydigovih ćelija na hCG stimulaciju kompenzirajući smanjen broj Leydigovih ćelija kod adultnih pacova.

UDK: 612.459:613.63

Naučni rad

## UTICAJ RAZLIČITIH DOZA PESTICIDA KARBARILA NA REPRODUKTIVNE PROCESE KOD ŽENKI PACOVA

Irena Simonović, Milica Matavulj i Radmila Šovljanksi\*

Institut za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 2, Univerzitet  
u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Jugoslavija

\*Institut za zaštitu bilja „Dr Pavle Vukasović“, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obrado-  
vića 8, Univerzitet u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Jugoslavija

Primljeno 12. XI 1999.

### SAŽETAK

Efekti hronične, per os, primene pesticida karbarila P-5, u dozama 2,5, 5,0, 10, 20, 50 i 100 mg/kg telesne mase, praćeni su na reproduktivnom sistemu ženki pacova, rase Wistar.

Rezultati naših istraživanja su pokazali da karbaril izaziva značajan poremećaj estrusnog ciklusa, pojavu ovarijalnih cisti i smanjenu fertilitet ženki pacova, na osnovu čega zaključujemo da karbaril izaziva poremećaje u reproduktivnim procesima kod ženki pacova.

Gljučne reči: pesticid karbaril, estrusni ciklus, fertilitet.

### UVOD

Široka primena pesticida, pored značajnog doprinosa u proizvodnji hrane, dovodi do toga da se ove materije pojavljuju kao vrlo ozbiljni toksiko-zagađivači zemlje, vode, vazduha, flore i faune. O uticaju pesticida na fiziološke procese kod životinja, posebno homeoterama, postoji malo podataka.

Jedan od pesticida, čiji uticaj na fiziološke procese kod sisara preporučuje za ispitivanje FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), je i insekticid karbaril (1-naftil-N-metilkrbammat). Prema FAO (1973) za laboratorijskog pacova NEL (no effect levels) doza karbarila koja ne ugrožava osnovne fiziološke procese životinje iznosi 10 mg/kg telesne mase, dnevno. Međutim, postoje literaturni podaci koji ukazuju na poremećaje reproduktivnih procesa izazvanih primenom karbarila i u dozama manjim od NEL, kao i onim veće od nje. Tako Vashakidze (1) nalazi da doza od 5, 10 i 20 mg/kg telesne mase (TM) sevina (jedan od tehničkih naziva za karbaril), hronično primenjen tokom 6 meseci, redukuje pokretljivost spermatozoida, njihovu rezistentnost i dovodi do inhibicije same spermatogeneze kod mužjaka pacova a kod ženke izaziva promene u estrusnom ciklusu i smanjenu fertilitet. Pant i sar. (2) su konstatovali da karbaril u dozi od 50 i 100 mg/kg TM, primenjen tokom 6

dana, smanjuje pokretljivost i broj spermatozoida u epididimisu i izaziva njihove morfološke abnormalnosti. Prateći efekat karbarila Shteinberg i Otovan (3) su konstatovali promene u estrusnom ciklusu i smanjenu fertilitnost ženke pacova već sa dozom od 5 mg/kg TM, primenjen na više generacija, a Weil i sar. (4) smanjenu fertilitnost i smanjen broj potomaka sa dozom od 100 mg/kg TM. U radu Collinsa i sar. (5) navodi se, međutim, da hronična primena karbarila, u dozi od 100 mg/kg TM, nema efekta na reproduktivni ciklus ženki pacova.

Imajući u vidu ove kontradiktorne nalaze u našim istraživanjima opredelili smo se za ispitivanje delovanja hronične, per os, primene karbarila u dozama ispod i iznad NEL doze na reproduktivne procese kod ženki pacova.

## MATERIJAL I METODE

Ogledi su vršeni na ženkama i mužjacima pacova, rase Wistar, odgajanim u Institutu za biologiju u Novom Sadu. Pre oglada i u toku oglada životinje su držane u uslovima kontrolisanog svetla (14<sup>h</sup> svetlo, 10<sup>h</sup> mrak) i temperature (23 ± 2°C). Hranjene su standardnom paletiziranom hranom za pacove, a vodu su uzimale prema potrebi.

Karbaril P-5 (1-naftil-N-metilkarbamat koji sadrži 5% ± 0,5% aktivne materije, proizvođač DD „Zorka”, Šabac), primenjivan je hronično, per os, u dozama 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 50 mg i 100 mg po kilogramu telesne mase. Doze od 2,5 mg, 5 mg i 10 mg/kg TM, prema FAO/WHO, pripadaju NEL (no effect levels) dozama, dok 20 mg, 50 mg i 100 mg/kg TM su iznad NEL doze. Tretman je počinjao 30-og dana starosti i trajao je tri meseca. Rastvor karbarila pravljen je u destilovanoj vodi.

Svakodnevnim uzimanjem vaginalnog smira, tokom zadnjih 30 dana, determinisane su citohormonalnom metodom faze estrusnog ciklusa. Vaginalni smir je posmatran svetlosnim mikroskopom u nativnom obliku i obojen 3% rastvorom metilenskog plavog.

Svakih 10 dana registrovana je telesna masa životinja.

Po završetku tretmana određeni broj životinje žrtvovan je dekapitovanjem u estrusnoj fazi ciklusa, između 8.00-10.00 časova. Nakon žrtvovanja evidentirana je masa sledećih endokrinih organa: adenohipofize, ovarijuma i uterusa. Takođe je izvršen detaljan morfološki pregled unutrašnjih organa radi evidentiranja, eventualno, pojave izvesnih malformacija na unutrašnjim organima.

Nekoliko ženki iz svake grupe životinja tretiranih pojednim dozama karbarila stavljen je na parenje radi praćenja fertilitnosti i broja potomaka. Mužjaci, koji su se koristili za parenje, takođe su bili tretirani odgovarajućom dozom karbarila kao i ženke od 30-og dana starosti.

Kao kontrole koristili smo intaktne životinje, koje su bile istog starosnog doba kao i karbarilom tretirane a obrada materijala izvršena je na isti način kao i kod tretiranih.

Statistička obrada dobijenih rezultata vršena je Student t-testom.

## REZULTATI

Na osnovu svakodnevnog pregleda vaginalnog smira citohormonalnom metodom, konstatovali smo vrlo izraženu iregularnost estrusnog ciklusa. Iregularnost estrusnog ciklusa prikazana je na tab. 1 u obliku procenta (%). Sa dozom karbarila od 10 i 20 mg/kg TM 70% ženki imalo je iregularan estrusni ciklus, sa 50 mg/kg TM čak 83,33% a sa 100 mg/kg TM 66,67%. Kod ženki koje su imale regulara estrusni ciklus često je 4-rodnevni ciklus smenjivan 5-todnevni, što, takođe, ukazuje na izvesnu nestabilnost ciklusa.

Kod većine ženki tretiranih karbarilom, posebno sa nižim dozama (2,5 i 5 mg/kg TM) evidentirali smo pojavu polifolikularnih, cističnih, ovarijuma, kod nakih i sa intenzivnom hemoragijom. Prisustvo ovarijalnih cisti dato je u obliku procenta (%) onih koje su imale cistu u odnosu na ukupan broj ženki u grupi. (Tab. 1).

Tab. 1. Iregularnost estrusnog ciklusa, pojava polifolikularnih, cističnih, ovarijuma i odsustvo graviditeta kod karbarilom tretiranih životinja

Tab. 1. Irregularity of estrous cycle, presence of polyfollicular, cystic, ovaries and absence of gravidity by carbaryl treated animals

|  | Dnevna doza karbarila<br>Daily doses of carbaryl<br>(mg/kg TM) |       |       |       |       |       |  |
|--|--|-------|-------|-------|-------|-------|--|
|  | 2,5  | 5,0   | 10    | 20    | 50    | 100   |  |
| Iregularnost estrusnog ciklusa (u %)<br>Irregularity of estrous cycle (in %)         | 33,33  | 33,33 | 70,00 | 70,00 | 83,33 | 66,67 |  |
| Polifolikularni, cistični, ovarijumi (u %)<br>Polyfollicular, cystic, ovaries (in %) | 50,00  | 66,67 | 16,67 | –     | 16,67 | 33,33 |  |
| Odsustvo graviditeta (u %)<br>Absence of gravidity (in %)                            | –  | –     | 50,00 | 50,00 | 50,00 | 66,67 |  |

Masa endokrinih organa karbarilom tretiranih životinja nije se statistički značajno razlikovala u odnosu na intaktne kontrole te ove podatke nismo prikazali na tabeli. Međutim, smatramo da treba naglasiti da smo konstatovali izuzetno veliku varijabilnost mase ovarijum u svakoj grupi tretiranih ženki, što nije zanemarljiv podatak, a koja je iznosila od 54,3-108,5 mg dok je prosečna masa kod kontrola iznosila je  $80,36 \pm 0,03$  mg.

U tab. 1 dati su rezultati koji se odnose na graviditet, odnosno, odsustvo graviditeta kod karbarilom tretiranih i kontrolnih životinja. Odsustvo graviditeta prikazano je u obliku procenta (%) koje nisu ostale gravidne u odnosu na ukupan broj životinja u grupi a koje su stavljene na parenje. Sve životinje tretirane niskim dozama (2,5 i 5 mg/kg TM) ostale su gravidne i okotile normalan broj potomaka (6-12), sa izuzetkom jedne (5 mg/kg TM) koja je okotila samo 3 potomka. Kod životinja tretiranih sa 10, 20 i 50 mg/kg TM, 50% ženki nisu ostale gravidne; jedna, koja je ostala gravidna dala je 3 potomka i jedna je okotila samo jednog potomka. Kod ženki tretiranih sa 100 mg/kg TM odsustvo graviditeta bilo je kod 66,67% a jedna koja je ostala gravidna okotila je samo jednog potomka.

Kod izvesnog broja životinja tretiranih sa 20, 50 i 100 mg/kg TM zapazili smo manja polja depilacije u zoni vrata i prepona, ali bez erozije kože.

Detaljnim morfološkim pregledom unutrašnjih organa nismo konstatovali prisustvo tumoralnih tkiva ili neke druge malformacije.

Tokom tretmana svim dozama karbarila konstatovali smo da su životinje bile u dobroj kondiciji i uzimale su dovoljnu količinu hrane i vode. Takode, nismo zapazili promene u mobilnosti i ponašanju životinja.

Praćenjem telesne mase tokom eksperimenta nismo zapazili statistički značajnu razliku u odnosu na intaktne kontrole.

## DISKUSIJA

Prema FAO/WHO (1973) za pacova dnevna NEL doza karbarila iznosi 10 mg/kg TM, koja nebi trebala da ima toksičan efekat na fiziološke procese. Na hronični, per os, tretmana karbarilom opredelili smo se zbog njegove neefikasnosti na šire fiziološke procese pri jedno-kratnoj primeni i kratkotrajnog zadržavanja u životinjskom organizmu. Najefikasnija primena karbarila je per os, pošto se on apsorbuje kroz želudac i intestinalni trakt a dalje se hidrolizom degraduje u jetri, plućima i koži pod dejstvom enzima karboesteraze u mirkozomalnim frakcijama ovih organa (6). Hidrolizom karbarila nastaju različiti produkti, od kojih je u organizmu sisara dominantan alfa-naftol, a koji se dalje konjuguje u glukuronid (7). Eliminacija celokupnog karbarila se izvrši za 24-96 sati nakon kontaminacije. Ekskretuje se najvećim delom putem urina, manje fecesom, nešto malo respiratornim traktom, a kod sisara tokom laktacije putem mleka (8).

Postoje literaturni podaci koji ukazuju na poremećaje reproduktivnih procesa izazvanih hroničnom primenom karbarila u različitim dozama. Stoga smo se u našim eksperimentima opredelili za tri NEL doze (2,5, 5,0 i 10 mg/kg TM) i tri doze iznad NEL doza (20, 50 i 100 mg/kg TM) a koje smo primenjivali, svakodnevno, tokom 3 meseca.

Na osnovu svakodnevnog uzimanja i determinacije vaginalnog smira konstatovali smo vrlo izraženu iregularnost estrusnog ciklusa kod svih primenjenih doza karbarila. Kod ženki, koje su imale regularan ciklus, često je 4-rodnevni ciklus smenjivan 5-todnevni, što ukazuje na izvesnu nestabilnost ciklusa. U radu Vashakidze (1), gde su ženke pacova oralno tretirane karbarilom sa dozom od 5, 10 i 20 mg/kg TM tokom 6 meseci zapažene su promene estrusnog ciklusa sa višim dozama. Shtenberg i Rybakova (9), takode, konstataju promene u estrusnom ciklusu ženki tretiranih karbarilom sa 14 i 70 mg/kg TM. Međutim, Collins i sar. (5) utvrđuje da doza od 100 mg/kg TM nema efekta na reproduktivni ciklus kod ženki pacova. Iregularnost estrusnog ciklusa, koje je konstatovano u našem eksperimentu, kao i u citiranoj literaturi, ukazuje na iregularnost ovarijalnog ciklusa, kako u folikularnoj (preovulatornoj) tako i u lutealnoj (postovulatornoj) fazi ciklusa.

Interesantno je da smo kod većine ženki tretiranih nižom dozom karbarila (2,5 i 5 mg/kg TM) evidentirali pojavu polifolikularnih, cističnih, ovarijuma, u nekim slučajevima i sa intenzivnom hemoragijom. Kod životinja tretiranih višim i visokim dozama ovarijalne ciste su se javljale znatno ređe. Prisustvo cističnih ovarijuma pokazuje da neki od zrelih de Grafovih folikula nisu prsli i otpustili jajnu ćeliju nego su konvertovali u jednu makrocistu. Ovaj podatak upućuje na pretpostavku da je preovulatorno povećanje nivoa estradiola u krvi bilo nedovoljno da u „kritičnom periodu” izazove otpuštanje maksimalne količine luteinizujućeg hormona (LH) iz adenohipofize, a koja je neophodno za ovulaciju. U prilog našem mišljenju su raniji nalazi Vashakidze (1) i Shtenberga i Rybakove (9) koji su konstatovali smanjenje nivoa hipofiznih gonadotropina kod ženki i mužjaka pacova tretiranih karbarilom. Rigon i sar. (10) su utvrdili povećanu dopaminergičnu a smanjenu holinergičnu aktivnost nakon oralne primene karbarila konstatovali su i Ehrich i sar. (11) kod pacova i kokošaka. Kako je poznato da povećani nivo dopamina kao i acetilholina u centralnom nervnom sistemu (CNS) stimulišu sekreciju gonadotropnih hormona adenohipofize (12), možemo pretpostaviti da je poremećaj reproduktivne aktivnosti ovarijuma rezultat smanjenog otpuštanja gonadotropnih hormona iz adenohipofize usled povećanog nivoa dopamina a smanjenog nivoa acetilholina. Nalazi, koji pokazuju da karbaril deluje na neurotransmitere CNS-a, a preko njih na hipotalamične hormone odgovorne za otpuštanje gonadotropnih hormona iz adenohipofize, ne isključuju i njegovo direktno delovanje na gonade. Tako Pant i sar. (13) tvrdi da oralna primena karbarila u dozi od 50 i 100 mg/kg TM, tokom 60 dana, deluje na enzime u testisima tako što se aktivnost sorbitol dehidrogenaze smanjuje, a laktat dehidrogenaze povećava, dok se aktivnost gama-glutamyl transpeptidaze povećava, a smanjuje se aktivnost glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Ovakve enzimske promene imaju za posledicu smanjenje broja i pokretljivosti spermatozoida a povećanje njihove morfološke abnormalnosti. Gerald i sar. (14) navode da neki pesticidi deluju kao antagonisti androgenih receptora dok drugi deluju na estrogene receptore (delujući kao estrogeni) a što je pokazano u *in vitro* i *in vivo* sistemu. Isti autori ukazuju da mnogi pesticidi mogu, takođe, da smanje nivo androgena u serumu, menjajući odnos njihove sinteze i metabolizma.

U našem radu konstatovali smo odsustvo graviditeta kod 50% ženki tretiranih karbarilom dozama od 10, 20 i 50 mg/kg TM a sa dozom od 100 mg/kg TM čak 66,67%. Neke ženke, koje su ostale gravidne, okotile su samo 1-3 potomaka. Redukcija fertiliteti utvrdili su, takođe, i Vashakidze (15), Orlova i Zhalde (16) i Weil i sar. (4). Vrlo izražena iregularnost estrusnog ciklusa, kao i česta pojava ovarijalnih cisti, prema literaturi, smanjen broj i pokretljivost spermatozoida a povećana njihova morfološka abnormalnost, svakako može biti uzročnikom smanjene fertiliteti.

Morfološkim pregledom unutrašnjih organa nismo konstatovali pojavu tumora primenom karbarila. Međutim, Shukla i sar. (17) su našli prisustvo neoplazije u različitim tkivima kod pacova tretiranih oralno i intraperitonealno karbarilom u dozi od 100 mg/kg TM, na osnovu čega zaključuju da karbaril ima karcinogeni efekat.

Novija literatura ističe da su, praktično, svi pesticidi imunogeni i da izazivaju promene u imunom odgovoru organizma, ugrožavajući kako timusno-zavisne tako i timusno-nezavisne limfocite. Casage i sar. (18) su utvrdili da karbaril inhibira proliferaciju timusno-zavisnih limfocita (T ćelija), što dovodi do inhibicije otpuštanja interleukina 2 (IL 2), dok se broj timusno-nezavisnih limfocita tj B ćelija smanjuje (19). Abad i sar. (20) su imunološkom, metodom visoke senzitivnosti odredili titar antitela na karbaril, kao i uticaj njegovih metabolita na titar antitela. U našoj laboratoriji prilikom tretmana pacova fungicidom kaptanom (21) kod izvesnog broja životinja konstatovali smo depilaciju u zoni vrata i prepona sa erozijom kože, što ukazuje na alergijske manifestacije organizma, a kao posledice nepravilnog imunog odgovora. U ovom eksperimentu kod manjeg broja životinja tretiranih karbarilom sa 20, 50 i 100 mg/kg TM zapazili smo manja polja depilacije u zoni vrata i prepona, ali bez erozije kože, na osnovu čega zaključujemo da je karbaril slabiji alergen u odnosu na kaptan ili organizam uspeva da obezbedi efikasniju zaštitu.

## ZAKLJUČAK

Rezultati naših istraživanja pokazuju da hronična, per os, primena pesticida karbarila, u dozama od 2,5, 5,0, 10, 20, 50 i 100 mg/kg TM izaziva vrlo značajan poremećaj estrusnog ciklusa, sa velikim procentom iregularnosti, posebno primenom visokih doza. Prisustvo polifolikularnih, cističnih, ovarijuma ukazuje da neki od zrelih de Grafovih folikula nisu pršli nego su konvertovali u ovarijalne ciste i, naravno, takvi ovarijumi nisu ovulirali. Ovaj podatak ukazuje na izvestan nedostatak preovulatornog nivoa estradiola u krvi koji dovodi od odgadanja „kritičnog perioda” za otpuštanje maksimalne količine luteinizujućeg hormona (LH) iz adenohipofize, neophodne za ovulaciju. Otsustvo graviditeta kod 50% ženki (izuzetak su doze od 2,5 i 5 mg/kg TM) je posledica gore pomenutih poremećaja reproduktivnih procesa.

Naši rezultati sugerišu da hronična, per os, primena pesticida karbarila izaziva poremećaje reproduktivnih procesa kod ženki pacova kako onim iznad NEL doze tako i onim ispod nje.

## LITERATURA

1. Vashakidze, V. I. (1968) Mechanism of action of pesticides (granosan, servin, dinoc) on the reproductive cycle of experimental animals. *Soobsch., Akad. Nauk, Gruz., SSR*, 48 (1); 219–224.
2. Pant, N., Shankar, R., and Srivastava, S. P. (1996) Spermatotoxic effects of carbaryl in rats. *Human and Experimental Toxicology*, Vol. 15, (9), 736–738.
3. Shteinberg, A. I. and Otovan, M. B. (1971) Effect of small doses of carbaryl on the reproductive function of animals in a number of offsprings. *Vaprosi Pitania*, 30 (1); 41–49.
4. Weil, C. S., Woodside, M. D., Carpenter, C. P. and Smyth, H. F. (1972) Current status of tests of carbaryl for reproductive and teratogenic effect. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 21: 390–404.
5. Collins, T. F. X., Hansen, W. H. and Keeler, H. W. (1970) Effects of carbaryl on reproduction of the rat and of the gerbil. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 17: 273.
6. Mcracken, N. W., Blain, P. G. and Williams, F. M. (1993) Nature and role of xenobiotic metabolizing esterases in rat liver, lung, skin and blood. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 45, Iss 1, 31–36.
7. Pekas, J. C. and Poulson, G. D. (1970) Intestinal hydrolysis conjugation of a pesticidal carbamate in vitro, *Science*, 170 (3953): 77–78.
8. Dorrough, H. W. (1971) Elimination of carbaryl in mammals. *International Symposium on Pesticide Terminal Residues*, Tel Aviv, Israel, 17–19 Febr., Abstract boar, p. 127.
9. Shteinberg, A. I. and Rybakova, M. N. (1968) Effect of carbaryl on the neuroendocrine system of rats. *Food Cosmet. Toxicol.*, 6: 461–467.
10. Rigon, A. R., Reis, M. and Takahashi, R. N. (1994) Effect of carbaryl on some dopaminergic behaviours in rats. *General Pharmacology*, Vol. 25, Iss 6, 1263–1267.
11. Ehrich, M., Jortner, B. S. and Padila, S. (1995) Comparison of the relative inhibition of acetylcholinesterase and neuropathy target esterase in rats and hens given cholinesterase inhibitors. *Fundamental and Applied Toxicology*, Vol. 24, Iss 1, 94–101.
12. Fiorindo, R., Justo, G., Motta, M., Simonović, I. and Marini, L. (1975) Acetylcholine and the secretion of pituitary gonadotropins. In: „Hypothalamic Hormones: Chemistry, Physiology, Pharmacology and Clinical Uses”, ed. by Motta, M., Crosignani, P. G. and Martini, L., Academic Press, London, pp 195–204.
13. Pant, N., Srivastava, S. C., Prasad, A. K., Shankar, R. and Srivastava, S. P. (1995) Effects of carbaryl on the rats male reproductive system. *Veterinary and Human Toxicology*, 37; (5), 421–425.
14. LeBlanc, G. A., Bain, L. J. and Wilson, V. S. (1997) Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 126; 1–5.
15. Vashakidze, V. I. (1996) Effect of Sevin intoxication on sexual function of experimental animals. *Soobsch. Akad. Nauk, Gruz., SSR*, 39 (2); 471–474.
16. Orlova, N. V. and Zhalbe, E. P. (1996) Maximum permissible amounts of Sevin in food products. *Vop. Pitan.*, 27 (6), 49–55.
17. Shukla, Y., Antony, M. and Mehrotra, N. K. (1992) Carcinogenic and carcinogenic studies with carbaryl. *Cancer Letters*, Vol. 62, Iss 2, 133–140.

18. Casage, G. P., Vennerstrom, J. L., Bavari, S. and Wang, T. L. (1993) Inhibition of interleukin-a driven proliferation of mouse Ct 112 cells, by selected carbamate and organophosphate insecticides and congeners of carbaryl. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, Vol. 15, Iss 2-3, 199-215.

19. Ladics, G. S., Smith, C., Heaps, K. and Loveless, S. E. (1994) Evaluation of the humoral immune-response of Cd rats following a 2-week exposure to the pesticide carbaryl by the oral, dermal or inhalation routes. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, Vol. 42, Iss 2, 143-156.

20. Abad, A., Primo, J. and Montoya, A. (1997) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay to carbaryl. Antibody production from several haptens and characterization in different immunoassay formats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 45, N°4, 1486-1491.

21. Simonović, I., Šovljanski, R. and Marić, D. (1997) Efekat hronične primene kaptana na reproduktivne procese, praćen tokom sedam generacija ženki pacova. Zbornik radova Prirodno-matematičkog fakulteta, Serija za biologiju, Vol. 23, 5-12.

### INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF PESTICIDE CARBARYL ON THE REPRODUCTIVE PROCESSES OF FEMALE RATS

Irena Simonović, Milica Matavulj nad Radmila Šovljanski\*

Institute of Biology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, 21000 Novi Sad, Yugoslavia

\*Institute of Plant Protection „Dr Pavle Vukasović“, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, 21000 Novi Sad, Yugoslavia

The results of our experiments demonstrate that chronic, per os, application of pesticide carbaryl, in doses of 2,5, 5, 10, 20, 50 and 100 mg/kg BW, provokes markedly disturbance of the estrous cycle, with high percentage of irregularity, particularly with higher doses. Presence of the polyfollicular, cystic ovaries show that some mature de Graaf's follicles did not burst but were converted into ovarian cysts and, naturally, this ovary did not ovulate. This data suggests some insufficient preovulatory estradiol level in blood, which postpones „the critical period“ for the release of maximum quantities of the luteinizing hormone (LH) from adenohypophysis, indispensable for ovulation. Absence of gravidity at 50% of the females (exceptions are doses of 2,5 and 5 mg/kg BW) is consequence of above mentioned disturbances of reproductive processes.

Our results suggest that chronic, per os, application of carbaryl caused disturbance of reproductive processes in the female rats, both, with doses smaller than NEL dose and higher of this dose.

UDK: 612.459:613.64

Naučni rad

EFFECT OF SHORT TERM IMMOBILIZATION STRESS ON RAT LEYDIG  
CELL STEROIDOGENESIS

T. Kostić, S. Andrić, R. Kovačević, and D. Marić

Institute of Biology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, 21000 Novi Sad,  
Yugoslavia

Primljeno 12. XI 1999.

To whom correspondence should be addressed:

Tatjana Kostić

Faculty of Science

Institute of Biology

University of Novi Sad

Trg Dositeja Obradovića 2

21000 Novi Sad

Yugoslavia

Tel 350 122 ext. 513

E-mail: bojatv@EUNet.yu

Primljeno 12. XI 1999.

ABSTRACT

In the present study we have evaluated the effect of short term immobilization stress (IMO; 15 min.) on testicular steroidogenesis in adult rats. IMO induced increase in serum testosterone (T) levels without detectable changes in serum luteinizing hormone (LH) values. Short IMO did not alter basal or hCG stimulated androgen production by Leydig cells suspension, as well as activities of testicular P450c17 and 17 $\beta$ HSD. Increased serum T level after exposure to short IMO stress may be connected with initial increase of LH, which was not registered because it was probably happened before the 15<sup>th</sup> min. of stress as it previously observed.

Key words: Short term stress, steroidogenesis, testosterone, luteinizing hormone

INTRODUCTION

Stress has an adverse impact on reproductive function in many mammalian species but the exact mechanism(s) involved in this process has not been fully defined.

The effect of stress on the hypothalamic-pituitary-testicular axis (HPT) is dependent on the type of stressor applied and the time period the stressor is administered (1). Stress has

been shown to promote a biphasic pattern of reproductive hormone release in adult male rat. Plasma concentrations of LH and T are initially increased during stress (2, 3, 4) but if exposure is prolonged over a period of several hours or days, both hormones show a persistent decline below baseline values (5, 6, 7, 8). Also, there are growing evidence that indicates involvement of some local mechanisms at the testicular level influencing T production in stress condition. Acute immobilization stress (IMO; 2 or 3 h) reduces testicular steroidogenesis by inhibiting certain steroidogenic enzymes i.e.  $3\beta$ HSD and P450c17 (8, 9, 10, 11) without affecting plasma LH values or binding capacity and affinity of LH/hCG receptors (11).

However, to our knowledge no studies have been carried out dealing with effect of short IMO stress (15 min.) on the testicular steroidogenesis: activity of P450c17 and  $17\beta$ HSD, and this was, therefore, the aim of the present experiments.

## MATERIALS AND METHODS

*Chemicals.* Antitestosterone serum No. 250 was supplied by G. D. Neswender (Colorado State University). A rat LH kit with rat LH-RP3 as a standard was supplied by NIDDK. Medium 199 (M199) was purchased from GIBCO Laboratories (Gaithersburg, Maryland, USA); NADPH, bovine serum albumine (BSA, fraction V), collagenase (Type 1), testosterone, progesterone,  $17\text{OH}$  progesterone and androstenedione were purchased from Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA; Dextran T70 was purchased from Serva Heidelberg, Germany); hCG (PregnuL, 3000 IU/mg) was obtained from Organon Inc.; [ $1, 2, 6, 7\text{-}^3\text{H(N)}$ ] testosterone was obtained from New England Nuclear (Du Pont de Nemours GmbH, Bad Hamburg, Germany).

*Animals.* Adult male *Wistar* rats bred in our laboratory and raised under controlled environmental conditions (temperature  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ; 14 h light/10 h dark with food and water ad libitum) were used for experiments. Rats were subject to short IMO stress (15 min.), beginning at 8 a.m. or were left undisturbed (controls). IMO procedures were conducted as described by Kvetnansky et al (12). IMO and control animals were sacrificed by decapitation, trunk blood were collected, and serum samples were stored at  $-20^\circ\text{C}$  for subsequent hormone analysis.

*Hormone assays.* Serum T and LH concentrations were measured by radioimmunoassay (RIA). Because the antitestosterone serum showed high cross-reactivity with dihydrotestosterone (DHT) assay values are referred to as T+DHT levels. Serum LH was measured according to the instruction of NIDDK using RP-3 as the reference standard.

*Preparation of Leydig cells suspension and estimation of enzymes activity.* Testes were quickly removed, decapsulated and dissociated by collagenase (1.2 mg/ml) as previously described (13). Tripian blue exclusion was used to assess cell viability. Individual aliquots ( $10^6$  cells/0.3 ml) of crude suspensions of Leydig cells were incubated with hCG (0, 0.5, and 10 ng) or steroid substrates (progesterone -P,  $17\text{hydroxyprogesterone}$  - $17\text{OPH}$ , or androstendione - $\Delta^4\text{A}$ ;  $2 \mu\text{M}$ ) in final volume of 0.5 ml of M199 contained 0.1% BSA. Following incubation for 2 h in a shaking water bath ( $34^\circ\text{C}$ ) under an atmosphere of 95%  $\text{O}_2$ -5%  $\text{CO}_2$  all tubes were centrifuged for 10 min. at 1500 g and individual samples of supernatants were stored at  $-20^\circ\text{C}$  prior to measurement of T by RIA.

The P450c17 activity was estimated by following the conversion of P to T or  $17\text{OHP}$  to T and  $\Delta^4\text{A}$  to T. If the activity of  $17\beta\text{HSD}$  (conversion of  $\Delta^4\text{A}$  to T) was unchanged comparing to the control samples, the obtained changes in the conversion of P to T or  $17\text{OHP}$  to T might be attributed to changes in the activity of P450c17.

*Preparation of testicular postmitochondrial fractions.* The testes were decapsulated and homogenized in 50 mM phosphate buffer containing sucrose (0.25 M) pH 7.4 using glass-glass homogenizer. The homogenates were centrifuged at  $4^\circ\text{C}$  for 20 min. at 1500 g and pellets were discarded. The supernatants were mixed with dextran-coated charcoal (0.05% Dextran T70 and 0.5% Norit A in the ratio 1:1 in sucrose buffer) in order to remove

endogenous steroids, as already described (9). After centrifugation (10 min. at 1500 g) supernatants were further centrifuged at 4° C for 20 min. at 12000 g. Postmitochondrial fractions were used for determination of enzyme activities which were estimated as already described. The incubation solution contained in the final volume of 0.25 ml the following components: steroid substrates (P, 17OHP or  $\Delta^4$ A; 10  $\mu$ M), NADPH (1 mM) and phosphate buffer (0.1 M; pH 7.4). Incubation were performed for 15 min. at 37°C in shaking water bath in atmosphere of 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>. All samples were incubated in 4 replicates plus blanks lacking the substrate or postmitochondrial fraction. The samples were stored at -20°C until assayed for T by RIA. Protein content in postmitochondrial fractions were estimated by the Bradford method (14).

*Statistics.* The statistical significance was established by nonparametric Mann-Whitney test.

## RESULTS

*Serum hormone levels.* Short IMO stress (15 min.) induced significant increase in serum T (+59.48%) levels comparing to controls. However, after 15 min. of IMO stress serum LH values were at the same levels as control values (Table I).

Table I Effect of IMO (15 min) on serum T and LH levels

| Group        | T+DHT (ng/ml)             | LH (ng/ml)      |
|--------------|---------------------------|-----------------|
| Control      | 4.27 ± 071 (15)           | 9.73 ± 2.99 (5) |
| IMO (15 min) | 6.81 ± 0.71 (15) $\Delta$ | 9.44 ± 2.38 (5) |

Data represents mean ± SEM, n in parantheses.

Significance:  $\Delta p < 0.002$  vs. control.

*In vitro steroidogenesis.* *In vitro* hCG stimulated T production is shown in Fig 1. Short IMO stress did not alter basal as well as hCG stimulated T production by Leydig cells suspension.

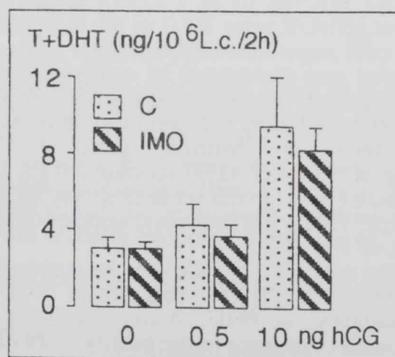


Fig. 1. Effect of IMO (15 min.) on *in vitro* hCG stimulated T production by suspension of Leydig cells. Leydig cells (10<sup>6</sup>/tube) were incubated for 2h in absence or presence of hCG (0.5-10 ng). Columns are mean  $\bar{x}$  SEM of five rats (three assay replicates for each rat).

Enzyme activities. The activities of P450c17 (estimated by conversion of P or 17OHP to T) and 17 $\beta$ HSD (estimated by conversion  $\Delta^4$ A to T) remained practically unaltered after exposure animals to short IMO stress. The same results were obtained in both experiments: in case estimating enzyme activities by Leydig cells suspension or by postmitochondrial fraction of whole testis (Fig. 2., 3.).

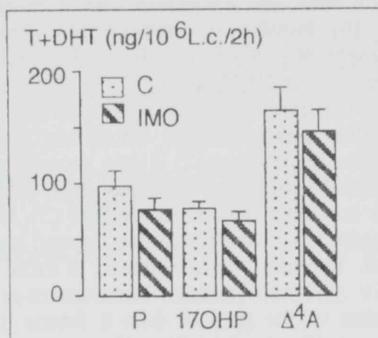


Fig. 2. Effect of IMO (15 min.) on the activity of P450c17 and 17 $\beta$ HSD. Leydig cells ( $10^6$ /tube) were incubated for 2h in presence of different steroid substrates ( $2 \mu\text{M}$ ). Columns represent the mean  $\pm$  SEM of five rats (four assay replicates for each rat).

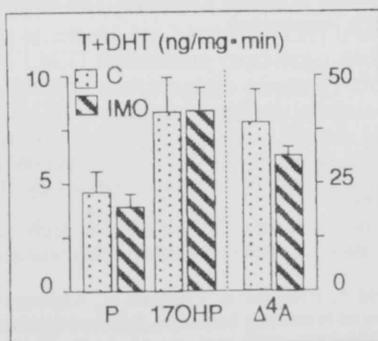


Fig. 3. Effect of IMO (15 min.) on the activity of P450c17 and 17 $\beta$ HSD. Postmitochondrial testicular fractions were incubated in presence of different steroid substrates ( $10 \mu\text{M}$ ) and NADPH (1 mM). Columns represent the mean  $\pm$  of five rats (four assay replicates for each rat).

## DISCUSSION

The present results demonstrate that short term IMO stress significantly elevated serum T, what is in accordance with most published data using short-term exposure to stressors (3, 15). However this increase was not accompanied by alteration in the activities of testicular steroidogenic enzymes i.e. P450c17 and 17 $\beta$ HSD.

Acute IMO stress (2 h or 3 h) decrease activities of 3 $\beta$ HSD and P450c17 in presence of unaltered LH levels (8, 9, 10, 11) what indicate that IMO (2h or 3h) impaired testicular

steroidogenesis primarily at the testicular level probably through paracrine/autocrine mechanisms. It seems that enhanced inhibitory tone of local paracrine control of testicular steroidogenesis in acute IMO stress is not yet operable in short time IMO, what suggest the central effect of short term IMO stress through HPT axis.

Meanwhile, in ours experiments, increase of serum T was not associated with elevated LH values what seems paradoxically. But as already pointed out in introductory section, LH response to acute stressors in normal rats is biphasic, with an initial increase, usually followed by subsequent decrease (3, 4, 15). Previous results from our laboratory demonstrated that 15 min. IMO obtained by placement of rats into the tight fitting plastic cylinders resulted in the concomitant increase of serum T and LH levels (15). This discrepancy may result from procedural differences in the treatment used to induce stress. In the present experiment immobilization in supine position was employed, which is a more severe stress compared upright restraint used in previous experiment. It is also shown that initial increase of serum LH level during stress conditions could be obtained even after only 2-10 min. on the beginning of stress procedure and than decline to baseline (3). Obviously, the expression of the correlation between the biphasic LH and T changes depend on the severeness of exposure and time of stressor is applied. The more severe stressor is more efficient in reversing initial LH increase to decrease.

In summary, on the basis of the present data it seems that short time IMO stress increase serum T values without affecting activities of testicular enzymes and that increased serum T level after short IMO stress may be connected to initial increase of LH, which was not registered because it was probably happened before the 15<sup>th</sup> min. of stress as it is observed by others (3).

*Acknowledgments-* We thank Dr. Stanko Stojilković (NICHD, NIH, Bethesda, Maryland, USA) for determination of serum LH levels. The research was supported by a joint grant from the Serbia Research Association.

## REFERENCES

1. Briski K. P. Stimulatory vs. inhibitory effects of acute stress on plasma LH: Differential effects of pretreatment with dexamethasone or the steroid receptor antagonist, RU 486. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 55, 19-26, 1996.
2. Krulich L., Hefco E., Illner P., Read C. B. The effect of acute stress on secretion of LH, FSH, prolactin and GH in the normal male rat, with comments on their statistical evaluation. *Neuroendocrinology* 16, 293-311, 1974.
3. Siegel R. A., Weidenfeld J., Feldman S., Conforti N., Chowers I. Neural pathways mediating basal and stress-induced secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and testosterone in the rat. *Endocrinology* 108, 2302-2307, 1981.
4. Briski K. P., Quigley K., Meites J. Endogenous opiate involvement in acute and chronic stress-induced changes in plasma LH concentrations in the male rat. *Life Sciences* 34, 2485-2493, 1984.
5. Tache Y. Shift of adenylyltransferase activity during chronic intermittent immobilization of rats. *Neuroendocrinology* 22, 325-336, 1976.
6. Gray G. D., Smith E. R., Damassa D. A., Ehrenkranz J. R. L., Davidson J. M. Neuroendocrine mechanisms mediating the suppression of circulating testosterone levels associated with chronic stress in male rats. *Neuroendocrinology* 25, 247-256, 1978.
7. Demura R., Suzuki T., Nakamura S., Komatsu H., Odagiri E., Demura H. Effect of immobilization stress on testosterone and inhibin in male rats. *Journal of Andrology* 10, 210-213, 1989.
8. Marić D., Kostić T., Kovačević R. Effect of acute and chronic immobilization stress on rat Leydig cell steroidogenesis. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 58, 351-355, 1996.
9. Kostić T., Andrić S., Kovačević R., Marić D. The effect of opioid antagonists in local regulation of testicular response to acute stress in adult rats. *Steroids* 62:703-708, 1997.
10. Srivastava R. K., Taylor M. F., Mann D. R. Effect of immobilization stress on plasma luteinizing hormone, testosterone and corticosterone concentrations and on 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in these testes of adult rats. *P. S. E. B. M.* 204, 231-235, 1993.

11. Orr T. E., Taylor M. F., Bhattacharyya A. K., Collins D. C., Mann D. R. Acute immobilization stress disrupts testicular steroidogenesis in adult male rats by inhibiting the activities of 17 $\alpha$ -hydroxylase and 17, 20-lyase without affecting the binding of LH/hCG receptors. *J Androl* 15, 302–308, 1994.

12. Kvetnansky R., Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress. *Endocrinology* 87, 738–743, 1970.

13. Kovačević R., Sarač M. Bromocriptine-induced inhibition of hydroxylase/lyase activity of adult rat Leydig cells. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 46, 841–845, 1993.

14. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Analyt. Biochem.* 72, 248–254, 1976.

15. Marić D., Simonović I., Kovačević R., Andjus R. K. Hormonal responses to acute and long-term intermittent restraint stress in male rats. *Arh. biol. nauka* 43, 25P–26P, 1991.

## EFEKAT KRATKOTRAJNE IMOBILIZACIJE PACOVA NA STEROIDOGENEZU LAJDIGOVIH ČELIJA

T. Kostić, S. Andrić, R. Kovačević, and D. Marić

Institut za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, Yugoslavia

### SAŽETAK

U okviru ovog rada je proučavan efekat kratkotrajne imobilizacije (IMO; 15 min) na steroidogenezu testisa adultnih mužjaka pacova. Dobijeni rezultati pokazuju da izlaganje pacova kratkotrajnom IMO stresu izaziva porast testosterona (T) u serumu uz istovremeno nepromenjenu koncentraciju luteinizujućeg hormona (LH) u serumu. Takođe kratkotrajna IMO nije uticala na bazalnu i hCG stimulisanu produkciju androgena merenu u suspenziji Leydig-ovih ćelija kao ni na aktivnost steroidogenih enzima (P450c17 i 17 $\beta$ HSD) analiziranih u suspenziji Leydig-ovih ćelija i na preparatu postmitohondrijalne frakcije testisa. Na osnovu dobijenih rezultata i literaturnih podataka, tj. poznatog modela bifazne sekrecije LH u stresu, može se zaključiti da kratkotrajna stress izaziva povećanje serumskog T koje nastaje kao posledica inicijalnog porasta LH koji se odigrao pre 15-og min., i bio normalizovan u vreme žrtvovanja životinje, te nije mogao biti registrovan.

UDK: 5725.

Naučni rad

## BIOANTROPOLOŠKE KARAKTERISTIKE STANOVNIŠTVA SREMA PREMA REGIONALNO GEOGRAFSKOJ POVEZANOSTI

Tatjana Pavlica, Verica Božić-Krstić, Rada Rakić, Marija Savić  
Univerzitet u Novom Sadu, PMF, Institut za Biologiju

Primljeno 12. XII 1999.

### UVOD

Bioantropološke karakteristike daju sliku o rastu, razvoju, telesnoj građi i strukturi određenih ljudskih populacija. U formiranju ovih karakteristika kao i kod svih živih bića, međusobno deluju genetički činioci i faktori spoljašnje sredine.

Mnogim istraživanjima porekla ljudskih varijabilnosti je ustanovljeno da geografska udaljenost između populacija u znatnoj meri određuje njihove biološke strukture i utiče na distribuciju i međusobni odnos fenotipskih i genotipskih frekvencija. Biološke i socio-kulturne osobine populacija zavise od njihove međusobne geografske udaljenosti s obzirom da geografska udaljenost često predstavlja prepreku migraciji, tj. protoku gena između pojedinih populacija, a time i genetskoj sličnosti različitih populacija.

U mnogim radovima pokazana je i uočena dobra uzajamna povezanost između biološke i geografske distance (Schmidt 1991, Smolej et. al. 1994, Jantz i Meadows 1995).

Studije u kojima je uočena slaba veza između antropometrijske i geografske distance pokazuju da su tu uključeni neki drugi faktori. Tako je Hiernaux (1972) našao da antropometrijska varijacija u Africi reflektuje granice kasta i etničke granice i sa malom je vezom sa geografskim distancama. U ovom slučaju geografska udaljenost ima malog uticaja na protok gena.

Neves et. al. 1985 principalom komponentnom analizom 9 antropoloških karakteristika glave i tela kod 8 plemena u Brazilu utvrdili su umereno slaganje biološke i geografske distance.

Ispitivanjem 5 južnih plemena Orize koji govore istim jezikom (Das 1988) utvrđena je pozitivna korelacija između genetičke, geografske i jezičke distance. Autori su zaključili da je genetička divergencija u mnogo većoj zavisnosti od jezičkih varijacija, nego od geografske distance i smatraju da lingvistički faktori zajedno sa drugim sociokulturnim faktorima mogu predstavljati barijeru protoku gena.

U Indiji (Vasulu 1994) su ispitivana Janada plemena koja nastanjuju različite geografske regione a razlikuju se u načinu života. Utvrđena je visoka morfološka diferencijacija između plemena lovaca i zemljoradnika. U slučaju naselja uzorak pokazuje slabu regionalnu geografsku povezanost, a putne distance imaju najveći uticaj na morfološke razlike između plemena.

Srem zauzima južni deo Panonskog basena i nalazi se u medurečju Dunava i Save. Zbog svog geografskog položaja na glavnoj rečnoj arteriji Evrope i raskršću prirodnih puteva koji povezuju preko Balkanskog poluostrva tri kontinenta Evropu, Aziju i Afriku ovo područje ima veoma interesantnu prošlost, sa smenom raznih rasnih, jezičkih i kulturnih grupa.

Interesantno je zapažanje Popovića (1990) da je Srem zbog svog posebnog položaja gotovo uvek bio na pravcu bilo kojih pomeranja srpskog naroda, i da stoga ovo stanovništvo predstavlja u malom gotovo sve delove srpskog naroda. Navodi da su Posavci i Fruškgorci poreklom pretežno iz Srbije, a Sremci iz Podunavlja iz zapadnih i severnih krajeva.

Cilj rada je bio da se utvrde bioantropološke karakteristike stanovništva pojedinih regionalno-geografskih oblasti i njihova biološka povezanost, kao i da se vidi da li postoji korelacija između geografske i biološke udaljenosti susednih naselja u Sremu.

### MATERIJAL I METODIKA

Za istraživanje je određeno 21. naselje koja se nalaze na području svih opština. Ispitivana naselja su ravnomerno raspoređena na celokupnoj teritoriji Srema, a prema karakterističnom geografskom položaju obuhvataju sve geografske oblasti i imaju odgovarajući nacionalni sastav. S obzirom da je cilj rada bio da se ispita da li postoji povezanost između biološke i geografske distance, sva ispitana naselja su podeljena u 10 grupa (Slika 1.)

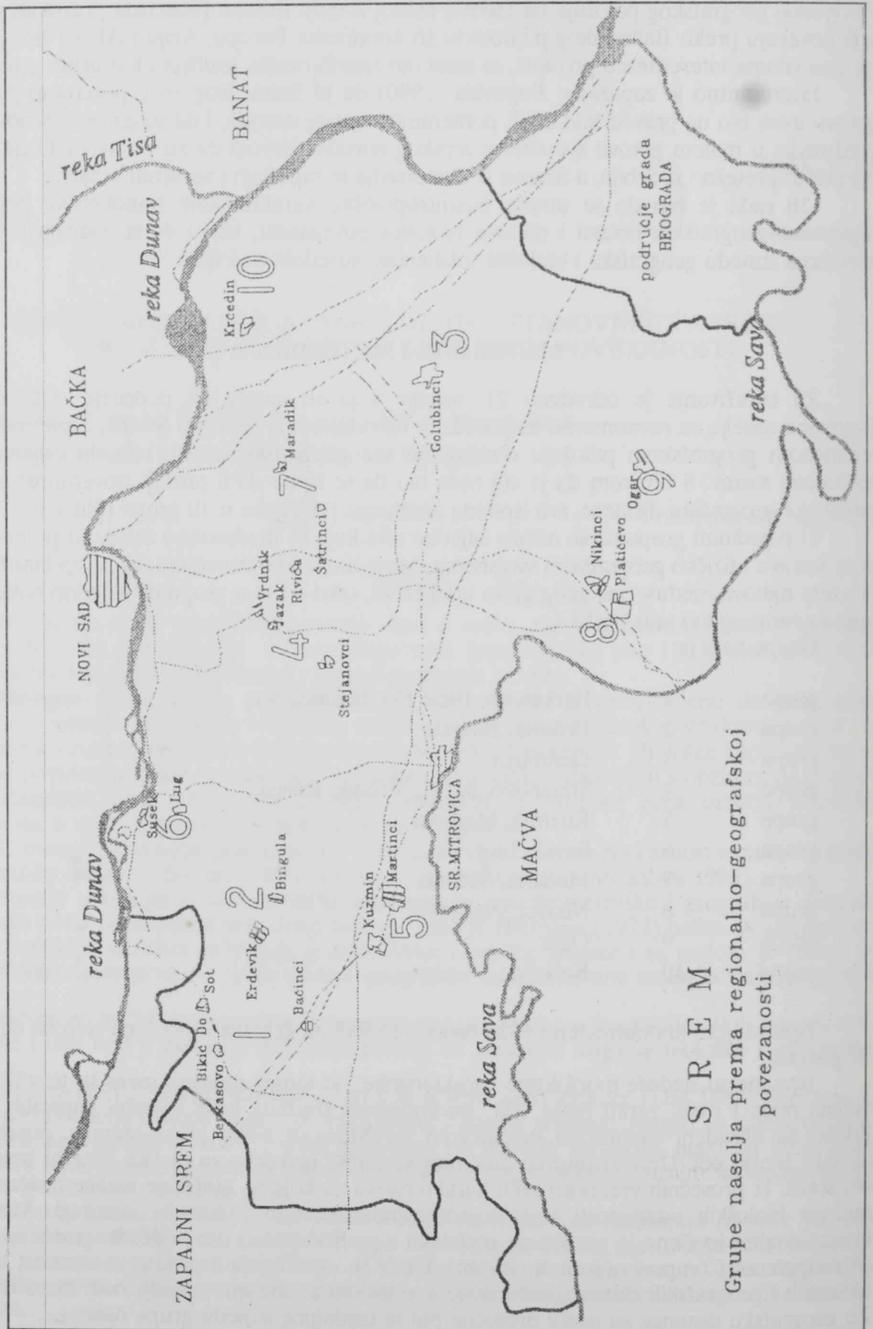
U pojedinim grupama se nalaze zajedno sela koja se međusobno razlikuju po nacionalnom sastavu i fizičko geografskim svojstvima. Međutim, kao osnovni kriterijum za klasifikaciju je uzeta njihova međusobna geografska udaljenost, tako da se u grupama zajedno nalaze sela koja su teritorijalno vrlo bliska.

Grupe naselja:

|       |    |                                   |
|-------|----|-----------------------------------|
| grupa | 1  | Berkasovo, Bikić Do, Bačinci, Sot |
| grupa | 2  | Erdevik, Bingula                  |
| grupa | 3  | Golubinci                         |
| grupa | 4  | Stejanovci, Jazak, Vrdnik, Rivica |
| grupa | 5  | Kuzmin, Martinci                  |
| grupa | 6  | Susek, Lug                        |
| grupa | 7  | Maradić, Šatrinzi                 |
| grupa | 8  | Nikinci, Platićevo                |
| grupa | 9  | Ogar                              |
| grupa | 10 | Krčedin                           |

Ispitivanjem je obuhvaćeno 1824 osobe i to 965 muškaraca i 859 žena starosti od 20 do 50 godina.

Ispitane su sledeće morfološke karakteristike: od longitudinalnih mera su to visina tela, dužina noge i ruke, zatim masa tela, srednji obim grudnog koša i vitalni kapacitet pluća. Podaci su obradeni varijacionom statističkom metodom za svaku grupu naselja, posebno za muški i ženski pol. Univarijantnom analizom varijanse utvrđene su razlike između ispitivanih svojstava. Iz prosečnih vrednosti onih karakteristika za koje su utvrđene razlike izračunata je matrica bioloških udaljenosti korišćenjem standardizovane Euklidove distance. Metodom klaster analize izvršeno je grupisanje podataka a grafički prikaz dat je dendrogramima i PCA (Principalnom Componentnom Analizom). Da bi se utvrdilo da li postoji povezanost između bioloških i geografskih distanci, računat je korelacioni koeficijent između ovih mera distanci. Za geografsku distancu su uzete prosečne putne razdaljine između grupa naselja.



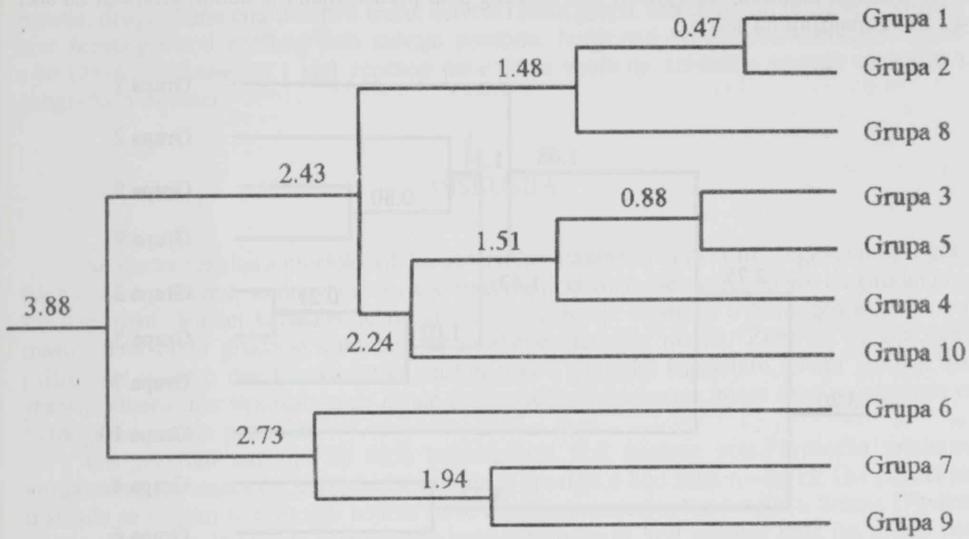


| Tabela 2 Prosečne vrednosti i analiza varijanse za 10 grupa naselja |           |             |                       |           |             |                   |                       |       |            |       |                   |        |
|---|-----------|-------------|-----------------------|-----------|-------------|-------------------|-----------------------|-------|------------|-------|-------------------|--------|
| Žene  |           |             |                       |           |             |                   |                       |       |            |       |                   |        |
| Grupe naselja   | Visina    |             | Dužina noge           |           | Dužina ruke |                   | Masa tela             |       | Obim grudi |       | Vitalni kapacitet |        |
|   | $\bar{X}$ | SD          | $\bar{X}$             | SD        | $\bar{X}$   | SD                | $\bar{X}$             | SD    | $\bar{X}$  | SD    | $\bar{X}$         | SD     |
| Gr. 1   | 159.64    | 6.29        | 94.98                 | 4.87      | 69.15       | 2.95              | 65.43                 | 12.44 | 93.76      | 9.82  | 2124.19           | 553.49 |
| Gr. 2   | 161.07    | 5.50        | 95.58                 | 4.25      | 70.07       | 3.27              | 66.02                 | 12.02 | 92.92      | 8.72  | 2305.66           | 456.37 |
| Gr. 3   | 161.69    | 5.95        | 96.08                 | 4.75      | 69.25       | 4.07              | 67.75                 | 13.32 | 93.86      | 9.44  | 2283.93           | 524.33 |
| Gr. 4   | 161.41    | 6.34        | 96.13                 | 4.52      | 68.68       | 3.41              | 65.74                 | 12.97 | 90.74      | 8.69  | 2408.26           | 560.00 |
| Gr. 5   | 160.23    | 5.61        | 95.26                 | 4.71      | 69.36       | 3.50              | 67.42                 | 11.75 | 94.07      | 9.39  | 2280.26           | 541.93 |
| Gr. 6   | 160.18    | 5.42        | 94.81                 | 4.42      | 67.82       | 3.22              | 66.25                 | 12.85 | 90.49      | 8.83  | 2466.67           | 585.14 |
| Gr. 7   | 159.82    | 6.58        | 94.71                 | 5.10      | 68.60       | 3.13              | 68.75                 | 15.86 | 93.28      | 10.91 | 2304.67           | 567.23 |
| Gr. 8   | 160.63    | 7.06        | 95.87                 | 5.06      | 69.71       | 3.54              | 65.06                 | 11.64 | 92.85      | 8.96  | 2192.00           | 542.53 |
| Gr. 9   | 159.74    | 5.67        | 95.27                 | 4.31      | 69.26       | 3.03              | 65.27                 | 10.21 | 92.14      | 8.18  | 2215.63           | 592.72 |
| Gr. 10  | 159.99    | 4.90        | 95.15                 | 3.77      | 67.42       | 3.27              | 64.31                 | 9.51  | 94.32      | 7.23  | 2402.78           | 365.52 |
|   | Visina    | Dužina noge | Dužina ruke           | Masa tela | Obim grudi  | Vitalni kapacitet |                       |       |            |       |                   |        |
| F0  | 1.1588    | 1.098       | 4.378                 | 0.861     | 1.881       | 3.415             |                       |       |            |       |                   |        |
| RI  | 0.0019    | 0.0012      | 0.0393                | -0.0017   | 0.0106      | 0.0284            |                       |       |            |       |                   |        |
| P   | 0.3185    | 0.362       | 1.3E-5                | 0.56      | 0.051       | 0.00039           |                       |       |            |       |                   |        |
|   | P=0.01    |             | F <sub>0</sub> =2.428 |           | P=0.05      |                   | F <sub>0</sub> =1.891 |       |            |       |                   |        |

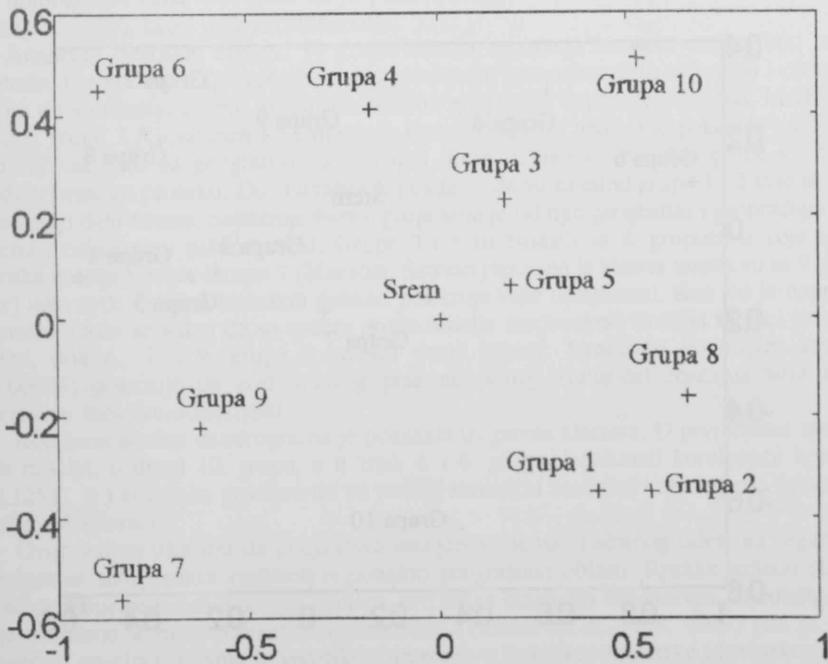
Kod muškog pola, matrice bioloških udaljenosti su računane iz prosečnih vrednosti podataka za visinu, dužinu noge, dužinu ruke, obim grudi i vitalni kapacitet, tj. za ona svojstva kod kojih su prethodnom analizom varijanse utvrđene značajne razlike između grupa ili su na granici odbacivanja hipoteze o homogenosti. Kod žena su uzimani u obzir dužina ruke, obim grudi i vitalni kapacitet.

Grafički prikaz dobijenih rezultata kod muškog pola predstavljen je dendrogramom na slici 2 i PCA analizom na slici 3.

Može se videti da se kod muškog pola, izdvajaju tri glavne grane. Prvu granu čini sedam grupa naselja koja su biološki bliska i grupišu se zajedno sa posebnim podgranama. Grupe 7 i 9 grupišu se zajedno a njima se pridružuje 6 grupa koja je od njih, međutim, dosta udaljena što se može videti iz PCA analize. Da bi se utvrdilo da li kod muškog pola postoji povezanost između bioloških i geografskih distanci računat je korelacioni koeficijent između ovih mera distanci. Izračunati korelacioni koeficijent iznosi  $r=0.006$ , što ukazuje da na teritoriji Srema nema značajne korelacije između biološke i geografske distance kod muškog pola.

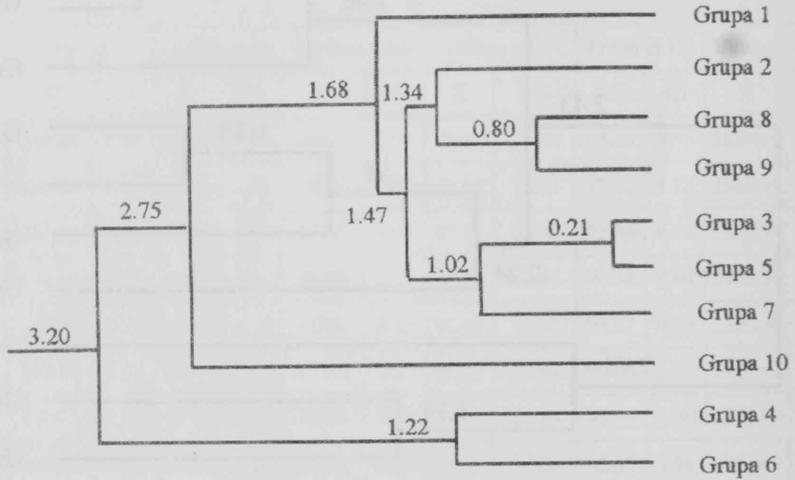


Slika 2. Dendrogram 10 grupa naselja kod muškaraca

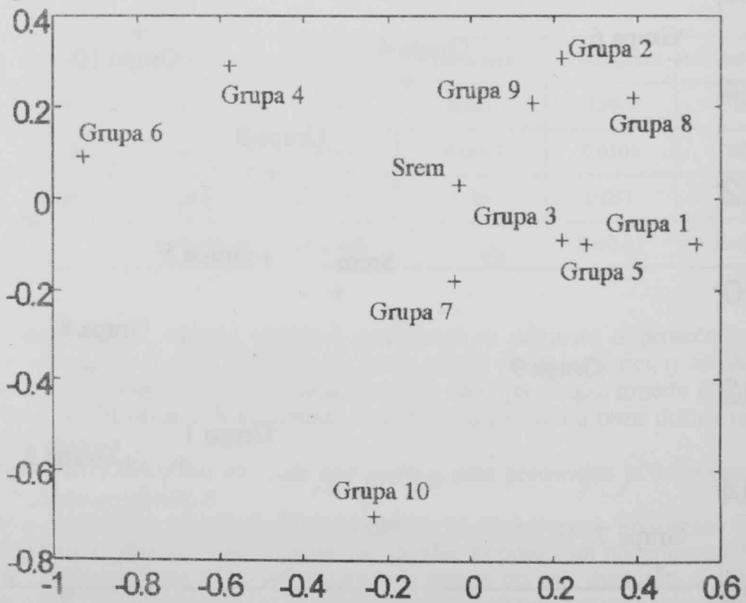


Slika 3. Principalna komponentna analiza 10 grupa naselja kod muškaraca

Analiza bioloških udaljenosti kod ženskog pola predstavljena je dendrogramom na slici 4 i PCA analizom na slici 5.



Slika 4. Dendrogram 10 grupa naselja kod žena



Slika 5. Principalna komponenta analiza 10 grupa naselja kod žena

Može se videti da su i ovde formirane tri glavne grane. Prvu granu čini sedam grupa naselja, drugu granu čini deseta a treću, četvrta i šesta grupa. Interesantno je da se 6. grupa i kod ženskog i kod muškog pola izdvaja posebno. Izračunati korelacioni koeficijent iznosi  $r=0,125$  što ukazuje da i kod ženskog pola nema značajne korelacije između bioloških i geografskih distanci.

## DISKUSIJA

Analizom rezultata morfoloških karakteristika stanovništva različitih regionalno-geografskih oblasti u Sremu, ustanovljene su kod muškog pola značajne razlike za sve longitudinalne karakteristike. Vitalni kapacitet je na granici odbacivanja hipoteze o homogenosti, dok za masu tela i obim grudnog koša nisi ustanovljene značajne razlike. Žene su se značajno razlikovale u samo dve karakteristike, dužini ruke i vitalnom kapacitetu. Obim grudi je na granici odbacivanja hipoteze, a za ostale (visina tela, dužina noge, masa tela) se hipoteza o homogenosti može prihvatiti.

Ovi rezultati ukazuju na veću heterogenost kod muškog pola. Prosečna vrednost intraklasnog korelacionog koeficijenta iznosila je  $r_1=0,04$  a kod žena  $r_1=0,013$ . Ovi podaci su u skladu sa ranijim radovima u kojima su se analizirala pojedinačna naselja u Sremu (Pavlica et. al. 1998), gde je takode registrovana veća heterogenost kod muškog pola (za muški pol  $r_1=0,004$  a ženski pol  $r_1=0,01$ ). Analizom najbrojnijih nacionalnosti u Sremu (Pavlica et. al. 1999) takode je registrovana veća heterogenost kod muškog pola u odnosu na ženski ( $r_1=0,0026$ ). Veća homogenost žena verovatno da je posledica njihove harmoničnije somatske strukture (Momirović 1970), kao i veće ekostabilnosti.

Analizom bioloških distanci 10 grupa naselja, najmanja biološka razlika kod muškog pola nadena je kod prve i druge grupe. Po prvobitnoj pretpostavci, to se moglo i očekivati, s obzirom da su naselja iz ovih grupa međusobno geografski najmanje udaljena. Međutim, za naselja iz grupe 3 (Golubinci) i 5 (Martinci, Kuzmin) klaster analiza je pokazala međusobnu veliku sličnost iako su geografski saobraćajno dosta udaljena. Ove dve grupe su, takode, najbliže sremskom proseku. Dalja analiza je pokazala da su zajedno grupe 1 i 2 koje se nalaze u zapadnom delu Srema, najbližije osmoj grupi koja je od njih geografski i saobraćajno dosta udaljena i nalazi se u južnom delu. Grupe 3 i 5 su bliske i sa 4. grupom u koje spadaju planinska naselja Srema. Grupa 7 (Maradik, Šatrinci) spojena je klaster analizom sa 9 grupom (Ogar) iako ovde matrica bioloških distanci pokazuje veće udaljenosti. Kao što je napred već pomenuto, može se videti da su sedam grupa naselja međusobno biološki slične i grupišu se zajedno, dok 6., 7. i 9. grupa formiraju drugi klaster. Izračunati koeficijent korelacije ( $r=0,00625$ ) pokazuje da kod muškog pola ne postoji statistički značajna veza između geografske i biološke udaljenosti.

Kod žena analiza dendrograma je pokazala tri glavna klastera. U prvi klaster spadaju 7 grupa naselja, u drugi 10. grupa, a u treći 4. i 6. grupa. Izračunati korelacioni koeficijent ( $r=0,1253$ ), je i kod žena pokazao da ne postoji statistički značajna veza između geografske i biološke udaljenosti.

Ovi rezultati ukazuju da geografska udaljenost nema značajnog udela na registrovanu heterogenost stanovništva različitih regionalno geografskih oblasti. Razlike između stanovništva su pod uticajem nekih drugih činilaca, pre svega etničkom strukturom pojedinih naselja, što je utvrđeno u ranije objavljenim radovima (Pavlica et. al. 1998, 1999) gde je uočena izdvojenost naselja u kojima je većinsko stanovništvo slovačke, mađarske i hrvatske nacionalnosti, kao i posebno grupisanje i međusobna udaljenost Slovaka i Madara.

## ZAKLJUČAK

Iz svega iznetog može se zaključiti da su male razlike između stanovništva različitih regionalno-geografskih oblasti u Sremu najviše uslovljene etničkom strukturom pojedinih naselja, i da geografska udaljenost nema uticaja na međugrupnu varijaciju bioantropoloških karakteristika.

To je verovatno posledica relativno male površine na kojoj žive stanovnici Srema, dobre komunikacijske povezanosti i odsustva prirodnih ili veštačkih granica koje bi predstavljale barijeru protoku gena.

## LITERATURA

Das PK.; Correlations Between Genetic, Geographic and Linguistic Distances: A Study o Bio-cultural Divergence in the Southern Mundari Speaking Tribes of Orissa; Abstract of the 12th ICAES Zagreb Yugoslavia, 24–31 July; 1988.

Hiernaux J.; The analysis of multivariate biological distances between human populations Principles, and applications to Sub-Saharan Africa. In JS Weiner and J. Huizinga (eds): The Assessment of Population Affinities in Man. Oxford: Clarendon Press, pp 96–114; 1972.

Jantz RL, Meadows L.; Population Structure of Algonquian Speakers; Human Biology, Vol. 67, Iss 3, pp 375–386; 1995.

Momirović K.; Komparativna analiza latentnih antropometrijskih dimenzija muškaraca i žena; Glasnik ADJ, 7: 193–207; 1970.

Neves WA., Salzano Fm., and Da Rocha Rj.; Principal-Components Analysis of Brazilian Indian Anthropometric Data; American Journal of Physical Anthropology 67: 13–17; 1985.

Pavlica T., Božić-Krstić V., Savić M., Rakić R.; Bioanthropological characteristics of some villages in Srem and their biological relationship, Zbornih Matice srpske za prirodne nauke, Novi Sad, No94, 99–107; 1998.

Pavlica T., Božić-Krstić V., Rakić R., Savić M.; Neke bioantropološke karakteristike stanovništva pojedinih etničkih grupa u Sremu; Glasnik ADJ, 34, 43–46; 1999.

Popović D. J.; Srbi u Vojvodini; Matica srpska; Novi Sad; 1990.

Schmidt H. D.; The Anthropological Structure of The Populations of South And Southwest Romanija; Glasnik ADJ, Vol. 28, str. 15–25; 1991.

Smolej-Narančić N., Chaventre A., Rudan P.; Antropometric Variation and Population Structure of the Island of Pag; Croatia, Human Biology, Vol. 66, Iss 2, pp 275–298; 1994.

Vasulu TS.; Genetic Structure of a Tribal Population – Anthropometric Differences Between Regions and Settlements Among the Yanadi; Annals of Human Biology, Vol. 21, Iss 2, pp 127–144; 1994.

## SUMMARY

### BIOANTHROPOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE POPULATION OF SREM ACCORDING TO THE REGIONAL AND GEOGRAPHICAL RELATIONSHIP

Tatjana Pavlica, Verica Božić-Krstić, Marija Savić, Rada Rakić  
Institute of biology, Trg Dositeja Obradovića 2, Novi Sad

Many of the studies on the origin of human variability have confirmed the fact that geographical distance between populations significantly determines their biological structure and affects the distribution and relationship of phenotype and genotype frequencies. The aim of the investigation was to establish the relationship between geographical and biological distance of the neighbouring towns and villages in Srem. The following morphological characteristics were examined: the stature, leg and arm length, body mass, chest circumferen-

ce, vital capacity of lungs. The investigation included 1824 subjects from 20 to 50 Years of age. The investigation was conducted in 21 towns and villages equally situated on the whole territory of Srem. They were divided in 10 groups according to their local and geographical closeness. The analysis of the results has shown a higher variability among males where differences of all of the three longitudinal characteristics were recorded. The female subjects have shown the differences in relation to two characteristics. From the average of the examined characteristics the biological distances among certain groups of towns and villages were calculated. The average road distance among the groups of villages and towns was taken as the geographical distance. On the basis of biological and geographical distance matrices the correlation coefficients were calculated for each sex individually. They have shown that on the territory of Srem there is no significant correlation between biological and geographical distance.

UDK: 581.91

Naučni rad

## NOVI PODACI ZA FLORU TITELSKOG BREGA

Igić, R.<sup>1</sup>, Butorac, B.<sup>2</sup>, Zlatković, B.<sup>1</sup>, Vukov, D.<sup>1</sup>, Anačkov, G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PMF, Institut za biologiju, 21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 2

<sup>2</sup>Zavod za zaštitu prirode Srbije, Odeljenje u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Radnička 20

Primljeno 15. XII 1999.

### ABSTRACT:

Na strmim padinama sa severoistočne strane Titelskog brega konstatovana je zajednica kserotermnog tipa šuma označena kao ass. *Orno-Cotino-Quercetum pubescentis* Butorac, Igić, Zlatković 1997. Floristički sastav ove zajednice izgrađuju 73 vrste. Na veliku florističku raznovrsnost ovog područja ukazuje i 23 taksona koji do sada nisu zabeleženi na Titelskom bregu. Pet vrsta *Berberis vulgaris*, *Lathyrus sphaericus*, *Asplenium adianthum-nigrum*, *Asplenium trichomanes* i *Vicia peregrina*, jedna podvrsta *Galium album* subsp. *pyncotrichum* i jedan varijetet *Acer campestre* var. *acutibulum* do sada nisu konstatovani ni u flori Bačke. Njihov nalaz pokazuje da je stepen florističkog diverziteta Titelskog brega mnogo veći, što potencira potrebu zaštite ovog područja radi očuvanja genofonda.

Ključne reči: Titelski breg, flora, diverzitet, *Berberis vulgaris*, *Lathyrus sphaericus*, *Asplenium adianthum-nigrum*, *Asplenium trichomanes*, *Vicia peregrina*.

### UVOD

U jugoistočnoj Bačkoj u međurečju Tise i Dunava uzdiže se lesna zaravan-Titelski breg. Iako relativno male površine od 92 km<sup>2</sup>, kao i male nadmorske visine 110-131m svojim specifičnostima izdvaja se od okolnog nižeg zemljišta (Bukurov, 1975). Les kao geološka podloga, jedinstvene geomorfološke tvorevine na lesu, raznovrstan podolški pokrivač, kao i specifična mikroklima koja je uslovljena pre svega blizinom reke i pravcom vetrova, doveli su do formiranja vegetacije dolinskih livada, vegetacije livadsko-stepskog, odnosno stepskog karaktera sa polupustinjskim obeležjima, zatim vegetacije šibljaka (Stojanović, 1983), ali i tipičnih kserotermnih šuma hrasta medunca (Butorac, Igić, Zlatković, 1997). Prilikom dosadašnjih florističkih (Prodán, 1916, Stanojević, 1983, Stanojević, 1983, Stanojević, 1983, Stanojević, 1983, Igić, 1988, Butorac, Stojanović, Stojšić, 1992) i vegetacijskih istraživanja (Stojanović, 1983, Butorac, Igić, Zlatković, 1997) na ovom području zabeleženo je preko 600 taksona. Najnovija ispitivanja i konstatovanje još 23 taksona koji do sada nisu bili zabeleženi na Titelskom bregu pokazuju da je ova lesna zaravan floristički znatno raznovrsnija.

## MATERIJAL I METODE

Biljni materijal je sakupljan na padinama Titelskog brega sa Tiske strane, oko 3 km nizvodno od sela Mošorin. Determinisan je prema Flori Evrope (Tutin, ed. 1964–1976) i Flori Srbije (Josifović, ed. 1970–1986, Sarić, ed. 1992). Za svaki takson dat je florni element (Gajić, 1980), rasprostranjenje u Evropi (Tutin, ed. 1964–1976), u Panonskoj niziji (Soó, 1980) i u Vojvodini. Na osnovu sopstvenih istraživanja i podataka iz literature dat je prikaz rasprostranjenja na UTM karti Vojvodine. Ekološka interpretacija vrsta urađena je na osnovu ekoloških indeksa Landolt-a (1977) a životnih formi prema Soó-u (1980).

## REZULTATI I DISKUSIJA

Prilikom vegetacijskih i florističkih istraživanja na Titelskom bregu je konstatovana nova zajednica kserotermnog tipa šuma označena kao ass. *Orno-Cotino-Quercetum pubescentis* Butorac, Igić, Zlatković, 1997. Prisustvo ove zajednice na severoistočnim padinama koje se pod uglom od 50–70° spuštaju do same Tise, predstavlja značajan podatak jer se smatralo da su šume na Titelskom bregu degradirane i da su prisutni samo ostaci šumske vegetacije-šibljaci sveze *Prunion spinosae*.

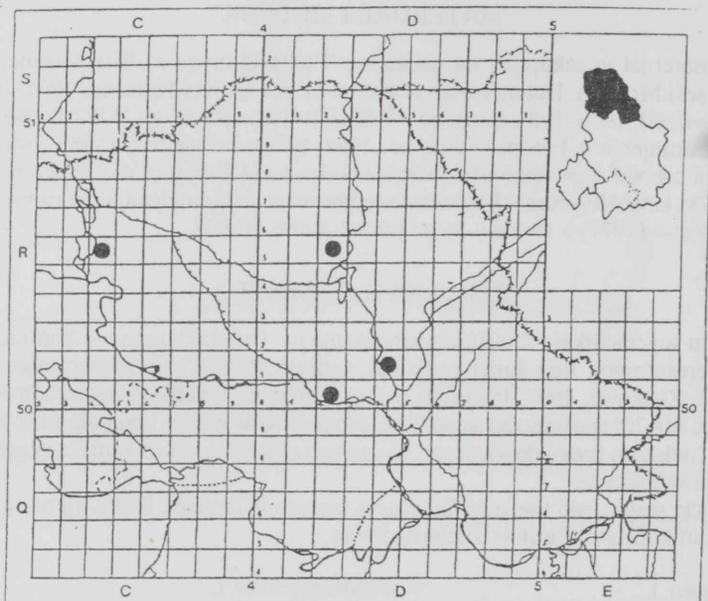
Floristički sastav ovih kserotermnih šuma izgrađuju 73 vrste. Među njima su 23 taksona koji se prvi put konstatuju u flori Titelskog brega:

|  |   |
|--|---|
| <i>Berberis vulgaris</i> L.                              | <i>Turritis glabra</i> L.                             |
| <i>Quercus pubescens</i> Milld.                          | <i>Veronica chamaedrys</i> L.                         |
| <i>Evonymus verrucosus</i> Scop.                         | <i>Geranium robertianum</i> L.                        |
| <i>Lonicera xylosteum</i> L.                             | <i>Viola ambigua</i> W. et K.                         |
| <i>Tilia tomentosa</i> Moench.                           | <i>Cerintho minor</i> L.                              |
| <i>Rhamnus catharticus</i> L.                            | <i>Lathyrus sphaericus</i> Retz.                      |
| <i>Peucedanum alsaticum</i> L.                           | <i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L.                   |
| <i>Cynanchum vincetoxicum</i> (L.) Pers.                 | <i>Asplenium trichomanes</i> L.                       |
| <i>Celtis occidentalis</i> L.                            | <i>Acer campestre</i> L. var. <i>acutilobum</i> Tauch |
| <i>Hedera helix</i> L.                                   | <i>Polygonatum latifolium</i> (Jacq.) Desf.           |
| <i>Achillea nobilis</i> L. var. <i>ochroleuca</i> Boiss. | <i>Galium album</i> Mill. subsp.                      |
| <i>Vicia peregrina</i> L.                                | <i>pycnotrichum</i> (H. Braun) Krendl.                |

Među navedenim biljkama posebno su značajne one koje su retke u Vojvodini ili se prvi put konstatuju u flori Bačke.

*Vicia peregrina* L. 1753. Sp. Pl. 737, (Fabaceae, Fabales)

*Vicia peregrina* je pontsko-submediteranska biljka (Gajić, 1980). Areal joj obuhvata područje južne Evrope: Albaniju, Grčku, Krit, Jugoslaviju, Bugarsku, Rumuniju, Italiju, Francusku, Španiju, Portugaliju, Balearska ostrva, Sardiniju, Siliciju, evropski deo Turske, Krim i istočni deo Rusije. U Mađarskoj i Švajcarskoj je naturalizovana (Ball, 1968). Prema Soó-u (1966) u Mađarskoj je zabeležena kod Budimpešte, Sentandreje i Dunapataja i to kao adventivna.



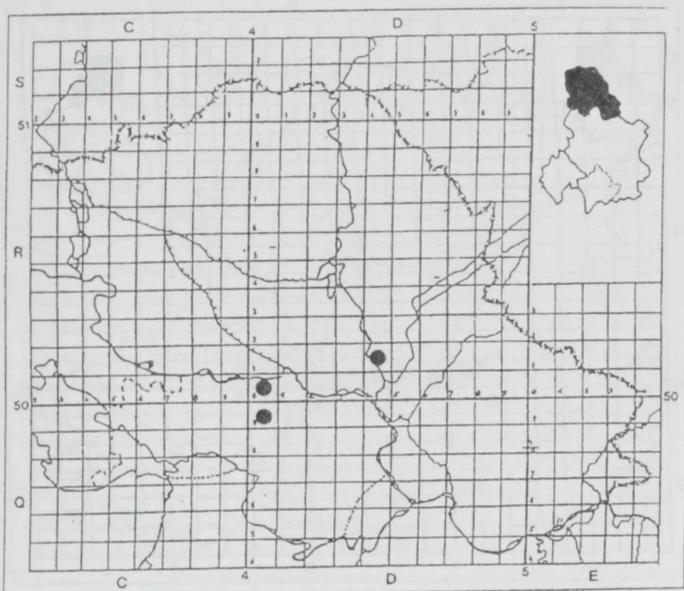
Karta 1. Rasprostranjenje vrste *Vicia peregrina* L. 1753 u Vojvodini: Apatin CR 45; Karaš DR 20; Bečež DR 25, severoistočne padine Titelskog brega DR 41  
 Map. 1. Distribution of the species *Vicia peregrina* L. 1753 in Vojvodina: Apatin CR 45; Karaš DR 20; Bečež DR 25, north-eastern slopes of Titelski breg DR 41

U Srbiji raste kod Beograda (Višnjica), u jugoistočnoj Srbiji u Sićevačkoj klisuri, na Kosovu i u Vojvodini na Fruškoj gori (Diklić, 1972). Podatak o prisustvu ove biljke na Fruškoj gori odnosi se samo na jedan lokalitet – Karaš (padine Fruške gore od Banstola prema Dunavu), a datira od 1919. godine (Hirc, 1919). Od tada nije potvrđen. U Bačkoj je ova vrsta zabeležena u okolini Bečeja (Kovács, 1919), a u novije vreme kod Apatina (Grdinić, 1996), kao i na severoistočnim padinama Titelskog brega.

Po biološkoj formi pripada terofitama jer nepovoljni period godine preživljava putem semena (Soó, 1980). Prema Landolt-u (1977) indikator je izrazite termofilnosti staništa (T5) što je donekle u vezi sa delimično submediteranskom florogenezom. U skladu sa tim je i njen subkserofitski karakter (F2) odnosno vezanost za umereno suva staništa. Neutrofilna je biljka (R3), mezotrofnog obeležja (N3) koja služi kao bioindikator umerenog sadržaja humusa u zemljištu (H3) i njegove dobre aerisanosti i propustljivosti (D3), ne raste na zaslanjenim zemljištima (S -). Radi se o šumskoj biljci iz grupe polusciofita (L3) koja je pokazatelj vankontinentalnih regiona (K3) s obzirom na svoj delom i submediteranski karakter.

*Lathyrus sphaericus* Retz. 1783. Obs. Bot. 3:39, (Fabales, Fabaceae)

Kao submediteranska vrsta (Gajić, 1980) raste u južnoj Evropi. Njen areal se na severu pruža do severozapadne Francuske i južnog dela Mađarske, Danske i južne Švedske. Zabeležena je u Albaniji, Bugarskoj, Grčkoj, Italiji, Jugoslaviji, Mađarskoj, Rumuniji, Francuskoj, Švajcarskoj, Danskoj, Švedskoj, Španiji, Portugaliji, na Kritu, Korzici, Sardiniji, Siciliji, Krimu, Balearskim ostrvima i u evropskom delu Turske (Ball, 1968). Na području Panonske nizije raste u Mađarskoj, Rumuniji i Jugoslaviji (Soó, 1980).



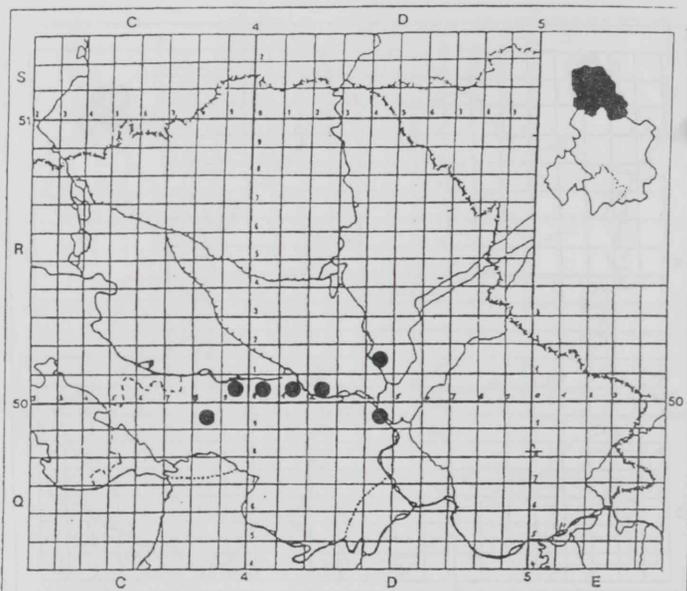
Karta 2. Rasprostranjenje vrste *Lathyrus sphaericus* Retz. 1783 u Vojvodini: Sremska Kamenica, Zmajevac, Širine DR 00; Iriški Venac DQ 09, severoistočne padine Titelskog brega DR 41  
 Map. 2. Distribution of the species *Lathyrus sphaericus* Retz. 1783 in Vojvodina: Sremska Kamenica, Zmajevac, Širine DR 00; Iriški Venac DQ 09, north-eastern slopes of Titelski breg DR 41

Prema Flori Srbije u Srbiji je konstatovana kod Beograda (Košutnjak), Kladova, na Miroču, Bukulji, Kosmaju, Jastrebcu, u okolini Niša (Sićevo, Mramor, Koritnik), Leskovca, Vranja, Vlasotinaca, Krnjina. U Vojvodini raste samo u Sremu na Fruškoj gori: Sremska Kamenica, Venac, Zmajevac (Kojić, 1972) i to raštrkano u centralnom delu (Obradović, 1966). U Banatu i Bačkoj do sada nije zabeležena. Podatak o njenom prisustvu na Titelskom bregu predstavlja prvi nalaz ove vrste u Bačkoj.

U pogledu životne forme tipična je terofita (Soó, 1980). Kao vrsta submediteranskog obeležja raste na termofilnim (T4), izrazito suvim staništima (F1), u uslovima polusenke (L3), a nikad se ne javlja na slatinama (S -). Spada u neutrofilne biljke (R3). Bioindikator je zemljišta koja su umereno siromašna do umereno bogata hranljivim materijama, azotom (N3) i humusom (H3) i uglavnom dobro propustljiva i aerisana (D3). Javlja se u regionu relativno kontinentalne klime (K4) (Landolt, 1977).

*Asplenium adianthum-nigrum* L. 1753. Sp. 1081, (Polypodiaceae, Polypodiales)

Subsrednjeevropska vrsta (Gajić, 1980), raste skoro u čitavoj Evropi, izuzev na istoku i krajnjem severu, a retka je u Mediteranskom regionu (Crabbe, Jermy, Lovis, 1964). U području Panonske nizije zabeležena je u Mađarskoj, Austriji, Slovačkoj, Ukrajini, Rumuniji i Jugoslaviji (Soó, 1980).



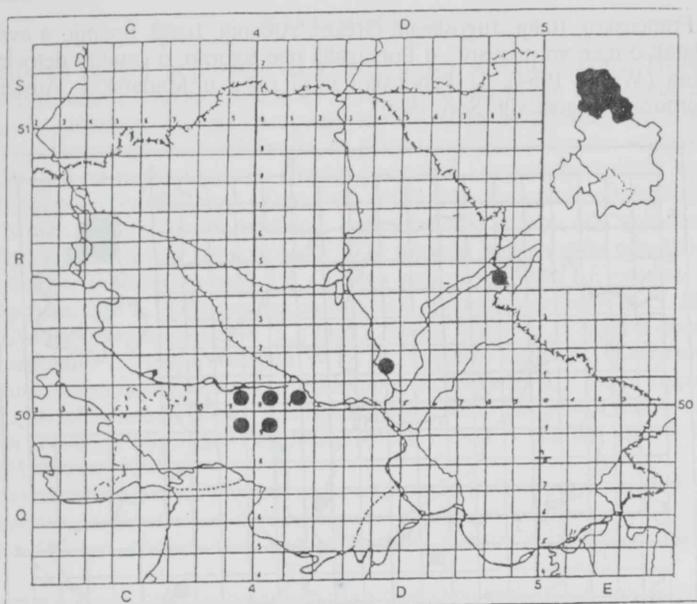
Karta 3. Rasprostranjenje vrste *Asplenium adianthum-nigrum* L. 1753 u Vojvodini: Rakovac, Čerević, Osovlje CR 90; Beočin DR 00; Sremski Karlovci, Stražilovo DR 10; Čortanovci DR 20; Iriški Venac DQ 09; Slankamen DQ 49; Ležimir CQ 89, severoistočne padine Titelskog brega DR 41  
 Map. 3. Distribution of the species *Asplenium adianthum-nigrum* L. 1753 in Vojvodina: Rakovac, Čerević, Osovlje CR 90; Beočin DR 00; Sremski Karlovci, Stražilovo DR 10; Čortanovci DR 20; Iriški Venac DQ 09; Slankamen DQ 49; Ležimir CQ 89, north-eastern slopes of Titelski breg DR 41

Rasprostranjenje u Srbiji je nedovoljno poznato, determinisani primerci se često odnose na vrstu *A. cuneifolium* Viv. Konstatovana je u okolini Kragujevca, kod Gornjeg Milanovca (Brdanska klisura), Ovčarsko-Kablarska klisura, Čajetina (Oštra kosa, Strmac), Goč, Kraljevo, Mataruška banja, Kopaonik (Kozje stene, Treska), Zlot, izvor Belog Drima, u Vojvodini samo na Fruškoj gori: Stražilovo, Čortanovci, Ležimir, Slankamen, Čerević, Osovlje, Rakovac, Iriški Venac (Vukićević, 1992), Beočin, Karlovci (Zork., 1896). U Banatu i Bačkoj nije nađena. Podatak o prisustvu ove šumske biljke na severoistočnim padinama Titelskog brega predstavlja prvi nalaz za ravničarski deo Vojvodine.

Spada u hemikriptofite (Soó, 1980). Uglavnom je prilagođena na punu dnevnu svetlost (L4) i topla staništa (T4), ima subkserofitsko obeležje (F2). Raste na zemljištu kisele reakcije (R2), koje je slabo snabdeveno azotom i mineralnim materijama (N2), sa umerenim sadržajem humusa (H3), bez soli (S-) i erodirano skoro do matične stene (D1) u uslovima izrazite kontinentalnosti (K2) (Landolt, 1977).

*Asplenium trichomanes* L. 1753. Sp. Pl. 1080, (Polypodiaceae, Polypodiales)

Vrsta kosmopolitkog rasprostranjenja (Gajić, 1980), raste u celoj Evropi izuzev na Špicberškim ostrvima (Crabbe, Jermy, Lovis, 1964). U Panonskoj niziji u Mađarskoj, Austriji, Slovačkoj, Ukrajini, Rumuniji, Jugoslaviji (Soó 1980).



Karta 4. Rasprostranjenje vrste *Asplenium trichomanes* L. 1753 u Vojvodini: Rakovac, Čerević, Osovlje CR 90; Glavica CQ 99; Beočin, Zmajevac, Gradac, Paragovo DR 00; Stražilovo DR 10; Vršачki breg DR 88, severoistočne padine Titelskog brega DR 41

Map. 4. Distribution of the species *Asplenium trichomanes* L. 1753 in Vojvodina: Rakovac, Čerević, Osovlje CR 90; Glavica CQ 99; Beočin, Zmajevac, Gradac, Paragovo DR 00; Stražilovo DR 10; Vršачki breg DR 88, north-eastern slopes of Titelski breg DR 41

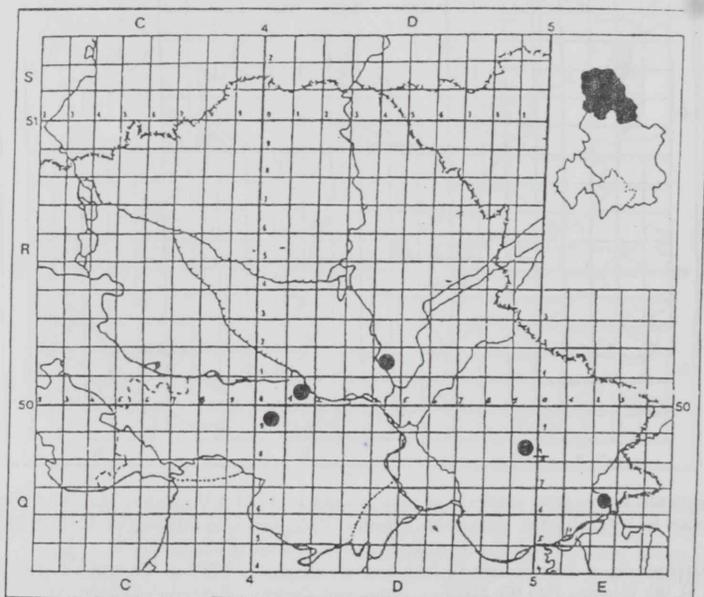
Prema Flori Srbije u Srbiji je rasprostranjena posebno na kamenoj podlozi, serpentinskim, krečnjačkim, silikatnim i drugim stenama (Vukićević, 1992). U Vojvodini raste samo na Fruškoj gori na lokalitetima: Zmajevac, Beočin (Zork, 1896), Iriški Venac, Gradac, Rakovac, Hajdučki potok, Glavica, Stražilovo, Paragovo, Osovlje, Čerević (Obradović, 1966). Za Banat i Bačku nema podataka o prisustvu ove paprati. Lokalitet na Titelskom bregu predstavlja nov nalaz za floru Bačke.

Ima hemikriptofitsko obeležje (Soó, 1980). Indikator je specifičnih prilika u uslovima izražene erozije na Titelskom bregu, koeficijent za disperziju (D1) ukazuje da raste na zemljištu erodiranom do matične stene. Kao submezofita (F3) naseljava prosečno suva do vlažna staništa, slabo kisele do neutralne reakcije (R3), siromašna u hranljivim materijama (N2), sa minimalnim slojem humusa (H2). Kao tipična zeljasta šumska biljka predstavlja tipičnu polusciofitu (L3), mezotermnog karaktera (T3), koja je istovremeno i indikator vankontinentalnih regiona (K3) (Landolt, 1977).

*Berberis vulgaris* L. 1753. Sp. Pl. 330, (Berberidaceae, Ranunculales)

Subsrednjeevropska vrsta (Gajić, 1980) čiji areal obuhvata kontinentalni deo Evrope, retka je u mediteranskom regionu, a ne sreće se na krajnjem severu. Raste u Austriji, Švajcarskoj, Holandiji, Belgiji, Rumuniji, Bugarskoj, Čehoslovačkoj, Poljskoj, Madarskoj,

Nemačkoj, Francuskoj, Italiji, Jugoslaviji, Grčkoj, Albaniji, Italiji, Španiji, u evropskom delu Rusije. Podatak o njenom prisustvu u Portugaliji nije siguran, u ostalim delovima Evrope je naturalizovana (Webb, 1964). U Panonskoj niziji raste u Madarskoj, Austriji, Slovačkoj, Ukrajini, Rumuniji i Jugoslaviji (Soó, 1980).



Karta 5. Rasprostranjenje vrste *Berberis vulgaris* L. 1753 u Vojvodini: Petrovaradin DR 10; Iriški Venac DQ 09; Palošće, Tilva DQ 98; Devojački bunar EQ 26; severoistočne padine Titelskog brega DR 41

Map. 5. Distribution of the species *Berberis vulgaris* L. 1753 in Vojvodina: Petrovaradin DR 10; Iriški Venac DQ 09; Palošće, Tilva DQ 98; Devojački bunar EQ 26; north-eastern slopes of Titelski breg DR 41

Prema Flori Srbije (Diklić, 1970) u Srbiji raste na Miroč planini, Ozrenu (Sokobanja), Suvoj planini, u Sičevačkoj klisuri, kod Majdanpeka (Starica), Golupca, Donjeg Milanovca, na Kosovu na lokalitetu Čičavica i u Vojvodini na Deliblatskoj peščari. Na području Deliblatske peščare je konstatovana na nekoliko lokaliteta: Devojački bunar, Tilva i Palošće (između Tilve i Pašnjaka Vakareca) (Stjepanović-Veseličić, 1979). U Sremu raste na Fruškoj gori na Iriškom Vencu, Petrovaradinu (Obradović, 1966), Petrovaradinskoj tvrđavi (Ivković, Budak, 1979), Starom Majuru (Butorac, 1981), ali je na navedenim lokalitetima ova vrsta sadena kao ukrasna. U Bačkoj se takođe sadi kao ukrasna: Senta (Guelmino, 1968), Sombor, Karavukovo, Čonoplja (Grđinić, 1996), Subotička peščara (Obradović, Boža, 1986). Smatramo da je na teško pristupačnim padinama Titelskog brega sa tiske strane, koje su udaljene nekoliko kilometara od bilo kojeg naselja ili salaša ova biljka na svom prirodnom staništu.

Pripada životnoj formi mikrofanerofita (Soó, 1980). Razvija se na umereno sušnim staništima (F2), baznog karaktera (R4), siromašnim u pogledu hranljivih materija (N2), sa umerenim sadržajem humusa (H3) i relativno dobrom prozračenošću (D3). Ne razvija se na zaslanjenim zemljištima (S -), mezotermna je biljka (T3), indikator polusenke (I3), raste u području relativno kontinentalne klime (K4) (Landolt, 1977).

## ZAKLJUČAK

U jugoistočnoj Bačkoj na površini od 92 km<sup>2</sup> uzdiže se lesna zaravan Titelskog brega. Male je nadmorske visine, koja se kreće u intervalu od 110 do 131m. Na padinama dominira vegetacija livadsko-stepskog, odnosno stepskog karaktera sa polupustinjskim obeležjima, u podnožju se javlja vegetacija dolinskih livada, na platou i rubnim delovima vegetacije šibljacka (Stojanović, 1983), a na nepristupačnim strmim padinama i vegetacija tipičnih kserotermnih šuma hrasta medunca (Butorac, Igić, Zlatković, 1997). Na osnovu dosadašnjih florističkih i vegetacijskih istraživanja na ovom području zabeleženo je preko 600 taksona. Prilikom najnovijih florističkih ispitivanja konstatovano je 23 taksona koji do sada nisu bili zabeleženi na Titelskom bregu: *Berberis vulgaris* L., *Quercus pubescens* Willd., *Evonymus verrucosus* Scop., *Lonicera xylosteum* L., *Tilia tomentosa* Moench., *Rhamnus catharticus* L., *Peucedanum alsaticum* L., *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers., *Turritis glabra* L., *Veronica chamaedrys* L., *Geranium robertianum* L., *Viola ambigua* W. et K., *Cerintho minor* L., *Lathyrus sphaericus* Retz., *Asplenium adiantum-nigrum* L., *Asplenium trichomanes* L., *Celtis occidentalis* L., *Hedera helix* L., *Achillea nobilis* L. var. *ochroleuca* Boiss, *Vicia peregrina* L., *Acer campestre* L. var. *acutibulum* Tauch, *Polygonatum latifolium* (Jacq.) Desf. i *Galium album* Mill. subsp. *pyncnotrichum* (H. Braun) Krendl.

Medu navedenim biljkama prvi put se konstatuju u Bačkoj pet vrsta *Berberis vulgaris*, *Lathyrus sphaericus*, *Asplenium adiantum-nigrum*, *Asplenium trichomanes* i *Vicia peregrina*, jedna podvrsta *Galium album* subsp. *pyncnotrichum* i jedan varijetet *Acer campestre* var. *acutibulum*.

*Vicia peregrina* je pontsko-submediteranska biljka, po biološkoj formi pripada terofita. U Vojvodini prema literaturnim podacima od 1919. godine raste na Fruškoj gori samo na jednom lokalitetu – Karaš (padine Fruške gore od Banstola prema Dunavu). Njen nalaz od tada nije potvrđen. U Bačkoj je zabeležena u okolini Bečeja, zatim kod Apatina, kao i na severoistočnim padinama Titelskog brega. Šumska je biljka iz grupe polusciofita, neutrofilna, mezotrofnog obeležja, pokazatelj vankontinentalnih regiona, vezana za izrazito termofilna, umereno suva staništa sa umerenim sadržajem humusa u zemljištu koje je dobro aerisano i propustljivo. Ne raste na zaslanjenim zemljištima.

*Lathyrus sphaericus* je submediteranska vrsta, terofita. U Vojvodini raste samo u Sremu i to raštrkano u centralnom delu Fruške gore: Sremska Kamenica, Venac, Zmajevac. U Banatu i Bačkoj do sada nije zabeležena. Podatak o njenom prisustvu na Titelskom bregu predstavlja prvi nalaz ove vrste u Bačkoj. Neutrofilna je biljka, raste na zemljištima koja su umereno siromašna do umereno bogata hranljivim materijama, azotom, i humusom i uglavnom dobro propustljiva i aerisana. Javlja se na termofilnim, izrazito suvim staništima, u uslovima polusenke, nikada na slatinama, u regionu relativno kontinentalne klime.

*Asplenium adiantum-nigrum* je subsrednjeevropska vrsta, hrmikriptofita. Rasprostranjene ove vrste u Srbiji je nedovoljno poznato, ustanovljeno je da se determinisani primerci često odnose na vrstu *A. cuneifolium* Viv. U Vojvodini raste samo na Fruškom gori: Stražilovo, Čortanovci, Ležimir, Slankamen, Čerević, Osovlje, Rakovac, Iriški Venac, Beočin, Karlovići. U Banatu i Bačkoj nije nađena. Lokalitet na severoistočnim padinama Titelskog brega predstavlja prvi nalaz ove vrste za ravničarski deo Vojvodine. Ima subkserofitsko obeležje, raste u uslovima izrazite kontinentalnosti. Prilagodena je na punu dnevnu svetlost i topla staništa, na zemljište kisele reakcije, sa umerenim sadržajem humusa, koje je slabo snabdeveno azotom i mineralnim materijama, bez soli i erodirano skoro do matične stene.

*Asplenium trichomanes* je hemikriptofita, kosmopolitskog rasprostranjenja. U Vojvodini raste samo na Fruškoj gori na lokalitetima: Zmajevac, Beočin, Iriški Venac, Gradac, Rakovac, Hajdučki potok, Glavica, Stražilovo, Paragovo, Osovlje, Čerević. Za Banat i Bačku nema podataka o prisustvu ove paprati. Lokalitet na Titelskom bregu predstavlja nov nalaz za floru Bačke. Raste u uslovima izražene erozije na Titelskom bregu, na zemljištu erodiranom do matične stene. Kao submezofita naseljava prosečno suva do vlažna staništa, slabo kisele do

neutralne reakcije, siromašna u hranljivim materijama, sa mineralnim slojem humusa. Tipična je polusciofitu, mezotermnog karaktera, koja je istovremeno i indikator vankontinentalnih regiona.

*Berberis vulgaris* je mikrofanerofita subsrednjeevropskog florlog elementa. U Vojvodini raste u Banatu na Deliblatskoj peščari na nekoliko lokaliteta: Devojački bunar, Tilva i Palošće (između Tilve i Pašnjaka Vakareca). U Sremu raste na Fruškoj gori na Irškom Vencu, Petrovaradinu, Petrovaradinskoj tvrđavi, Starom Majuru. Na navedenim lokalitetima ova vrsta je sadena kao ukrasna. U Bačkoj se takode sadi kao ukrasna: Senta, Sombor, Karavukovo, Čonoplja, Subotička peščara. Smatramo da je na teško pristupačnim padinama Titelskog brega sa tiske strane, koje su udaljene nekoliko kilometara od bilo kojeg naselja ili salaša ova biljka na svom prirodnom staništu. Mezotermna je biljka, indikator polusenke i umereno suvih staništa, baznog karaktera, sa umerenim sadržajem humusa, relativno dobrom prozračenošću, siromašnom u pogledu hranljivih materija. Ne razvija se na zaslanjenim zemljištima. Raste u području relativno kontinentalne klime.

#### LITERATURA:

- Ball, P. W. (1968): Rod *Lathyrus* in Tutin, T. G. ed. Flora Europaea, 2: 136–143. Cambridge University Press. Cambridge.
- Ball, P. W. (1968): Rod *Vicia* in Tutin, T. G. ed. Flora Europaea, 2: 129–136. Cambridge University Press. Cambridge.
- Budak, V. (1998): Biljnogeografske karakteristike flore slatina Bačke. Matice srpska, Novi Sad.
- Bukurov, B. (1975): Fizičko-geografski problemi Bačke. Srpska akademija nauka i umetnosti, 43. Beograd.
- Butorac, B. (1981): Florističke karakteristike istočnog dela Fruške gore, Magistarski rad. Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
- Butorac, B., Stojanović, S., Stojšić, V. (1992): Specificities in vegetation of unprotected band od Tisa. Tiscia, 26: 37–41.
- Butorac, B., Igić, R., Zlatković, B. (1997): *Omo-Cotino-Quercetum pubescentis* prov. nova zajednica kserotermnog tipa na padinama Titelskog brega. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke (In press).
- Butorac, B., Igić, R., Zlatković, B. (1997): Comparative analysis of the remnants of xerothermic forest vegetation of the Titel hill and the Fruška gora loess plateau. Proceeding book of the 3<sup>rd</sup> ICFWST '97, Vol. II : 1-8.
- Diklić, N. (1970): Fam. *Berberidaceae* in Josifović, M. ed. Flora SR Srbije, 2: 4–5. SANU, Beograd.
- Diklić, N. (1972): Rod *Vicia* in Josifović, M. ed. Flora SR Srbije, 4: 315–358. SANU, Beograd.
- Gajić, M. (1980): Pregled vrsta flore SR Srbije sa biljnogeografskim oznakama. Glavnik Šumarskog fakulteta, ser. A. 54: 111–141.
- Grdinić, B. (1996): Značaj florističkih istraživanja u funkciji unapređivanja nastave biologije. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu.
- Guelmino, J. (1968): Zenta és környe-kének növényei (Grada za morfologiju Sente). Senta.
- Hirc, D. (1919): Grada za floru Srijemskog plošnjaka, Fruške gore i okoline grada Osijeka. Glasnik Zemaljskog muzeja Bosne i Hercegovine.
- Igić, R. (1988): Pregled flore Titelskog brega, Zbornik za prirodne nauke Matice srpske, 74: 135–152.
- Ivković, V., Budak, V. (1979): Prilog flori prostora na kome se nalazi petrovaradinska tvrđava i njena bliža okolina. Zbornik za prirodne nauke Matice srpske, 56: 53–64.
- Josifović, M. ed. (1970–1986): Flora SR Srbije I–IX. SANU, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka. Beograd.
- Kojić, M. (1972): Rod *Lathyrus* in Josifović, M. ed. Flora Srbije, 4: 376–378. SANU, Beograd.
- Kovács, F. (1929): Obecse határának virágos növényei. Szeged.
- Obradović, M. (1966): Biljnogeografska analiza flore Fruške gore. Matica srpska, Novi Sad.
- Obradović, M., Boža, B. (1986): Prodrromus flore papratnica i semenica Subotičke peščare i bliže okoline, Zbornik radova PMF-a ser., biol., 6: 121–142.
- Pekanović, V. (1983): Fam. *Aspleniaceae* in Gajić, M. ed. Flora Deliblatske peščare, pp. 52–54. PMF Novi Sad i ŠIK Pančevo. Novi Sad.

- Prodan, Gy. (1916): Bács-Bodrog vármegye flórája. Magyar Bot. Lap. 14: 120–269.
- Soó, M. ed (1980): A magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve, I–IV, Akadémiai kiadó. Budapest.
- Sarić, M. ed. (1986): Flora SR Srbije X, SANU, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, Beograd.
- Sarić, M. ed. (1992): Flora Srbije I, SANU, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, Beograd.
- Stanojević, R. (1983): Florističke odlike Titelskog brega, Magistarski rad. Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
- Stanojević, R., Obradović, M. (1983): Južni elementi flore u biljnom pokrivaču Titelskog brega. Zbornik radova PMF-a, ser. za biol., 13: 89–94.
- Stanojević, R., Boža, P. (1983): Novozabeležene biljke u flori Titelskog brega. Zbornik radova PMF-a, ser. za biol., 14: 61–68.
- Stjepanović-Veseličić, Lj. (1979): Vegetacija Deliblatske peščare. ŠIK Pančevo i Društvo ekologa Vojvodine, Novi Sad.
- Stojanović, S. (1983): Vegetacija Titelskog brega. Zbornik za prirodne nauke Matice srpske, 65: 5–51.
- Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A. Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A. (1964–1980): Flora Europaea I–IV. Cambridge University Press. Cambridge.
- Vukićević, E. (1992): Rod *Asplenium* in Sarić, M. Ed. Flora SR Srbije, 1: 112–130. SANU, Beograd.
- Vasić, O. (1983): Fam. *Berberidaceae* in Gajić, M. ed. Flora Deliblatske peščare, pp. 80, PMF Novi Sad, i ŠIK Pančevo, Novi Sad.
- Zorkóczy, L. (1896): Ujvidék és kornyékének flórája. Ujvidék.

## NEW DATA ON THE FLORA OF TITELSKI BREG

by

Igić, R., Butorac, B., Zlatković, B., Vukov, D. and Anačkov, G.

### SUMMARY

In the investigations into vegetation and flora of inaccessible slopes of Titelski Breg from the Tisa side, a new community of xerothermous forests designated as ass. *Orno-Cotino-Quercetum pubescentis* Butorac, Igić, Zlatković (1966) was recorded.

Composition of this community is also determined by certain plant species like *Berberis vulgaris*, *Quercus pubescens*, *Evonymus verrucosus*, *Lonicera xylosteum*, *Tilia tomentosa*, *Rhamnus catharticus*, *Peucedanum alsaticum*, *Cynanchum vincetoxicum*, *Turritia glabra*, *Veronica chamaedrys*, *Geranium robertianum*, *Galium album* subsp. *pycnotrichum*, *Viola ambigua*, *Cerintho minor*, *Lathyrus sphaericus*, *Asplenium adiantum-nigrum*, *A. trichomanes*, *Celtis occidentalis*, *Hedera helix*, *Achillea nobilis* var. *ochroleuca*, *Vicia peregrina*, *Acer campestre* var. *acutilobum*, and *Polygonatum latifolium* recorded for the first time at the Titelski Breg localities.

A more detailed description of *Vicia peregrina*, *Lathyrus sphaericus*, *Berberis vulgaris*, *Asplenium adiantum-nigrum*, and *A. trichomanes* being for the first time recorded or being rare in flora of the Backa region is presented. Their occurrence contributes to the picture of a high diversity level of Titelski Breg emphasizing a need for their conservation to conserve plant genetic resources of this unique place.

