

UGOTAVLJANJE ANTROPOGENEGA STRESA PRI BUKVI (*Fagus sylvatica L.*) V ZASAVJU

Andreja BIENELLI KALPIČ¹, Franc BATIČ², Primož SIMONČIČ³

Izvleček

Bukov (*Fagus sylvatica L.*) je prevladujoča drevesna vrsta v Sloveniji in osrednji Evropi ter kot tako primeren bioindikator zračnega onesnaženja. Bukov s svojo strukturo in funkcijo odseva razmere v okolju in smiselno dopoljuje fizikalno-kemijske meritve zračnih onesnažil. Zasavje je eno izmed bolj onesnaženih predelov v Sloveniji zaradi industrije, ki je v preteklosti zelo degradirala to območje (rudarstvo, termoenergetika, steklarska industrija, kemična industrija). Vzorčna mesta smo izbrali v bližini ekološkega informacijskega sistema Termoelektrarne Trbovlje, kjer potekajo kontinuirane meritve zračnih onesnažil in meteoroloških parametrov. Kot referenčno mesto smo izbrali Prežo v Kočevski Reki. Stanje izbranih dreves smo določali na osnovi biokemijskih kazalcev antropogenega stresa (fotosintetni pigmenti, antioksidanti) in mineralne preskrbljenosti dreves. Rezultati so pokazali, da so drevesa v Zasavju v stresu zaradi zračnega onesnaženja, kar potrjujejo statistično značilno večje vsebnosti žvepla, vodotopnih tiolov in manjša vsebnost fotosintetnih pigmentov v listih bukve v primerjavi z referenčnim, manj onesnaženim mestom. Vsebnosti makrohranil so bile na vseh vzorčnih lokacijah zadostne ali celo optimalne.

Ključne besede: bukov (*Fagus sylvatica L.*), bioindikacija, ekofiziološki kazalniki, makrohranila, zračno onesnaženje, Zasavje

ASSESSMENT OF ANTHROPOGENIC BEECH (*Fagus sylvatica L.*) STRESS IN ZASAVJE AREA

Abstract

*Common Beech (*Fagus sylvatica L.*) is the prevailing tree species in Slovenia and central Europe and thus highly appropriate as air pollution bioindicator. With its structure and function it reflects the environmental conditions and represents the supplemental measurements of physical-chemical measurements of air pollutants in the environment. Zasavje area is one of the more polluted areas in Slovenia due to industry (mining, thermal power plant, glass factory, chemical industry). The sampling sites were chosen in the vicinity of ecological information system of Trbovlje Thermal Power Plant, where air pollutants and meteorological parameters are continuously measured. Preža at Kočevska Reka was chosen as reference sampling site. The condition of sampling trees was determined by biochemical parameters of anthropogenic stress (photosynthetic pigments, antioxidants) and macronutrients supply. The result showed stress of trees due to anthropogenic pollution by statistical higher content of total sulphur, watersoluble thiols in beech leaves and lower content of photosynthetic pigments. The trees were well or optimally supplied by macronutrients at all sampling plots.*

Key words: Common Beech (*Fagus sylvatica L.*), bioindication, ecophysiological indicators, macronutrients, air pollution, Zasavje

UVOD

INTRODUCTION

Zasavje sodi med zelo onesnažena območja Slovenije, kjer je pokrajina degradirana zaradi industrije (pridobivanje električne energije) in rudarjenja. Termoelektrarna Trbovlje ima primarno vlogo pri onesnaževanju z žveplovim dioksidom in ogljikovim dioksidom. Pomemben onesnaževalec okolja je enota PE2, ki uporablja energetski premog s kurično vrednostjo 10 MJ/kg in vrednostjo žvepla 2,5 %. Povprečne emisijske koncentracije pri polni moči delovanja brez čistilnih naprav so znašale: 13.600 mg/m³ SO₂, 600 mg/m³ NO_x in 300 mg/m³ prašnih delcev. S postavitvijo čistilne naprave v letu 2005 naj bi se te vrednosti zmanjšale na: 1300 mg/m³ SO₂, 300 mg/m³ NO_x in 50 mg/m³ prašnih delcev (<http://www.test.si/>).

Tako pričakujemo v prihodnosti izboljšanje kakovosti zraka in razmer za življenje tudi v zasavskih dolinah.

Žveplov dioksid je primarno onesnažilo, kar pomeni, da se neposredno sprošča v ozračje. Največje koncentracije SO₂ so omejene okrog vira izvora. Sezonske razlike v emisijah SO₂, raven disperzije z atmosferskim transportom in pretvorbe SO₂ s homogenimi in heterogenimi reakcijami v SO₄²⁻ vodijo v sezonsko spremenljivost koncentracij žveplovega dioksida pri tleh. Na regionalni ravni ni izrazitih dnevno-nočnih sprememjanj v koncentracijah omenjenega onesnažila (KRU-PA 1996). V Sloveniji je predpisana mejna imisijska koncentracija žveplovega dioksida za obdobje enega leta 50 µg m⁻³, mejna dnevna imisijska koncentracija pa znaša 125 µg m⁻³ (URADNI LIST RS, št. 73/94).

¹ mag. A. B.-K., ERICO Velenje, Inštitut za ekološke raziskave, Koroška 58, SI-3320 Velenje, andreja.bienelli@erico.si

² prof. dr. F. B., BF, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

³ dr. P. S., Gozdarski intititut Slovenije, Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana

Vpliv žveplovega dioksida na rastline je odvisen od številnih dejavnikov v okolju in od stanja same rastline. Poleg tega je vpliv žveplovega dioksida večji ob pojavljanju drugih onesnažil, saj deluje sinergistično z drugimi onesnažili v ozračju, kot so npr. ozon, dušikovi oksidi. V rastlino vstopa skozi reže. Pri majhnih zunanjih koncentracijah žveplovega dioksida ($\sim 45 \mu\text{gm}^{-3}$) le-ta sproži izgubo turgorja v epidermalnih celicah, ki obdajajo celice zapiralke, kar omogoča njihovo odprtost. Velike zunanje koncentracije (nad $1300 \mu\text{gm}^{-3}$) imajo nasprotni učinek, to je zapiranje rež (LARCHER 1995). V celicah povzroči žveplov dioksid razgradnjo klorofila zaradi nastanka superoksidnih radikalov. Poleg tega pod vplivom žveplovega dioksida oziroma sulfitnega iona prihaja do cepitve disulfitnih vezi in oksidacije sulfhidrilnih skupin pri mnogih encimih. Posledica je inaktivacija encimov ter zmanjšanje njihove aktivnosti. Sulfitni ion tekmuje tudi z ogljikovim dioksidom na mestih vezave pri encimih, ki sodelujejo pri fiksaciji CO_2 . Veže se tudi s kovinami, ki so sestavni del encimov, v dokaj stabilne komplekse in tako inhibira njihovo delovanje. Nenazadnje povzroča spremembe strukturnih beljakovin v celičnih membranah in tako vpliva na njihovo permeabilnost (LARCHER 1995).

Odziv rastlin na žveplov dioksid je odvisen od vrste rastline, njenega fiziološkega stanja, starosti in zunanjih dejavnikov, ki vplivajo na odprtost listnih rež (sončno sevanje, relativna zračna vlaga...). Večina rastlin prenese zmerne koncentracije žveplovega dioksida, saj je žveplo tudi makrohranilo in kot tako nujno potrebno za življenje rastlin. Zato imajo rastline številne mehanizme za izogibanje toksičnih vplivov žveplovega dioksida, kot so zapiranje rež (kratkotrajna rešitev), vezava SO_2 v sekundarne produkte metabolizma, uporaba žvepla v metabolizmu (vezava v aminokisline ali tvorba H_2S , ki kot plin izhaja skozi reže), oksidativne reakcije detoksifikacije v celični steni ter shranjevanje v vakuolah in naprej v skladiščnih organih. Pomembna je tudi tvorba antioksidantov, kot so askorbinska kislina, vitamin E, peptidi (glutation), karotenoidi (β karoten), poliamini in organski nevtralizacijski sistemi ter encimski sistemi (katalaza, superoksid dizmutaza, peroksidaza), ki ščitijo beljakovine in lipide pred oksidanti (HAUSLANDEN s sod. 1990). Tako je občutljivost rastlin na SO_2 v veliki meri odvisna od nevtralizacijske sposobnosti rastline (IQBAL s sod. 1996).

Zgodnje prepoznavanje stresa na molekularni ravni je pomembno, saj potrdimo njegov obstoj pred razvojem vidnih poškodb, ki rastline vodijo v pogubo. V raziskavah propadanja gozdov se pogosto uporablja ekofiziološki kazalniki stresa

v listih oziroma iglicah dreves. Dobri kazalci oksidativnega stresa so antioksidanti (askorbinska kislina, vitamin E, vodotopni tioli), katerih koncentracije se v primeru stresa povečajo zaradi naravne obrambne sposobnosti rastlin. Askorbinska kislina je najpomembnejši antioksidant v rastlinski celici, ki pri razstrupljanju organskih radikalov deluje kot reducent. Sodeluje tudi pri regeneraciji vitamina E, s katerim sinergistično deluje pri zaščiti membran. Tudi vodotopni tioli, ki so organske spojine z žveplom, imajo antioksidativno vlogo v celicah. Velike vsebnosti tiolov se pojavijo ob prisotnosti žveplovega dioksida (GRILL 1992) in so tako kazalec onesnaženega zraka z omenjenim onesnažilom (MEHLHORN s sod. 1986). Tudi vsebnosti fotosinteznih pigmentov ter njihova razmerja nakazujejo fiziološko stanje rastline. V splošnem sta klorofil a in β karoten bolj občutljiva za oksidativni stres kot klorofil b in ksantofili. Kisla onesnažila zraka (npr. SO_2) prizadenejo predvsem klorofile, fotooksidanti pa imajo močnejši vpliv na razmerje med klorofili in karotenoidi ter na sestavo karotenoidov (RIBARIČ-LASNIK 1996).

Tudi makrohranila v listju in iglicah so kazalec kemičnega stresa, npr. pomanjkanja hranil, toksičnega vpliva pojavljajočega se aluminija ali mangana v koreninah drevja, akumulacije žvepla, klorida in fluora antropogenega izvora v listju in iglicah drevja (LANDMAN in BONNEAU 1995). Velike vsebnosti elementov v listih in iglicah (žveplo, svinec, kadmij...) ali pomanjkanje nekaterih (magnezij) so lahko dobri kazalci njihove koncentracije v gozdu (LANDOLT in sod. 1989, ANON. 1993). Kot pomoč pri vrednotenju analiznih rezultatov listja gozdnega drevja je strokovna skupina FFCC (Forest Foliar Co-ordinating Centre) predlagala razrede vsebnosti hranil v listih bukve (ANON. 1995) (*preglednica 1*). Za žveplo pa sta bili na drugem sestanku strokovnjakov za prehrano gozdnega drevja ICP-ECE programa na Dunaju novembra 1995 predlagani mejni vrednosti celokupne vsebnosti žvepla, ki nakazujeta preskrbljenost oz. obremenjenost drevja z njim (ANON., 1995). Spodnja mejna vrednost vsebnosti žvepla v bukovem listju ($1,3 \text{ mg/g}$) ustrezata tistemu razredu vsebnosti žvepla, ki je kazalec majhnih koncentracij žvepla, zgornja mejna vrednost celokupnega žvepla ($2,0 \text{ mg/g}$) pa veliki koncentraciji žvepla v gozdnem drevju (*preglednica 2*).

V Zasavju so bile v zadnjih 10 letih koncentracije SO_2 še vedno zelo velike, hkrati pa naraščajo tudi koncentracije ozona (O_3). Raziskave, opravljene v omenjenem obdobju, kažejo, da so gozdovi v Zasavju poškodovani bolj od povprečja v Sloveniji (ŠOLAR 1989, 1991, 1992; VIDERGAR-GORJUP 1998). Večina raziskav v preteklosti je temeljila na smreki

Preglednica 1: Vsebnost hranil v listih bukve za razvrščanje v razrede

Table 1: *The content of macronutrients in Common Beech leaves arranged in classes*

element (mg/g)	N	P	K	Ca	Mg
preskrbljenost pomanjkljiva	18,0	1,0	5,0	4,0	1,0
optimalna	25,0	1,7	10,0	8,0	1,5

Preglednica 2: Mejne vrednosti vsebnosti celokupnega žvepla v listih bukve

Table 2: *The limit values for classification of sulphur content in Common Beech leaves*

Mejne vrednosti vsebnosti celokupnega žvepla (mg/g)	BUKEV
spodnja	1,3
zgornja	2,0

kot bioindikatorski vrsti, zelo malo je znanega o stanju bukve (*Fagus sylvatica* L.), ki je prevladajoča avtohtona drevesna vrsta pri nas in osrednji Evropi. Bukev s svojo strukturo in funkcijo odseva razmere v okolju in je tako primerna bioindikatorska vrsta za ugotavljanje stopnje onesnaženja ter vpliva le-tega na žive organizme. Glavni namen naše raziskave je bil ugotoviti stanje bukve na območju Zasavja na osnovi ekofizioloških kazalnikov stresa – antioksidantov, fotosinteznih pigmentov – ter ugotoviti mineralno preskrbljenost rastlin.

MATERIAL IN METODE MATERIAL AND METHODS

TERENSKO DELO FIELD WORK

Listje bukve (*Fagus sylvatica* L.) smo vzorčili v mesecu avgustu in septembru v letih 1999 in 2000 na treh vzorčnih mestih v Zasavju (Kovk, Dobovec in Ravenska vas) ter na referenčnem, manj onesnaženem predelu v Sloveniji, v Kočevski Reki (vzorčno mesto Preža). Vzorčna mesta v Zasavju smo izbrali glede na to, da ležijo vsa tri mesta na platojih nad reko Savo in so po postavitvi 360 m visokega dimnika zelo izpostavljena imisijam iz Termoelektrarne Trbovlje. Na njih potekajo kontinuirane meritve meteoroloških parametrov in glavnih zračnih onesnažil v okviru ekološkega informacijskega sistema Termoelektrarne Trbovlje (EIS TET).

Pri vzorčenju listja smo sledili priporočilom ICP-Forest (ANNONYMUS 1987) in skupine na Gozdarskem inštitutu Slovenije (Oddelek za gozdno ekologijo) v Ljubljani (SIMONČIČ 1992, 1996, 1997; KALAN 1990, 1991). Na vsaki

lokaciji smo vzorčili deset dreves ter skušali dobiti čim bolj reprezentativen vzorec za vsako ploskev. Drevesa, s katerih odvzemamo vzorce, naj bi bila reprezentativna za povprečne ekološke razmere, v kakršnih so bili opravljeni popisi poškodovanosti gozdnega drevja. Pri izbiri dreves smo izbrali: drevesa vladajočega oz. sovladajočega socialnega položaja in reprezentativna drevesa za izbrano ploskev glede osutosti in zdravstvenega stanja (insekti, glice).

Zelo pomemben je čas jemanja vzorcev, saj se vsebnost hranil spreminja v vegetacijskem obdobju. Zato je pomembno, da vzorčimo tik pred rumenenjem listov, konec avgusta, v začetku septembra. Foliarne vzorce smo odvzeli iz zgornje tretjine krošenj izbranih dreves, ki je najbolj osvetljena. Pomembno je, da pri vzorčenju ne kontaminiramo listja in da ne poškodujemo drevja. Del vzorca (za analize temperaturno občutljivih molekul, kot so fotosintezni pigmenti in antioksidanti) smo na terenu zamrznili s tekočim dušikom.

KEMIJSKE ANALIZE CHEMICAL ANALYSES

Zamrznjene rastlinske vzorce smo shranili v zamrzovalni omari. Nato smo vzorce liofilizirali. Drugi del vzorca smo v laboratoriju posušili na sobni temperaturi za analize makrohranil (N, P, K, Ca, Mg, S). Ko so bili vzorci suhi, smo jih zmleli s keramičnim nožem, jih presejali in homogenizirali ter spravili v plastične posodice. Analize fotosinteznih pigmentov (klorofil a, klorofil b) in α -tokoferola smo opravili s HPLC 1050 Hewlett Packard (High Performance Liquid Chromatography ali High Pressure Liquid Chromatography). Pigmente smo določali po metodi, ki jo je razvil PFEIFHOFER (1989). Vsebnost vodotopnih tiolov v rastlinskem materialu smo določali s spektrofotometrom z dodatkom (DTNB) (Ellman-Reagens) po metodi, ki jo opisuje GRILL in ESTERBAUER (1973). Makrohranila smo določali po metodologiji, ki jo priporoča strokovna skupina za mineralno prehrano gozdnega drevja ICP-ECE Forest (ANNONYMUS 1987). Analize dušika in fosforja so opravili na Gozdarskem inštitutu Slovenije v Ljubljani (Oddelek za gozdno ekologijo). Vsebnost celokupnega dušika (N) so določali po modificirani Kjeldahlovi metodi z aparaturom VAPODEST-5, vsebnost fosforja (P) kolorimetrično, z metodo molibden modro in spektrofotometrom. Kalij (K) smo določali s plamensko atomsko emisijsko spektroskopijo (FAES), kalcij (Ca) ter magnezij (Mg) pa s plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo (FAAS). Žveplo (S) smo določali z aparaturom AOX-S analizator (metoda ECS 3000).

REZULTATI RESULTS

Fiziološke parametre (fotosintezni pigmenti, antioksidanti) smo določali v vzorcih iz leta 1999 in 2000, zato smo lahko primerjali vsebnosti med obema letoma med območjem (Zasavje, Kočevska Reka) ter med vsemi lokacijami (Kovk, Dobovec, Ravenska vas, Preža). Makrohranila smo določali (izjemo žvepla) le v vzorcih iz leta 1999, zato smo naredili primerjavo med območjem ter lokacijami v omenjenem letu.

Za obdelavo analiznih rezultatov smo uporabili računalniške programe EXCEL in STATISTICA (verzija 5.0) Statistične analize smo opravili s programom Statistica 5.0. Ker porazdelitev podatkov večine parametrov ni bila normalna, smo uporabili neparametrične teste.

Pri testiranju statistično pomembnih razlik smo ugotovljali:

- primerjavo med leti (Wilcoxon Matched Pairs Test) (preglednica 3);
- primerjavo med območji (Mann-Whitneyev U-test) (preglednica 4),
- primerjavo med lokacijami (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks in Mann-Whitney U Test) (tabeli 5, 6).

Preglednica 3: Statistična analiza parametrov med letoma 1999 in 2000

Table 3: Statistical analyses of parameters between 1999 and 2000

Wilcoxon Matched Pairs Test	N	T	Z	p
Razmerje klorofila a in b	40	0	5,511	0,000
Vitamin E	40	12	5,350	0,000
Vodotopni tioli	40	163	3,320	0,001
Celokupno žveplo	40	164	3,307	0,001

(N-število parov; T-manjša vsota pozitivnih ali negativnih rangov; Z-vrednost standardizirane normalne porazdelitve, izračunane iz T vrednosti, p-velikost statističnega tveganja; *poudarjeno so označene statistično značilne razlike)

Pri razmerju klorofila a in b, vitamina E, vodotopnih tiolov ter celokupnega žvepla smo ugotovili statistično značilne razlike med leti 1999 in 2000. Razmerje med klorofiloma a in b (*slika 1*), vsebnost vodotopnih tiolov (*slika 2*) ter vitamina E (*slika 3*) so bile značilno večje v letu 2000 v primerjavi z letom 1999. Vsebnost celokupnega žvepla je bila večja v letu 1999 (*slika 4*). V letu 1999 so bile statistično značilne razlike v razmerju klorofila a in b (*slika 1*) ter vsebnost celokupnega žvepla (*slika 4*) med območjem Zasavje in Kočevska Reka. Razmerje klorofilov je bilo večje na območju Kočevske Reke, vsebnost žvepla pa na območju Zasavja. Na lokaciji Preža je

Preglednica 4: Statistična analiza parametrov v listih bukve med območjem Zasavje in Kočevska Reka v letih 1999 in 2000

Table 4: Statistical analyses of parameters in Common Beech leaves between Zasavje and Kočevska Reka area in 1999 and 2000

	Mann-Whitneyev U-test, spremenljivka: območje (št. Vzorcev: Zasavje-30, Kočevska reka-10)					
	1999			2000		
	U	Z	p	U	Z	p
Razmerje klorofila a in b	72	-2,436	0,015	105	-1,406	0,160
Vitamin E	118	-1,015	0,310	102	-1,499	0,134
Vodotopni tioli	119	-0,968	0,333	79	-2,233	0,026
Celokupno žveplo	8	-4,451	0,000	0	-4685	0,000

*poudarjeno so označene statistično značilne razlike

Preglednica 5: Statistična analiza parametrov v listih bukve med lokacijami v letu 1999

Table 5: Statistical analyses of parameters in Common Beech leaves at locations in 1999

Kruskal-Wallis ANOVA	Razmerje klorofila a in b			Vitamin E			Vodotopni tioli			Celokupno žveplo		
	H (3,N=40) = 8,94			H (3,N=40) = 8,12			H (3,N=40) = 10,1			H (3,N=40) = 22,8		
	p = 0,0301			p = 0,0437			p = 0,0176			p = 0,0000		
Mann-Whitneyev U-test	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
Kovk-Dobovec	34	-1,2	0,23	44	-0,5	0,65	20	-2,3	0,02	37	-1,0	0,33
Kovk-Ravenska vas	25	-1,9	0,06	22	-2,1	0,03	10	-3,0	0,00	24	-2,0	0,05
Kovk-Preža	31	-1,4	0,15	45	-0,4	0,71	20	-2,3	0,02	7	-3,3	0,00
Dobovec-Rav. vas	37	-1,0	0,32	18	-2,4	0,02	42	-0,6	0,55	32	-1,4	0,16
Dobovec-Preža	21	-2,2	0,03	48	-0,2	0,85	47	-0,2	0,82	1	-3,7	0,00
Ravenska vas-Preža	20	-2,3	0,02	20	-2,3	0,02	48	-0,2	0,88	0	-3,8	0,00

*poudarjeno so označene statistično značilne razlike

Preglednica 6: Statistična analiza parametrov v listih bukve med lokacijami v letu 2000

Table 6: Statistical analyses of parameters in Common Beech leaves at locations in 2000

	Razmerje klorofila a in b			Vitamin E			Vodotopni tioli			Celokupno žveplo		
Kruskal-Wallis ANOVA	$H (3,N=40) = 2,52$ $p = 0,4717$			$H (3,N=40) = 9,30$ $p = 0,0256$			$H (3,N=40) = 17,9$ $p = 0,0005$			$H (3,N=40) = 26,0$ $p = 0,0000$		
Mann-Whitneyev U-test	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
Kovk-Dobovec	49	-0,1	0,94	22	-2,1	0,03	9	-3,1	0,00	48	-0,2	0,88
Kovk-Ravenska vas	41	-0,7	0,50	19	-2,3	0,02	6	-3,3	0,00	16	-2,6	0,01
Kovk-Preža	31	-1,4	0,15	13	-2,8	0,01	5	-3,4	0,00	0	-3,8	0,00
Dobovec-Rav. vas	44	-0,5	0,65	49	-0,1	0,94	39	-0,8	0,41	24	-2,0	0,05
Dobovec-Preža	32	-1,4	0,17	43	-0,5	0,60	33	-1,3	0,19	0	-3,8	0,00
Ravenska vas-Preža	42	-0,6	0,55	46	-0,3	0,76	41	-0,7	0,50	0	-3,8	0,00

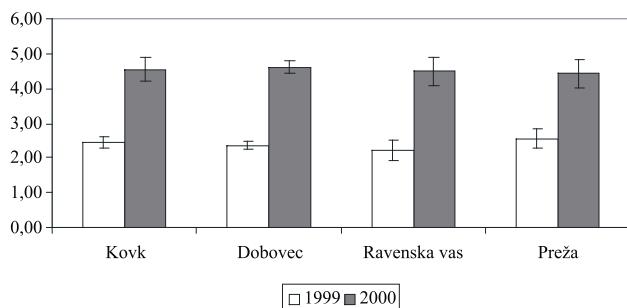
*poudarjeno so označene statistično značilne razlike

bilo razmerje klorofilov značilno večje od razmerja na lokacijah Dobovec in Ravenska vas (*slika 1*). Vsebnost vitamina E je bila največja na Ravenski vasi in se je razlikovala od vsebnosti omenjenega antioksidanta na preostalih treh lokacijah. Vsebnost vodotopnih tiolov je bila največja na Kovku in se je značilno razlikovala od vsebnosti na Dobovcu, Ravenski vasi in

Preži (*slika 2*). Vsebnosti celokupnega žvepla so bile na vseh treh lokacijah v Zasavju značilno večje kot na lokaciji Preža. V Zasavju je izstopala pozornost lokacija Ravenska vas, kjer je bilo značilno več žvepla kot na Kovku (*slika 4*).

V letu 2000 so bile značilne razlike med območjem v vsebnosti klorofilov, vodotopnih tiolov in celokupnega žvepla. Vsebnosti klorofilov so bile večje na območju Kočevske Reke, vsebnost vodotopnih tiolov in celokupnega žvepla pa na območju Zasavja. Na lokaciji Preža in Kovk so bile vsebnosti klorofila a in klorofila b značilno večje kot na lokacijah Dobovec in Ravenska vas. Na Ravenski vasi sta bili vsebnosti klorofila a in b najmanjši. Razmerje klorofilov se tako ni statistično razlikovalo med lokacijami v letu 2000 (*slika 1*). Vsebnost vitamina E je bila največja na Kovku in se je statistično razlikovala od preostalih treh lokacij. Najmanjša vsebnost omenjenega antioksidanta je bila v bukvi iz Preže (*slika 3*). Zelo podobno sliko kaže vsebnost vodotopnih tiolov, ki je bila ravno tako največja na Kovku in se je značilno razlikovala od preostalih treh lokacij. Najmanjša vsebnost omenjene spojine je bila na lokaciji Preža (*slika 2*). Vsebnost celokupnega žvepla se je med lokacijami značilno razlikovala. Naj-

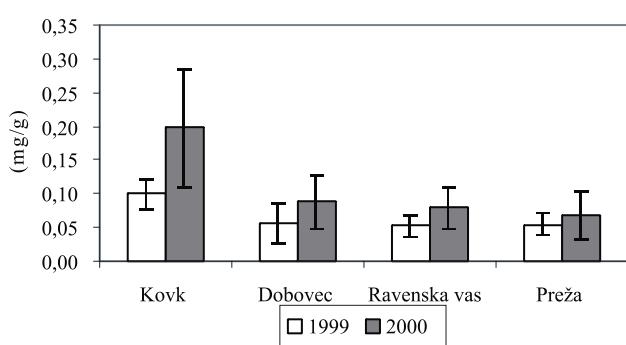
Razmerje klorofila a in b



Slika 1: Razmerje klorofila a in b v listih bukve v letih 1999 in 2000

Fig. 1: The comparison of chlorophyll a and b in Common Beech leaves in 1999 and 2000

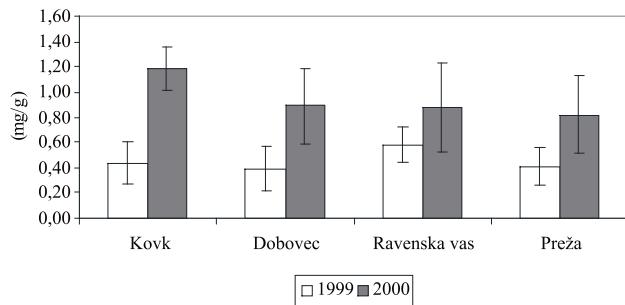
Vodotopni tioli



Slika 2: Vsebnost vodotopnih tiolov v listih bukve v letih 1999 in 2000

Fig. 2: The content of water soluble thiols in Common Beech leaves in 1999 and 2000

Vitamin E

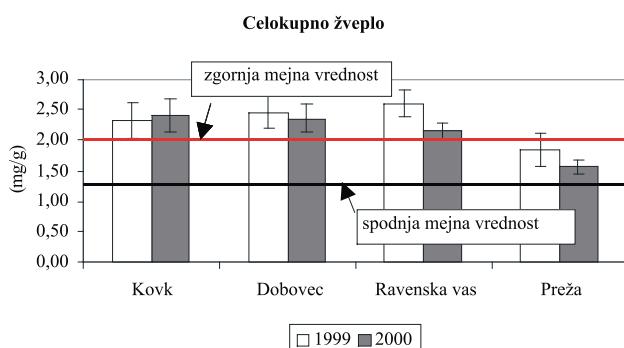


Slika 3: Vsebnost vitamina E v listih bukve v letih 1999 in 2000

Fig. 3: The content of vitamin E in Common Beech leaves in 1999 and 2000

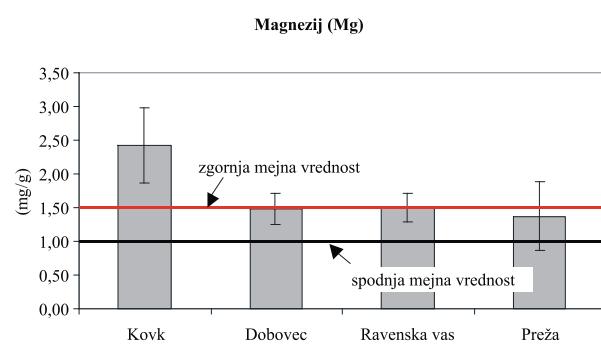
manjša vsebnost je bila na lokaciji Preža, statistično značilno večje vsebnosti celokupnega žvepla pa so bile na vseh treh lokacijah v Zasavju (*slika 4*).

Makrohranila smo določali le za leto 1999. Vsebnost magnezija je bila na vseh lokacijah optimalna (1,5 mg/g). Drugače je bilo na lokaciji Kovk, kjer je bila vsebnost magnezija nad omenjeno mejo in se je statistično razlikovala od preostalih treh lokacij, kjer so bile vsebnosti podobne (*slika 5*). Vsebnost



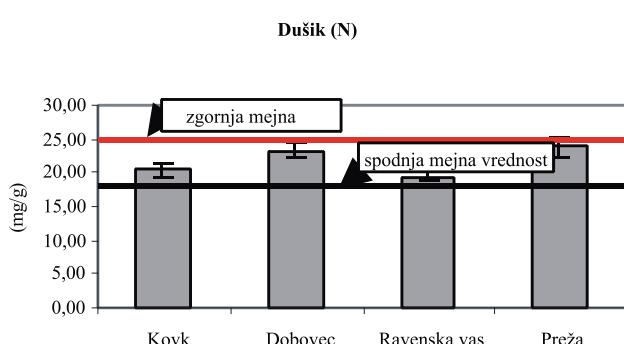
Slika 4: Vsebnost celokupnega žvepla v listih bukve v letih 1999 in 2000

Fig. 4: The content of total sulphur in Common Beech leaves in 1999 and 2000



Slika 5: Vsebnost magnezija v listih bukve v letu 1999

Fig. 5: The content of magnesium in Common Beech leaves in 1999

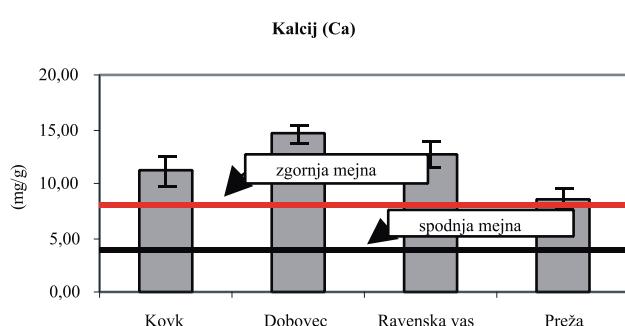


Slika 6: Vsebnost dušika v listih bukve v letu 1999

Fig. 6: The content of nitrogen in Common Beech leaves in 1999

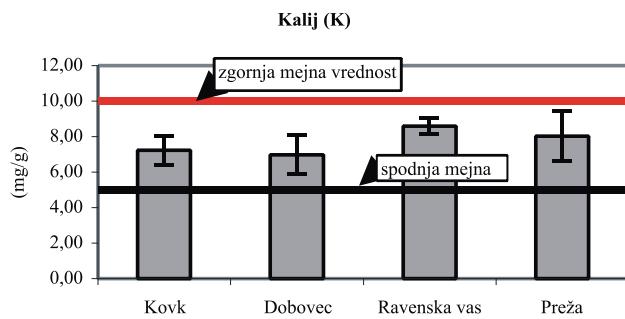
nosti dušika so bile največje na lokaciji Preža, najmanjše pa na lokaciji Ravenska vas. Na lokacijah Preža in Dobovec so bile vsebnosti dušika blizu optimalne vrednosti (25 mg/g), na lokacijah Ravenska vas in Kovk pa je bila vsebnost manjša, a še zadostna (*slika 6*).

Vsebnost kalcija je bila povsod optimalna oziroma nad mejo 8 mg/g. Najmanjšo vsebnost omenjenega makrohranila je imelo listje z lokacije Preža in se je značilno razlikovalo od preostalih lokacij (*slika 7*). Vsebnosti kalija (*slika 8*) se med lokacijami niso statistično značilno razlikovale. Na vseh lokacijah so bile vsebnosti zadostne in malo pod optimalno mejo preskrbljenosti (10 mg/g). Vsebnosti fosforja so se med



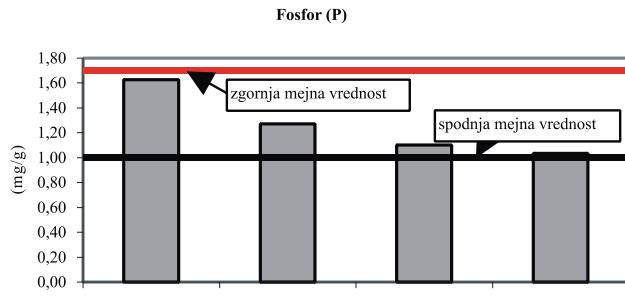
Slika 7: Vsebnost kalcija v listih bukve v letu 1999

Fig. 7: The content of calcium in Common Beech leaves in 1999



Slika 8: Vsebnost kalija v listih bukve v letu 1999

Fig. 8: The content of potassium in Common Beech leaves in 1999



Slika 9: Vsebnost fosforja v listih bukve v letu 1999

Fig. 9: The content of phosphorus in Common Beech leaves in 1999

lokacijami statistično razlikovalo. Največja vsebnost je bila na Kovku, kjer je skoraj dosegla optimalno preskrbljenost (1,7 mg/g) in se je značilno razlikovala od preostalih treh lokacij. Najmanjšo še zadostno vsebnost smo določili na lokaciji Preža (slika 9).

RAZPRAVA DISCUSSION

Z raziskavo smo želeli ugotoviti, kakšno je stanje bukve v Zasavju glede na ekofiziološke kazalnike stresa v listju (fotosintetni pigmenti, antioksidanti ter makrohranila). Bukev (*Fagus sylvatica* L.) je najpogostejsa avtohtonata drevesna vrsta v Zasavju in tudi v Sloveniji. Primerjava dobljenih podatkov z drugimi je praktično nemogoča, saj je bilo doslej opravljenih zelo malo raziskav o vplivu onesnaženega zraka na omenjeno drevesno vrsto v Sloveniji. Na osnovi rezultatov dvoletne raziskave smo dobili približno oceno stanja bukve v Zasavju v primerjavi s Kočevsko Reko, kjer je bila referenčna lokacija z manjšo onesnaženostjo v Sloveniji. Vzorčenje smo opravili v letih 1999 in 2000. Rezultate vsebnosti fotosintetnih pigmentov, antioksidantov ter makrohranil smo primerjali med letoma, med območjem ter med vzorčnimi lokacijami.

Fotosintetni pigmenti so kazalci vitalnosti rastlin; v primeru stresa se njihova vsebnost zmanjša, spremeni se tudi njihovo razmerje. Stanje stresa namreč vodi v prezgodnje staranje rastline, zato se zmanjšajo vsebnosti klorofilov in po večajo vsebnosti pigmentov staranja – karotenoidov (RIBARIČ-LASNIK 1996). Vsebnost klorofilov je dober kazalec kroničnih koncentracij SO₂, vendar je treba upoštevati, da gre za nespecifičen indikator. Opisani so primeri domnevno ‘gnojilnega’ učinka SO₂ na rastline v močno onesnaženih predelih Nemčije (LANGE 1987) in Zasavja (VIDERGAR-GORJUP 1998) ter s tem povezane povečane vsebnosti klorofilov. Vsebnosti klorofila a ter razmerje klorofilov a in b je bilo večje v letu 2000 v primerjavi z letom 1999. Manjša vsebnost glavnega fotosintetnega pigmenta (klorofila a) ter razmerja med klorofilom a in b v letu 1999 kaže v primerjavi z letom 2000 na slabše fiziološko stanje dreves v letu 1999.

Vsebnost antioksidantov (α -tokoferol, vodotopni tioli) je bila večja v letu 2000, kar kaže na obstoj oksidativnega stresa, vendar dobro obrambno sposobnost dreves. V rastlinskih celicah se v primeru stresa poveča vsebnost antioksidantov, ki lovijo proste kisikove radikale in tako preprečujejo prezgodnje staranje celic ter njihov propad (LARCHER 1995). Vodotopni tioli so antioksidanti, ki hkrati dokazujojo, da gre

za stres, povzročen zaradi onesnaženja ozračja z žveplovim dioksidom, saj so to spojine z žveplom. V primeru močnega onesnaženja se obrambna sposobnost rastlin zmanjša in tako se kljub velikemu stresu koncentracije antioksidantov v celicah zmanjšajo (RIBARIČ LASNIK 1996).

Vsebnost celokupnega žvepla je bila večja v letu 1999 kot leta 2000. Celokupno žveplje v listih odseva obremenjenost ozračja z žveplovim dioksidom, katerega povprečne letne imisijске koncentracije so bile v letu 1999 večje v primerjavi z letom 2000 na vseh treh vzorčnih mestih v Zasavju (Kovk, Dobovec in Ravenska vas).

Rezultate smo primerjali med območjema Zasavje in Kočevska Reka. Boljše fiziološke razmere v Kočevski Reki za obe leti potrjujejo značilno večje vsebnosti fotosintetnih pigmentov v listju. Vzorci iz Zasavja kažejo na večjo obremenjenost zaradi onesnaženega zraka z žveplovim dioksidom, kar potrjujejo značilno večje vsebnosti žvepla v obeh letih vzorčenja, v letu 2000 pa tudi značilno večje vsebnosti antioksidantov, ki nakazujejo stres zaradi žveplovega dioksida – vodotopnih tiolov. Vsebnosti makrohranil so bile na obeh območjih v letu 1999 zadostne in niso bile vzrok za večjo dovzetnost rastlin za stres na območju Zasavja. Vsebnosti fosforja, dušika, kalija so bile v mejah nad pomanjkljivo in pod optimalno vsebnostjo, vsebnosti kalcija in magnezija pa nad optimalno mejo vsebnosti.

V Zasavju smo za nekatere parametre stresa potrdili značilne razlike med lokacijami Kovk, Dobovec in Ravenska vas. Fiziološko stanje v vzorcih bukve je bilo na osnovi fotosintetnih pigmentov najboljše na Kovku (največje vsebnosti klorofila a in klorofila b). Razmerje klorofilov v bukvi je bilo na vseh lokacijah v Zasavju v letih 1999 in 2000 večje kot pri smrekah in se je gibalo okoli 2, kar kaže na onesnaženost zraka (VIDERGAR-GORJUP 1998). Ugodnejše fiziološko stanje bukve v primerjavi s smreko je lahko posledica boljše prilagojenosti bukve na okolje, saj gre za avtohton in listopadno drevo, kjer je učinek akumulacije onesnažil manjši. Pri omenjenem dejstvu moramo seveda upoštevati tudi časovno razliko med vzorčenji.

Vsebnosti žvepla v bukovem listju so bile v letu 1999 največje na Ravenski vasi, ki je imelo v letu 2000 najmanjšo vsebnost omenjenega makrohranila in kaže na obremenjenost dreves z žveplovim dioksidom. Na vseh lokacijah v Zasavju v obeh letih vzorčenja je bila presežena zgornja mejna vrednost vsebnosti skupnega žvepla v listih bukve. Raziskave smreke so v letih 1988, 1990 in 1991 pokazale, da so bile iglice smreke s Kovka, Dobovca in Ravenske vasi uvrščene v 4. (najviš-

ji) razred vsebnosti žvepla (ŠOLAR 1989, 1991, 1992). V letu 1995 je bila vsebnost žvepla v iglicah smreke med desetimi lokacijami v Zasavju največja na Kovku, Dobovcu in Ravenski vasi (VIDERGAR-GORJUP 1998).

Vsebnost vodotopnih tiolov je bila največja v vzorcih s Kovka, najmanjša pa v vzorcih iz Ravenske vasi v obeh letih vzorčenja. Če obstaja oksidativni stres, se lahko oksidirata tudi glutation in askorbinska kislina. Njen neobstoj inhibira vezavo žvepla v cistein in vsebnost vodotopnih tiolov se zmanjša, kar vse vodi v slabitev antioksidacijskega obrambnega mehanizma. Posledica je padec vsebnosti klorofilov in prezgodnje staranje listov (VIDERGAR-GORJUP 1998).

Druga makrohranila so bila v zadostnih koncentracijah, saj so bile vsebnosti dušika, fosforja, kalija v območju nad mejo pomanjkanja in pod optimalno vrednostjo, vsebnosti kalcija ter magnezija pa celo v optimalnem območju ali nad omenjeno mejo. Na nobeni lokaciji v Zasavju nismo potrdili pomanjkanja katerega od makrohranil v listju bukve, kot je bilo to ugotovljeno leta 1995 za smreko (VIDERGAR-GORJUP 1998). Na Kovku in Dobovcu je bilo opaziti pomanjkanje magnezija v iglicah smreke, ki je lahko prvo znamenje poškodbe dreves. Pomanjkanje makrohranil torej ni poglavitični vzrok za večjo dovetnost rastlin na stres zaradi zračnega onesnaženja v Zasavju.

ZAKLJUČKI CONCLUSIONS

Rezultati analize ekofizioloških kazalnikov so potrdili razlike med letoma 1999 in 2000. Večji stres, povzročen zaradi onesnaženja ozračja z žveplovim dioksidom, smo potrdili za leto 1999 v primerjavi z letom 2000. V letu 1999 smo izmerili večje povprečne letne koncentracije žveplovega dioksida, manjša vsebnost klorofila a ter razmerje obeh klorofilov, manjše vsebnosti antioksidantov (α -tokopherol, vodotopni tioli) ter večja vsebnost celokupnega žvepla v bukovem listju.

Primerjava vzorcev Zasavja in Kočevske Reke je potrdila boljše fiziološko stanje drevja iz Kočevske Reke v primerjavi z Zasavjem zaradi značilno večje vsebnosti fotosinteznih pigmentov v listih bukve. Vzorci iz Zasavja so odsevali stres zaradi onesnaženosti zraka z žveplovim dioksidom, zaradi značilno večje vsebnosti žvepla ter vodotopnih tiolov.

Primerjava lokacij Preža, Kovk, Dobovec ter Ravenska vas kaže na pričakovano boljše fiziološke razmere na območju Kočevske Reke (Preža) – značilno večje vsebnosti fotosinteznih pigmentov, vzorci odsevajo manjšo obremenjenost

okolja z žveplovim dioksidom in posledično manjši stres rastlin. V Zasavju je glede na raven fotosinteznih pigmentov najboljše stanje dreves na Kovku, najslabše pa na Ravenski vasi. Vzorci s Kovka odsevajo tudi stresno situacijo zaradi velikih vsebnosti žvepla v listih, ki je, kot kaže, za drevesa še obvladljiva zaradi hkratne največje vsebnosti vodotopnih tiolov ter α -tokopherola v listju.

Vsebnosti makrohranil niso na nobeni od lokacij kritične in niso vzrok za stres. Preskrbljenost je zadostna ali celo optimálna, tudi na vseh treh lokacijah v Zasavju.

SUMMARY

The forest ecosystem in Zasavje is mainly affected by air pollution. Since Common Beech (*Fagus sylvatica L.*) is the predominant tree species in Zasavje and generally in Slovenia, surprisingly little research has been carried out on the response of beech to air pollution.

The main objective of our research was to assess the level of air pollution and condition of beech in Zasavje by analyses of some ecophysiological stress indicators and analyses of macronutrients in beech leaves.

Photosynthetic pigments (chlorophylls) and some antioxidants (α -tocopherol, water soluble thiols) were analysed as air pollution stress indicators in beech leaves sampled in 1999 and 2000, whereas the macronutrient N, P, K, Ca and Mg were analysed only in 1999. Total sulphur (S) was measured in samples in 1999 and 2000.

The content of photosynthetic pigments and their ratios reflect the physiological state of the plant. The results of analysis of photosynthetic pigments indicated stress as a consequence of various biotic and abiotic agents (LARCHER 1995). Antioxidants (α -tocopherol, water soluble thiols) are good indicators of oxidative stress and their concentrations usually increase during stress as a defence mechanism of plants. After long term air pollution with very high concentrations of air pollutants, the content of antioxidants in needles or leaves decreases due to weakening of the defence system (LARCHER 1995). Water-soluble thiols are sulphur-containing organic molecules which have an antioxidative role in cells. They protect cell membranes against oxidation and therefore prevent injuries caused by extreme climatic conditions (drought, frost). The content of water-soluble thiols increases in stress caused by sulphur dioxide and therefore they are good indicators of air pollution induced stress (RIBARIČ-LASNIK 1996).

The content of macronutrients in needles and leaves are good indicators of chemical stress, such as insufficient concentrations of nutrient, the presence of toxic aluminium and manganese in tree roots, accumulation of anthropogenic sulphur, chlorine and fluoride in needles and leaves (LANDMAN AND BONNEAU 1995). The high content of some elements (sulphur, lead, cadmium...) and deficiency of others (magnesium) in these tissues are appropriate indicators of their concentrations in forest ecosystems (LANDOLT *et al.* 1989, ANON. 1993).

For the purpose of our research, three sampling plots were chosen in the Zasavje region influenced by emissions from the Trbovlje Thermal Power Plant (Kovk, Dobovec and Ravenska vas) and one to a lesser extent polluted sampling plot in Kočevska Reka (Preža), as a reference. Beech leaves were sampled in August and September in 1999 and 2000 before discoloration and senescence of leaves, in accordance with ICP-Forest Guidelines and those of the Slovenian Forest Institute. Ten beech trees, representative with regard to defoliation and health condition, were sampled at each plot. The beech leaves were stored in paper bags and part of each sample (for analyses of photosynthetic pigments and antioxidants) was frozen in liquid nitrogen in the field and lyophilised in the laboratory. The other part of the sample was dried and prepared for analyses of macronutrients in the laboratory.

Comparison of the results between the years 1999 and 2000 confirmed a higher stress conditions due to air pollution by sulphur dioxide in 1999 despite favourable meteorological conditions for air quality (high dispersion of air) in both years (BIENELLI – KALPIČ 2002). In 1999, the annual average concentrations of sulphur dioxide were higher at all sampling plots in Zasavje; a lower content of chlorophyll a and the ratio between two chlorophylls, a lower content of antioxidants (α -tocopherol, water soluble thiols) and a higher content of total sulphur in beech leaves were found in this region.

Comparison between Zasavje plots and Kočevska Reka confirmed a better physiological condition of beech trees from Kočevska Reka with higher content of photosynthetic pigments. On the other hand, beech trees from Zasavje reflected stress caused by sulphur dioxide resulting in a higher content of total sulphur and water soluble thiols in leaves.

In Zasavje region, the condition of beech trees, based on the content of photosynthetic pigments, was better at Kovk, and worst at Ravenska vas plot. Nevertheless, stress was also present at Kovk, because of high sulphur content in beech leaves, compared to the reference site. The situation was

ameliorated by the high content of water-soluble thiols and α -tocopherol.

The content of macronutrients in beech leaves indicated a sufficient or even optimal supply of all elements at all sampling plots.

VIRI

REFERENCES

- ANON. 1993. Foliar Analysis Expert Pannel. Bruxelles, 12. – 13. Januar 1993, ICP-Forest
- ANON. 1995. Minutes of the 3rd Meeting of the Foliar Expert Pannel Vienna, 7 – 8th November 1995, 6 str.
- ANNONYMUS 1987. Manual on methodologies and criteria for harmonized sampling, assesment, monitoring and analysis of the efects of air pollution on forests. ECE/UNEP for Europe-Geneva 1987
- BIENELLI-KALPIČ 2002. Ugotavljanje stresa pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) na vplivnem območju Termoelektrarne Trbovlje z izbranimi ekofiziološkimi kazalniki. Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 146 str.
- GRILL D. 1992. The role of Thiols in Stress Physiology. Pflanze, Umwelt, Stoffwechsel
- GRILL D., Esterbauer H., 1973. Quantitative Bestimmung wasser löslicher Sulphydryler – bindungen in gesunden und SO₂ – geschädigten Nadeln von *Picea abies*. Phyton (Austria) Vol 15, Fasc. 1-2: 87-101
- HAUSLADEN A., MADAMANCHI N. R., FELLOW S., ALSCHER R. G., AMUNDSON R. G. 1990. Seasonal changes in antioxidants in red spruce as affected by ozone. New Phytol., 115: 447 – 458
- IQBAL M., ABDIN M. Z., MAHMOODUZZAFAR, YUNUS M., AGRAWAL M. 1996. V: Plant Response to Air Pollution. Yunus M., Iqbal M. (ur.). Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, John Wiley & Sons: 195-240
- KALAN J. 1990. Obremenjenost gozdov z žveplom leta 1989. Zbornik gozdarstva in lesarstva, 36: str. 183-198
- KALAN J. 1991. Imsija žvepla leta 1990 na točkah 16 X 16 km bioindikacijske mreže Slovenije. Ljubljana, GV, L XLIX, 5: 240-247
- KRUPA S. V. 1996. The Role of Atmospheric Chemistry in the Assessment of Crop Growth and Productivity. V: Plant Response to Air Pollution. Yunus M., Iqbal M. (ur.). Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, John Wiley & Sons: 35-74
- LANDMANN G., BONNEU (ur.) 1995. Forest Decline and Atmospheric Deposition Effects in the French Mountains. Springer: 461 str.
- LANDOLT W., GUECHEVA M., BUCHER B. 1989. The spatial Distribution of Different Elements in and on the Foliage of Norway Spruce Growing in Switzerland. Environmental Pollution 56 (1989): 155 – 167
- LANGE O. L., ZELLNER H., GEBEL LJ. SCHRAMEL P., KÖSTNER B., CZYGAN F. C. 1987. Photosynthetic capacity, chloroplast pigments and mineral content of the previous year's spruce needles with and without the new flush: Analysis of the forest decline phenomenon of needle bleaching. Oecologia 73, s. 351-357.
- LARCHER W. 1995. Physiological Plant ecology. Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. 3. izdaja. Springer Verlag Berlin Heidelberg: 506 str.
- MEHLHORN H., SEUFERT G., SCHMIDT A., KUNERT K. J. 1986. Effect of SO₂ and O₃ on production of antioxidants in conifers. Plant Physiology 82: 336 – 338
- PFEIFHOFER H. W. 1989. On the pigment content of Norway spruce needles infected with *Chrysomyxa rhododendri*, and carotenoids of the fungus aeciospores. Eur. J. For. Path. 19: 363-369
- RIBARIČ-LASNIK C. 1996. Ugotavljanje stresa pri smreki (*Picea abies* (L.) Karsten) na osnovi biokemičnih analiz iglic na vplivnem območju Termoelektrarne Šoštanj. Doktorska disertacija, Ljubljana, BF, Oddelek za biologijo, 179 str.
- SIMONČIČ P. 1992. Razmere mineralne prehrane za smrek na distričnih rjavih tleh na tonalitu na vplivnem območju TE Šoštanj. Magistrsko

- delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 134 str.
- SIMONČIČ P. 1996. Odziv gozdnega ekosistema na vplive kislih odložin s poudarkom na preučevanju prehranskih razmer za smreko (*Picea abies* (L.) Karst.) in bukev (*Fagus sylvatica* L.) na vplivnem območju TE Šoštanj. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo, 156 str.
- SIMONČIČ P. 1997. Preskrbljenost gozdnega drevja z mineralnimi hranili na 16 x 16 km mreži. Zbornik gozdarstva in lesarstva 52: 251 – 27
- ŠOLAR M. 1989. Popis propadanja gozdov in analiza žvepla na 10-tih interpolacijskih točkah v Zasavju v letu 1988. Ljubljana, Inštitut za gozdro in lesno gospodarstvo Ljubljana: 7 str.
- ŠOLAR M. 1991. Poročilo o stanju zasavskega gozda v letu 1990. Ljubljana, Inštitut za gozdro in lesno gospodarstvo Ljubljana: 4 str.
- ŠOLAR M. 1992. Poročilo o stanju zasavskega gozda in biološki detekciji onesnaženega zraka v letu 1991. Ljubljana, Inštitut za gozdro in lesno gospodarstvo Ljubljana: 4 str.
- Uradni list št. 73/ 1994. Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih snovi v zraku. Uradni list RS, št. 73/94
- VIDERGAR-GORJUP N. 1998. Bioindikacija onesnaženosti zraka v Zasavju. Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 170 str.

ZAHVALA ACKNOWLEDGEMENTS

Za vse strokovne usmeritve in pripombe se zahvaljujem prof. dr. Francu Batiču. Najlepše se zahvaljujem takratnemu vodstvu Termoelektrarne Trbovlje, ki je finančno podprla raziskavo in tudi organizacijsko pripomogla k njenemu nastanku. Zahvaljujem se tudi vsem svojim sodelavcem ERICA Velenje, ki so mi pomagali pri analizah in vzorčenju. Iskreno se zahvaljujem sodelavcem Gozdarskega inštituta za strokovno pomoč, posebej dr. Primožu Simončiču in Robertu Mavšarju. Hvala tudi vsem gozdarjem Zavoda za gozdove RS, Območni enoti Ljubljana, Krajevni enoti Zagorje, predvsem pa Boštjanu Pihlerju za pomoč na terenu ter številne praktične nasvete.