

UDK 581.132.1:551.524+551.521.11:582.669+582.96
Originalni naučni rad

Uticaj godišnjih promena temperature i svetlosti (PAR) na indukciju fluorescencije Chla *in situ* kod *Stellaria media* (L.) i *Plantago maior* (L.)

Bogdan Nikolić¹, Dejan Dodig², Vlada Jovanović³, Vaskrsija Janjić³, Zoran Milićević¹

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, 11000 Beograd, Teodora Dražera 9, Srbija

²Institut za kukuruz Zemun Polje, 11080 Beograd, Slobodana Bajića 1, Srbija

³Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, 11080 Beograd, Banatska 31b, Srbija

REZIME

Fluorescencija Chla, kao pokazatelj fotosinteze, posebno je osjetljiva na promene temperature i intenziteta svetlosti (PAR). To omogućava praćenje uticaja ovih ekofizioloških parametara na fotosintezu nativnih biljaka. U ovom radu dat je pregled uticaja godišnjih promena temperature i PAR na parametre fluorescencije Chla kod *Stellaria media* (L.), biljne vrste zastupljenje u hladnijem delu godine i *Plantago maior* (L.), biljne vrste zastupljenje u toplijem delu godine. Manje vrednosti PAR i temperature usporavaju transport elektrona u PS2, sniženje temperature umanjuje kvantnu efikasnost u PS2 i pozitivno deluje na antenske procese i veličinu pula plastohinona u PS2 kod *Stellaria media* (L.). Sniženje temperature umanjuje kvantni prinos i usporava transport elektrona u PS2 kod *Plantago maior* (L.). Činjenica da i PAR (pored temperature) deluje na fotosintezu, kao i da sniženje temperature aktivira antenske i procese na akceptorskoj strani PS2, kao „protivtežu” inhibiciji kvantne efikasnosti i transporta elektrona u PS2, uzrokovanoj niskim temperaturama, ukazuje na moguće uzroke niskotemperaturne otpornosti fotosinteze kod *Stellaria media* (L.). Nasuprot tome, kod *Plantago maior* (L.) niska temperatura uzrokuje inhibiciju kvantne efikasnosti i transporta elektrona u PS2, što dovodi do niskotemperaturne fotoinhibicije i postepenog gašenja svih fizioloških procesa kod te vrste. To bi moglo biti objašnjenje različite prilagođenosti na niske temperature i različitim životnim strategijama ovih vrsta, koje žive u bliskom susedstvu.¹

Ključne reči: Temperatura; PAR; fluorescencija Chla; godišnje promene; *Stellaria media* (L.); *Plantago maior* (L.)

UVOD

Fotosinteza, kao proces konverzije energije, zavisi od intenziteta (PAR) i kvaliteta (R/FR aklimacija) svetlosti. PAR je verovatno najvažniji promenljivi sredinski faktor koji deluje na biljke (Björkman, 1981). Taj faktor varira sezonski, dnevno i prostorno.

Biljke sunca, generalno gledano, imaju intenzivniju fotosintezu na svetlosti veće PAR, nego biljke senke (Björkman, 1981). Pored svetlosti i temperaturne deluje na fotosintezu, kao značajan ekofiziološki faktor (Berry i Björkman, 1980). Temperatura deluje na fotosintezu kao na niz enzimskih reakcija, saglasno Mihaelis-Mentenovoj kinetici (Edwards i Walker, 1983), što je slučaj sa fotosintetskim reakcijama u stromi (tamna faza fotosinteze).

1 Skraćenice: PAR: fotosintetski aktivna radijacija; RC PS₂: reakcioni centar fotosistema dva; R/FR aklimacija: aklimacija biljaka na odnos crvene i tamnocrvene svetlosti; Chl a: hlorofil a; e: elektron.

Temperatura deluje i na membranske fotosintetske procese (svetla faza fotosinteze), što najviše zavisi od statusa lipida tilakoida (Lyons i sar., 1979; Nishida i Murata, 1996). Membranske reakcije fotosinteze povezane su sa fotosintetskim procesima u stromi (Edwards i Walker, 1983; Geiger i Servaites, 1994), pa praćenjem svetle faze možemo procenjivati ukupnu fotosintezu. Uobičajena tehnika za praćenje membranskih reakcija fotosinteze je fluorescencija Chla (Krause i Weis, 1991). Njome procenjujemo stanje membranskih reakcija i ukupne fotosinteze u raznim ekofiziološkim situacijama (Björkman i Demmig, 1987; Genty i sar., 1989; Burke, 1990; Demmig-Adams i Adams, 1992; Oberhuber i Edwards, 1993). Ekofiziološke studije uticaja svetlosti i temperature na fotosintezu *in situ* obično uključuju tzv. PAM fluorimetriju (Maxwell i Johnson, 2000). Metoda nemodulisane fluorimetrije mnogo manje se primenjuje u ekofiziologiji.

MATERIJAL I METODE

Merenje fluorescencije Chla, ostala merenja i statistička obrada rezultata

Indukcija fluorescencije Chla praćena je Handy-PEA portabl fluorometrom (Hansatech, UK), koji sadrži sopstveni softver za izračunavanje, numeričko predstavljanje i memorisanje parametara indukcije fluorescencije Chla. Korišćeni su parametri: F_0 , Fm, Fv/Fm, Fv/ F_0 , definisani saglasno Krause i Weis (1991), Strasser i sar. (1995) i Maxwell i Johnson (2000), kao i parametri Pindex (indeks relativne vitalnosti fotosinteze), Tfm (msec; vreme dostizanja Fm; pokazatelj brzine redukcije Q_A akceptora PS₂, tj. brzine transporta elektrona u PS₂) i A (area; bmS; površina iznad krive indukcije fluorescencije između F_0 i Fm; merilo veličine pula plastohinona u PS₂), definisani po Strasser i sar. (1995). Fotosintetski aktivna radijacija (PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) merena je Li-1000 svetlomerom (Li-Cor, USA), dok je temperatura vazduha u blizini biljaka merena BIG DIGIT Dual Thermo termometrom (opseg merenja od -50°C do +70°C). Pošto PAR i temperatura predstavljaju merilo energije (svetlosne ili termalne) kojih su biljke izložene, pre statističke obrade uradi se Arrheniusova transformacija rezultata, saglasno Marković i sar. (1996). Transformacija rezultata uradena je kod parametara koji nisu dati kao odnosi (F_0 , Fm, Tfm i A), tako što se oni logaritmuju prirodnim logaritmom, dok su PAR i apsolutna temperatura (T; °K) date kao recipročne vrednosti (1/A, 1/T). Parametri dati kao odnosi (Fv/Fm, Fv/ F_0 i Pindex) ne transformišu se. Statistička obrada rezultata (određivanje srednje vrednosti merenja, korelaciona i regresiona analiza odnosa parametri fluorescencije (transformisani ili netransformisani) vs. 1/PAR ili 1/T) obavljena je u programskom paketu Excell (Microsoft, USA).

Biljni materijal i uslovi merenja

Merenja indukcije fluorescencije Chla vršena su na zeljastim biljkama *Plantago maior* i *Stellaria media* *in situ* u Zemunu (≈ 100 m n.v.). Merenja su vršena u periodu oktobar 2005 – februar 2006. na svakih 15 dana, dok je od marta do oktobra 2006. to činjeno na svakih 30 dana, pa i rede. Ta merenja se obavljaju po jednočasovnoj aklimamaciji delova listova na tamu (tzv. lisnom viljuškom) *in situ* u 4 ponavljanja.

REZULTATI

Zapažamo da tokom oglednog perioda (oktobar 2005 – oktobar 2006) PAR i temperatura statistički visoko značajno rastu kod mišjakinja (Tabela 1). Primećujemo kod te biljke da pri slabijoj PAR (veće 1/PAR vrednosti) u ogledu značajno raste vrednost maksimalne fluorescencije (Slika 1), kao i parametra ln Tfm (Slika 2), što ukazuje na manje efikasne procese u RC PS₂ i sporiji transport e⁻ u PS II (Krause i Weis, 1991) u tim uslovima. Temperatura je u značajno veći sa različitim parametrima indukcije fluorescencije Chla (Tabela 1). Tako, primećujemo da sa umanjenjem temperature (veće 1/T vrednosti) veoma visokoznačajno raste parametar ln F_0 (Slika 3), što ukazuje na aktiviranje fotoprotективnih procesa u tilakoidnim mebranama mišjakinja (*Stellaria media*) u tim uslovima. Niže temperature (veće 1/T vrednosti) značajno snižavaju kvantni prinos PS II (parametar Fv/Fm; Slika 4), ali dovode

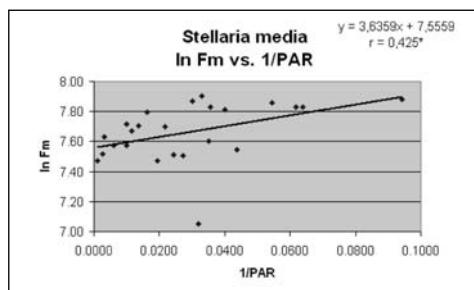
i do vrlo visokoznačajnog porasta parametra $\ln T_{fm}$ (Slika 5) i značajnog porasta parametra $\ln A$ (Slika 6). Znači, niže temperature kod mišjakinje (*Stellaria media*) dovode do sniženja kvantnog prinosa (Slika 4) i usporavanja transporta e⁻ u PS II (Slika 5). Međutim, zbog aktiviranja fotoprotektivnih procesa (Slika 3) i povećanja kapaciteta pula plastohinona (Slika 6), što ukazuje na pojačano fotohemijsko gašenje fluorescencije (Demmig-Adams i Adams, 1992), fotosinteza (parametar Pindex) nije značajno umanjena na niskim temperaturama (Tabela 1). Činjenica da pri intenzivnijoj svjetlosti (više vrednosti PAR), karakterističnoj za povremene periode otopljavanja tokom zime, dolazi do efikasnijih procesa u RC PS₂ i bržeg transporta e⁻ u PS II (Slike 1 i 2), ukazuje na moguće aktiviranje reparativnih i/ili fotoprotektivnih procesa zavisnih od PAR (Demmig-Adams i Adams, 1992; Long i sar., 1994), u pomenutim uslovima kod mišjakinje.

Kod ženske bokvice (*Plantago major*) zapažamo da pri nižim temperaturama (veće 1/T vrednosti) značajno opadaju parametri $\ln F_m$ i F_v/F_m i veoma značajno parametar F_v/F_0 (Tabela 2). Znači, sa sniženjem temperature opadaju vrednosti varijabilne i maksimalne fluorescencije i kvantnog prinosa PS II (Slike 7, 8 i 9). Pošto $\ln T_{fm}$ (mS) veoma visokoznačajno raste pri padu temperature (Slika 10), mišljenja smo da pri sniženju temperature kod

Tabela 1. Korelacioni odnosi vremena merenja i parametara indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) i fotosintetski aktivne radijacije (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mereni na mišjakinji (*Stellaria media* L.)

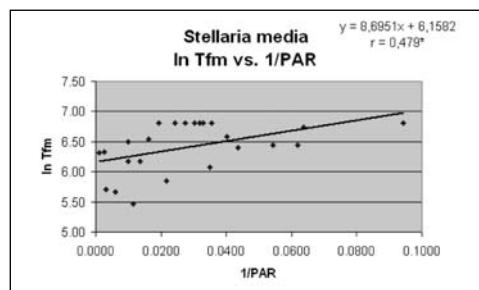
Table 1. Correlation between measurement time and induction parameters of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) and photosynthetically active radiation (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) read on chickweed (*Stellaria media* L.)

	*0,05=0,404	**0,01=0,515	***0,001=0,629							
Ukupno	Vreme	$\ln F_0$	$\ln F_m$	F_v/F_m	F_v/F_0	Pindex	$\ln T_{fm}$; mS	$\ln A$; bmS	1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1/T; °K
Vreme	1,000									
$\ln F_0$	-0,598	1,000								
$\ln F_m$	-0,496	0,045	1,000							
F_v/F_m	-0,036	-0,508	0,825	1,000						
F_v/F_0	-0,101	-0,561	0,792	0,961	1,000					
Pindex	-0,282	-0,321	0,768	0,796	0,850	1,000				
$\ln T_{fm}$; mS	-0,659	0,656	0,068	-0,348	-0,289	-0,101	1,000			
$\ln A$; bmS	-0,311	0,364	0,487	0,237	0,169	0,403	0,477	1,000		
1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-0,555	0,262	0,425	0,148	0,256	0,228	0,479	0,305	1,000	
1/T; °K	-0,545	0,687	-0,016	-0,450	-0,366	-0,173	0,884	0,442	0,575	1,000



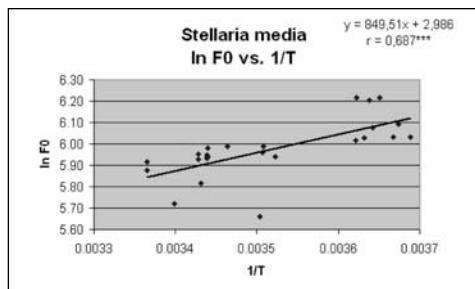
Slika 1. Regresioni odnos $\ln F_m$ parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima fotosintetski aktivne radijacije (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) merenim na mišjakinji (*Stellaria media*)

Figure 1. Regression ratio of $\ln F_m$ induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of photosynthetically active radiation (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) read on chickweed (*Stellaria media*)



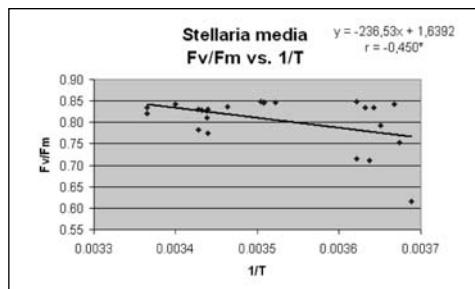
Slika 2. Regresioni odnos $\ln T_{fm}$ (mS) parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima fotosintetski aktivne radijacije (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) merenim na mišjakinji (*Stellaria media*)

Figure 2. Regression ratio of $\ln T_{fm}$ (mS) induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of photosynthetically active radiation (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) read on chickweed (*Stellaria media*)



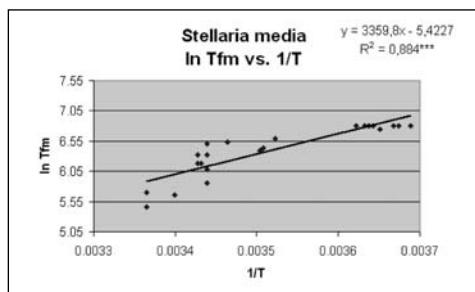
Slika 3. Regresioni odnos ln F₀ parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim na mišjakinji (*Stellaria media*)

Figure 3. Regression ratio of ln F₀ induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on chickweed (*Stellaria media*)



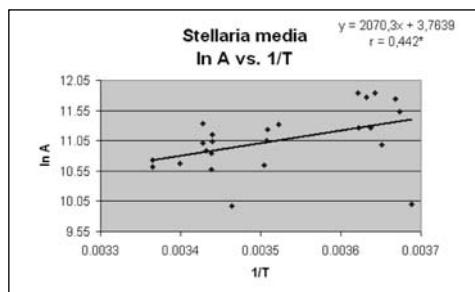
Slika 4. Regresioni odnos Fv/Fm parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim na mišjakinji (*Stellaria media*)

Figure 4. Regression ratio of Fv/Fm induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on chickweed (*Stellaria media*)



Slika 5. Regresioni odnos ln Tfm (mS) parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim na mišjakinji (*Stellaria media*)

Figure 5. Regression ratio of ln Tfm (mS) induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on chickweed (*Stellaria media*)



Slika 6. Regresioni odnos ln A (area; bmS) parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim na mišjakinji (*Stellaria media*)

Figure 6. Regression ratio of ln A (area; bmS) induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on chickweed (*Stellaria media*)

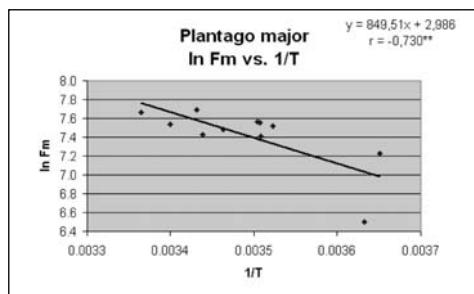
Tabela 2. Korelacioni odnosi vremena merenja i parametara indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) i fotosintetski aktivne radijacije (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mereni kod ženske bolvice (*Plantago major*)

Table 2. Correlation between measurement time and induction parameters of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) and photosynthetically active radiation (1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) read on female plantain (*Plantago major*)

	*0,05=0,602	**0,01=0,735	***0,001=0,847	
Ukupno	Vreme	ln F ₀	In Fm	Fv/Fm
Vreme	1,000			
ln F ₀	-0,205	1,000		
In Fm	0,149	-0,042	1,000	
Fv/Fm	0,121	-0,203	0,980	1,000
Fv/F ₀	0,292	-0,417	0,914	0,942
Pindex	0,331	-0,617	0,609	0,649
lnTfm; mS	-0,584	0,009	-0,504	-0,463
ln A; bmS	-0,135	-0,024	0,767	0,771
1/PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-0,403	0,220	-0,036	-0,047
1/T; °K	-0,360	0,206	-0,730	-0,724

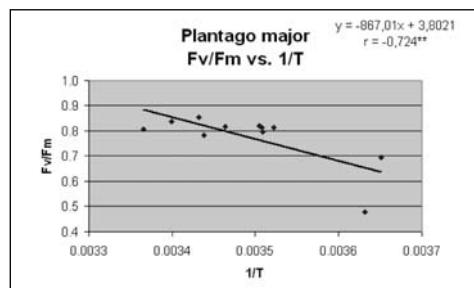
ženske bokvice dolazi do manje efikasnosti procesa u RC PS₂, umanjenja kvantnog prinosa i sporijeg transporta e u PS II (Slike 8, 9 i 10). Nasuprot izloženom, vrednosti navedenih parametara u toplijem delu godine ukazuju na intenzivnu fotosintezu kod ženske bokvice (Tabela 2).

Sve u svemu, navedeni rezultati ukazuju na to da je mišjakinja (*Stellaria media*), kao kosmopolitska i pretežno ruderbalna vrsta, razvila mehanizme za zadovoljavajuće odvijanje fotosinteze na niskim temperaturama, što joj omogućava da preživi. Tada ta vrsta u hladnjem delu sezone zauzima različite ekološke niše i dovršava svoj životni ciklus, što joj je otežano tokom toplijeg dela sezone, zbog njene osetljivosti na sušu (Sobey, 1981). Nasuprot tome, ženska bokvica (*Plantago major*), kao kosmopolitska hemikriptofitna vrsta, osetljiva je na niske temperature, na kojima preživljavaju samo podzemne strukture i seme (Sagar i Harper, 1964). Izneti rezultati ukazuju na mehanizme i faktore, koji uslovjavaju različitu osetljivost na niske temperature, a time i različite životne strategije, ovih inače prostorno susednih vrsta.



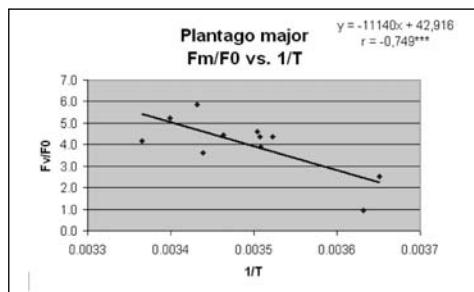
Slika 7. Regresioni odnos ln Fm parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim kod ženske bokvice (*Plantago major*)

Figure 7. Regression ratio of ln Fm induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on female plantain (*Plantago major*)



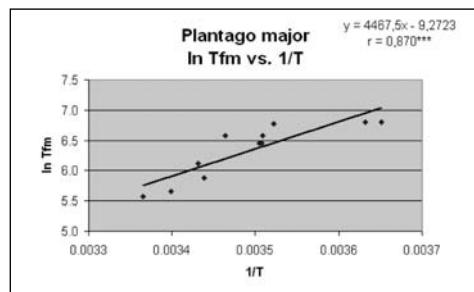
Slika 8. Regresioni odnos Fv/Fm parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim kod ženske bokvice (*Plantago major*)

Figure 8. Regression ratio of Fv/Fm induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on female plantain (*Plantago major*)



Slika 9. Regresioni odnos Fv/F₀ parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K) merenim kod ženske bokvice (*Plantago major*)

Figure 9. Regression ratio of Fv/F₀ induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on female plantain (*Plantago major*)



Slika 10. Regresioni odnos ln Tfm (mS) parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K); mereni kod ženske bokvice (*Plantago major*)

Figure 10. Regression ratio of ln Tfm (mS) induction parameter of Chla fluorescence against the reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K) read on female plantain (*Plantago major*)

ZAHVALNICA

Zahvaljujemo se kolegama iz Instituta za poljoprivredna i tehnološka istraživanja iz Zaječara, koji su nam pozajmili Handy-PEA fluorometar. Rad je finansiran sredstvima projekata Ministarstva nauke Republike Srbije.

LITERATURA

- Berry, J., Björkman, O.:** Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Annual Revue of Plant Physiology, 31, 491-543, 1980.
- Björkman, O.:** Responses to Different Quantum Flux Densities. In: Encyclopedia of Plant Physiology, 12A, 57-107, 1981.
- Björkman, O., Demmig, B.:** Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. Planta, 170, 489-504, 1987.
- Burke, J.J.:** Variation among species in the temperature dependence of the reappearance of variable fluorescence following illumination. Plant Physiology, 93, 652-656, 1990.
- Demmig-Adams, B., Adams, WW.:** Photoprotection and other Responses of Plants to High Light Stress. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43, 599-626, 1992.
- Edwards, G., Walker, D.:** C_3 , C_4 : Mechanisms, and cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell, Oxford, UK, 1983.
- Geiger, D.R., Servaites, J.C.:** Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C_3 plants. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 44, 235-256, 1994.
- Genty, B., Briantais, J.-M., Baker, N.R.:** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta, 990, 87-92, 1989.
- Krause, G.H., Weis, E.:** Chlorophyll Fluorescence: The Basics. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 42, 313-349, 1991.
- Long, S.P., Humphries, S., Falkowski, P.G.:** Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 45, 633-662, 1994.
- Lyons, J.M., Graham, D., Raison, J.K. (eds.):** Low temperature stress in crop plants. Academic Press, New York, 1979.
- Marković, D., Jeremić, M., Radenović, Č.:** Savremena Biofizika. 4. Zakasnela fluorescencija hlorofila. Velarta, Beograd, ISBN 86-7138-015-7, 1996.
- Maxwell, K., Johnson, G.N.:** Chlorophyll fluorescence – a practical guide. Journal of Experimental Botany, 51(345), 659-668, 2000.
- Nishida, I., Murata, N.:** Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47, 541-568, 1996.
- Oberhuber, W., Edwards, G.E.:** Temperature Dependence of the Linkage of Quantum Yield of Photosystem II to CO_2 Fixation in C_4 and C_3 Plants. Plant Physiology, 101, 507-512, 1993.
- Sagar, G.R., Harper, J.L.:** Biological flora of British Isles: *Plantago major* L., *Plantago media* L. and *Plantago lanceolata* L. Journal of Ecology, 52, 189-221, 1964.
- Sobey, D.G.:** *Stellaria media* (L.) Vill. Journal of Ecology, 69(1), 311-335, 1981.
- Strasser, R., Srivastava, A., Govindjee:** Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. Photochemistry and Photobiology, 61, 32-34, 1995.

The Influence of Annual Changes in Temperature and Light (PAR) on the Induction of Chla Fluorescence *in situ* in *Stellaria media* (L.) and *Plantago major* (L.)

SUMMARY

Chla fluorescence, as a mode of estimation of photosynthesis, is especially sensitive to changes in temperature and light intensity (PAR). This enables us to study the influence of those ecophysiological parameters on photosynthesis in native plants. In this article, we examined the effect of annual changes in temperature and PAR on the parameters of Chla fluorescence in *Stellaria media* (L.), a plant species more frequent in colder periods of the year, and *Plantago major* (L.), which is more frequent in warmer periods. Lower PAR and temperature slowed down the electron transport in PS₂, but lower temperatures reduced the quantum efficacy of PS₂ and improved processes in the antennae system and the size of plastoquinone pool of PS₂ in *Stellaria media* (L.). Lower temperatures reduced quantum efficacy and slowed down the electron transport in PS₂ in *Plantago major* (L.). The facts that PAR (as well as temperature) affects photosynthesis, and that lower temperatures activate processes in the antennae system and those on the acceptor side of PS₂ as a 'counterbalance' to the inhibition of quantum efficacy and electron transport in PS₂, caused by low temperatures, point at possible explanations of low-temperature resistance of photosynthesis in *Stellaria media* (L.). On the other hand, low temperatures caused inhibition of quantum efficacy and electron transport in the PS₂ of *Plantago major* (L.), which caused low-temperature photoinhibition and stepped quenching of all physiological processes in the species. This might be the reason for the different levels of acclimation to low temperatures and different life strategies of the two species living in close vicinity.

Keywords: Temperature; PAR; Chla fluorescence; Annual changes; *Stellaria media* (L.); *Plantago major* (L.)

Primljen 09.06.2008.

Odobren 10.07.2008.