

GDK 181.45:425.3 _ 015.25

Prispelo/Received: Marec/March 1998

Sprejeto/Accepted: Junij/June 1998

Izvorni znanstveni članek
Original scientific paper

OCENA POŠKODOVANOSTI DREVES Z ELEKTRONSKO PARAMAGNETNO REZONANCO Mn^{2+} IONOV

Zorka STOLIČ¹, Franc BATIČ², Polona KALAN³, Marjana NEMEC⁴, Milan SCHARA⁵,

Izvleček

Izmerili smo EPR spektre Mn^{2+} v smrekovih iglicah in listih nekaterih listavcev. Pri nepoškodovanih drevesih smo ugotovili značilen sekstet z intenziteto, ki je sorazmerna količini Mn v raztopini. V poškodovanih drevesih je ta, mobilna oblika Mn^{2+} , bistveno manjša. Dodatno smo ugotovili, da so EPR spektri vsota dveh ali treh komponent, kar pomeni, da manganovi ioni ali pa njegovi kompleksni niso homogeno razporejeni po listu, ampak so razporejeni v predele z različno koncentracijo Mn^{2+} . S starostjo iglic ostanejo razmerja izmerjenih utežnih deležev komponent zelo podobna. Količina celokupnega mangana pa s starostjo raste tako pri zdravih kot tudi poškodovanih drevesih.

Ključne besede: EPR Mn^{2+} , smrekove iglice

DAMAGE ESTIMATION OF TREES WITH ELECTRON PARAMAGNETIC RESONANCE OF Mn (II) IONS

Abstract

The EPR spectra of Mn^{2+} in spruce needles and leaves of broad-leaved trees were measured. A typical Mn^{2+} hyperfine sextet with intensity proportional to the quantity of Mn in solution was obtained for undamaged trees. A considerably smaller amount of this type of Mn^{2+} EPR was found for damaged trees. It was also found that EPR spectra are a sum of two or three components representing different local concentrations of Mn^{2+} ions. The weight ratios of the measured components remain similar with age. The amount of total manganese increases with age for undamaged and damaged trees.

Key words: EPR Mn^{2+} , spruce needles

¹ dipl. ing. gozd., Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1111 Ljubljana, SLO

² prof.dr., Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, 1111 Ljubljana, SLO

³ mag., Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1111 Ljubljana, SLO

⁴ kem. teh., Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1111 Ljubljana, SLO

⁵ prof.dr., Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1111 Ljubljana, SLO

VSEBINA
CONTENTS

1	UVOD	
	INTRODUCTION	99
2	MATERIALI IN METODE	
	MATERIALS AND METHODS.....	100
3	REZULTATI	
	RESULTS	101
4	DISKUSIJA IN SKLEPI	
	DISCUSSION AND CONCLUSIONS	106
5	POVZETEK	108
	SUMMARY	109
	VIRI	
	REFERENCES	111

1 UVOD

INTRODUCTION

V zadnjih nekaj letih so se pojavile številne poškodbe na večih drevesnih vrstah v Evropi in nekaterih območjih Združenih držav Amerike (ANONYMOUS 1988). Najprej so bili prizadeti iglavci, kasneje pa tudi listavci. Te nove vrste poškodb lahko najdemo celo na področjih z relativno čistim zrakom in daleč stran od znanih onesnaževalcev. Pojav umiranja gozdov običajno pripisujemo vzajemnemu delovanju onesnaženega ozračja in naravnih dejavnikov (klima, vrsta tal in biotski faktorji). Zaradi kislega dežja lahko nastopijo neposredne poškodbe v rastlinskih celicah (spremembe v strukturi in funkciji). Prav tako pa kisli dež povzroča tudi izpiranje nekaterih mobilnih ionov Ca^{2+} , Mg^{2+} in K^{+} (ULRICH 1989, ZÖTTL / HÜTTL 1985, KRIVAN et al. 1986) iz rastlin kot tudi iz tal. Ker se pogosto pojavi tudi povečan vnos dušika v gozdni ekosistem, lahko prihaja do motenj v metabolizmu. Poleg kislega dežja dodatne poškodbe povzročajo še fotooksidanti (ANONYMOUS 1988, KRUPPA / MANNING 1988, PAFFRATH / PETERS 1988). Za vpogled v dogajanje pred pojavom morfoloških znakov zaradi onesnaženja, so nujno potrebne fiziološke in biokemične raziskave.

Mineralna oskrba rastlin je eden izmed najpogosteje proučevanih dejavnikov, ker se zaradi pomanjkanja hranil lahko pojavijo motnje v delovanju gozdnega ekosistema. Novejše raziskave so pokazale, da je eden od teh elementov lahko tudi mangan (GODDE et al. 1991). Pokaže lahko nepravilnosti v ekosistemu zaradi dolgotrajnega izpiranja iz gozdnih tal, ki ga povzroča kisli dež. Običajno se vsebnost mangana veča, medtem ko se vsebnost kalcija, magnezija in kalija v poškodovanih drevesih manjša. To je v veliki meri odvisno od vrste in mesta onesnaževalca ter rastišča. Mangan se z leti kopiči v iglicah in skorji (HUNGER 1974, TRUBY / LINDNER 1990). Oskrba z manganom je v veliki meri odvisna od pH tal; pomanjkljiva je na alkalnih tleh in običajno dobra na kisljih tleh (ZÖTTL / HÜTTL 1985, KRIVAN et al. 1986, REHFUESS 1983). Drevje, ki raste na dolomitu in apnencu kaže znake pomanjkanja mangana, medtem ko imajo iglice poškodovanih dreves, ki rastejo na kisljih tleh, dokaj velike vsebnosti (ZÖTTL / HÜTTL 1985, KRIVAN et al. 1986, REHFUESS 1983, GARTNER et al. 1990, GODDE et al. 1991, TRUBY / LINDNER 1990, DITTRICH 1990). Mangan je eden izmed esencialnih elementov za rastline. Delovanje mangana je podobno delovanju železa (RAVEN 1990). Ioni mangana sodelujejo pri cepitvi vode v procesu fotosinteze. Prav tako so sestavni del superoksidne dismutaze in mnogih drugih encimov.

Novejše raziskave so pokazale, da je v iglicah smrek mangan v mobilni ionski obliki, ki jo lahko izmerimo in opišemo z metodo elektronske paramagnetne resonance (EPR). To je spektroskopska metoda, s katero lahko opazujemo paramagnetne centre v snovi. Paramagnetni centri v bioloških sistemih so ioni prehodnih elementov, prosti radikali, produkti biomolekul, ki so poškodovane s svetlobo, z ionizirajočim sevanjem ali pri kemijskih reakcijah (dušikovi in žvepovi oksidi iz okolja). EPR spekter mangana ima značilno obliko seksteta, katerega intenziteta je povezana s stopnjo vitalnosti rastline. Z večanjem poškodbe se zmanjšuje koncentracija mobilnega Mn^{2+} , kar zmanjšuje intenziteto spektra. EPR spektroskopsko metodo so uporabili za analizo večjih gozdnih območij (LAGGNER et al. 1987).

2 MATERIALI IN METODE MATERIALS AND METHODS

V letu 1988 so bile opravljene analize eno, dve, tri, štiri in petletnih iglic smreke (*Picea abies* Karst.). Vzorci so bili nabrani iz približno 20 let starih sovladajočih dreves, z vej sedmega vretena. Drevesa so bila izbrana na dveh raziskovalnih ploskvah; prva je bila na Pokljuki in druga v okolici Zavodnej. Na vsakem območju sta bili izbrani dve drevesi - eno zdravo in eno z vidnimi poškodbami. Krošnja zdravega drevesa s Pokljuke je bila 100 % obrasla s iglicami. Poškodovano drevo je bilo prav tako polno obraslo z iglicami, ki pa so bile močno porumenele. Zdravo drevo iz Zavodnej je imelo 10 % osutost krošnje, nekoliko porumenele iglice in nekaj odmrlih iglic. Poškodovanemu drevesu je bila ocenjena 30 % osutost krošnje, srednja porumenelost in majhna nekrotičnost iglic. Po modificirani mednarodni klasifikaciji (ŠOLAR 1989) sta bili drevesi s Pokljuke ocenjeni s stopnjo poškodovanosti 0 (zdravo drevo) in 0 - 1 (poškodovano drevo), iz Zavodnej pa 1 (zdravo drevo) in 3 (poškodovano drevo). V letu 1996 pa so bile opravljene analize eno in dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* Karst.) iz treh raziskovalnih ploskev GIS: Pokljuka, Kočevska reka in Zavodnje. Analizirani so bili tudi nekateri vzorci listavcev iz območja Ljubljane in Trebnjega.

Na svežih vzorcih nekaj iglic, ki so bile slučajnostno izbrane iz istoletnega poganjka, so bili izmerjeni EPR spektri. Za meritev porazdelitve Mn so bili uporabljeni poganjki z iste veje. Vzorci so bili izmerjeni s spektrometroma Varian E - 9 X trak in Bruker ESP 300. Vsebnost prostega Mn^{2+} (gibljivega v raztopini) je bila ocenjena iz intenzitete EPR spektra, in sicer po enačbi $I = h \cdot H^2$ (določitev h in H iz EPR spektra je prikazana na sliki 4). Za iz vrednotenje lokalnih koncentracij Mn^{2+} je bila uporabljena kot standard vodna

raztopina $MnSO_4$ z različnimi koncentracijami. Eksperimentalni spektri so bili tudi računsko ovrednoteni s pomočjo računalniškega programa. Izračunan spekter je sestavljen iz različnih spektralnih komponent, ki ustrezajo Mn^{2+} v različnih okoljih glede na gibljivost, način vezave in koncentracijo. Celokupen mangan je bil določen z atomsko absorpcijsko spektroskopijo (AAS) in z metodo plamenske analize (za Kočevsko reko). Celokupno žveplo v iglicah pa s sežigom in s konduktometrično meritvijo prevodnosti raztopljenega SO_2 (KALAN 1988). Na Oddelku za agronomijo so analizirali listna barvila s pomočjo HPLC (PFEIFHOFER 1989) in UV - vis detektorja pri 440 nm. Prav tako so s pomočjo HPLC (TAUSZ et al. 1996) in UV detektorja pri 248 nm analizirali askorbinsko kislino.

3 REZULTATI

RESULTS

Vzorci za analizo iglic so bili zbrani jeseni (Pokljuka) in pozimi 1988 (Zavodnje). Vpliv onesnaženja na raziskovalne ploskve je bil ugotovljen z bioindikacijsko metodo - z analizo celokupnega žvepla v iglicah (preglednica 1). Vsebnosti žvepla na Pokljuki po Kalanu (KALAN et al. 1995) ne dosežejo mejnih vrednosti (zgornja meja drugega razreda), ki so pokazatelj imisij SO_2 .

Preglednica 1: Vsebnost celokupnega žvepla v iglicah (1988).
Table 1: Total Sulphur Content of Needles (1988).

Raziskovalna ploskev <i>Study plot</i>		Iglice tekočega letnika <i>Current years needles</i>		Enoletne iglice <i>One year old needles</i>	
		S(%)*	%**	S(%)*	%**
Pokljuka		0.122	99.2	0.130	87.2
Zavodnje	Zdravo drevo <i>Undamaged tree</i>	0.205	166.7	0.262	175.8
	Poškodovano drevo <i>Damaged tree</i>	0.210	170.7	0.270	181.2
Mejne vrednosti <i>Threshold values</i>		0.123	100.0	0.149	100.0

- * glede na suho težo iglic
- * with respect to dry weight of the needles
- ** glede na mejne vrednosti
- ** with respect to the threshold values

Izmerjeni so bili EPR spektri za zdrava drevesa, za katera je značilen izrazit hiperfinski sekstet; in spektri brez hiperfine strukture, ki so značilni za poškodovana drevesa. Celokupen in z EPR določen Mn je prikazan v preglednici 2.

Preglednica 2: Vsebnost mangana v različno starih iglicah iz dveh različnih področij, merjena 1988.

Table 2: Manganese content in needles of different ages from two different regions, measured in 1988.

	Vzorec Sample	Starost Age	Celokupen Mn, ppm* Total Mn, ppm*	Mn ²⁺ , ppm** Mn ²⁺ , ppm**
Pokljuka	Nepoškodovano drevo Undamaged tree	4	2100	922.8 ± 232.9
		3	2040	715.2 ± 190.7
		2	1980	532.7 ± 81.3
		1	1510	370.5 ± 67.0
	Poškodovano drevo Damaged tree	4	2350	83.8 ± 76.9
		3	2200	293.9 ± 88.5
		2	1730	324.7 ± 76.3
		1	1000	370.9 ± 99.4
Zavodnje	Nepoškodovano drevo Undamaged tree	5	1415	1121.1 ± 203.4
		4	1600	1612.9 ± 452.9
		3	1396	1665.2 ± 200.0
		2	1347	1375.6 ± 287.6
		1	1085	1093.6 ± 58.5
	Poškodovano drevo Damaged tree	5	1856	779.7 ± 115.4
		4	1736	884.4 ± 505.6
		3	1406	836.6 ± 90.9
		2	1137	689.1 ± 160.6
		1	708	216.2 ± 10.5

* ppm v suhem vzorcu, izmerjen z metodo AAS

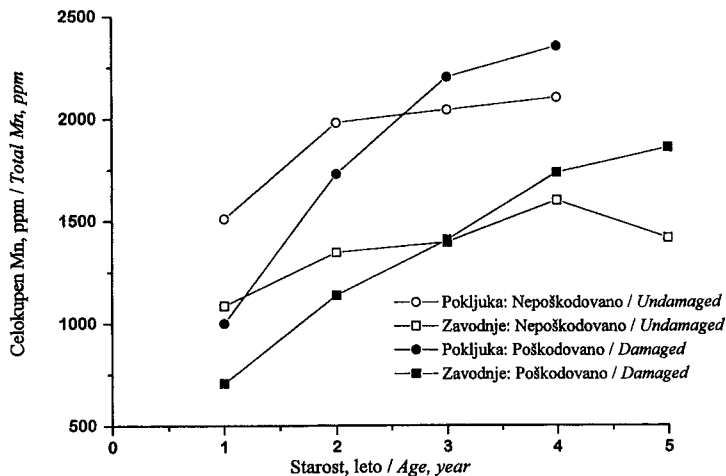
* ppm in dry sample, measured with AAS method

** ppm v suhem vzorcu, izmerjen z metodo EPR (samo mobilni del EPR spektra Mn²⁺) in izračunan po formuli $I = h \cdot H^2$

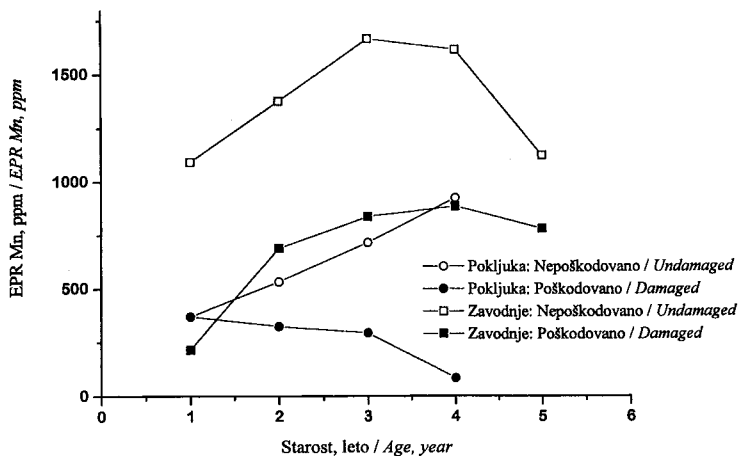
** ppm in dry sample, measured with EPR method (only mobile fraction of spectra of Mn²⁺) and calculated by formula $I = h \cdot H^2$

Pri poškodovanih drevesih je manj z EPR določenega Mn. Vrednost za celokupen Mn s starostjo iglic raste tako pri zdravih kot tudi poškodovanih drevesih (slika 1). Z EPR

ugotovljen Mn pri zdravih drevesih s starostjo prav tako raste, pri poškodovanih pa se obnaša različno (slika 2).



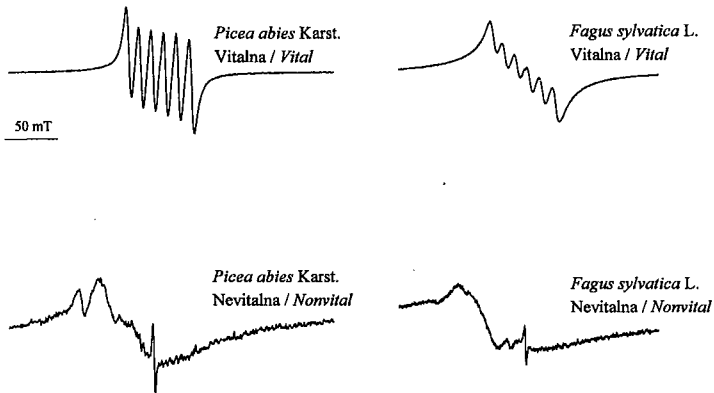
Slika 1: Odvisnost vsebnosti celokupnega Mn v smrekovih iglicah od starosti iglic
Figure 1: Total Mn content in spruce needles as a function of needle ages



Slika 2: Odvisnost vsebnosti z EPR določenega Mn2+ v smrekovih iglicah od starosti iglic
Figure 2: EPR determined Mn2+ content in spruce needles as a function of needle ages

Za vzorce, ki so bili zbrani jeseni 1996, smo za vitalna drevesa ugotovili, da ima EPR spekter obliko značilnega hiperfinega razcepa na šest črt. Širina med prvim in zadnjim

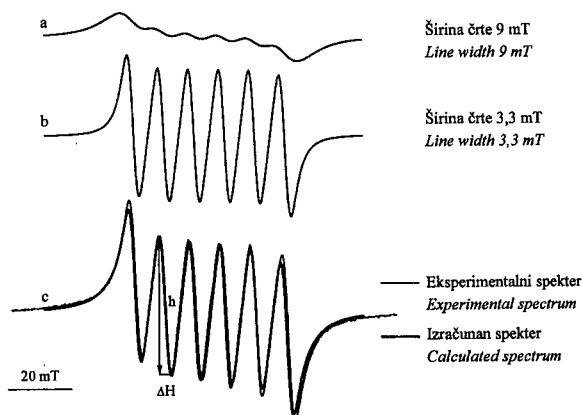
ekstremom je 470 G pri iglavcih in 480 G pri listavcih. Za slabo vitalna drevesa je značilen širok spekter pri katerem je hiperfina razcep zabrisan, pogosti so tudi signali prostega radikala (slika 3).



Slika 3: Značilni primeri EPR spektrov listov vitalnih in slabo vitalnih dreves. Pogoji snemanja: moč mikrovalov 10 mW, modulacijska frekvenca 100 kHz, amplituda modulacije 1 mT, obseg magnetnega polja 200 mT in sobna temperatura

Figure 3: Typical examples of EPR spectra measured in leaves for vital and nonvital trees. Experimental parameters: microwave power 10 mW, modulation frequency 100 kHz, modulation amplitude 1 mT, scan range 200 mT and room temperature

Eksperimentalni EPR spektri za zelo vitalna drevesa so bili tudi računalniško ovrednoteni. Pri iglavcih je bilo doseženo dovolj dobro ujemanje med eksperimentalnim in iz dveh različnih Lorentzovih širin sestavljenim izračunanim spektrom (slika 4). Pri listavcih pa je bilo potrebno za primerno ujemanje izračunani spekter sestaviti iz treh črt z različno širino. Rezultati so prikazani v preglednici 4.



Slika 4: Primer ujemanja eksperimentalnega in izračunanega spektra (c), sestavljenega iz dveh komponent (a in b)

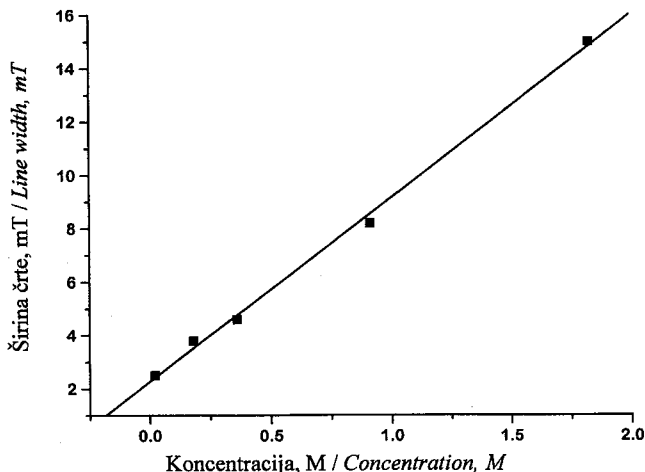
Figure 4: Example of fitting of the experimental spectrum with the calculated spectrum (c), composed of two components (a and b)

Preglednica 4: Izračunane širine, deleži* spektralnih komponent in ustrezne koncentracije Mn^{2+} v listnem tkivu, določene iz umeritvene krivulje na sliki 5 (merjeno 1996).

Table 4: Calculated widths, portions of spectral components and the corresponding concentrations of Mn^{2+} in leaf tissue, determined from Fig. 5 (measured in 1996).

Drevesna vrsta Tree species	Širina, mT Width, mT	Delež Ratio	Koncentracija Mn^{2+} , M Concentration Mn^{2+} , M
<i>Picea abies</i> Karst. (Pokljuka)	3.5 9.2	0.40 0.60	0.18 1.06
<i>Picea abies</i> Karst. (Kočevska Reka)	3.5 10.7	0.27 0.73	0.18 1.25
<i>Picea abies</i> Karst. (Zavodnje)	3.5 9.9	0.35 0.65	0.18 1.17
<i>Picea abies</i> Karst. (Trebnje)	3.5 9.5	0.35 0.65	0.18 1.17
<i>Fagus sylvatica</i> L. (Trebnje)	4.5 12.0 20.0	0.25 0.25 0.50	0.30 1.42 2.50
<i>Quercus sessiliflora</i> Salisb. (Trebnje)	4.0 10.0 18.0	0.17 0.18 0.65	0.24 1.18 2.22
<i>Castanea sativa</i> Mill. (Trebnje)	4.5 10.0 18.0	0.15 0.15 0.70	0.30 1.18 2.22

- * Delež smo določili z razstavljanjem celotnega spektra na posamezne spektralne komponente, ki jih označuje značilna širina spektralnih črt. Ustrezne lokalne koncentracije prostega Mn^{2+} za posamezne širine so bile določene glede na standardno vodno raztopino $MnSO_4$, ki jo lahko izračunamo z eno samo Lorentzovo širino (slika 5). Izračuni so pokazali, da je razmerje širin pri petih vzorcih istega drevesa razmeroma konstantno. Pri spremembah v širini črt, ki so večje od 5 %, so pri izračunanih spektrih vidne razlike.



Slika 5: Odvisnost širine EPR črte od koncentracije Mn^{2+} v vodni raztopini $MnSO_4$
 Figure 5: EPR line width dependence on Mn^{2+} concentration in water solution of $MnSO_4$

4 DISKUSIJA IN SKLEPI DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Ugotovili smo, da vsebnost celokupnega Mn pri nepoškodovanih in poškodovanih drevesih s starostjo iglice raste. Porast celokupnega Mn s starostjo je značilen za zdrava in poškodovana drevesa (preglednica 2, slika 1). Z EPR določena vsebnost Mn pa je lahko povezana s stopnjo poškodovanosti drevesa.

Iz izračunanih deležev in koncentracij Mn^{2+} v posameznih predelih lista, ki imajo značilen EPR spekter, lahko sklepamo, da imamo v listnem tkivu izolirana področja z različno lokalno koncentracijo Mn^{2+} ionov. Glede na standardno raztopino $MnSO_4$ smo za iglavce določili, da ožji črti ustreza lokalna koncentracija 0,18 M, širši pa 1,16 M. Pri listavcih pa bi lahko najširši črti pripisali koncentracijo 2,31 M. Za preučevana območja Pokljuke, Zavodnj in Kočevske reke smo ugotovili statistično značilno razliko v deležu področij z najmanjšo lokalno koncentracijo Mn^{2+} ionov. Največji je ta delež na Pokljuki

(0,40), najmanjši pa v Kočevski reki (0,27), kar bi bilo lahko povezano s stopnjo poškodovanosti dreves na teh področjih.

Glede na analize listnih barvil smo ugotovili, da so razmere v Zavodnjah slabše kot na Pokljuki (preglednica 5). Podatkov o listnih barvilih za Kočevsko reko nimamo.

Izmerili smo nekaj naključno izbranih vzorcev na območju mesta Ljubljane. Ugotovili smo, da skoraj v vseh primerih najdemo le spektre za manj vitalna drevesa, tako pri iglavcih kot tudi pri listavcih (izjema je bila le tisa). Tudi s kemijsko analizo celokupnega mangana smo dobili podobne rezultate (25 - 100 ppm). Za nekatere vzorce smrek iz okolice Ljubljane (Zalog, Golovec, Šmarna gora) smo izmerili, da drevesa vsebujejo še razmeroma veliko Mn^{2+} .

Iz oblike spektra lahko dobro sklepamo o količini prostega mangana v listnem tkivu. Ne moremo še popolnoma zanesljivo trditi, ali je to odraz stopnje vitalnosti ali pa mogoče samo kvalitete rastišča.

Preglednica 5: Rezultati analize listnih barvil iglic tekočega letnika in intenzitete celotnega EPR spektra (to je vseh EPR merljivih paramagnetnih ionov v vzorcu).

Table 5: Results of leaves pigment analyses of current year needles and EPR intensity measurement of the total EPR spectrum (all EPR visible paramagnetic centers).

Št. No.	Pokljuka (10.10. 1996)		
	Intenziteta* <i>Intensity*</i>	Klorofil A+B** <i>Chlorophyll A+B**</i>	C Vitamin** <i>C vitamin**</i>
1	219,38 ± 30,50	1,041	3,153
2	126,81 ± 9,28	10123	4,227
3	262,12 ± 18,72	0,823	4,151
4	104,78 ± 18,20	1,387	4,156
5	110,94 ± 18,36		3,531
6	155,23 ± 11,84		3,480
7	144,27 ± 12,19		4,450
8	395,40 ± 21,49	1,167	4,170
9	101,98 ± 19,57	0,906	5,312
10	104,58 ± 12,26	1,144	4,242

Preglednica 5: nadaljevanje
Table 5: continuation

Št. No.	Zavodnje (17.12.1996)		
	Intenziteta* Intensity*	Klorofil A+B** Chlorophyll A+B**	C Vitamin** C vitamin**
1	131,35 ± 14,21	0,119	4,093
2	325,18 ± 26,78	0,040	3,585
3	492,25 ± 67,47	0,307	2080
4	218,27 ± 44,09	0,136	20589
5	126,95 ± 25,34	0,041	1,789
6	334,42 ± 15,56	0,099	2,073
7	192,34 ± 38,58	0,049	1,599
8	270,57 ± 24,78	0,033	1,693
9	142,59 ± 24,62	0,032	1,312
10	142,78 ± 19,23	0,053	2,190

* vrednost dvojnega integrala EPR spektra, normiranega na težo vzorca in EPR standard

* value of double integral of EPR spectrum, normalized on weight of the sample and strong pitch standard

** mg / g suhe teže

** mg / g dry weight

Rezultati so izmerjeni in izračunani za pet vzorcev istega drevesa, podani so kot povprečne vrednosti ± SD.

5 POVZETEK

Pojav propadanja gozdov običajno pripisujemo vzajemnemu delovanju onesnaženega ozračja in naravnih dejavnikov. Zaradi kislega dežja lahko nastopijo neposredne poškodbe v rastlinskih celicah. Prav tako pa kisli dež lahko povzroča pomanjkanje hranil zaradi spiranja nekaterih mobilnih ionov Ca^{2+} , Mg^{2+} in K^{+} iz rastlin in tal. UV sevanje dodatno poveča toksično delovanje nekaterih polutantov preko fotooksidantov kot so dušikovi oksidi in ogljikovodiki.

Mineralna oskrba rastlin je eden izmed najpogosteje proučevanih dejavnikov. Pomanjkanje kateregakoli hranila je lahko predhoden vzrok za slabenje gozdov. Novejše raziskave so pokazale, da lahko neravnotežje vsebnosti mangana pokaže nepravilnosti v ekosistemu kot posledico dolgotrajnega spiranja iz gozdnih tal zaradi delovanja kislega

dežja. Oskrba z manganom je v veliki meri odvisna od pH tal; pomanjkljiva je na alkalnih tleh in običajno dobra na kislih tleh.

Novejša je ugotovitev, da je Mn^{2+} v iglicah smreke v gibljivi obliki, za katero je značilno, da imajo elektronski paramagnetni spektri Mn^{2+} obliko tipičnega seksteta, katerega intenziteta je odvisna od stopnje vitalnosti rastline. Zmanjševanje vitalnosti se kaže tudi v zmanjševanju deleža koncentracije gibljivega Mn^{2+} . Za ugotavljanje ionov mangana smo uporabili metodo elektronske paramagnetne resonance.

Izmerili in analizirali smo EPR spektre za skupine dreves iz različnih območij. Za meritve porazdelitve Mn^{2+} smo uporabili sveže nabrane različno stare iglice z iste veje. Vsebnost prostega Mn^{2+} v vzorcih smo ovrednotili glede na vodne raztopine $MnSO_4$ različnih koncentracij. Spektre smrekovih iglic je bilo mogoče ovrednotiti z uporabo dveh superimponiranih izračunanih spektrov z različnima širinama črt, in za listavce iz treh. Najpreprostejša razlaga je, da manganovi ioni ali pa njegovi kompleksi niso homogeno porazdeljeni po listu, ampak so razporejeni v predele z različno koncentracijo Mn^{2+} . Za iglice vitalnih smrek smo uporabili dve širini črt 3.5 in 9.8 mT, ki ustrežata koncentraciji 0.18 in 1.16 M. Za listavce pa smo uporabili tri širine črt 4.3, 10.7 in 18.7 mT, ki ustrezajo koncentracijam 0.28, 1.26 in 2.31 M. Po drugi strani pa smo pri poškodovanih drevesih opazili, da sekstet običajno izgine in ga nadomesti zelo širok spekter, ki ga verjetno povzroči močna vezava manganovih ionov z nizko simetrijo ali pa celo pripada drugim neugotovljenim paramagnetnim centrom.

SUMMARY

The phenomenon of forest dieback was ascribed to the influence of polluted air in combination with natural site specific circumstances. Apart from direct damages in plant tissue, also leaching of some mobile cations of Ca^{2+} , Mg^{2+} and K^+ from plants and soils thus creating mineral deficiency was induced by "acid rain". UV radiation additionally enhances the toxic action of some pollutants via photooxidants e.g. nitrogen oxides and hydrocarbons.

Mineral nutrition of plants is one of the frequently studied topics. Deficiency of any of the nutrients can act as a predisposing factor for forest decline. Recent studies show that the manganese content disbalance can cause dysfunction of the ecosystem as a consequence of

a long-lasting acid rain leaching of the forest soil. Plant supply is highly dependent on the pH of the soils. Alkaline soil usually contains less manganese than acidic sites.

It has recently been found that the content of Mn^{2+} in spruce needles occurs in a form in which ions exhibit a free mobility so that the electron paramagnetic spectra of Mn^{2+} show up as a typical sextet, the intensity of which has been found to correlate with the vitality of the spruce. Increased damage is reflected in a decreased amount of free Mn^{2+} concentration. The method of electron paramagnetic resonance was used to detect manganese ions.

The EPR spectra of series of a trees in different regions were measured and analyzed. Samples of freshly collected needles of different age on the same branch were used to measure the content and distribution of Mn^{2+} . The concentration of free Mn^{2+} in samples was evaluated with respect to $MnSO_4$ aqueous solutions of different concentration. For spruce needles, the experimental spectra could be fitted as the superimposition of two calculated spectra with different linewidths and for broad - leaved trees as a superimposition of three. The simplest explanation is that the manganese ions or their complexes are not homogeneously distributed within the leaf but they pertain to compartments with different concentration of Mn^{2+} . For spruce needles of vital trees two component of spectrum with linewidths 3.5 and 9.8 mT were measured corresponding to 0.18 M and 1.16 M concentration of Mn^{2+} . On the other hand, for broad - leaved trees the linewidths of the evaluated EPR spectra component 4.3, 10.7 and 18.7 mT correspond to the Mn^{2+} concentration 0.28 M, 1.26 M and 2.31 M, respectively. However, in damaged trees the sextet spectrum usually disappears and is replaced by an extremely broad spectrum probably caused by a strong binding of manganese ions to low symmetry environment or they even pertain to other nonidentified paramagnetic species.

VIRI REFERENCES

- ANONYMOUS, 1988.- Proceeding of the US/FRG Research Symposium: Effect of Atmospheric Pollutants on the Spruce - Fire Forest of the Eastern United States and Federal Republic of Germany. October 19-23.- United States Environmental Protection Agency. General Technical Report NE - 120, Burlington, Vermont, USA, s. 1-542.
- DITTRICH, B., 1990.- Biomonitoring zur Bewertung von Immissionwirkungen auf den Bergwald im Nationalpark Berchtesgaden.- Biomonitoring in Wald(kosystemen). Forschungsbericht 19, s. 5-72.
- GARTNER, E. J. / URFER, W. / EICHHORN, J. / GRABOWSKI, H. / HUSS, H., 1990.- Mangan - ein Bioindikator für den derzeitigen Schadzustand mittelalter Fichten in Hessen.- Forstarchiv 61 (6), s. 229.233.
- GODDE, D. / DIVOUX, S. / HOFERT, M. / KLEIN, C. / GONSIOR, B., 1991.- Quantitative and localized element analysis in cross-section of spruce (*Picea abies* Karst.) needles with different degrees of damage.- Trees 5 (2), s. 95-100.
- HUNGER, W., 1974.- Untersuchungen über die jahreszeitliche und jährweise Fluktuation der Nährelement konzentrationen in den Nadeln eines jüngeren Fichtenbestandes.- Flora 163, s. 422-442.
- LAGGNER, P. / MANDL, R. / ZECHNER, M., 1987.- Elektronenspinresonanz -spektroskopie an Fichtennadeln: eine neue Diagnosemethode zur Früherkennung von Waldschäden.- Interner Bericht, Austrian Acad. Sci., Graz.
- KALAN, J. / KALAN, P. / SIMONČIČ, P., 1995.- Obremenjenost slovenskih gozdov z žveplom.- Ljubljana, ZbGL 34, s. 99 - 120.
- KRIVAN, V. / LUTTGE, U. / SCHALDACH, G., 1986.- Profile von Mikro - und Makromineralnährstoffen in gesunden und kranken Fichten (*Picea abies* Karst.) auf verschiedenen Standorten in Südwestdeutschland.- Göttingen, Angew. Bot. 60, s. 373-389.
- KRUPA, S.V. / MANNING, W. J., 1988.- Atmospheric ozone: Formation and effects on vegetation.- Environmental Pollution 50, s. 101-137.
- PAFFRATH, D. / PETERS, W., 1988.- Betrachtung der Ozonverteilung in Zusammenhang mit dem neuartigen Waldschäden.- Forstw. Cbl. 107, s. 152-159.
- PFEIFHOFER, W., 1989.- Evidence of chlorophyll b and lack of lutein in *Neotia nidus-avis* plastids.- Biochem. Physiol. Pflanzen 184, s. 51-66.
- RAVEN, J. A., 1990.- Predictions of Mn and Fe efficiencies of phototrophic growth as a function of light availability for growth and of C assimilation pathway.- Cambridge, New Phytol. 116, s. 1-18.
- REHFUESS, K. E., 1983.- Eine Arbeitshypothese über die Fichtenerkrankungen in den Hochlagen des Bayerischen Waldes.- GSF-Bericht A 3/83, s. 9-134.
- ŠOLAR, M., 1989.- Poškodbe gozdov - slovenske posebnosti.- Ljubljana, ZbGL 34, s. 71 - 97.
- TAUSZ, M. / KRANNER, I. / GRILL, D., 1996.- Simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plant materials by light performance liquid chromatography.- Phytochemical Analysis 17, s. 136-141.
- TRUBY, P. / LINDNER, M., 1990.- Mangan-verteilungsmuster in Fichten (*Picea abies* Karst.).- Göttingen, Angew. Bot. 64, s. 1-12.

- ULRICH, B., 1989.- Forest decline in ecosystem Perspective.- International Congress of forest Decline Research, Friedrichshafen am Bodensee, FRG. October 2-6, Lectures Volume I, s. 21-41.
- ZÖTTL, H. W. / HÜTTL, R., 1985.- Schadsymptome und Ernährung zustand von Fichtenbeständen im sudwestdeutschen Alpenvorland. Al. Forstzeitschrift 40, s. 1974-1999.