

---

Katarina Zeljić

## Efekat NaCl na klijanje semena tri vrste roda *Centaurium* (*C. spicatum*, *C. tenuiflorum* i *C. erythraea*)

---

*Semena C. spicatum, C. tenuiflorum i C. erythraea su tretirana rastvorom NaCl u opsegu koncentracija 12.5–200 mM i isključavana dve nedelje pod kontrolisanim uslovima. Analizom dobijenih rezultata zaključeno je da semena C. spicatum, C. tenuiflorum i C. erythraea pokazuju različiti stepen tolerancije na povišene koncentracije soli. Na nižim koncentracijama, na kojima dolazi do klijanja semena sve tri vrste roda Centaurium, izduživanje radikule je inhibirano. Semena C. spicatum i C. tenuiflorum su rezistentnija na povišene koncentracije NaCl u poređenju sa semenima C. erythraea koja su osetljivija i vijabilnost im je znatno smanjena. Toksično dejstvo visokih koncentracija natrijum hlorida se ispoljava u najranijim fazama klijanja semena C. erythraea.*

---

### Uvod

Tokom evolucije neke biljke su se adaptirale za život na zaslanjenim terenima. One se međusobno razlikuju po stepenu tolerancije na visoke koncentracije soli, kao i po tipu odbrambenih mehanizama koje su razvile, pa se mogu podeliti na halofite i glikofite. Razlika između ove dve grupe biljaka je u tome što halofite imaju veći kapacitet za preživljavanje stresa izazvanog visokim koncentracijama soli, pa su samim tim sposobnije da uspostave metabolički stabilno stanje za rast na zaslanjenim staništima. Rastvorene soli u zemljištu mogu delovati na biljke osmotski, jer vezuju vodu i čine je nedostupnom biljci, ali i toksično, zbog toga što ispoljavaju nepovoljne jonske efekte na enzimske sisteme, ćelijske membrane i ukupan ćelijski metabolizam. Halofite imaju visok osmotski potencijal ćelijskog soka zbog sposobnosti da apsorbuju velike količine osmotski aktivnih supstanci (npr. NaCl) u ćelije korena. Pri velikom osmotskom potencijalu korenovog sistema, a koji prevazilazi osmotski potencijal zemljišnog rastvora, halofite su sposobne da apsorbuju vodu iz zaslanjenih terena. Kod halofita osmotski potencijal se reguliše akumuliranjem jona u vakuoli, a manje u citoplazmi, gde se obično spajaju sa različitim organskim jedinjenjima. Na taj

---

Katarina Zeljić,  
(1984), Loznica,  
Vlade Zečevića  
16/15, učenica 3.  
razreda gimnazije  
"Vuk Karadžić" u  
Loznici

#### MENTORI:

Suzana Živković, dipl.  
biolog, Institut za  
biološka istraživanja  
"Siniša Stanković",  
Beograd

Danijela Mišić, dipl.  
biolog, Institut za  
biološka istraživanja  
"Siniša Stanković",  
Beograd

način se neutralizuje njihov štetni efekat na enzime i biomembrane, a protoplazma zaštićuje i funkcionalno stabilizuje. Neke halofite izlučuju jone  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$  preko površine listova gde se nalaze specijalizovane strukture u vidu žlezda, žlezdanih dlaka i mehurića. I kod halofita i kod glikofita regulacija osmotskog potencijala se postiže akumulacijom organskih supstanci u citosolu, lumenu, matriksu ili stromi organela. Glikofite sprečavaju transport jona do izdanaka kontrolišući unos jona u korenski ksilem (Hasegawa & Bressan 2000). Uopšte govoreći, u različitim uslovima zaslanjenosti dolazi do niza anatomsko-morfoloških i fiziološko-biohemijskih promena: menjaju se strukturne osobine ćelija, funkcije pojedinih subćelijskih organela, osmotski potencijal ćelijskog soka, viskozitet citoplazme kao i stepen hidrofilitnosti koloida.

Kolonizacija slanih staništa zavisi, pre svega, od uslova za klijanje, kao i od otpornosti klijanaca i mladica halofita na koncentraciju soli u zemljišnom rastvoru. Klijanci i mlade biljke su znatno osetljiviji na zaslanjenost podloge od zrelih i starih biljaka.

Najosetljiviji stadijum tokom životnog ciklusa biljaka je stadijum klijanja semena, koji se odvija pod uticajem različitih bioloških, hemijskih i fizičkih činilaca. Za njegovo odvijanje potrebno je obezbediti neophodne uslove, među kojima prvo mesto zauzimaju voda, kiseonik i temperatura. Pored prethodno navedenih, faktori koji mogu štetno ili povoljno da utiču su radioaktivno zračenje, vazdušni pritisak, različite koncentracije organskih ili neorganskih supstanci itd. (Popović 1987). Visoke koncentracije soli povećavaju osmotski pritisak zemljišnog rastvora čime je otežana imbibicija. Nedovoljna snadbevenost semena vodom dovodi do hiperosmotskog stresa, što može biti letalno (Tobe, Zhang & Omasa 1999).

Najveća količina semena se zadržava u površinskom sloju zemljišta gde je sadržaj soli promenljiv. Usled neprekidne evaporacije dolazi do koncentrovanja soli na površini zemljišta. Međutim, padavine za relativno kratko vreme mogu sprati soli u dublje slojeve zemljišta i obezbediti semenima dovoljnu količinu vode (Tobe, Li & Omasa 2000). Za uspešan opstanak u ovakvim uslovima potrebno je da semena očuvaju vijabilnost u nepovoljnom periodu i da klijaju kad se stvore povoljniji osmotski uslovi spoljašnje sredine.

Semena različitih vrsta pokazuju različiti stepen osetljivosti na soli, što je, između ostalog, posledica razlika u propustljivosti semenjače za soli, kao i stepena tolerancije embrionalnih tkiva. Kod vrsta čija semena poseduju semenjaču koja je slabo propustljiva za soli embrioni su zaštićeni od toksičnog efekta soli u eksternom medijumu sve do probijanja radikule. Embrioni, kod semena sa visoko propustljivom semenjačom, pate od toksičnosti soli i pre probijanja radikule. Generalno, do inhibicije klijanja u uslovima povećane koncentracije soli može doći pre ili posle početka klijanja, što zavisi od vrste, kao i od koncentracije soli u eksternom medijumu (Tobe, Zhang & Omasa 1999).

Rod *Centaurium* iz familije *Gentianaceae* obuhvata oko pedeset vrsta koje pokazuju različit stepen tolerancije na količinu soli u zemljištu. To su jednogodišnje, dvogodišnje i višegodišnje zeljaste biljke, koje se karakterišu uspravnim stablom sa naspravnim listovima. Cvetovi su grupisani u cvasti. Plod je čaura. Semena su mnogobrojna sa mrežasto-žiličastom opnom. Vrste ovog roda su rasprostranjene uglavnom u severnoj hemisferi. U Evropi je centar rasprostranjenja Mediteran, a u Americi Kalifornija i Meksiko.

*Centaurium spicatum* se javlja na travnatim i peskovitim terenima pored mora. Rasprostranjena je u Mediteranskim i Atlantskim zemljama Evrope i Afrike (Sluis & Labadie 1981). Kod nas je ima u Crnoj Gori, duž obala Jadranskog mora.

*Centaurium tenuiflorum* raste na vlažnim priobalnim mestima pored bara, na pašnjacima i livadama. Rasprostranjena je u mediteranskom području Balkanskog poluostrva. Kod nas je zabeležena u Crnoj Gori i Deliblatskoj peščari (Jovanović-Dunić 1973).

*Centaurium erythraea* se obično javlja na krečnim i suvim, nešto ređe na peščanim i močvarnim terenima. Rasprostranjena je skoro u čitavoj Evropi, osim na krajnjem severu. Ima je na Kavkazu, u Persiji i u severnoj Africi. U Srbiji je rasprostranjena i česta (Jovanović-Dunić 1973).

**Cilj** rada je utvrđivanje efekta različitih koncentracija NaCl na klijanje semena tri vrste kaćuna (rod *Centaurium*): *Centaurium spicatum*, *Centaurium tenuiflorum* i *Centaurium erythraea*, za koje se, na osnovu tipa staništa na kojima se javljaju, pretpostavlja da poseduju različiti stepen osetljivosti na soli.

## Materijal i metode

Semena *Centaurium spicatum* i *Centaurium tenuiflorum* su sakupljena tokom avgusta i septembra 2001. godine na Tivatskim solanama, a semena *Centaurium erythraea* septembra 2001. godine na Vlasinskom jezeru. Do izvođenja eksperimenta semena su čuvana u papirnim kesama, na sobnoj temperaturi.

Odbrojavano je po 100 semena svake vrste u Petrijeve kutije prečnika 6 cm uz dodavanje 3 mL destilovane vode ili rastvora NaCl u opsegu koncentracija: 12.5–200 mM. Da bi se sprečila mogućnost inhibitornog dejstva gljiva, kao fungistatik korišten je nistatin koncentracije 500 mg/L. Eksperiment je ponovljen dva puta sa uzorkom od 400 semena za svaku koncentraciju, uključujući i kontrolnu grupu.

Semena su isključavana pod uslovima dugog dana (16 časova svetlost, 8 časova mrak), na temperaturi od 25°C. Nakon dve nedelje evidentiran je broj proklijalih semena.

Semena tretirana 200 mM rastvorom NaCl su nakon toga ispirana sa 3 mL destilovane vode. Postupak je ponovljen tri puta. Semena su zatim

ponovo stavljena na isključavanje. Nakon nedelju dana ponovo je evidentiran broj proklijalih semena. Za ispiranje semena korištena je vakum pumpa marke "GILFORD" (3021).

Osmotski pritisak za različite koncentracije rastvora NaCl izračunat je po formuli:

$$\Psi_{\pi} = c R T$$

gde je  $\Psi_{\pi}$  osmotski pritisak (J),  $c$  molarna koncentracija rastvora,  $R$  univerzalna gasna (Ridbergova) konstanta ( $8.314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ) i  $T$  apsolutna temperatura (K).

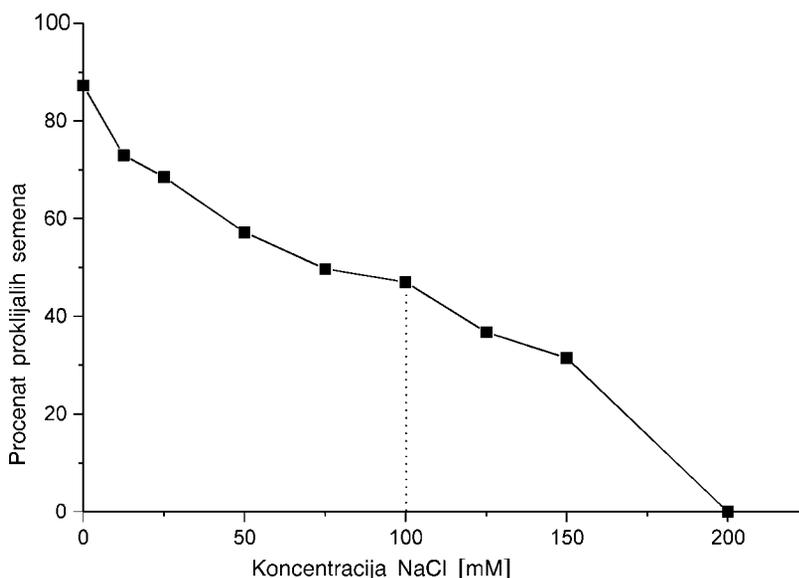
## Rezultati i diskusija

Rezultati dobijeni eksperimentom su statistički obrađeni i predstavljeni grafički i tabelarno. Standardne greške nisu prikazane zato što nisu prelazile 3%.

Na grafiku, slika 1, predstavljen je stepen klijanja semena *C. spicatum* (u procentima) u odnosu na različite koncentracije rastvora NaCl.

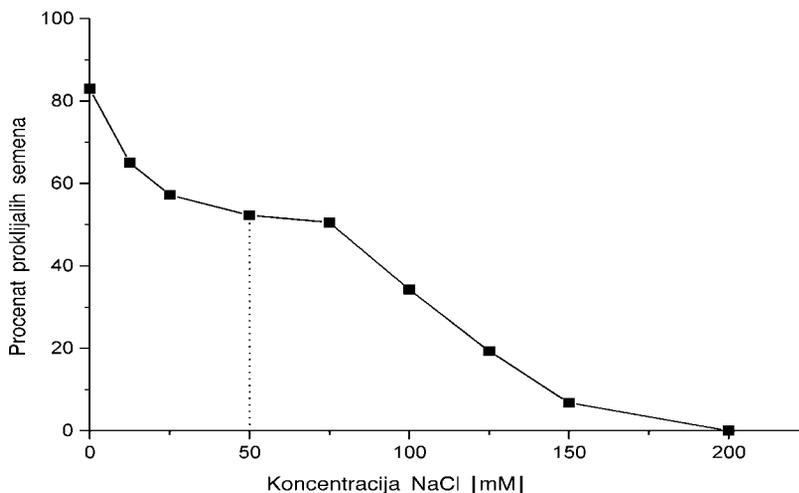
Sa datog grafika se može uočiti da sa povećanjem koncentracije soli dolazi do značajnog smanjenja stepena klijanja semena u odnosu na kontrolu. Na koncentracijama višim od 100 mM uočeno je znatno skraćenje radikule, dok kotiledoni nisu vidljivi. U 200 mM rastvoru soli dolazi do potpune inhibicije klijanja.

Efekat različitih koncentracija NaCl na klijanje semena *C. tenuiflorum* prikazan je na slici 2. Uočavamo sličan trend u klijanju semena kao kod



Slika 1.  
Efekat NaCl na  
klijanje semena  
*Centaurium spicatum*

Figure 1.  
The effect of NaCl  
on seed germination  
of *Centaurium  
spicatum*



Slika 2.  
Efekat NaCl na  
klijanje semena  
*Centaurium  
tenuiflorum*

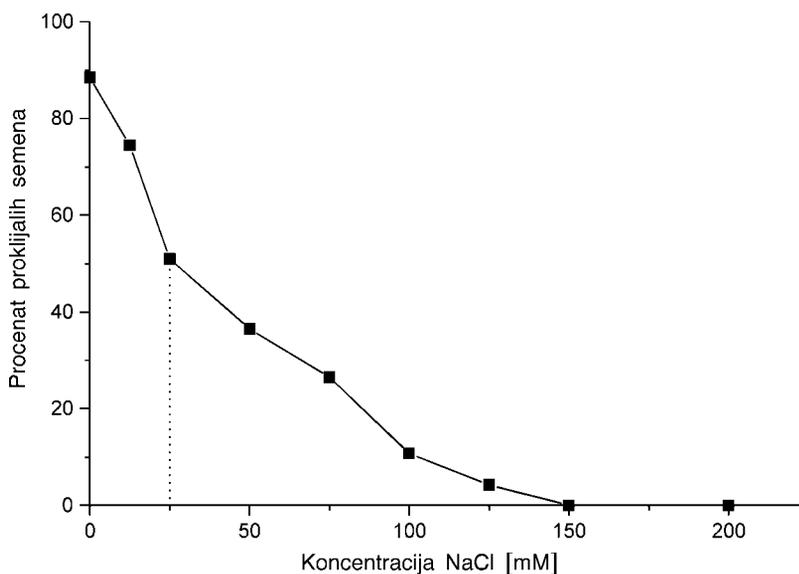
Figure 2.  
The effect of NaCl  
on seed germination  
of *Centaurium  
tenuiflorum*

prethodne vrste. Proces skraćivanja radikule pomeren je ka nižim koncentracijama soli (50 mM). Do potpune inhibicije klijanja dolazi u 200 mM rastvoru NaCl.

Procentat klijanja semena *C. erythraea* u odnosu na različite koncentracije NaCl predstavljen je grafikom na slici 3.

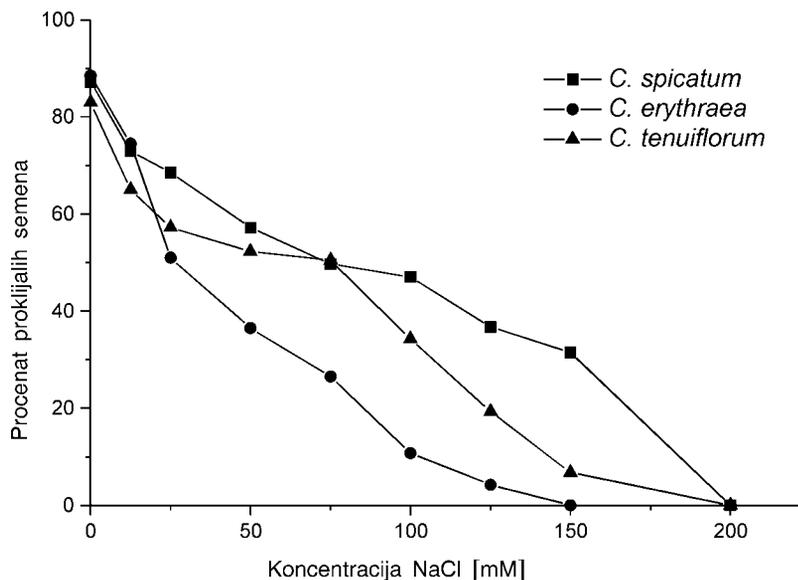
Rezultati pokazuju da sa povećanjem koncentracije rastvora NaCl dolazi do skoro linearnog smanjenja klijavosti. Na relativno niskim koncentracijama soli (25 mM) dolazi do inhibicije izduživanja radikule. Potpuna inhibicija klijanja se postiže već na 150 mM NaCl.

Upoređivanjem rezultata dobijenih za sve tri vrste roda *Centaurium* može se zaključiti da *C. erythraea* ima manji stepen tolerancije na soli u



Slika 3.  
Efekat NaCl na  
klijanje semena  
*Centaurium erythraea*

Figure 3.  
The effect of NaCl  
on seed germination  
of *Centaurium  
erythraea*



Slika 4.  
Efekat NaCl na  
klijanje semena tri  
vrste roda *Centaureum*

Figure 4.  
The effect of NaCl  
on seed germination  
of three kinds from  
genus *Centaureum*

odnosu na *C. spicatum* i *C. tenuiflorum* (slika 4). Rezultati su u granicama očekivanja, s obzirom da se *C. spicatum* i *C. tenuiflorum* i u prirodi javljaju na zaslanjenim terenima. Smanjena tolerancija na soli vrste *C. erythraea* se može objasniti nepostojanjem ekološke adaptacije ove vrste na život na zaslanjenim staništima.

Za slučaj *C. spicatum* i *C. tenuiflorum* može se reći da visoke koncentracije soli ne utiču na vijabilnost semena, dok relativno nizak salinitet, na kome dolazi do klijanja, rezultuje inhibicijom izduživanja radikule.

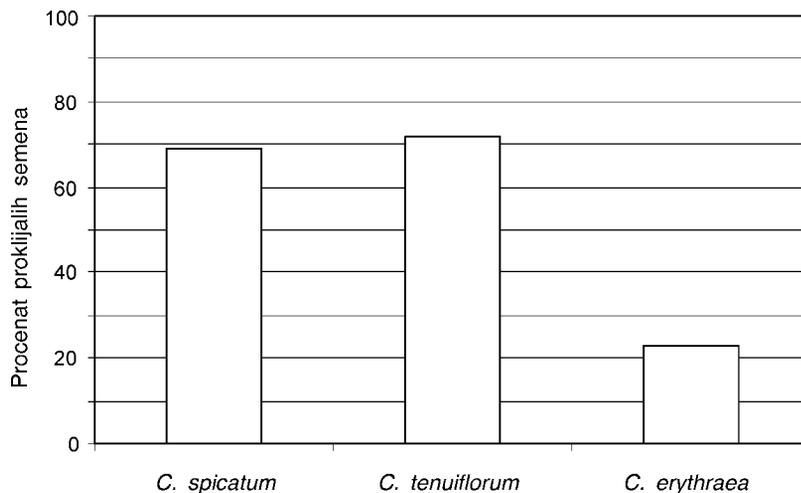
Vrednosti osmotskog pritiska za različite koncentracije rastvora NaCl su prikazane na tabeli 1.

Tabela 1. Osmotski pritisak za različite koncentracije rastvora NaCl

c (mM)	0	12.5	25	50	75	100	125	150	200
$\Psi_{\pi}$	0	30.96	61.94	123.88	185.82	247.76	309.69	371.64	495.52

Zbog povećanog osmotskog pritiska vodenog rastvora na koncentracijama od 150 i 200 mM NaCl, semena nisu mogla upijati dovoljnu količinu vode da bi maksimalno imbibovala, što je prouzrokovalo pojavu hiperosmotskog stresa. Da bi utvrdili da li su semena ostala vijabilna, semena tretirana najvišim koncentracijama NaCl, a koja nisu klijala, isprana su i potom postavljena na isključavanje u destilovanoj vodi. Rezultati dobijeni nedelju dana nakon toga prikazani su na slici 5.

Semena *C. spicatum* i *C. tenuiflorum* na visokim koncentracijama natrijum hlorida preživljavaju osmotski stres i prestaju sa klijanjem. Na taj



Slika 5.  
Klijanje semena tri vrsta roda *Centaurium* nedelju dana nakon ispiranja rastvora NaCl koncentracije 200 mM

Figure 5.  
Seed germination of three kinds from genus *Centaurium* after washing with a solution of NaCl, concentration 200 mM

način je očuvana vijabilnost u nepovoljnom periodu i semena nastavljaju normalno da klijaju nakon ispiranja, tj. kada su obezbeđeni povoljni osmotski uslovi spoljašnje sredine. Semena *C. erythraea* su osetljivija i vijabilnost im je znatno smanjena. Toksični efekat NaCl kod semena *C. erythraea* se ispoljava i pre izbijanja radikule, tj. u nekoj od početnih faza klijanja.

## Zaključak

1. Semena *C. spicatum*, *C. tenuiflorum* i *C. erythraea* pokazuju različiti stepen tolerancije na povišene koncentracije soli
2. Na nižim koncentracijama NaCl, na kojima dolazi do klijanja semena tri vrste roda *Centaurium*, izduživanje radikule je inhibirano
3. Na visokim koncentracijama natrijum hlorida, semena *C. spicatum* i *C. tenuiflorum* zadržavaju vijabilnost i nastavljaju normalno da klijaju kada se obezbede povoljni osmotski uslovi sredine
4. Semena *C. erythraea* su osetljivija i vijabilnost im je znatno smanjena
5. Visoke koncentracije NaCl imaju toksično dejstvo na semena *C. erythraea* još u najranijim fazama klijanja, tj. pre izbijanja radikule.

## Literatura

- Blumwald E. 2000. Sodium transport and salt tolerance in plants. *Current Opinion in Cell biology*, **12**: 431
- Hasegawa P. M. & Bressan R. A. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biology*, **51**: 463-499

- Jovanović-Dunić R. 1973. Fam. *Gentianaceae*. *Flora Srbije*, V: 408-411
- Kastori R. 1989. *Fiziologija biljaka*. Beograd: Naučna knjiga.
- Katshura M. Kawasaki T. 1996. Salt stress induced Nuclear and DNA Degradation in Meristematic Cells of Barley roots. *Plant Cell Physiology*, **37** (2): 169
- Kojić M. 1988. *Botanika*. Beograd: Naučna knjiga
- Popović ž. 1987. *Fiziologija biljaka*. Beograd: Naučna knjiga
- Sarić M. 1987. *Fiziologija biljaka*. Beograd: Naučna knjiga
- Sluis W.G. & Labadie R.P. 1981. Secoiridoids and xanthenes in the genus *Centaurium*. *Planta medica*, **41**, 221
- Tobe K., Zhang, L. & Omasa K. 1999. Effects of NaCl on seed germination of five nonhalophytic species from a Chinese environment. *Seed Sci. & Technol.*, **27**: 851
- Tobe K., Li X. & Omasa K. 2000. Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae). *Annals of Botany*, **85**: 391
- Ziegler D. 1988. *Botanika: morfologija i fiziologija*. Zagreb: Školska knjiga

---

Katarina Zeljić

### The Effect of NaCl on Seed Germination of Three Kinds from the *Centaurium* Genus (*C. spicatum*, *C. tenuiflorum*, *C. erythraea*)

In our experiment the effect of different NaCl concentrations on seed germination of three kinds which belongs to the *Centaurium* genus: *C. spicatum*, *C. tenuiflorum* and *C. erythraea*, was examined. The seeds were treated with a solution of NaCl (concentration scale 12.5 to 200 mM), supplemented with 500 mg/L fungistatic nystatine. Seeds were germinated at a temperature of 25°C, under long day conditions (16h light / 8h dark). Germination was scored 14 days after the start of imbibition.

According to analysis of the obtained results it is concluded that seeds of *C. spicatum*, *C. tenuiflorum* and *C. erythraea* indicate different levels of tolerance to high salt concentrations. Seed germination decreases with the increase of NaCl concentration for all kinds from the *Centaurium* genus. By treating seeds of *C. spicatum*, *C. tenuiflorum* and *C. erythraea* with lower-concentrated solutions which do not disable germination, the elongation of radicles was inhibited. Total inhibition of germination was observed at 200 mM NaCl for *C. spicatum* and *C. tenuiflorum* and at 150 mM NaCl for *C. erythraea*.

Seeds treated with 200 mM NaCl solution, which showed no germination, were washed with distilled water, and placed in a growth room for germination in a period of 7 days. The results showed us that seeds of *C. spicatum* and *C. tenuiflorum* keep their viability at high concentrations of NaCl. The seeds of *C. erythraea* are more sensitive and their viability is lowered. Toxic effect of high concentrations of NaCl on seeds of *C. erythraea* is expressed in early stages of seed germination, before the emerging of radicle.

